



HAL
open science

Synthèse d'acides thiohydroxamiques et de N-oxydes de thioimide sur charpentes saccharidiques pour l'étude de la S-glucosyltransférase

Stéphanie Marquès

► **To cite this version:**

Stéphanie Marquès. Synthèse d'acides thiohydroxamiques et de N-oxydes de thioimide sur charpentes saccharidiques pour l'étude de la S-glucosyltransférase. Chimie organique. Université d'Orléans, 2014. Français. NNT : 2014ORLE2062 . tel-01665486

HAL Id: tel-01665486

<https://theses.hal.science/tel-01665486v1>

Submitted on 16 Dec 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.

ÉCOLE DOCTORALE (SANTÉ, SCIENCES BIOLOGIQUES ET CHIMIE DU VIVANT)

Institut de Chimie Organique et Analytique, UMR7311

THÈSE présentée par :
Stéphanie MARQUÈS

soutenue le : **15 décembre 2014**

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

Discipline/ Spécialité : Chimie organique

**SYNTHÈSE D'ACIDES THIOHYDROXAMIQUES ET
DE N-OXYDES DE THIOIMIDATE SUR CHARPENTES
SACCHARIDIQUES POUR L'ÉTUDE DE LA
S-GLUCOSYLTRANSFERASE**

THÈSE dirigée par :

Arnaud TATIBOUËT Professeur, Université d'Orléans – Directeur de thèse
Marie SCHULER Maître de conférences, Université d'Orléans –
Co-encadrante de thèse

RAPPORTEURS :

Yves BLÉRIOT Professeur, Université de Poitiers
Sandrine PY Chargée de recherche, Université Joseph Fourier Grenoble

JURY

Alberto MARRA Professeur, Université Montpellier 2 - Président du Jury
Yves BLÉRIOT Professeur, Université de Poitiers
Richard DANIELLOU Professeur, Université d'Orléans
Sandrine PY Chargée de recherche, Université Joseph Fourier Grenoble
Marie SCHULER Maître de conférences, Université d'Orléans
Arnaud TATIBOUËT Professeur, Université d'Orléans

REMERCIEMENTS

Ce travail de doctorat a été réalisé au sein de l'Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA – UMR 7311) de l'Université d'Orléans sous la direction du Professeur Arnaud Tatibouët et du Docteur Marie Schuler. Je tiens à remercier le Professeur Olivier Martin, Directeur de l'ICOA, pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire.

Je remercie également le Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche pour son soutien financier.

Je souhaite, en premier lieu, exprimer mes sincères remerciements à mon directeur de thèse, le Professeur Arnaud Tatibouët pour m'avoir accueillie dans son équipe et encadrée pendant ces trois années. Je le remercie pour son soutien, sa confiance et sa grande disponibilité.

Je souhaiterais également remercier le Docteur Marie Schuler pour son encadrement, sa disponibilité, ses conseils et ses cannelés !

Je remercie également le Docteur Sandrine Py, chargée de recherche au Département de Chimie Moléculaire de Grenoble, au Professeur Yves Blériot, professeur à l'Université de Poitiers pour avoir accepté de juger ce travail. Je remercie également le Professeur Alberto Marra, professeur à l'Université de Montpellier ainsi qu'au Professeur Richard Daniellou, professeur à l'Université d'Orléans pour avoir accepté de participer au jury de la thèse.

Je remercie le Professeur Richard Daniellou et le Docteur Pierre Lafite pour leur accueil. Merci bien sûr à Guillaume Jousset pour m'avoir initiée aux tests enzymatiques et pour sa bonne humeur !

Un merci tout particulier au Professeur Rollin pour m'avoir soutenue et pour ses conseils avisés. Merci pour votre disponibilité et votre gentillesse.

Je tiens également à remercier ceux qui nous permettent de travailler dans les meilleures conditions possibles, en particulier, Marie-Madeleine Le Floch, Yann Vital, Nathalie Percina et Véronique Feirra.

Je remercie mes curicas du labo 1 : Vanessa Mve Mfoumou (oui Madame !), Renee « tu peux imagine » Winzar, Pollyanna Costa (tout va ça marcher) et ma toute petite Maria Domingues (Chihuahua !!). Merci à Sophie pour ta convivialité, c'est vraiment un plaisir de t'avoir au labo 1 !!! Merci Chère Professeur Sabine Montaut pour ta gentillesse et de toujours dire tout haut ce que tout le monde pense tout bas ! Je remercie tous les stagiaires passés au labo : Pilar, Nura, Alexis, Thomas, Matthieu, Mariska, Diane, Dario, Jason, Atanaska pour leur bonne humeur et pour avoir mis de l'ambiance au labo ! Je remercie également l'ensemble de mes collègues de l'ICOA d'avoir rendu ces trois années plus qu'agréable, en particulier Justine, Syame, Gilles et mes copines du déjeuner : Emilie et Johanna, les deux super bretonnes de l'ICOA.

Merci également à mes amis, Fanny et Aurélien pour m'avoir permis de me déconnecter du labo de temps en temps. Je remercie mes amis de Lyon: merci à Leyla, Marco, Simon, Estelle, Florence, Adrien, Solène et Marine (du Havre et de Lyon !) pour leur amitié et pour leur accueil lors de mes séjours à Lyon. Un merci tout particulier à Marie-Christine pour avoir pris de nos nouvelles toutes les semaines (ou presque !) et de m'avoir soutenue pendant les moments difficiles.

Merci au Professeur Vincent Dalla et au docteur Sébastien Comesse pour m'avoir fait découvrir le monde merveilleux de la chimie !

Merci à la famille Cazorla, pour leur soutien pendant ces trois années, pour leur gentillesse.

Je remercie ma sœur Emilie et mon beau-frère Bertrand pour m'avoir soutenue pendant ces trois années et pour avoir égayé mes journées en m'envoyant des photos du plus beau bébé du monde. Je remercie mes parents pour m'avoir encouragée pendant toutes mes études et pour tout leur amour.

Je remercie bien sûr Clément, pour m'avoir supportée pendant ces trois années et pour tout ce qu'il fait au quotidien pour me rendre heureuse. Merci à Jean-Arthur qui, du haut de ces 14 centimètres m'a donné une vraie force intérieure !!

TABLE DES ABRÉVIATIONS

Ac	acétyle
ADDP	azodicarbonyldipiperidine
ADN	acide désoxyribonucléique
aq.	solution aqueuse
9-BBN	9-borabicyclo[3.3.1]nonane
Boc	<i>t</i> -butoxycarbonyle
Bn	benzyle
BV	orbitale moléculaire la plus basse vacante
CAZy	carbohydrate-Active enZymes
CCM	chromatographie sur couche mince
CMP-NeuAc	cytidine monophosphate-sialic acid
COSY	homonuclear correlation spectroscopy
4-CTP	4-chlorothiophénol
CuMeSal	3-méthylsalicylate de cuivre (I)
CuTc	thiophène-2-carboxylate de cuivre (I)
Cy	cyclohexyle
CYP	cytochrome P
dba	dibenzylidèneacétone
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DEAD	azodicarboxylate de diéthyle
DEAN	<i>N,N</i> -diéthylaniline
DHTD	1,4,6,7-tétrazocin-2,5-dione
DIAD	azodicarboxylate de diisopropyle
DIBAL-H	hydrure de diisobutylaluminium
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	<i>N,N'</i> -diméthylformamide
DMS	diméthylsulfure
DMSO	diméthylsulfoxyde
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
Eq. (equiv.)	équivalent
fod	(<i>Z</i>)-6,6,7,7,8,8,8-heptafluoro-2,2-diméthyl-5-oxooct-3-én-3-olate
GCCf	glycocine F
GDP	guanosine diphosphate
Glc	glucose
GlcNAc	<i>N</i> -acétylglucosamine
GlfT2	galactofuranosyltransférase 2
GMT-V	<i>N</i> -acétylglucosaminyltransférase V
GMT-IX	<i>N</i> -acétylglucosaminyltransférase IX
GTs	glucosyltransférase
HBMC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMDST	hexaméthyldisilathiane
HO	orbitale moléculaire la plus haute occupée
CLHP	chromatographie liquide haute pression
IMTH	indole-2-méthylthiohydroximate

k_{cat}	constante catalytique d'une enzyme
K_i	constante d'inhibition
K_m	constante de Michaelis Menten
LDH	lactates déshydrogénases
Litt.	littérature
MIATH	4-méthylsulfinylbutylthiohydroximate
MOM	méthoxyméthyle
Ms	méthane sulfonyl
MTBTH	4-méthylthiobutylthiohydroximate
NADH	nicotinamide adénine dinucléotide réduite
NAD^+	nicotinamide adénine dinucléotide
NeuAc	acide <i>N</i> -acétylneuraminique
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NCS	<i>N</i> -chlorosuccinimide
NHC	carbène <i>N</i> -hétérocyclique
NMO	<i>N</i> -oxyde de <i>N</i> -méthylmorpholine
Nu	nucléophile
PATH	phenylacetylthiohydroximate
PCC	chlorochromate de pyridinium
PEP	phosphoénolpyruvate carboxylase
pH	potentiel hydrogène
PK	pyruvate kinase
pKa	constante d'acidité
ppm	partie par million
PPTA	poly- <i>p</i> -phénylène téréphtalamide
PPTS	pyridinium <i>p</i> -toluenesulfonate
RMN	résonance magnétique nucléaire
<i>S</i> -UGT	<i>S</i> -glucosyltransférase
S_N2	substitution nucléophile d'ordre 2
S_Ni	substitution nucléophile intramoléculaire
SOT	sulfotransférase
SUR1	recepteur sulfonylurée 1
t.a.	température ambiante
TBAF	fluorure de tétrabutylammonium
TBAT	difluorotriphénylsilicate de tétrabutylammonium
TBS	<i>tert</i> -butyldiméthylsilyle
TBDPS	<i>tert</i> -butyldiphénylsilyle
TFP	trifurylphosphine
THF	tétrahydrofurane
TINO	<i>N</i> -oxyde de thioimidate
TM	tamis moléculaire
TMAD	<i>N,N,N',N'</i> -tétraméthylazodicarboxamide
TPAP	perruthénate de tétrapropylammonium
Ts	4-toluène sulfonyl
UDP	uridinediphosphate
UV	ultra-violet
V_{max}	vitesse maximale de l'enzyme

SOMMAIRE

TABLE DES ABRÉVIATIONS	4
SOMMAIRE	6
INTRODUCTION GÉNÉRALE	9
Chapitre 1 : La S-glucosyltransférase	12
1. Rôle de la S-UGT	12
2. Objectifs de l'étude cinétique de la S-UGT	22
3. Inhibiteurs de glucosyltransférases	24
4. Vers des inhibiteurs de la S-UGT	31
5. Conclusion	32
Chapitre 2 : Synthèse des substrats et des produits de la S-UGT	33
1. Généralités sur la fonction thiohydroximate/acide thiohydroxamique	33
2. Synthèses des substrats	36
2.1. Thioacylation de l'hydroxylamine	36
2.2. Thionation d'acides hydroxamiques	40
2.3. Utilisation d'un carbène N-hétérocyclique	41
2.4. Synthèse chimio-enzymatique	42
2.5. Conversion de composés nitrés en acides thiohydroxamiques	42
2.6. Approche biomimétique	45
2.7. Acides thiohydroxamiques et désulfoglucosinolates <i>via</i> un oxyde de nitrile	48
a. Synthèse des glucosinolates <i>via</i> les acides hydroxamiques	49
b. Voie des nitronates	49
c. Approche Mukaiyama	51
d. Approche Kulkarni	52
e. Voie des oximes	55
2.8. Conclusion	60
2.9. Tests par CLHP	62
2.10. Tests spectrophotométriques	65
a. Principe	65
b. Résultats	66
Chapitre 3 : Synthèse de N-oxydes de thioimide (TINOs) sur charpente pyranose	69
1. Rappels bibliographiques	69
1.1. Découverte de la fonction TINO	69
1.2. Généralités sur la synthèse de nitrones cycliques	70
a. Approche par halocyclisation	71
b. Approche par substitution nucléophile	72
c. Autres voies de synthèse	80

1.3.	Précédents au laboratoire	83
2.	Synthèse par halocyclisation des TINOs sur charpentes pyranoses.	84
2.1.	Synthèse des aldoximes	85
2.2.	Synthèse de la fonction thiohydroximate	91
3.	Synthèse des TINOs par réaction de substitution nucléophile/Mitsunobu	93
3.1.	Synthèse de TINO sur charpentes pentoses	94
a.	<i>Approche utilisant un groupe protecteur silylé en C₅</i>	94
b.	<i>Approche utilisant le groupe protecteur acétyle en C₅</i>	96
c.	<i>Cyclisation par réaction de Mitsunobu</i>	97
d.	<i>Synthèse du TINO en série D-arabinose</i>	102
3.2.	Synthèse de TINO sur charpentes hexoses	104
a.	<i>Synthèse du précurseur thiohydroximate</i>	104
b.	<i>Optimisation de la synthèse</i>	105
c.	<i>Cyclisation par réaction de Mitsunobu</i>	106
d.	<i>Désilylation cyclisante</i>	107
e.	<i>Inversion de configuration sur la position 5</i>	110
f.	<i>Optimisation de la séquence</i>	116
3.3.	Extension de la séquence à la série D-manno, L-gulo	117
4.	Conclusion	120
Chapitre 4 : Synthèse de cétonitrones par couplage de Liebeskind-Srogl		123
1.	Rappels bibliographiques	123
1.1.	Intérêts des nitrones sur charpentes saccharidiques	123
1.2.	Le couplage palladocatalysé de Liebeskind-Srogl	125
1.3.	Précédents au laboratoire	130
2.	Couplages de Liebeskind-Srogl sur le TINO sur charpente pyranose	132
2.1.	Optimisation en série D-xylose	132
a.	<i>Optimisation du couplage en présence de CuMeSal</i>	133
b.	<i>Essais de couplage en présence de CuTC</i>	136
c.	<i>Couplages de Liebeskind-Srogl en présence de base</i>	137
2.2.	Exemplification	141
2.3.	Formation d'une vinylnitrone	142
2.4.	Conclusion	145
Chapitre 5 : Étude de réactivité de la fonction N-oxyle de thioimidate et de la vinylnitrone sur charpente D-xylose		147
1.	Cycloaddition 1,3-dipolaire	148
1.1.	Rappels bibliographiques	148
1.2.	Résultats	156
2.	Réduction et additions nucléophiles	158
2.1.	Réductions	158
a.	<i>Rappels bibliographiques</i>	158
b.	<i>Résultats</i>	163

2.2.	Additions nucléophiles	165
a.	Rappels bibliographiques	165
b.	Résultats	170
2.3.	Déprotection des TINOs	176
Conclusion générale		180
1.	Synthèses des acides thiohydroxamiques, substrats de la S-UGT	180
2.	Synthèse et étude de réactivité des <i>N</i>-oxydes de thioimidate sur charpente pyranose	181
3.	Perspectives	183
3.1.	Synthèse des acides thiohydroxamiques	183
3.2.	Synthèse et étude de réactivité des TINOs	183
Experimental part		185
1.	General methods	185
2.	Compounds description	186

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'étude des glucosinolates, métabolites secondaires soufrés présents dans les végétaux de la famille des crucifères, est depuis longtemps un thème privilégié de notre laboratoire. Tout particulièrement car ces molécules sont transformées en isothiocyanates, thiocyanates et/ou nitriles par l'action d'une enzyme : la myrosinase (**Schéma 1**). Ces métabolites secondaires sont notamment responsables des propriétés gustatives et odorantes des plantes dans lesquelles ils se trouvent.

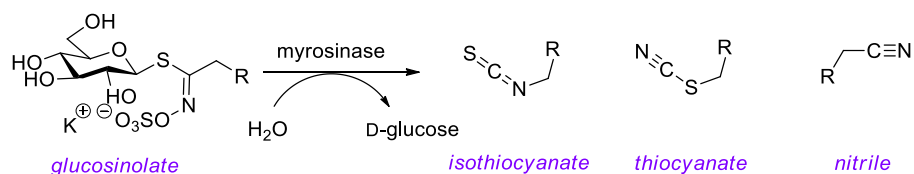


Schéma 1 dégradation des glucosinolates par la myrosinase

Cette transformation a été étudiée au cours de différentes thèses au sein de l'équipe du Pr. Rollin puis du Pr. Tatibouët, qui ont mené à la synthèse de glucosinolates artificiels, à l'extraction de glucosinolates naturels ainsi qu'à la découverte d'inhibiteurs de la myrosinase.

Lors de ces travaux, nous ne nous intéresserons non pas à l'enzyme qui dégrade les glucosinolates mais à celle qui permet leur synthèse, la S-glucosyltransférase (**Schéma 2**). Cette enzyme intervient dans la formation de la liaison carbone-soufre en position anomérique du D-glucose, et c'est cette propriété rare dans le monde du vivant qui en fait un sujet d'étude particulièrement intéressant.

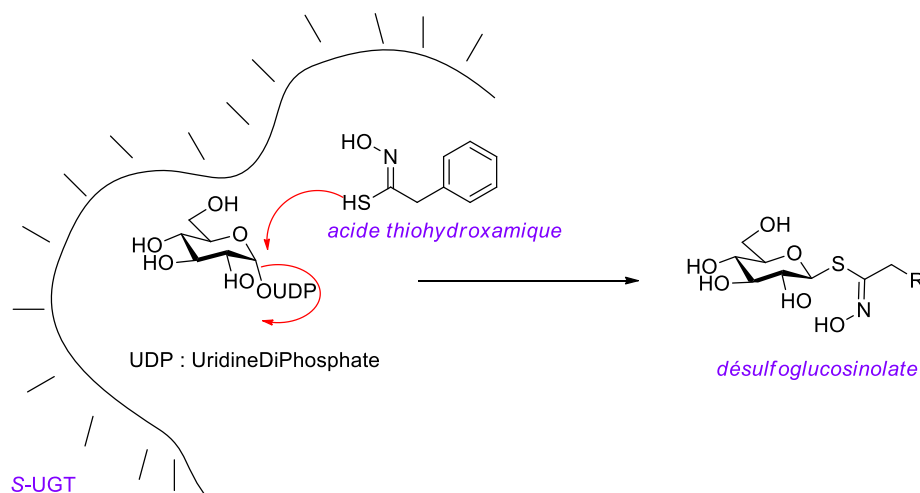


Schéma 2 synthèse des désulfoglucosinolates par la S-UGT

Ce projet a pour objectif la synthèse de différents substrats de cette enzyme qui sont des acides thiohydroxamiques, ainsi que la formation d'iminosucres α, α -disubstitués, pour l'élaboration

d'inhibiteurs potentiels de la S-UGT. Ces deux approches nous permettront de mieux appréhender le mode d'action de cette enzyme.

Le point commun de ces deux grands axes est la présence de la fonction thiohydroximate. Celle-ci se retrouve de façon évidente dans les acides thiohydroxamiques, et est également le point de départ pour la synthèse d'iminosucres. En effet, l'accès aux iminosucres est envisagé *via* une double addition nucléophile sur une fonction N-oxyde de thioimide (TINO) ancrée sur une charpente saccharidique de type pyranose (**Schéma 3**).

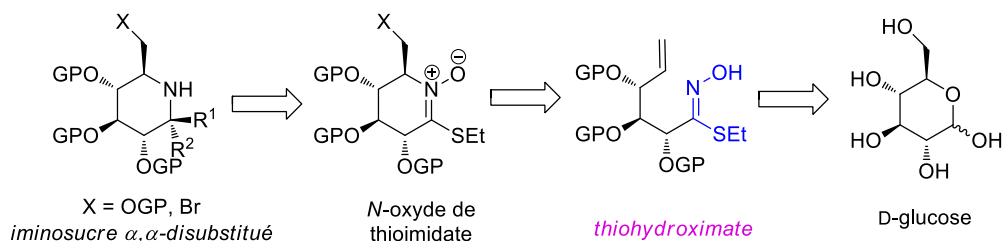
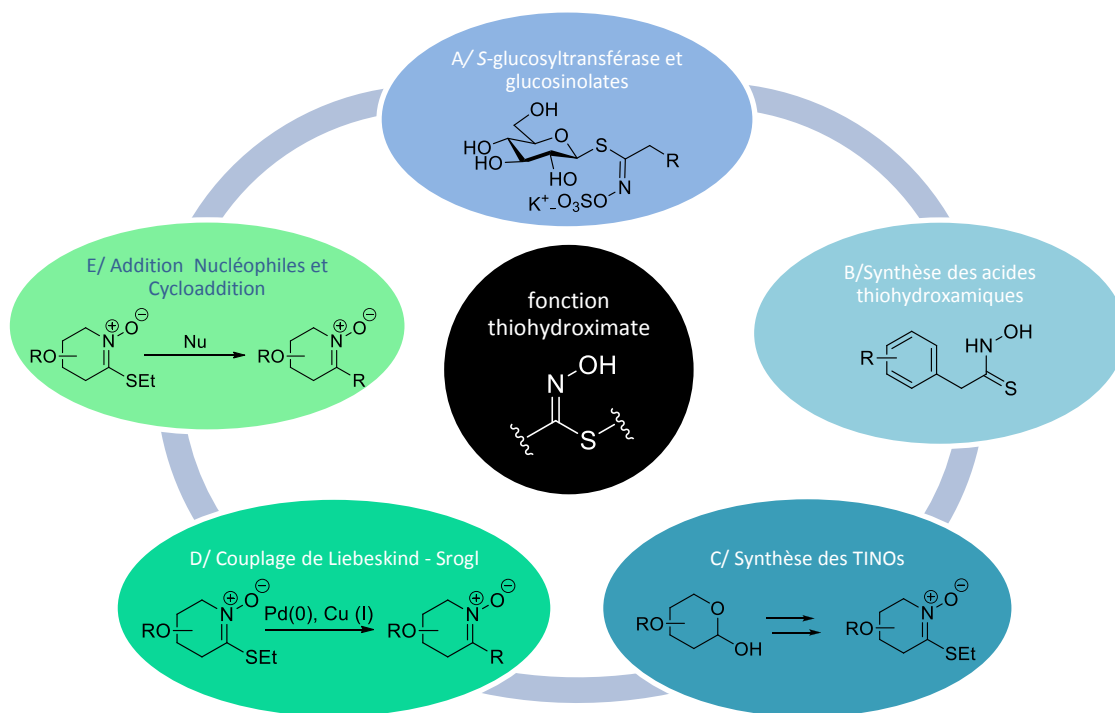


Schéma 3 rétrosynthèse envisagée pour l'accès aux iminosucres

Ce projet sera présenté selon cinq parties distinctes.



Tout d'abord, une étude bibliographique (**A**) sur la S-glucosyltransférase sera effectuée et nous permettra de mettre en évidence le rôle central de l'enzyme dans la formation des

glucosinolates. L'état de l'art des différentes études cinétiques sera également compilé dans cette partie.

Dans un second temps (**B**), les différentes méthodes de formation de la fonction thiohydroximate seront décrites. Différentes approches visant à obtenir les acides thiohydroxamiques ciblés seront exposées et comparées. Les premiers résultats des tests enzymatiques seront également présentés.

Le troisième chapitre (**C**) abordera la synthèse des *N*-oxydes de thioimidate sur charpente pyranose. La principale difficulté réside dans le fait de transposer les méthodes précédemment décrites au sein de l'équipe pour la synthèse des TINOs sur charpente furanose. En effet, des différences de réactivité ont été rencontrées, ayant nécessité la mise au point de nouvelles méthodes de synthèse.

Les quatrième (**D**) et cinquième (**E**) chapitres présentent la fonctionnalisation des TINOs synthétisés au moyen, d'une part de couplages pallado-catalysés et d'autre part, de réactions d'addition nucléophile. Dans le dernier chapitre, des réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire sur une cétonitrone seront également abordées.

Enfin, une conclusion générale permettra de rappeler les différents résultats obtenus au cours de ces travaux ainsi que de discuter de quelques perspectives.

Chapitre 1 : La S-glycosyltransférase

1. Rôle de la S-UGT

La S-glycosyltransférase (EC 2.4.1.195) appartient à la famille des glycosyltransférases (GTs), (EC 2.4.x.y). Ces enzymes forment des liaisons glycosidiques en catalysant le transfert d'un sucre activé (le «donneur») vers une molécule acceptrice (l'«accepteur») de façon régiospécifique et stéréospécifique. Cette réaction équivaut à une substitution nucléophile (**Schéma 4**). Les sucres donateurs peuvent être des sucres-nucléotides mono ou diphosphatés, des glycosylphosphates ou des glycolipides phosphatés. Les accepteurs peuvent être des sucres, des lipides, des protéines, mais également des petites molécules.¹

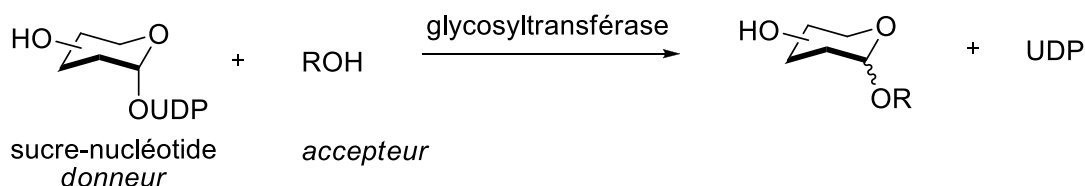


Schéma 4 schéma général de l'action d'une GT

Les glycosyltransférases sont fortement étudiées car elles sont impliquées dans de nombreux mécanismes biologiques. Elles interviennent notamment dans le stockage énergétique, dans la formation de la paroi cellulaire, dans les interactions et les signalisations cellulaires, dans les interactions hôte-pathogènes ainsi que dans la glycosylation des protéines. Les glycosyltransférases constituent une des plus vastes familles d'enzymes. En effet, les GTs représentent 1% de la séquence codante de l'ADN, tous organismes confondus.²

La base de données CAZy (Carbohydrate-Active enZymes), régulièrement mise à jour, répertorie à ce jour (juillet 2014) 144 447 GTs réparties en 96 familles de glycosyltransférases, par analogies de séquences d'acides aminés (CAZy database, <http://www.cazy.org/>).

Les glycosyltransférases sont également classées selon deux familles A et B, et se distinguent par leur structure secondaire et tertiaire (repliement tridimensionnel). En effet, malgré le nombre important de glycosyltransférases, leur arrangement tridimensionnel semble suivre seulement deux modèles. Dans la famille A, les GTs possèdent une architecture qui consiste en l'association de deux repliements de Rossmann³ stabilisés par un cation bivalent (Mg^{2+} , Mn^{2+}). Dans la famille B, les GTs s'organisent en deux repliements de Rossmann se faisant face et reliés entre eux par un lien flexible, le site catalytique se situant entre les deux repliements (**Figure 1**).^{2,4,5} La

¹ Coutinho, P.M. ; Deleury, E. ; Davies, G. J. ; Henrissat, B. *J. Mol. Biol.* **2003**, 328, 307 – 317.

² Hu, Y. ; Walker, S. ; *Chem. Biol.* **2002**, 9, 1287 – 1296.

³ Repliement de Rossmann : structure tridimensionnelle des protéines, association : feuillet β /hélice α /feuillet β ; feuillet β parallèle : chaînes polypeptidiques qui se longent l'une l'autre et qui vont dans le même sens, hélice α : chaînes polypeptidiques qui s'enroulent entre elles de façon régulière.

⁴ Breton, C ; Šnajdrova, L. ; Jeanneau, C. ; Koča, J. ; Imberty, A. *Glycobiology* **2006**, 16, 29R – 37R.

⁵ Chang, A. ; Singh, S. ; Phillips Jr., G.N. ; Thorson, J.S. *Curr. Opin. Biotech.* **2011**, 22, 800 – 808.

plupart des GT-A possèdent un motif commun dans le site actif de l'enzyme, il s'agit du motif DxD (soit Asp-x-Asp). Les fonctions carboxylates du motif DxD semblent capables de se coordonner avec le métal bivalent.^{6,7}

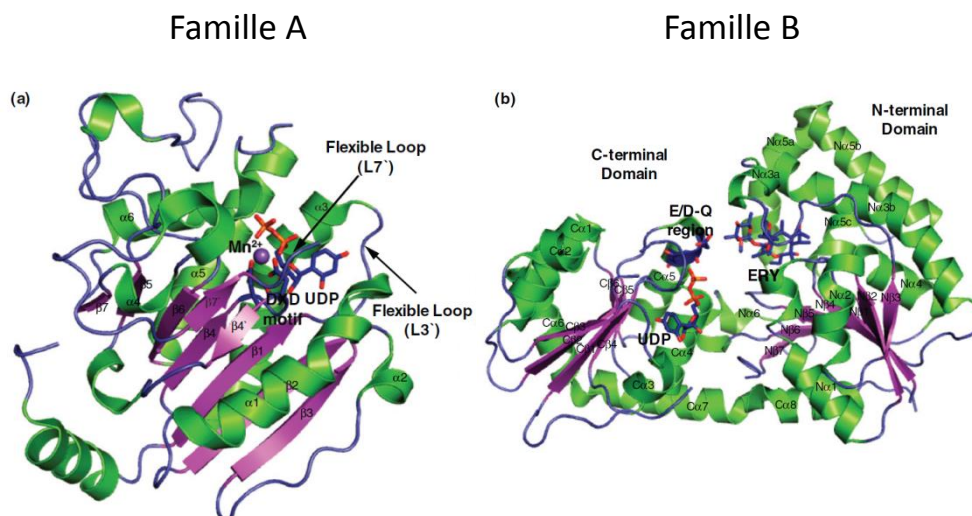


Figure 1 (a) GT-A de sang humain en présence d'UDP et de Mn^{2+} ; (b) GT-B d'oléandomycine en présence d'UDP et d'erythromycine⁵

Il existe également un second classement en fonction de la nature du donneur reconnu par l'enzyme. Ainsi, les GTs qui utilisent les nucléotides-sucres comme donneurs, appartiennent à la famille 1, dite de la voie de Leloir, du nom du prix Nobel de chimie, obtenu en 1970 pour cette découverte. Les glycosyltransférases non-Leloir, utilisent les glycosylphosphates, sucrose ou glycolipides-phosphates comme donneurs.

Par analogie avec les glycosidases, chaque famille A et B est divisée en deux sous-catégories de GTs différenciées selon leur mécanisme de glycosylation. En effet, la réaction catalysée par les GTs est une substitution nucléophile qui peut être effectuée avec inversion ou rétention de configuration au niveau du carbone anomérique du sucre donneur. Si le donneur de sucre est l'UDP- α -glucose, le produit de la réaction sera, dans le cas d'un mécanisme par inversion de configuration, un β -glucoside, et dans le cas d'un mécanisme par rétention de configuration, un α -glucoside.

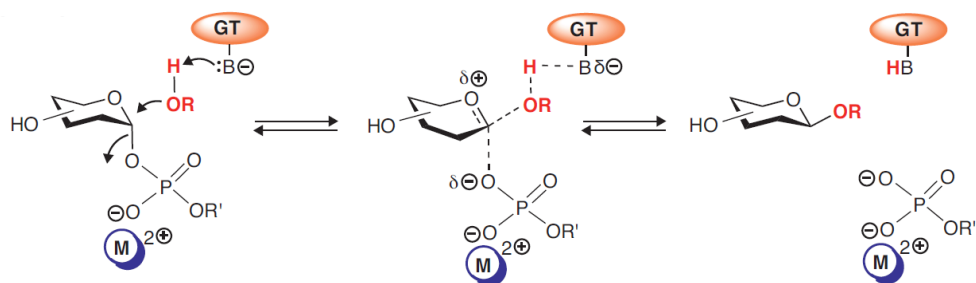
Le mécanisme suggéré permettant l'inversion de configuration est similaire à une réaction de type S_N2 . Le mécanisme passe par un intermédiaire oxocarbenium stabilisé, inspiré du mécanisme d'action des glycosidases (**Schéma 5**).⁸

⁶ Choi, S.H. ; Kim, H.S. ; Yoon, Y.J. ; Kim, D.M. ; Lee, E.Y. *J. Ind. End. Chem.* **2012**, *18*, 1208 – 1212.

⁷ Hansen, S.F. ; Bettler, E. ; Rinnan, Å. ; Engelsen, S.B. *Mol. BioSyst.* **2010**, *6*, 1773 – 1781.

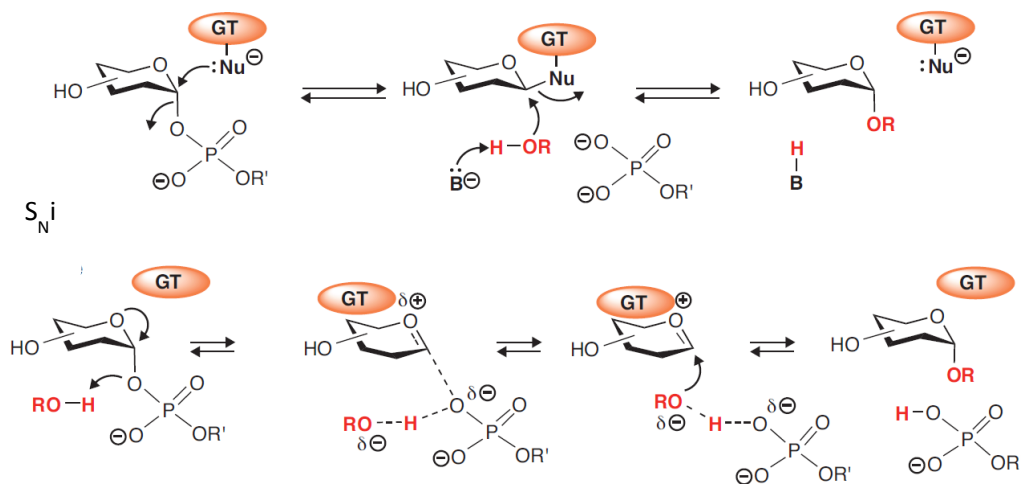
⁸ Breton, C. ; Fournel-Gigleux, S. ; Palcic, M.M. *Curr. Opin. Struc. Biol.* **2012**, *22*, 540 – 549.

Inversion


Schéma 5 mécanisme par inversion de configuration⁸

Dans le cas de la rétention de configuration, deux mécanismes sont envisagés. L'un consiste en une double inversion de configuration assistée par un acide aminé basique (noté Nu) et l'autre en une réaction de type substitution nucléophile intramoléculaire (S_Ni) (**Schéma 6**).⁹ Les deux semblent probables même si la voie de la S_Ni demande une énergie d'activation moins importante. Une généralisation semble être difficile car très peu de GTs sont entièrement caractérisées, tous ces mécanismes restent donc hypothétiques.

Double inversion


Schéma 6 mécanisme avec rétention de configuration *via* une double inversion ou une S_Ni ⁸

Dans la nature, la plupart des glycosyltransférases sont des *O*-glycosyltransférases mais il existe également des *N*-glycosyltransférases, des *C*-glycosyltransférases ainsi que des *S*-glycosyltransférases.¹⁰

L'action d'une *S*-glycosyltransférase permet la formation de thioglycosides ou thioglycopeptides, qui semblent plus résistants aux coupures enzymatiques que leurs homologues oxygénés.¹¹ La

⁹ Errey, J. C., Lee, S., Gibson, R. P., Martinez Fleites, C., Barry, C. S., Jung, P. M. J., O'Sullivan, A. C., Davis, B. G., Davies, G. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1234–1237

¹⁰ Guillotin, L.; Lafite, P.; Daniellou, R. *Carbohydr. Chem.* **2014**, *40*, 178–194.

¹¹ Lian, G.; Zhang, X.; Yu, B. *Carbohydr. Res.* **2014**, article in press (DOI: 10.1016/j.carres.2014.06.009)

présence de thioglycopeptides a été rapportée pour la première fois par Lote et Weiss en 1971,¹² ces composés ont été isolés d'urine et de sang humain, il s'agissait alors d'un octapeptide et d'un décapeptide

S-glycosylés. Cependant, l'enzyme impliquée dans la formation de ces composés n'a pas été isolée. Très récemment, l'équipe de Van der Donk a décrit la structure d'un glycopeptide antimicrobien, la sublancine 168, longtemps considéré comme un lantibiotique,¹³ qui contient une liaison thioglycosidique entre le soufre de la cystéine 22 et la position anomérique du glucose (**Schéma 7**). La S-glycosyltransférase impliquée dans la formation de la liaison C-S de la sublancine est appelée SunS (GT-2) et sa séquence peptidique présente de très nombreuses similitudes avec les O-glycosyltransférases. SunS a été exprimée chez *E.coli* puis utilisée pour montrer sa capacité à transférer une unité glucose provenant d'UDP- α -glucose sur la cystéine. Les auteurs ont démontré la flexibilité de cette enzyme, qui fonctionne également avec l'UDP- α -D-N-acétylglucosamine, l'UDP- α -D-galactose, le GDP- α -D-mannose ainsi que l'UDP- α -D-xylose comme donneurs.^{14,15}

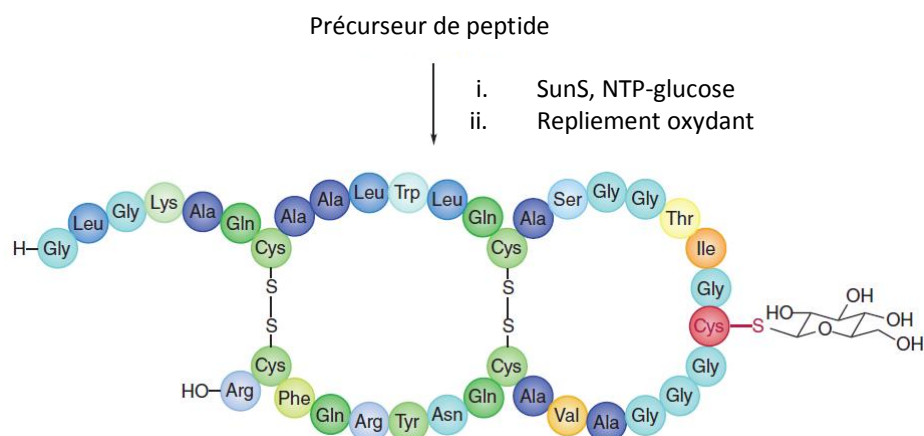


Schéma 7 la sublancine 168, un thioglycopeptide¹³

Un second exemple de thioglycopeptide, la glycocine F, sécrétée par *Lactobacillus plantarum* KW30 a été caractérisé et purifié par l'équipe de Norris en 2011. Ils ont montré qu'une des étapes de sa biosynthèse était une S-glycosylation du peptide au niveau du soufre de la cystéine 43 (**Figure 2**).¹⁶

¹² Lote, C.J. ; Weiss, J.B. *FEBS Lett.* **1971**, *16*, 81 – 85.

¹³ a) Paik, S.H. ; Chakicherla, A. ; Hansen, J.N. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 23134 – 23142. b) lantibiotique : peptide antibiotique contenant une lanthionine (acide aminé inhabituel soufré) ou dérivés de la lanthionine.

¹⁴ a) Wang, H. ; Van der Donk, W.A. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 16394 – 16397 ; b) Garcia De Gonzalo, C. V.; Zhu, L.; Oman, T. J.; van der Donk, W. A. *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 796–801.

¹⁵ Šardžik, R ; Both, P. ; Flitsch, S.L. *Nat. Chem. Biol.* **2011**, *7*, 69 – 70.

¹⁶ a) Stepper, J ; Shastri, S. ; Loo, T.S. ; Preston, J.C. ; Novak, P. ; Man, P. ; Moore, C.H. ; Havíček, V. ; Patchett, M.L. ; Norris, G.E. *FEBS Lett.* **2011**, *585*, 645 – 650. b) Venugopal, H.; Edwards, P. J. B.; Schwalbe, M.; Claridge, J. K.; Libich, D. S.; Stepper, J.; Loo, T.; Patchett, M. L.; Norris, G. E.; Pascal, S. M. *Biochemistry* **2011**, *50*, 2748–2755.

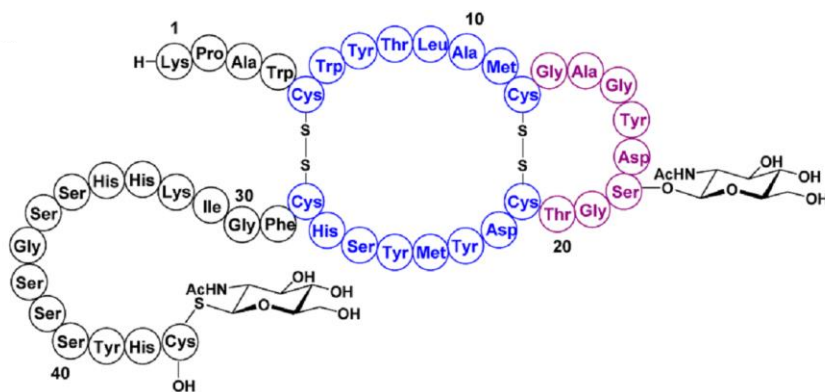


Figure 2 la glycocine F¹⁶

Malgré ces deux exemples récents, les thioglycosides les plus connus restent les glucosinolates (GLs). Les GLs sont des métabolites soufrés secondaires que l'on retrouve essentiellement dans les végétaux de l'ordre des Brassicales (famille des Brassicacées, crucifères) tels que les choux, la moutarde, le cresson, la capucine, la roquette, le wasabi. Plus de 120 GLs naturels ont été répertoriés en 2001.¹⁷ Plus récemment, une seconde revue a complété leur nombre à 132.¹⁸ Les GLs présentent une structure remarquable d'homogénéité ; ils se construisent autour d'une fonction thiohydroximate *O*-sulfatée de configuration *Z* reliée par le soufre au carbone anomérique d'un β -D-glucopyranose et portant une chaîne latérale R, seule variable notable (**Figure 3**).

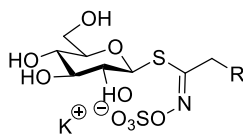


Figure 3 structure générale d'un glucosinolate

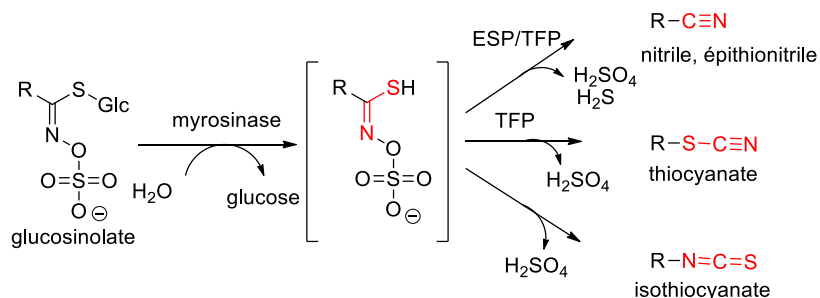
Les GLs sont essentiels dans les mécanismes de défense des Brassicales et sont connus pour leur rôle important dans la nutrition et la santé humaine, notamment pour le goût ainsi que leurs effets chimiopréventifs.¹⁹ Lorsque les plantes subissent une agression, les cellules sont endommagées et conduisent à la mise en contact des GLs et d'une glucohydrolase spécifique, la myrosinase (E.C. 3.2.1.147), présente dans la paroi cellulaire. L'hydrolyse des GLs par cette enzyme libère des molécules de défense dont les structures varient selon la nature de la chaîne latérale et dont les fonctions, isothiocyanates, nitriles, thiocyanates et oxazolidinethiones varient selon les conditions de pH et de température de l'hydrolyse (**Schéma 8**).²⁰

¹⁷ Fahey, J.W. ; Zalcmann, A.T. ; Talalay, P. *Phytochemistry* **2001**, 56, 5 – 51.

¹⁸ Agerbirk, N. ; Olsen, C.E. *Phytochemistry* **2012**, 77, 16 – 45.

¹⁹ a) Hayes, J.D. ; Kelleher, M.O. ; Eggleston, I.M. *Eur. J. Nutr.* **2008**, 47, 73 – 88. b) Montaut, S. ; Rollin, P. ; De Nicola, G.R. ; Iori, R. ; Tatibouët, A. *Phytothérapie* **2012**, 10, 342 – 349.

²⁰ Grubb, C.D. ; Abel, S. *Trends Plant Sci.* **2006**, 11, 89 – 100.



ESP : EpithioSpecific Protein
TFP : Thiocyanate Forming Protein

Schéma 8 dégradation des glucosinolates par la myrosinase

Les glucosinolates sont issus, lors de leur biosynthèse, principalement d'acides aminés essentiels. Ils ont donc été classés selon le type d'acide aminé dont ils proviennent : aliphatiques (dérivé de la méthionine par exemple), arylaliphatiques (dérivé de la phénylalanine), et indoliques (dérivé du tryptophane).²¹

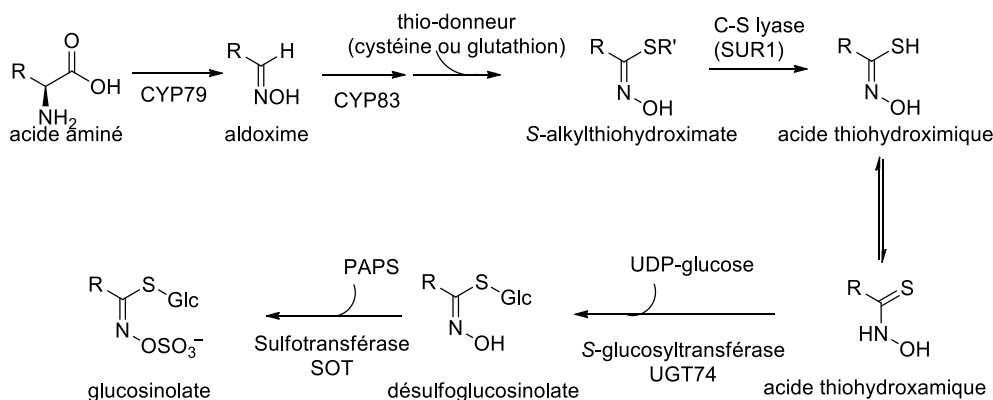


Schéma 9 biosynthèse des glucosinolates

La première étape de la voie de biosynthèse (**Schéma 9**) est une *N*-hydroxylation de l'acide α -aminé initial qui a éventuellement subi diverses étapes d'élongation ou de modification de la chaîne latérale. Une décarboxylation oxydante effectuée par les cytochromes P450 de la famille des CYP79 permet d'accéder à l'aldoxime.

L'oxime est oxydée par les cytochromes P450 de la famille des CYP83, il se forme alors des oxydes de nitriles, fortement électrophiles, qui sont instantanément piégés par un thiol pour former le dérivé *S*-alkylthiohydroximate.²⁰

La cystéine a très longtemps été considérée comme thio-donneur, cependant une étude récente a proposé un tripeptide, le glutathion, comme source de soufre et une enzyme, la glutathione *S*-transférase, qui pourrait catalyser l'addition du glutathion sur l'oxime formée préalablement.²¹

L'acide thiohydroxamique est ensuite formé par action d'une C-S lyase SUR1. Cet acide thiohydroxamique est l'accepteur de glucose pour la réaction suivante catalysée par une

²¹ Søndery, I.A. ; Geu-Flores, F. ; Halkier, B.A. *Trends Plant Sci.* **2010**, *15*, 283 – 290.

glucosyltransférase. L'enzyme permettant la formation de la liaison carbone-soufre en position anomérique du D-glucose est la S-glucosyltransférase de la famille UGT74. Il s'agit d'une glucosyltransférase particulière que l'on retrouve très rarement dans la nature. L'UDP- α -glucose transfère son unité sucre sur l'acide thiohydroximique pour former le désulfoglucosinolate possédant un lien β au niveau du sucre, il s'agit donc d'un mécanisme avec inversion de configuration. Ce désulfoglucosinolate subit alors l'action d'une sulfotransférase pour donner le glucosinolate correspondant.

La S-glucosyltransférase (S-UGT) a donc un rôle clé dans la formation des glucosinolates (**Schéma 10**). La S-UGT est une glucosyltransférase de type 1, dite de Leloir, elle appartient à la famille GT-B et agit par un mécanisme avec inversion de configuration. Il existe différentes S-glucosyltransférases selon la nature de la chaîne R variable du substrat. L'UGT74B1 est connue pour une spécialisation de réaction avec des acides thiohydroximiques dérivés de la L-phénylalanine (arylaliphatiques), l'UGT74C1 utilise vraisemblablement des dérivés de la L-méthionine (aliphatiques).²²

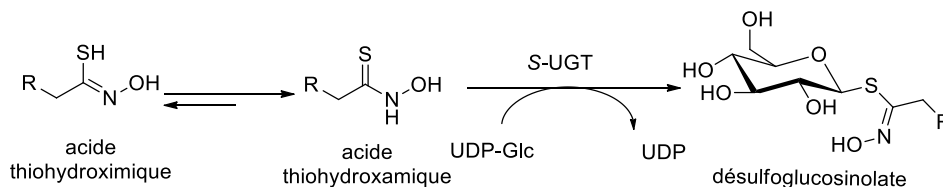


Schéma 10 formation du désulfoglucosinolate

La première étude de la S-glucosyltransférase a été effectuée en 1969 par Underhill. Il a été démontré qu'en présence d'UDP-glucose et de **phenylacetylthiohydroximate** (PATH), une enzyme isolée à partir de feuilles de *Tropaeolum majus* (capucine), permettait la formation du désulfoglucosinolate correspondant.²³

Les premières constantes cinétiques de l'enzyme ont été mesurées deux ans plus tard, de nouveau par l'équipe d'Underhill.²⁴ La valeur du Km pour PATH a été calculée à 0,65 mM et pour l'UDP-glucose à 1,54 mM. Un second substrat a été testé, le 4-méthylthiobutyrothiohydroximate, il a présenté un Km de 1,05 mM, l'UDP-glucose a alors montré un Km de 1,47 mM. Les valeurs de Km²⁵ ont été obtenues en effectuant des mesures avec une concentration constante de l'un des deux substrats (à 5 mM), tandis que la concentration en l'autre substrat, variait entre 0,2 et 5 mM.

La spécificité de l'enzyme pour l'UDP-glucose a été étudiée. Il s'est avéré que l'enzyme est inactive en présence d'adénosine diphosphate glucose, de cytidine diphosphate glucose ou encore de la guanosine diphosphate glucose. L'enzyme a pu être utilisée en présence de thymidine diphosphate glucose, cependant, l'activité est 10 fois moins efficace qu'en présence d'UDP-glucose. D'autre part, en présence d'UDP-galactose et d'UDP-xylose, l'enzyme n'a pas semblé être active.

²² Wang, Y. ; Pan, Y. ; Liu, X. ; Zhu, X. ; Zhai, L. ; Xu, L. ; Yu, R. ; Gong, Y. ; Liu, L. *Genomics*, **2013**, *14*, 836 – 848.

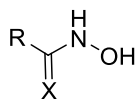
²³ Underhill, E.W. ; Matsuo, M. *Biochem. Bioph. Res. Co.* **1969**, *36*, 18 – 23.

²⁴ Underhill, E.W. ; Matsuo, M. *Phytochemistry* **1971**, *10*, 2279 – 2286.

²⁵ Km : constante de Michaelis-Menten correspondant à l'inverse de l'affinité de l'enzyme pour son substrat

Plusieurs acides thiohydroxamiques ont été testés en présence de l'enzyme et d'UDP-glucose, seul l'acétothiohydroximate n'a donné lieu à aucune conversion (**Tableau 1**, entrée 7). L'analogue oxygéné du PATH, c'est-à-dire l'acide hydroxamique correspondant, ainsi que des alcools aliphatiques et des thiols sont inactifs comme accepteurs de glucose (**Tableau 1**, entrées 8 à 11).

Tableau 1 spécificité de la S-UGT pour l'accepteur de glucose



Entrée	Substrats	Concentration (M)	Vitesse de réaction relative (%)
1	R = CH ₂ Ph, X = S	10 ⁻³	100
2	R = (CH ₂) ₃ SMe, X = S	10 ⁻³	77
3	R = (CH ₂) ₃ CH ₃ , X = S	10 ⁻⁶	70
4	R = (CH ₂) ₂ CH ₃ , X = S	10 ⁻⁵	50
5	R = <i>isobutyl</i> , X = S	10 ⁻⁴	41
6	R = Ph, X = S	10 ⁻⁶	10
7	R = Ac, X = S	10 ⁻⁵	0
8	R = CH ₂ Ph, X = O	10 ⁻⁴	0
9	Ethanol	10 ⁻³	0
10	β -mercaptoéthanol	10 ⁻⁴	0
11	hydrochlorure de cystéine	10 ⁻³	0

La S-glucosyltransférase a donc permis la formation de différents désulfoglucosinolates, aliphatiques ou arylaliphatiques. Dans le cas de l'acide thiohydroxamique aromatique (R = Ph), il est intéressant de noter que l'activité est 10 fois moins importante que dans le cas de l'acide thiohydroxamique benzylique (PATH) (**Tableau 1**, entrées 1 et 6).

Par ailleurs, différents inhibiteurs ont été testés, le chlorure de mercure ainsi que l'acide *p*-chloromercuribenzoïque ont inhibé fortement l'enzyme, tandis que le cyanure de potassium et l'acide iodoacétique sont restés sans effet. Différents activateurs ont également été étudiés (composé soufrés, chélatants et agents de réduction), le dithiotréitol a présenté la meilleure activation, avec une stimulation de 69% à 10⁻² M.

Plus récemment, en 1993, l'équipe d'Underhill, a isolé et purifié une S-glucosyltransférase de jeunes plants de *Brassica napus* (colza). De nouveau, les Km ont été calculés, leur valeur est de 0,05 mM pour le PATH et 0,046 mM pour l'UDP-glucose (estimée selon l'équation de Lineweaver-Burk)²⁶ contre 0,65 mM et 1,54 en 1971.²⁴ Cet écart peut s'expliquer par une meilleure purification de l'enzyme grâce à l'évolution des techniques de purification des protéines au cours du temps.

²⁶ Reed, D.W. ; Davin, L. ; Jain, J.C. ; Deluca, V. Nelson, L. ; Underhill, E.W. *Arch. Biochem. Biophys.* **1993**, *305*, 526 – 532.

Actuellement, le modèle pour l'étude des glucosinolates est la plante *Arabidopsis thaliana*.¹⁷ Cette plante de la famille des crucifères a largement été utilisée pour la recherche scientifique et produit une quarantaine de glucosinolates différents dérivés de seulement trois acides aminés (méthionine, phénylalanine et tryptophane).²⁷ En 2001, Petersen *et al* ont prouvé que l'enzyme présente dans *A. thaliana* (UGT74B1) était l'orthologue²⁸ de l'UDP-glucose thiohydroximate S-glucosyltransférase, présente dans *Brassica napus*.²⁹

Pour l'étude cinétique, l'UGT74B1 a été exprimée dans *E.coli* puis purifiée par chromatographie d'affinité. L'UGT74B1 a ensuite été mise en présence de PATH pour donner le désulfoglucosinolate correspondant. Ce dernier a été identifié selon son temps de rétention et le ratio A_{226nm}/A_{280nm} déterminé par chromatographie liquide haute performance (CLHP) par comparaison avec le désulfoglucosinolate obtenu par désulfatation enzymatique du glucosinolate commercial correspondant.³⁰ Grubb *et al.* ont alors pu déterminer les constantes cinétiques de l'enzyme, le K_m est de 0,058 mM pour le PATH et 0,48 mM pour l'UDP-glucose, ce qui est en parfaite corrélation avec les valeurs obtenues par l'équipe de Underhill en 1993. Le k_{cat} a été calculé à 1sec^{-1} ce qui donne un k_{cat}/K_m de $172\text{mM}^{-1}\text{sec}^{-1}$.

Grubb *et al.* ont également utilisé comme accepteur, l'acide indole-3-acétique, l'acide phénylacétique et l'acide salicylique. Cependant, aucune conversion n'a été observée. De la même façon, l'UGT84B1, une autre glucosyltransférase active sur ces trois composés, est apparue inactive vis-à-vis du PATH. D'autre part, deux enzymes de la famille UGT74, UGT74F1 et UGT74F2 n'ont pas reconnu le PATH comme accepteur de glucose, le substrat naturel de ces enzymes étant l'acide salicylique.

En 2013, l'équipe de Grubb a publié une étude complète de la cinétique d'UGT74B1 dans *Arabidopsis thaliana*, présentant les différents paramètres cinétiques de l'enzyme (**Tableau 2**).³¹

Tableau 2 paramètres cinétiques³²

Paramètres	UGT74B1
$K_{i_{UDPG}}$ (μM)	$1,62 \pm 0,43$
$K_{m_{TH}}$ (μM)	$0,67 \pm 0,13$
$K_{i_{UDP}}$ (μM)	$5,93 \pm 1,35$
$K_{i_{TH}}$ (μM)	$0,85 \pm 0,34$
V_{max} ($\text{pmol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ng}^{-1}$)	$0,28 \pm 0,04$

TH : acide thiohydroxamique, UDP : uridine diphosphate, UDPG : uridine diphosphate glucose

²⁷ Pfalz, M. ; Dalgaard Mikkelsen, M. ; Bednarek, P. ; Olsen, C.E. ; Halkier, B.A. ; Kroymann, J. *Plant J.* **2011**, *23*, 716 – 729.

²⁸ Enzymes orthologues : deux enzymes d'espèces différentes sont orthologues lorsqu'elles présentent une séquence génétique commune provenant d'un ancêtre commun.

²⁹ Petersen, B.L. ; Andréasson, E. ; Bak, S. ; Agerbirk, N. ; Halkier, A. *Planta* **2001**, *212*, 612 – 618.

³⁰ Grubb, C.D. ; Zipp, B.J. ; Ludwig-Müller, J. ; Masuno, M.N. ; Molinski, T.F. ; Abel, S. *Plant. J.* **2004**, *40*, 893 – 908.

³¹ Kopycki, J. ; Wieduwild, E. ; Kohlschmidt, J. ; Brandt, W. ; Stepanova, A.N. ; Alonso, J.M. ; Pedras, M.S.C. ; Abel, S. ; Grubb, C.D. *Biochem. J.* **2013**, *450*, 37 – 46.

³² K_i : constante de dissociation $K_{i_{substrat}} = [E][substrat]/[E\text{-substrat}]$, V_{max} : vitesse maximale pour une saturation du milieu en TH.

(UGT74F1), contrairement à l'étude précédente dans laquelle UGT74F1 et UGT74F2 semblaient être inactives vis-à-vis de PATH.³⁰ Par la suite, deux acides thiohydroxamiques sont utilisés pour caractériser l'activité des six protéines UGT74 : le 4-méthylthiobutylthiohydroximate (MTBTH) et le 4-méthylsulfanylbutylthiohydroximate (MIATH). Cependant, l'équipe de Grubb n'a pas réussi à caractériser UGT74C1 exprimée dans *Nicotiana Benthamiana* (tabac), mais a pu caractériser les cinq autres (**Tableau 3**) et ainsi ont pu affirmer que les UGT74 sont particulièrement aptes à effectuer la glycosylation de la fonction thiohydroximate, en comparaison des 86 autres UGTs testées.

Tableau 3 paramètres cinétiques des UGT74s vis-à-vis de MIATH ET MTBTH³⁴

Enzyme	MIATH		MTBTH	
	k_{cat} (sec ⁻¹)	Km app (μM)	k_{cat} (sec ⁻¹)	Km app (μM)
UGT74B1	36,5 ± 26,2	17,2 ± 7,1	2,28 ± 0,79	1,48 ± 0,55
UGT74C1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UGT74D1	0,11 ± 0,06	158 ± 90	0,0303 ± 0,0037	462 ± 67
UGT74E2	0,009 ± 0,010	232 ± 136	0,0164 ± 0,0019	159 ± 36
UGT74F1	0,182 ± 0,028	235 ± 39	0,0267 ± 0,0046	110 ± 39
UGT74F2	0,021 ± 0,012	130 ± 161	n.d.	>300

Pour UGT74C1, ils émettent l'hypothèse qu'une seconde enzyme est nécessaire à son activation, et que celle-ci n'est pas présente dans le tabac. Afin de confirmer l'implication d'UGT74C1 dans la synthèse des glucosinolates aliphatiques, Grubb *et al.* ont effectué une étude *via* une approche génétique. En réalisant des simples et doubles mutations, ils ont pu confirmer leur hypothèse. Il semblerait également, qu'*in vivo*, UGT74C1 soit d'autant plus active que les substrats possèdent une longue chaîne.

C. papaya, espèce qui ne synthétise pas de glucosinolates aliphatiques, ne possède pas d'homologue d'UGT74C1, ce qui est un élément supplémentaire dans la compréhension du rôle d'UGT74C1. D'autre part, le double mutant qui ne possède ni l'activité UGT74B1 ni l'activité UGT74C1 permet tout de même la formation de 25% des glucosinolates présents dans la souche sauvage. Il est donc possible qu'il y ait une troisième enzyme impliquée dans la biosynthèse des glucosinolates.

2. Objectifs de l'étude cinétique de la S-UGT

Pour l'étude cinétique de l'enzyme effectuée en partenariat avec l'équipe du Pr. Richard Daniellou et du Dr. Pierre Lafite, il est nécessaire de synthétiser les substrats naturels. Dans le cas de l'UGT74B1, le substrat naturel est l'acide phénylacétylthiohydroxamique **1** (PATH) également appelé acide benzylthiohydroxamique (**Schéma 12**).

³⁴ k_{cat} (constante de vitesse) : nombre de molécules de substrats convertis en produit par molécule d'enzyme et par unité de temps. Km app : Km observé en présence d'inhibiteur.

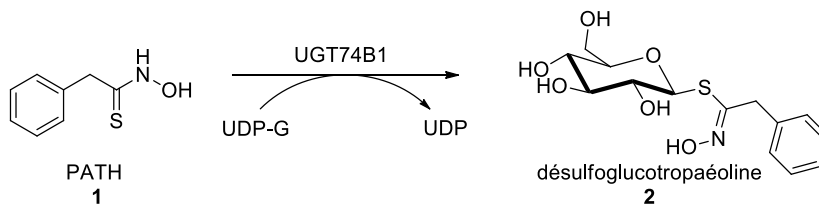


Schéma 12 substrat et produit naturel de l'UGT74B1

Le PATH 1 possède un groupement « aromatique », il nous semblait donc intéressant d'étudier son influence, en le remplaçant par une chaîne aliphatique. Le second substrat modèle est donc l'acide thiohydroxamique à 6 carbones **3** (Figure 4).

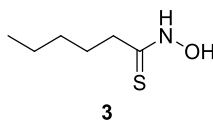


Figure 4 acide hexylthiohydroxamique, second substrat modèle

Les désulfoglucosinolates **2** et **4**, produits de l'enzyme, correspondant aux deux substrats seront également synthétisés (Figure 5).

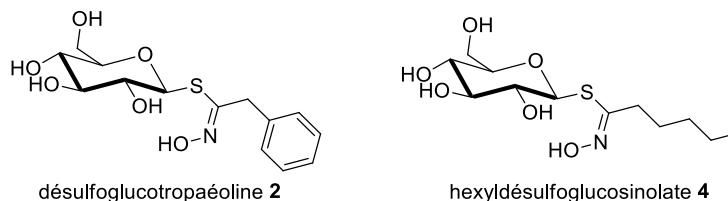


Figure 5 désulfoglucosinolates correspondant aux substrats modèles

Une fois les constantes cinétiques de l'enzyme mesurées et comparées à celles de la littérature, il serait intéressant d'utiliser la S-UGT pour des réactions qu'elle ne catalyse pas naturellement. En effet, les glycosyltransférases s'arrangent selon deux modèles tridimensionnels uniquement, il serait donc envisageable de manipuler les glycosyltransférases afin de leur faire synthétiser des glycosides modifiés.² Dans le cas de la S-UGT, il semblerait possible d'introduire différents sucres (mannose, galactose) sur l'acide thiohydroxamique afin d'obtenir des désulfomannosinolates et désulfogalactosinolates artificiels (i). Il serait également envisageable d'utiliser la S-glucosyltransférase afin d'introduire une liaison C-S, résistante à la métabolisation, en utilisant de simples composés soufrés comme accepteur, ne possédant pas nécessairement la fonction thiohydroximate (ii) (Schéma 13).

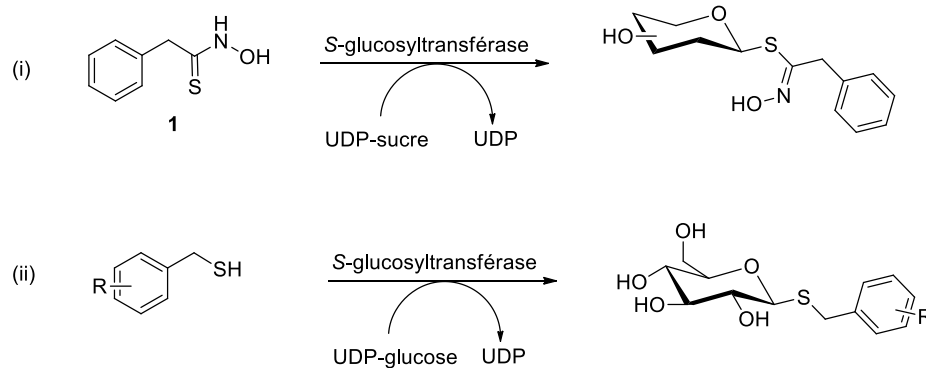


Schéma 13 synthèses chimio-enzymatiques envisagées

Il est intéressant de noter que les réactions chimio-enzymatiques sont effectuées sans protection préalable du sucre contrairement aux conditions de glycosylation chimique. De plus, l'intérêt principal de glycosyler une molécule bioactive est d'augmenter son caractère hydrophile et donc sa solubilité dans le milieu cellulaire, caractéristique qui leur fait souvent défaut.

3. Inhibiteurs de glucosyltransférases

Nous nous proposons également d'appréhender l'état de transition de la S-UGT. Pour ceci, il est nécessaire de synthétiser des inhibiteurs de cette enzyme. D'après l'étude de Grubb,³¹ l'UDP est un inhibiteur compétitif de l'UDP-glucose mais deux désulfoglucosinolates (désulfosinigrine **5** et désulfoglucobrassicine **6**, Figure 6) n'ont montré aucun effet sur l'UGT74B1 même à très haute concentration.

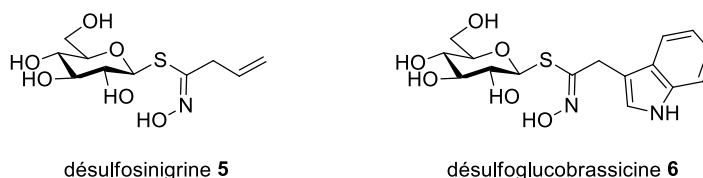


Figure 6 structure de la désulfoglucobrassicine et de la désulfosinigrine

Les mécanismes des GTs sont mal connus, et ceci est particulièrement dû au nombre de partenaires qui interviennent dans la réaction : le donneur, l'accepteur et le métal. L'état de transition de la S-UGT n'a jamais été étudié *via* la synthèse d'inhibiteurs. Il est nécessaire de s'inspirer des études concernant d'autres GTs. Il est établi que la principale stratégie pour élaborer la structure d'un inhibiteur est de synthétiser des analogues de l'accepteur, du donneur ou de l'état de transition, c'est-à-dire des bi-substrats ou des tri-substrats. Les analogues qui miment l'état de transition (Figure 7) ont l'avantage de se lier plus fortement à l'enzyme que le donneur ou l'accepteur. En effet, les valeurs de K_m des substrats sont de l'ordre du millimolaire.³⁵ Les mimes du

³⁵ a) Whalen, L. J.; Greenberg, W. A.; Mitchell, M. L.; Wong, C.-H. *Iminosugar-based glycosyltransferase inhibitors*. In *Iminosugars: From Synthesis to Therapeutic Applications*, Compain, P. and Martin, O., Eds. Chichester: Wiley VCH, **2007**, p. 153 – 173. b) Compain, P.; Martin, O.R. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 3077 – 3092; c) Izumi, M.; Yuasa, H.; Hashimoto, H. *Curr. Top. Med. Chem.* **2009**, *9*, 87 – 105.

donneur ont l'avantage de se lier fortement au site actif, mais ils sont peu spécifiques d'une glycosyltransférase. Les mimes de l'accepteur se lient très faiblement au site actif mais sont souvent spécifiques. Pour cibler ces enzymes, les inhibiteurs bi-substrats semblent être les plus prometteurs car ils allient à la spécificité, le potentiel d'une forte inhibition par la combinaison du donneur et de l'accepteur.

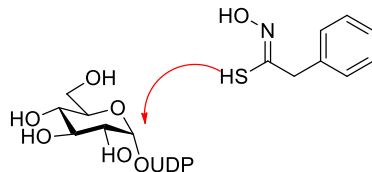


Figure 7 mécanisme supposé pour UGT74B1 : mécanisme par inversion de configuration⁸

Il existe un exemple d'inhibiteur bi-substrats naturel : la tunicamycine **7** (**Figure 8**) inhibe la *N*-acétylglycosaminyle phosphotransférase (GlcNAc phosphotransférase) qui synthétise la dolicholdiphospho-*N*-acétylglycosamine à partir de l'uridine-5'-diphospho- α -D-*N*-acétylglycosamine et de dolicholphosphate.³⁶

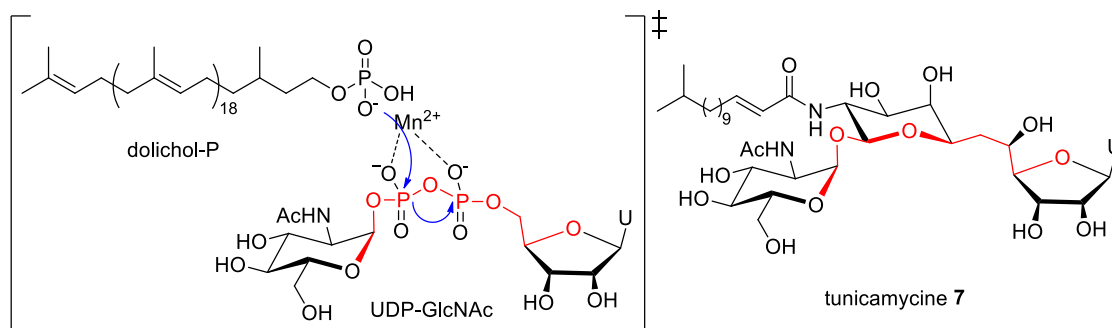


Figure 8 la tunicamycine, un inhibiteur bi-substrats de GlcNAc phosphotransférase

Des données conformationnelles sont nécessaires à l'élaboration de l'inhibiteur. Il est préférable de connaître les positions relatives du donneur et de l'accepteur.

L'un des premiers inhibiteurs bi-substrats ayant une activité a été synthétisé en 1989 par l'équipe de Hindsgaul afin d'inhiber l' α -1,2-fucosyltransférase.³⁷ L'inhibiteur synthétisé **8** présente une liaison flexible entre GDP (guanosine 5'-diphosphate) et l'oxygène en C₂ du résidu galactose qui permet de mimer l'orientation naturelle entre les deux substrats dans le site actif de l'enzyme (**Figure 9**). Les valeurs de Km ont été de 2,6 mM et 7,3 μ M respectivement pour l'accepteur, β -D-galactopyranoside, et pour le sucre-donneur, GDP-fucose. Le mode d'inhibition a clairement été défini comme compétitif vis-à-vis des deux substrats, avec des valeurs de Ki de 16 et 2,3 μ M, pour l'accepteur et le donneur, respectivement. Cet inhibiteur ne possède pas le mime du fucose et donc de la fonction oxocarbenium formée intermédiairement.

³⁶ Izumi, M. ; Yuasa, H. ; Hashimoto, H. *Curr. Top. Med. Chem.* **2009**, 9, 87 – 105.

³⁷ Palcic, M.M. ; Heerze, L.D. ; Srivastava, O.P. ; Hindsgaul, O. *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 17174 – 17181.

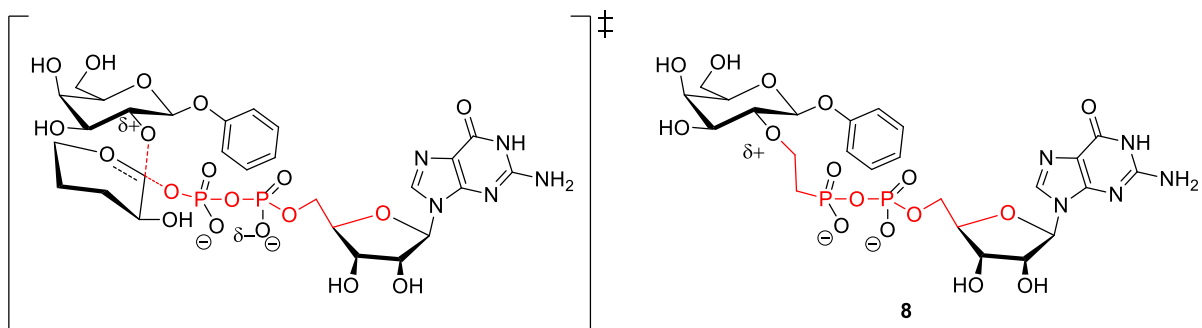


Figure 9 état de transition de la réaction de la α -1,2-fucosyltransférase et analogue bi-substrats synthétisé

L'équipe de Van Boom a publié en 1995 deux articles sur la synthèse d'analogues tri-substrats de l' α -1,3-fucosyltransférase.^{38,39} Ils ont utilisé le terme de tri-substrats en lieu et place de bi-substrats de Hindsgaul qui ne possédait pas dans sa structure le sucre donneur mais uniquement le nucléotide. Par la suite, les inhibiteurs « bi-substrats » présentent un mime du sucre-donneur. Van Boom a donc synthétisé deux sucres α,α -disubstitués **9** et **10** ainsi qu'un sucre α,β -disubstitué **11** mimant l'état de transition (**Figure 10**). Cependant, aucun test enzymatique n'a été rapporté depuis.

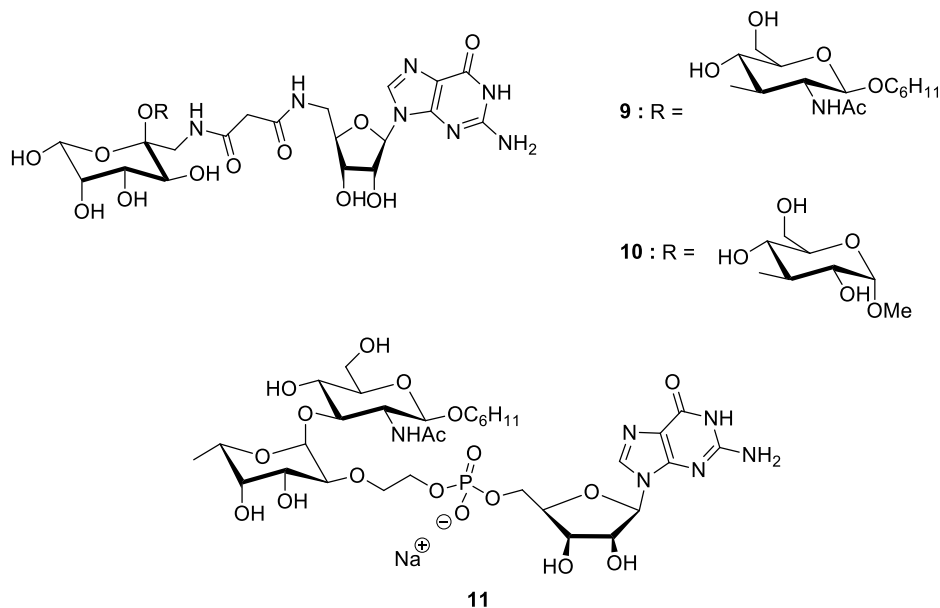


Figure 10 trois inhibiteurs potentiels de fucosidase

³⁸ Heskamp, B. M. ; Veeneman, G. H. ; Van Der Marel, G. A. ; Van Boeckel, C.A.A. ; Van Boom, J.H. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 8397 – 8406.

³⁹ Heskamp, B.M. ; Van Der Marel, G.A. ; Van Boom, J.H. *J. Carbohydr. Chem.* **1995**, *14*, 1265 – 1277.

En 1997 l'équipe d'Hashimoto a synthétisé un inhibiteur bi-substrats **12** (**Figure 11**).⁴⁰ Le groupement hydroxyle en C₂ de l'UDP-galactose est lié au C₆ de la *N*-acétylglucosamine par un méthylène afin de mimer la distance qu'il existe lors de l'approche du substrat, entre le donneur et l'accepteur.

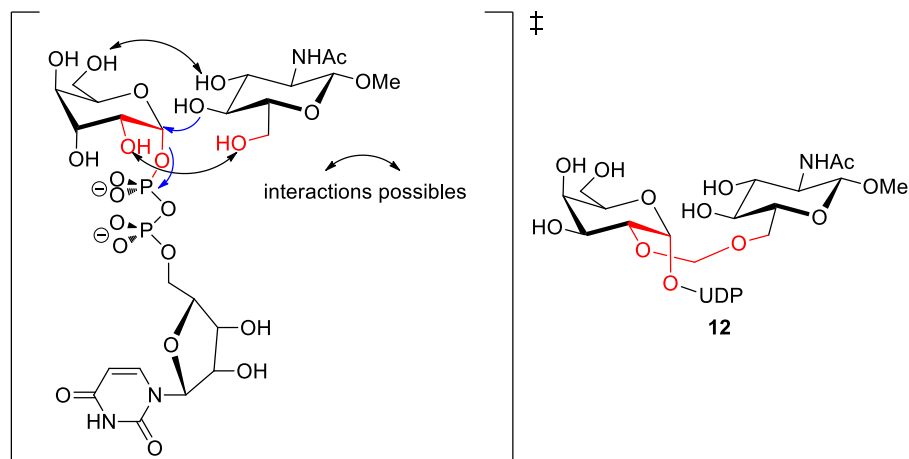


Figure 11 état de transition proposé lors de la réaction catalysée par la β -1,4-galactosyltransférase et structure de l'inhibiteur synthétisé

La molécule synthétisée est un puissant inhibiteur de β -1,4-galactosyltransférase. Ses constantes d'inhibition ont été calculées à 1,35 μ M pour l'inhibition de GlcNAc et à 3,3 μ M pour l'inhibition de l'UDP-galactose.⁴⁰

En 2001, l'équipe de Schmidt a synthétisé deux inhibiteurs bi-substrats **13a** et **13b** de l' α -1,3-galactosyltransférase, basés sur l'état de transition supposé (**Figure 12**).⁴¹

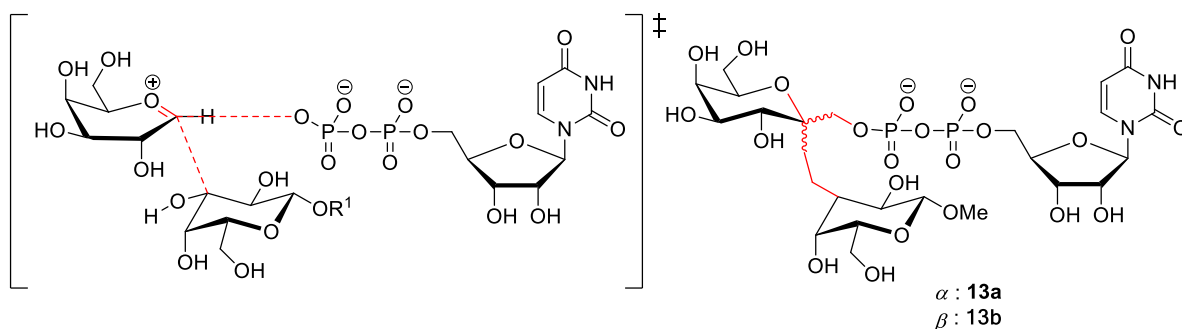


Figure 12 état de transition de l' α -1,3-galactosyltransférase et inhibiteur bi-substrats synthétisé

Dans les structures envisagées d'inhibiteurs, l'accepteur et le sucre-donneur sont reliés entre eux par des liaisons non-hydrolysables. L'inhibiteur proposé est un galactose α , α -disubstitué d'une part par un nucléoside diphosphate séparé par un lien éther et d'autre part par une unité galactose

⁴⁰ Hashimoto, H. ; Endo, T. ; Kajihara, Y. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 1914 – 1915.

⁴¹ Waldscheck, B. ; Streiff, M. ; Notz, W. ; Kinzy, W. ; Schmidt, R.R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4007 – 4011.

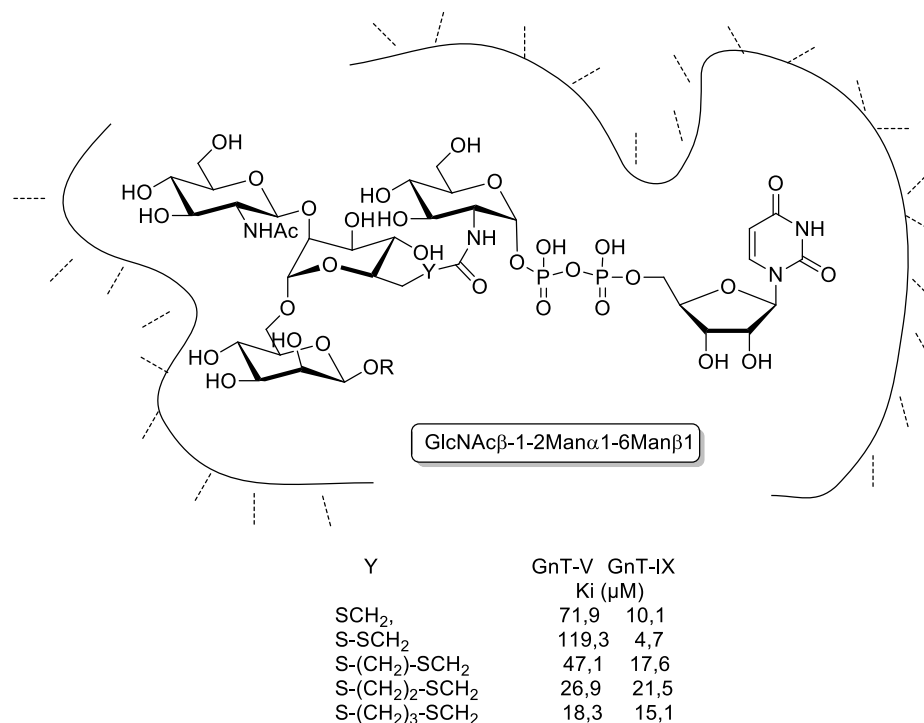


Figure 14 inhibiteurs de *N*-acétylglucosaminyltransférases de type bi-substrats possédant un lien de longueur variable et valeurs de K_i

Ils ont déterminé des valeurs de K_i pour GnT-V (*N*-acétylglucosaminyltransférase V) et GnT-IX (*N*-acétylglucosaminyltransférase IX) de l'ordre du micromolaire.

Une autre stratégie est de remplacer l'atome d'oxygène endocyclique par un groupe méthylène afin d'accéder à des carbasucres également impliqués dans l'inhibition des glycosidases et glycosyltransférases par leur capacité à mimer la conformation du sucre ou de remplacer l'atome d'oxygène endocyclique par un atome d'azote. La molécule résultante, couramment nommée « iminosucre » présente à pH physiologique, un atome d'azote sous forme protonnée. Cette forme peut alors interagir avec les résidus anioniques du site catalytique de l'enzyme et bloquer le processus enzymatique. Les iminosucres ont été en premier lieu, connus comme inhibiteurs de glycosidases, puis par la similitude des mécanismes, des glycosyltransférases.³⁵

Nous nous proposons alors de combiner ces deux dernières stratégies : synthèse d'iminosucres et synthèse d'inhibiteurs bi-substrats, en mettant au point une stratégie de synthèse d'iminosucres bi-substrats, inhibiteurs potentiels de la S-UGT.

Il ne semble pas exister d'iminosucres disubstitués par le nucléoside et par l'accepteur, montrant des activités inhibitrices de glycosyltransférases. Cependant, il existe des iminosucres présentant le sucre donneur monosubstitué par un mime de l'accepteur. Ces iminosucres sont considérés comme des inhibiteurs bi-substrats même si le nucléoside n'y est pas représenté.

Dans le cas des fucosyltransférases, les analogues bi-substrats allient le mime « iminosucre » du fucose ainsi qu'un sucre-accepteur. Des inhibitions représentées par un IC_{50} de

l'ordre du milli- ou du micromolaire ont été observées. Il a également été décrit un effet synergique de l'inhibiteur bi-substrats et du nucléoside (**Figure 15**).

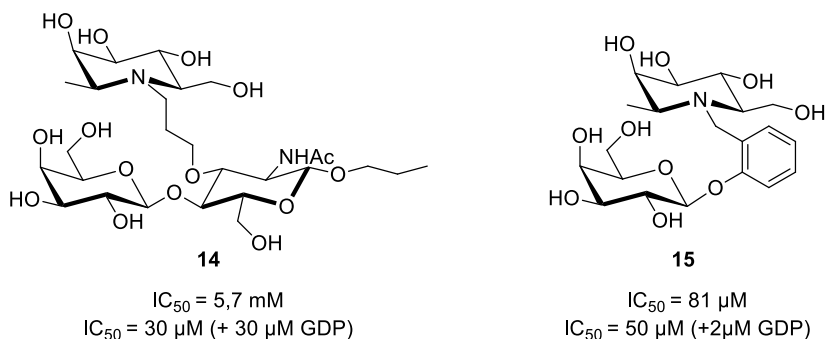


Figure 15 exemples d'inhibiteurs bi-substrats de fucosyltransférase

Les imino-C-nucléosides sont également des candidats envisagés pour l'inhibition des glycosyltransférases. Ils miment l'état de transition supposé, cependant ils ne sont pas considérés comme bi-substrats car ils ne miment que le sucre donneur. En effet, l'iminosucre mime le sucre qui subit la réaction de substitution nucléophile (celui qui possède la charge partielle positive) alors que le nucléoside mime le groupe partant. Le nucléoside est d'ailleurs séparé du carbone anomérique par un CH_2 afin d'imiter la distance supposée entre les deux molécules.

Kim *et al.* reportent ainsi des inhibiteurs de chitine synthase tel que le composé **16** qui présente un K_i de $30 \text{ } \mu\text{M}$. Tandis que l'inhibiteur bi-substrats correspondant **17** ne présente aucune activité (**Figure 16**).⁴⁴

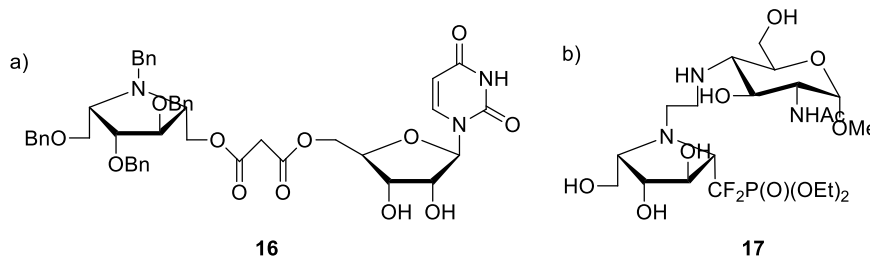


Figure 16 a) imino-C-nucléoside et b) inhibiteur bi-substrats de chitine synthase

Plus récemment dans cette approche, le méthylène séparant l'iminosucre du nucléoside a été remplacé par un groupement CF_2 ce qui a permis d'obtenir des molécules ayant des K_i de l'ordre du millimolaire (**Figure 17**).⁴⁵

⁴⁴ Kim, Y. J.; Ichikawa, M.; Ichikawa, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5829-5830

⁴⁵ Gautier-Lefebvre, I.; Behr, J.-B.; Guillermin, G.; Muzard, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 1255 – 1261.

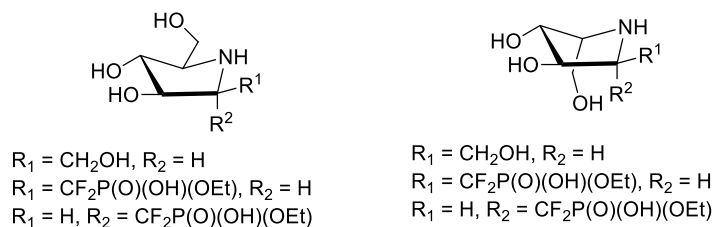


Figure 17 pyrrolidines polyhydroxylées inhibitrices de chitine synthase

La plupart des iminosucres synthétisés ont pour le moment été testés principalement comme inhibiteurs de glycosidases. Il existe actuellement très peu d'inhibiteurs de glycosyltransférases performants.

4. Vers des inhibiteurs de la S-UGT

La mise au point d'inhibiteurs est un moyen d'apporter des informations quant au mécanisme d'action d'une enzyme. L'inhibiteur que nous ciblons est un iminosucre α,α -disubstitué mimant l'état de transition supposé lors de la formation de la liaison C-S en position anomérique du D-glucose effectuée par la S-UGT (**Schéma 14**). La présence de deux groupements méthylène en α du carbone anomérique permettrait alors de mimer la distance qu'il semble exister entre les différents partenaires lors de l'approche de l'acide thiohydroxamique et du départ de l'UDP. Cette distance pourra être modulée en fonction des résultats enzymatiques obtenus.

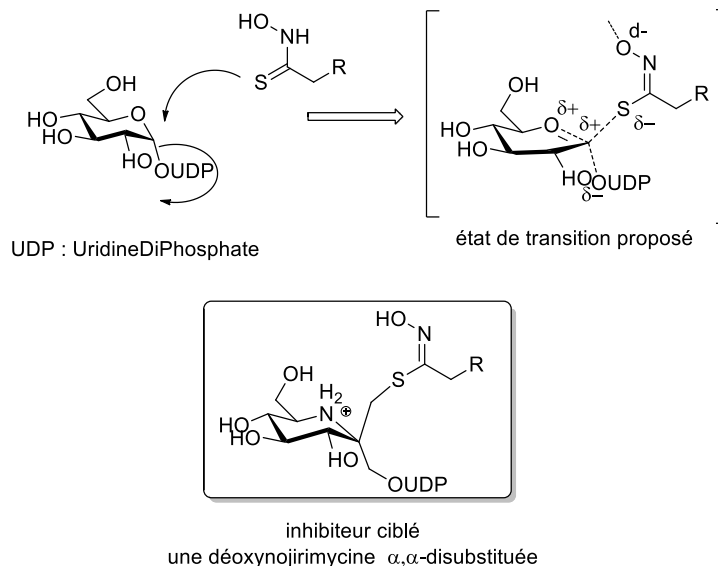


Schéma 14 état de transition supposé de la réaction de la S-UGT et iminosucre ciblé

Nous nous proposons donc de synthétiser des iminosucres α,α -disubstitués. Ces derniers seront obtenus suite à une double fonctionnalisation d'un intermédiaire de type N-oxyde de thioimide (TINO) sur charpente D-gluco (**Schéma 15**). Cette fonction TINO, obtenue après

cyclisation d'une fonction thiohydroximate, nous a semblé un point de départ intéressant du fait de sa potentielle réactivité vis-à-vis de nombreux partenaires.

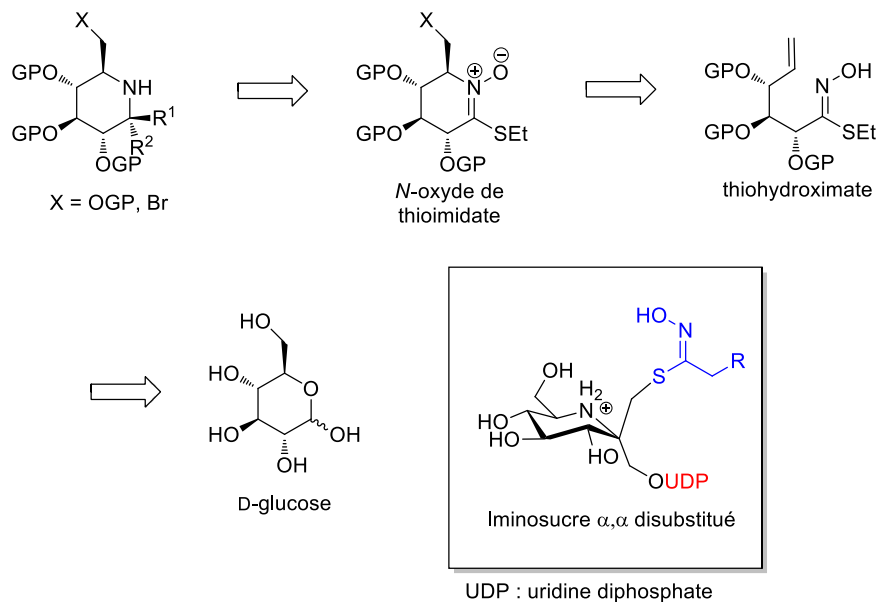


Schéma 15 rétrosynthèse envisagée et inhibiteur ciblé

5. Conclusion

Il est intéressant de noter que la fonction thiohydroximate est un élément clé dans l'étude de la S-glucosyltransférase. Elle est présente à la fois comme intermédiaire dans la synthèse des inhibiteurs mais également dans les substrats et produits de l'enzyme (**Figure 18**).

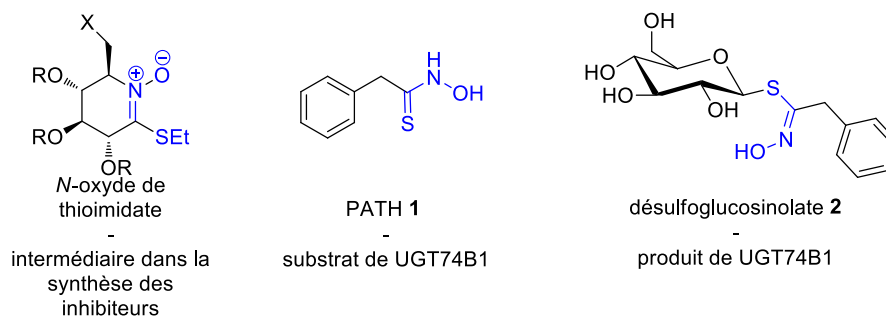


Figure 18 rôle clé de la fonction thiohydroximate

Dans le chapitre suivant, la synthèse des substrats et produits de l'enzyme sera exposée. Les résultats des premiers tests enzymatiques seront également présentés.

Chapitre 2 : Synthèse des substrats et des produits de la S-UGT

1. Généralités sur la fonction thiohydroximate/acide thiohydroxamique

Les acides thiohydroxamiques sont les analogues soufrés des acides hydroxamiques (**Figure 19**). Les acides thiohydroxamiques, et plus généralement les molécules possédant la fonction thiohydroximate, sont remarquables car ils possèdent un enchaînement de quatre atomes différents : O, N, C et S.



Figure 19 structure des acides hydroxamiques et thiohydroxamiques

En 1966, Nagata *et al.* ont montré par une étude de spectroscopie infrarouge que les acides thiohydroxamiques existent sous la forme « thione » à l'état solide. L'équilibre tautomérique thiol (thiohydroximique) et thione (thiohydroxamique) est présent lorsque le produit est un liquide ou lorsqu'il est en solution (**Schéma 16**).⁴⁶

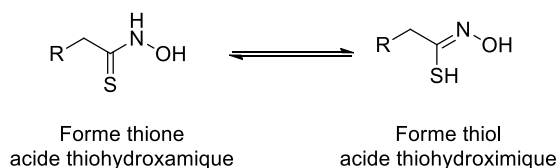


Schéma 16 formes tautomères

L'étude de Nagata sur les acides thiohydroxamiques a montré une sélectivité d'alkylation au soufre en solution aqueuse pour donner des composés *S*-alkylés ou *S,O*-dialkylés. En l'absence d'agent alkylant, l'acide thiohydroxamique peut dimériser en formant une liaison disulfure. Le dimère peut se décomposer pour conduire à des isothiocyanates et des 1,3-dialkyl-2-thiourées suivant un réarrangement de type Lossen en présence de carbonate de sodium.⁴⁶

Tout comme les thioamides, les acides thiohydroxamiques *N*-alkylés ou *S*-alkylés sont présents sous la forme de deux isomères *Z* et *E*. Dans le cas des acides thiohydroximiques *N*-substitués, une liaison hydrogène, uniquement possible pour l'isomère *Z*, est observée entre le soufre et l'hydrogène du groupement hydroxyle. Un équilibre entre les deux formes existe dans un solvant tel que le DMSO qui empêche la formation de liaisons hydrogènes. Dans le cas des acides thiohydroxamiques *S*-alkylés, l'isomère *Z* est largement favorisé. Sous irradiation UV, la conversion de l'isomère *Z* en isomère *E* est possible mais temporaire par retour à l'équilibre thermodynamique (**Schéma 17**).⁴⁷

⁴⁶ Nagata, K. ; Mizukami, S. *Chem. Pharm. Bull.* **1966**, *14*, 1263 – 1272.

⁴⁷ Walter, W. ; Schaumann, E. *Synthesis*, **1971**, *3*, 111 – 130.

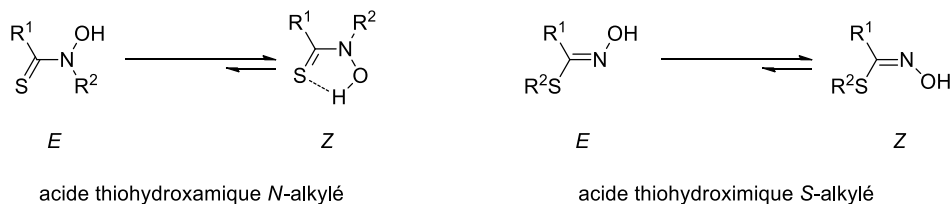


Schéma 17 équilibre E/Z pour les acides thiohydroxamiques S et N alkylés

Le pKa dans l'eau des acides thiohydroxamiques a été estimé entre 4,2 et 5,6 selon la nature du substituant (**Schéma 18**).⁴⁸

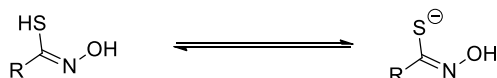


Schéma 18 équilibre acido-basique d'un acide thiohydroxamique

Les acides thiohydroxamiques non substitués présentent une certaine instabilité et se décomposent par extrusion de l'atome de soufre pour former des nitriles et de l'eau,⁴⁷ notamment lorsqu'ils ne sont pas protégés de la lumière. Leurs analogues N-substitués semblent plus stables.⁴⁹ Les acides thiohydroxamiques sont également capables de se coordonner de façon bivalente à des métaux tels que le Fe³⁺, le Ni²⁺ et le Cu²⁺ pour former des complexes colorés. Ils sont ainsi utilisés en chimie analytique pour déterminer de façon quantitative et qualitative la présence de métaux en solution.⁴⁹ Une étude montre leur implication dans le transport du Fe³⁺ chez les bactéries, tout comme leurs analogues oxygénés (les ions Fe³⁺ ne sont pas solubles dans le milieu bactérien contrairement aux ions Fe²⁺).⁵⁰ Les acides thiohydroxamiques sont naturellement présents dans les algues, les champignons et les bactéries sous la forme de thioformines (**Figure 20**) telles que l'acide N-méthyl-N-thioformylhydroxamique **18** pour le transport du Fe³⁺. Ils sont toutefois largement minoritaires par rapport aux acides hydroxamiques.⁵¹

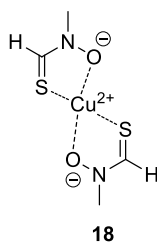


Figure 20 une thioformine : la fluopsine C

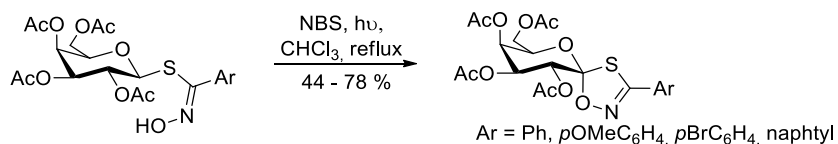
D'autre part, l'équipe de Christophersen a effectué une étude infrarouge qui montre qu'en présence de Ni²⁺ et de Cu²⁺, un précipité (jaune pour le nickel et marron pour le cuivre) se forme. Il

⁴⁸ Nagata, K. ; Mizukami, S. *Chem. Pharm. Bull.* **1966**, *14*, 1255 – 1262.

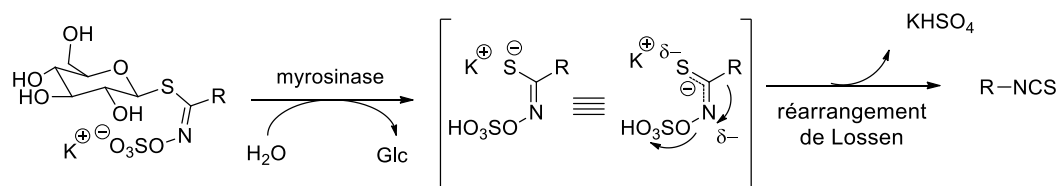
⁴⁹ Brydon, G.A. ; Ryan, D.E. *Anal. Chim. Acta* **1966**, *35*, 190 – 194.

⁵⁰ Mitchell, A.J.; Murray, K.S. ; Newman, P.J.; Clark, P.E. *Aust. J. Chem.* **1977**, *30*, 2439 – 2453.

⁵¹ Kakkar, R. ; Dua, A. ; Zaidi, S. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 547 – 557.

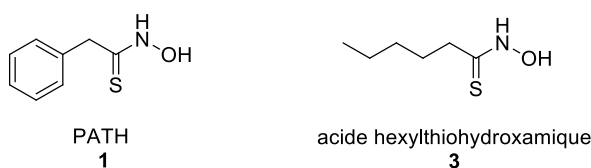

Schéma 20 formation de spiro-oxathiazole

La fonction thiohydroximate est présente au sein de la structure des glucosinolates. Cette fonction est la clé du rôle des glucosinolates, car elle est le précurseur des isothiocyanates libérés par l'action de l'enzyme myrosinase (**Schéma 21**). L'élaboration de la fonction thiohydroximate a donc été étudiée pour la préparation des glucosinolates.⁵⁵


Schéma 21 dégradation des glucosinolates

2. Synthèses des substrats

Différentes synthèses d'acides thiohydroxamiques ou de la fonction thiohydroximate ont été décrites dans la littérature. Afin de préparer les substrats de la S-UGT, nous nous sommes inspirés de la synthèse des glucosinolates ainsi que de la synthèse des acides thiohydroxamiques. Nous avons choisi deux substrats simples pour permettre l'étude des enzymes purifiées : un substrat aliphatique à 6 carbones **3** et un substrat arylaliphatique **1** dont la chaîne est un motif benzylique (**Figure 22**). Toutes les réactions ont été effectuées à l'abri de la lumière afin d'éviter la dégradation des acides thiohydroxamiques.


Figure 22 substrats modèles pour l'étude cinétique de la S-UGT

2.1. Thioacylation de l'hydroxylamine

La première synthèse d'un acide thiohydroxamique a été décrite en 1954 par Ettlinger *et al.* lors de la synthèse d'un glucosinolate, la glucotropaéoline **6**. Il s'agissait de la synthèse de l'acide benzylthiohydroxamique **1**. Le dithiophénylacétate de magnésium **20**, obtenu par addition du chlorure de benzylmagnésium sur le disulfure de carbone CS₂, a été traité par une solution de chlorhydrate d'hydroxylamine pour donner l'acide benzylthiohydroxamique **1** avec un rendement

⁵⁵ Rollin, P. ; Tatibouët, A. *C.R. Chimie* **2011**, *14*, 194 – 210.

de 33%, l'échelle sur laquelle ont été effectuées les réactions n'est pas précisée dans l'article (**Schéma 22**).⁵⁶

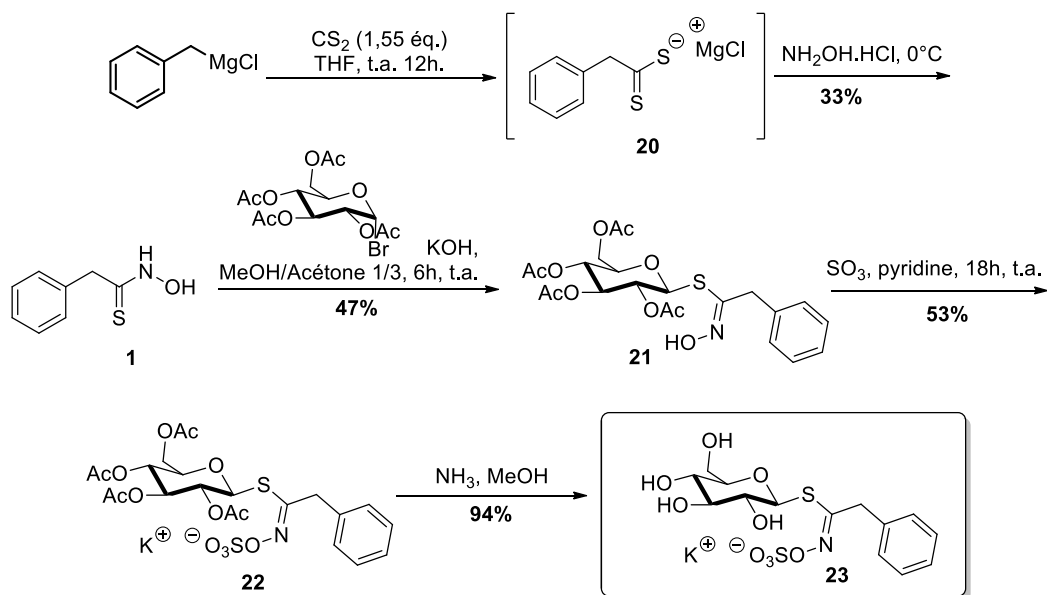


Schéma 22 synthèse de la glucotropaéoline *via* l'acide benzylthiohydroxamique

Suivant cette même approche, en 1967, l'équipe danoise de Christophersen a proposé la synthèse d'acides thiohydroxamiques. Le dithioate de carboxyméthyle **24** a été préparé selon la méthode de Kj\u00e6r de 1952 (**Schéma 23**).⁵⁷ Le dithioph\u00e9nylac\u00e9tate de magn\u00e9sium **20** a \u00e9t\u00e9 pi\u00e9g\u00e9 par l'acide chloroac\u00e9tique. Apr\u00e8s 48h \u00e0 0\u00b0C, la solution aqueuse a \u00e9t\u00e9 acidifi\u00e9e puis extraite afin d'obtenir le dithioate **24** avec un rendement de 64%.

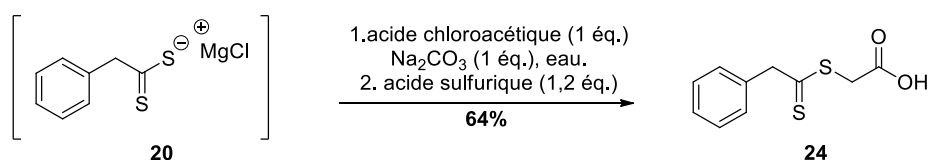


Schéma 23 pr\u00e9paration du dithioph\u00e9nylac\u00e9tate de carboxym\u00e9thyle

En pr\u00e9sence d'hydroxylamine, les dithioates de carboxym\u00e9thyle ont \u00e9t\u00e9 transform\u00e9s en acides thiohydroxamiques correspondants (**Schéma 24**).⁵²

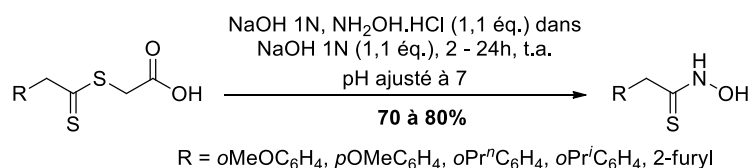


Schéma 24 synth\u00e8se d'acides thiohydroxamiques \u00e0 partir des dithioates de carboxym\u00e9thyle

⁵⁶ Ettlinger, M.G.; Lundeen, A.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 1764 – 1765.

⁵⁷ Kj\u00e6r, A. *Acta Chem. Scand.* **1952**, *6*, 327 – 332.

Certaines de nos approches ont repris les méthodes d'Ettlinger et Christophersen. L'anion dithiocarboxylate intermédiaire **20** a été alors mis en présence d'une solution aqueuse de chlorhydrate d'hydroxylamine, cette méthode a semblé donner le produit attendu **1** ainsi qu'une impureté inséparable du produit d'intérêt. D'autre part, il est intéressant de noter que lors du séchage de la phase organique, le MgSO_4 a semblé complexer l'acide thiohydroxamique (la solution prend une couleur violette), il est donc préférable par la suite de sécher le composé **1** en présence de Na_2SO_4 . Aucun rendement n'a pu être établi.

Le dithioate **20** a d'autre part été piégé en présence d'un équivalent d'iodure de méthyle. Le dithioester **31** a été ainsi obtenu avec un rendement de 43% après purification (**Schéma 28**) puis a été engagé dans la formation de l'acide thiohydroxamique **1**, en présence d'une solution aqueuse d'hydroxylamine. Le composé attendu n'a pas été observé. Lors d'un second essai, le composé **31** n'a pas été purifié et a été directement mis en réaction avec une solution aqueuse d'hydroxylamine à pH neutre. Après 3h de réaction, une CCM a mis en évidence la disparition du dithioester **31**. Cependant, après acidification, nous n'avons pas réussi à détecter la présence de l'acide thiohydroxamique **1**.

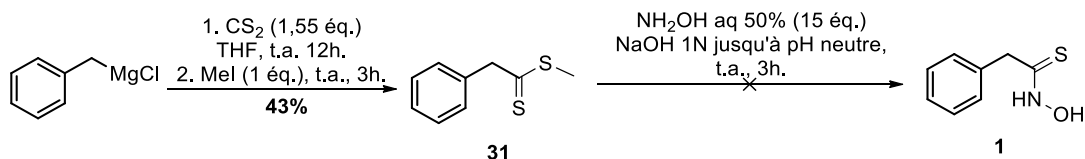


Schéma 28 piégeage du dithioate **20** puis formation de l'acide thiohydroxamique **1**

La seconde méthode nous a semblé plus prometteuse : piéger le dithioate **20** par l'acide chloroacétique afin de former le dithioate de carboxyméthyle **32** (**Schéma 29**). Le produit **32** a été obtenu avec un rendement de 35% après recristallisation (litt⁵⁷ : 64%). Les différents essais d'ajout de solution aqueuse d'hydroxylamine en milieu neutre, n'ont jamais permis d'obtenir le composé attendu.

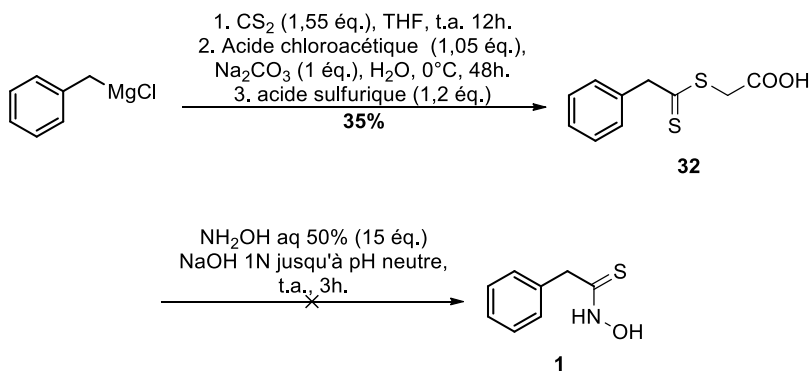


Schéma 29 formation du dithioate de carboxyméthyle **32**

Les mauvais résultats obtenus quant à la formation de l'acide thiohydroxamique **1** *via* l'utilisation du CS_2 nous ont conduits à utiliser une autre voie de synthèse décrite dans la littérature : la thionation des acides hydroxamiques.

2.2. Thionation d'acides hydroxamiques

En 2006, Przychodzeń a décrit la thionation d'acides hydroxamiques menant aux acides thiohydroxamiques *N*-substitués.⁵⁹ Il a alors utilisé le réactif de Lawesson (**Schéma 30**).

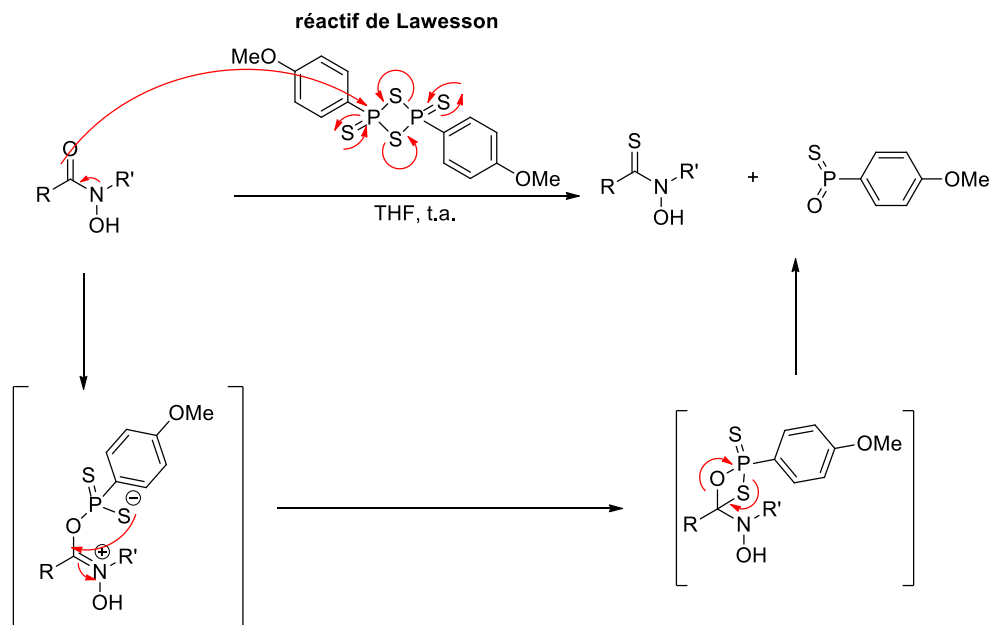


Schéma 30 mécanisme proposé pour la thionation d'acides hydroxamiques en acides thiohydroxamiques

Les rendements sont restés modestes (entre 5 et 58%) et de nombreux sous-produits ont été observés. La même année, Gu *et al.* ont synthétisé l'acide thiosubéroylanilide hydroxamique **34** dans les mêmes conditions (**Schéma 31**).⁶⁰

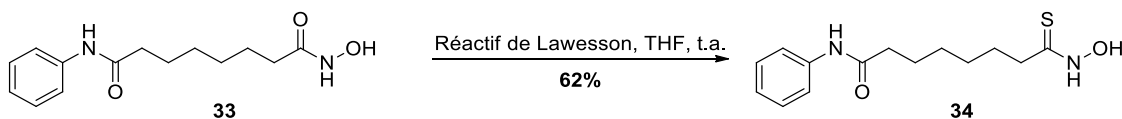


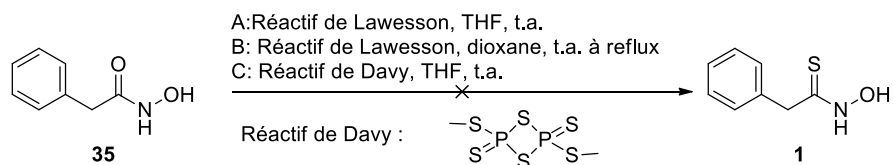
Schéma 31 synthèse de l'acide thiosubéroylanilide hydroxamique **34**

L'acide hydroxamique benzylique **35** a été synthétisé d'après les conditions de la littérature en présence de CDI et d'une solution aqueuse d'hydroxylamine avec un rendement de 75%.⁶¹ Ce dernier s'est dégradé en présence du réactif de Lawesson dans le THF à température ambiante ou dans le dioxane à t.a. puis à reflux. Le réactif de Davy a alors été testé mais sans plus de succès (**Schéma 32**).

⁵⁹ Przychodzeń, W. *Heteroatom. Chem.* **2006**, *17*, 676 – 684.

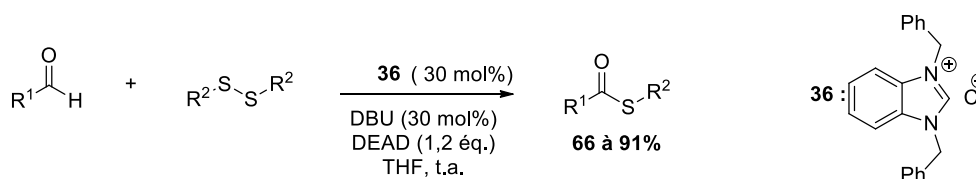
⁶⁰ Gu, W. ; Nusinzon, I. ; Smith, R.D.S. ; Horvath, C.M. ; Silverman, R.B. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3320 – 3329.

⁶¹ Yoganathan, S. ; Miller, S.J. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 602 – 605.

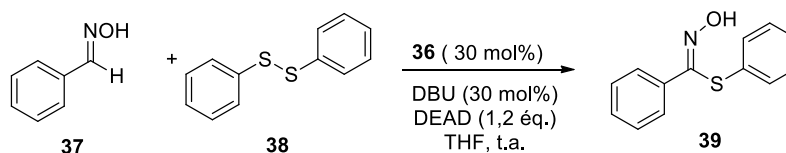

Schéma 32 essais de synthèse de l'acide thiohydroxamique **1**

2.3. Utilisation d'un carbène *N*-hétérocyclique

Une publication récente⁶² a décrit l'obtention de thioesters à partir d'aldéhydes en présence de disulfures et d'un carbène *N*-hétérocyclique (NHC) (**Schéma 33**). Nous avons imaginé l'application possible de cette approche sur des aldoximes pour former directement l'acide thiohydroxamique.


Schéma 33 synthèse de thioesters en présence d'un carbène *N*-hétérocyclique **36**

La réaction en présence de l'oxime **37**, en remplacement de l'aldéhyde n'a conduit qu'à de la dégradation (**Tableau 4**, entrée 1). Afin de tester notre catalyseur sur un substrat connu, la réaction a été réalisée dans des conditions strictement identiques à la publication. Cependant, nous n'avons pas réussi à reproduire les résultats décrits. (**Tableau 4**)

Tableau 4 essais de synthèse de thioester et thiohydroximate en présence de NHC.


Entrée	Substrat	Résultat
1	benzaldéhyde oxime 37	dégradation
2	benzaldéhyde	dégradation

⁶² Singh, S.; Yadav, L.D.S. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 5136-5140.

2.4. Synthèse chimio-enzymatique

En 2011, l'équipe de Grubb a synthétisé de façon chimio-enzymatique différents acides thiohydroxamiques.⁶³ Ils se sont basés sur une étude portant sur une β -O-glucosidase thermostable produite par *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. Cette enzyme est capable d'hydrolyser un large panel de substrats. Il a préalablement été montré qu'elle était capable de synthétiser des nitriles à partir de désulfoglucosinolates.⁶⁴ De plus, les nitriles sont connus comme étant les produits de dégradation des acides thiohydroxamiques. La synthèse enzymatique des nitriles décrite précédemment est peut être une synthèse d'acides thiohydroxamiques qui se seraient dégradés en nitriles.

En s'inspirant de leur caractère chélatant décrit précédemment, les auteurs ont émis l'hypothèse que les acides thiohydroxamiques pouvaient être stabilisés en présence de métaux. La réaction a donc été conduite en présence d'une solution de cation métallique (Fe^{3+} , Co^{3+} ou Ni^{2+}). Afin de récupérer l'acide thiohydroxamique décomplexé, le complexe a de nouveau été mis en suspension dans une solution de β -mercaptoéthanol dans l'acétate d'éthyle. Une purification sur CCM préparative a permis de récupérer le produit pur.

Différents acides thiohydroxamiques ont été ainsi synthétisés mais les rendements n'ont pas été communiqués (**Figure 23**).

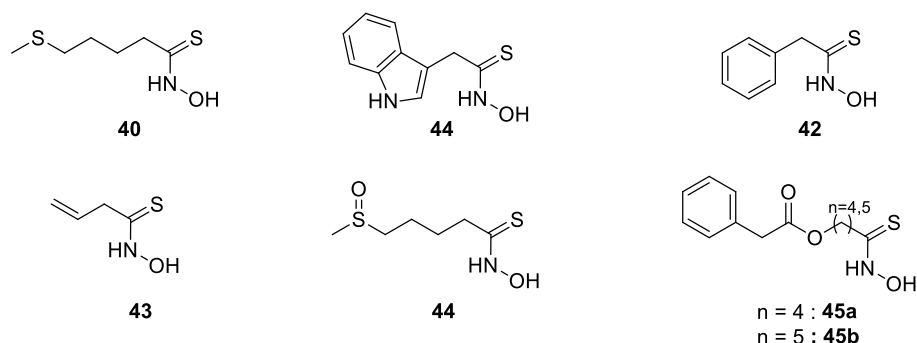


Figure 23 différents acides thiohydroxamiques synthétisés *via* une β -O-glucosidase

Cette méthode n'a pas été essayée au laboratoire, n'étant pas en possession de la β -O-glucosidase produite par *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*.

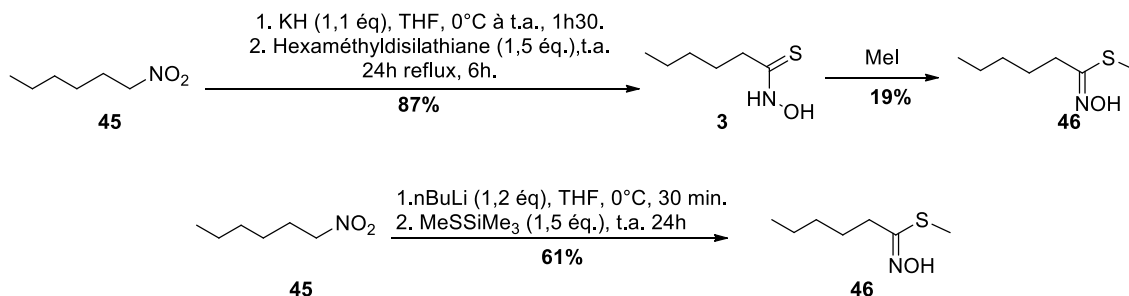
2.5. Conversion de composés nitrés en acides thiohydroxamiques

Nous avons envisagé de convertir les composés nitrés en acides thiohydroxamiques d'après une méthode élaborée par l'équipe de Hwu en 1990 en utilisant le concept du réactif de contre-attaque (counterattack reagent) (**Schéma 34**).⁶⁵

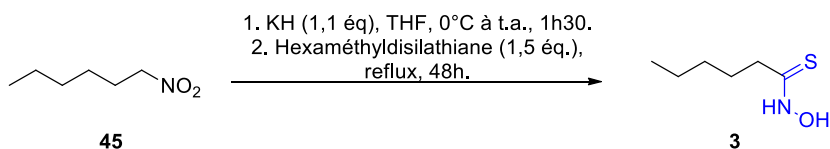
⁶³ Kopycki, J. ; Schmidt, J. ; Abel, S. ; Grubb, C.D. *Biotechnol. Lett.* **2011**, 33, 1039 – 1046.

⁶⁴ Wathelet, J.-P. ; Iori, R. ; Leoni, O. ; Rollin, P. ; Mabon, N. ; Marlier, M. ; Palmieri, S. *Biotechnol. Lett.* **2001**, 23, 443 – 446.

⁶⁵ Hwu, J.R. ; Tsay, S.-C. *Tetrahedron* **1990**, 46, 7413 – 7428.

Schéma 35 synthèse du thiohydroximate **46**

Nous avons donc cherché à reproduire ces conditions à partir du nitrohexane **45**. Cependant, les résultats espérés n'ont pas été obtenus (**Tableau 5**).

Tableau 5 essais de formation de l'acide thiohydroxamique **3** en présence de KH/ HMDST

Entrée	Résultat	Echelle	Remarque
1	Dégradation	0,7 mmol	Reflux classique
2	29%	0,7 mmol	Tube scellé
3	Dégradation	2 mmol	Tube scellé
4	54 % 3 25% 45	0,7mmol	Tube scellé

Dans un premier temps, les conditions décrites dans la littérature ont été suivies à partir du nitrohexane **45**. Le premier essai à reflux du THF (entrée 1) n'a pas donné de résultats concluants du fait de l'évaporation partielle du THF. La conduite de la réaction en tube scellé a permis de maintenir un milieu hermétique et donc d'éviter l'assèchement du milieu réactionnel. Dans ces conditions, la molécule **3** a été obtenue avec un rendement de 29% (entrée 2). Cependant, lors de la conduite de la réaction sur une échelle plus importante (300 mg au lieu de 100 mg), seule de la dégradation a été observée (entrée 3). Un dernier essai a conduit à la formation de l'acide thiohydroxamique **3** à hauteur de 54% ainsi que la récupération du produit de départ **45** (25%) sans aucun changement lors des manipulations.

Au vu des résultats obtenus à partir du nitrohexane, la réaction en présence de KH et d'hexaméthylsilathiane a également été testée à partir du nitroéthylbenzène **48**. Celui-ci a été

obtenu de manière quantitative (litt⁶⁶ : 83%) au moyen d'une réduction du nitrostyrène **47** en présence de NaBH₄ (**Schéma 36**).⁶⁶

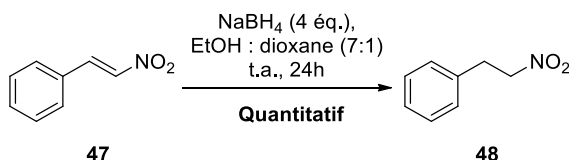
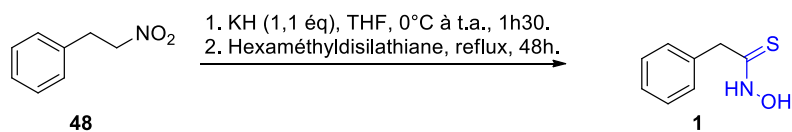


Schéma 36 réduction du nitrostyrène en nitroéthylbenzène

Les essais de formation de l'acide thiohydroxamique **1** ont ensuite été réalisés (**Tableau 6**). Les réactions effectuées à reflux ont mené à l'évaporation partielle du THF et à une importante dégradation du milieu réactionnel ainsi qu'au composé attendu à hauteur de 10% (entrée 1). La conduite de la réaction en tube scellé a permis d'obtenir le composé attendu **1** avec un rendement maximum de 21% (entrée 2). Ce rendement est resté très modeste et nous pensons que celui-ci s'explique par la forte instabilité des acides thiohydroxamiques, notamment lors de l'exposition à la lumière qui a lieu au moment du traitement et de la purification.

Tableau 6 essais de formation de l'acide thiohydroxamique **1** en présence de KH/HMDST



Entr\u00e9e	Conditions	R\u00e9sultat
1	reflux	10%
2	tube scell\u00e9	14 \u00e0 21%

Cette m\u00e9thode semble tout de m\u00eame pr\u00e9senter une faible reproductibilit\u00e9 pour les deux substrats test\u00e9s. De plus, en utilisant ces conditions, l'acide thiohydroxamique **3** est rest\u00e9 sous la forme d'une huile verd\u00e2tre contrairement \u00e0 la poudre l\u00e9g\u00e8rement jaune qui devrait \u00eatre obtenue selon les donn\u00e9es de la litt\u00e9rature.⁶⁵ Il en est de m\u00eame pour l'acide thiohydroxamique **1** qui devrait \u00eatre une poudre blanche et qui, malgr\u00e9 la purification, s'est pr\u00e9sent\u00e9 sous la forme d'une huile verd\u00e2tre.

2.6. Approche biomim\u00e9tique

Nous avons voulu nous inspirer de la nature afin d'\u00e9laborer une nouvelle strat\u00e9gie de synth\u00e8se des acides thiohydroxamiques. Le glutathion ou la cyst\u00e9ine ont tr\u00e8s longtemps \u00e9t\u00e9

⁶⁶ Giovenzana, G.B; Palmisano, G.; Sisti, M.; Cavallotti, C.; Aime, S.; Calabi, L.; Swenson, R.; Kondareddiar, R.; Lattuada, L.; Morosini, P. *Multidentate AZA ligands able to complex metal ions and the use thereof in diagnostics and therapy*. Patent Number: US 2006034773. **16.02.2006**.

considérés comme les donneurs de l'atome de soufre. Une enzyme la C-S lyase serait à l'origine de la déprotonation permettant de libérer l'acide thiohydroxamique par élimination (**Schéma 37**).

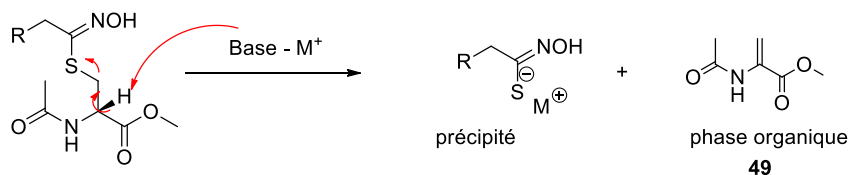


Schéma 37 voie biomimétique

L'application en chimie de synthèse de cette séquence est tout à fait réaliste. L'acide thiohydroxamique obtenu sous forme de sel peut être précipité dans le solvant organique contenant la déshydroalanine **49**. Le composé d'intérêt serait alors récupéré par une simple filtration puis séchage afin d'éliminer les traces de solvant. Cette réaction était déjà connue pour la synthèse de la déshydroalanine **49**.⁶⁷ Des bases telles que le DBU et le K_2CO_3 ont été utilisées selon la nature des produits de départ (**Schéma 38**).

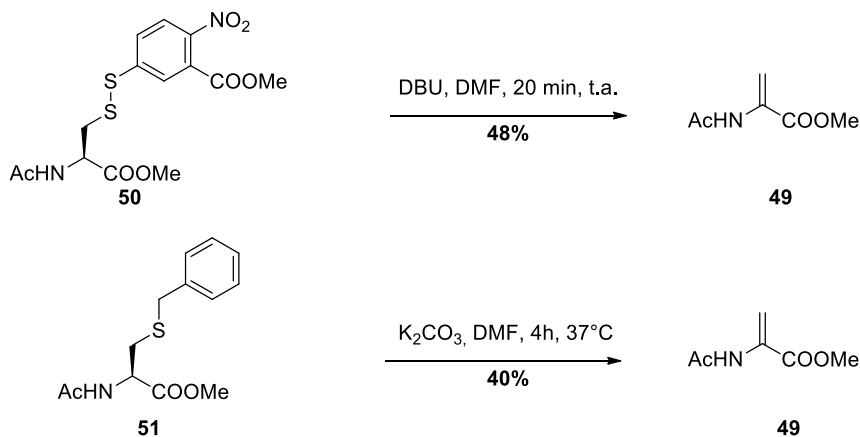


Schéma 38 exemples de synthèse de la déshydroalanine par β -élimination

Dans ces exemples, le produit soufré n'a pas été considéré. Dans notre approche, c'est la déshydroalanine **49** que nous considérons comme sous-produit et le composé soufré libéré comme notre produit d'intérêt.

La première étape consiste en la formation de la fonction thiohydroximate. Les composés de départ ont été synthétisés selon les protocoles décrits dans la littérature. La méthylation de la *N*-Ac-cystéine s'est effectuée en présence de $SOCl_2$ dans le MeOH avec un rendement de 40% (litt. : 76%).⁶⁸ L'oxime **52 a**, quant à elle, été synthétisée en présence de chlorhydrate d'hydroxylamine dans le MeOH avec un rendement de 73% (litt. : 97%).⁶⁹ L'aldoxime **52 a** été transformée en

⁶⁷ Chalker, J.M. ; Gunnoo, S.B. ; Boutureira, O. ; Gerstberger, S.C. ; Fernandez-Gonzalez, M. ; Bernardes, J.L. ; Griffin, L. ; Hailu, H. ; Schofield, C. ; Davis, B.G. *Chem. Sci.* **2011**, 2, 1666 – 1676.

⁶⁸ Bang, E.K. ; Gasparini, G. ; Molinard, G. ; Roux, A. ; Sakai, N. ; Matile, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 2088 – 2091.

⁶⁹ Vo, Q.V. ; Trenerry, C. ; Rochfort, S. ; Wadson, J. ; Leyton, C. ; Hughes, A.B. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 5945 – 5954.

chlorure d'hydroximoyle **53** en présence de NCS dans le DMF. L'oxyde de nitrile formé par addition de triéthylamine a été piégé par la fonction thiol de la cystéine **54**, pour donner le thiohydroximate **55** (Schéma 39).

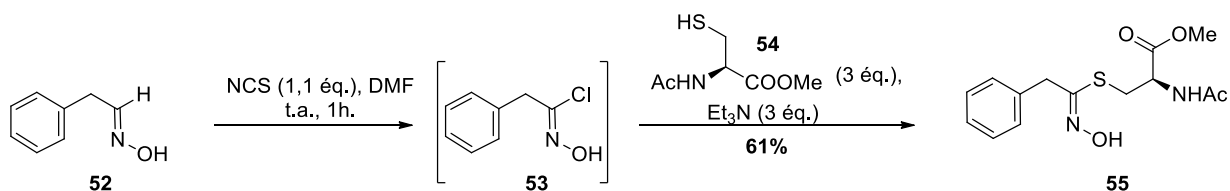
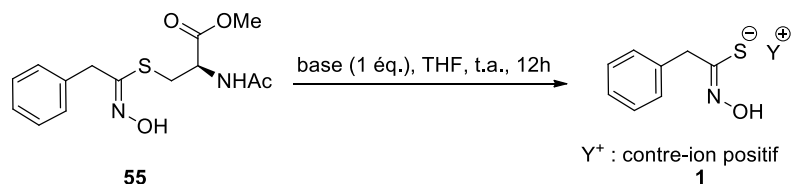


Schéma 39 formation de la fonction thiohydroximate en présence de cystéine

Plusieurs bases ont alors été envisagées pour la déprotonation qui permettra l'élimination de l'acide thiohydroxamique (Tableau 7).

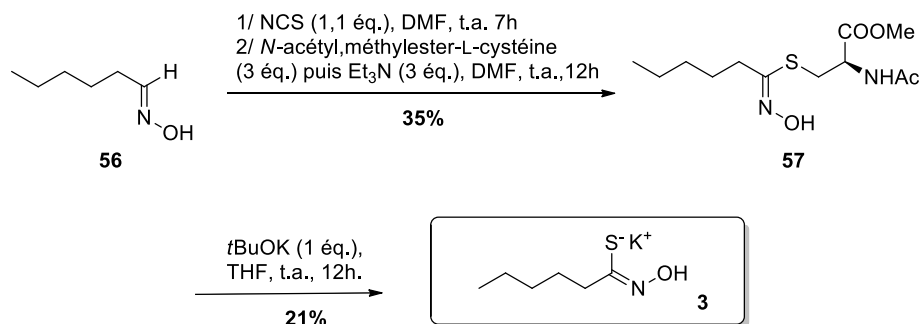
Tableau 7 criblage de bases pour la formation de l'acide thiohydroxamique **1**



Entrée	Base	pKa (H ₂ O)	conversion/rendements
1	Et ₃ N	10,7	aucune conversion
2	DBU	12	totale – traces
3	MeONa	15.5	non totale – traces
4	tBuOK	17	totale – 47%

Le tBuOK est la base qui a donné les meilleurs résultats (Tableau 7, entrée 4). De plus, le composé **1** a précipité dans ces conditions alors qu'avec l'utilisation des autres bases, le précipité n'a pas pu être filtré, il a donc été dissout dans l'eau et a été récupéré après lyophilisation.

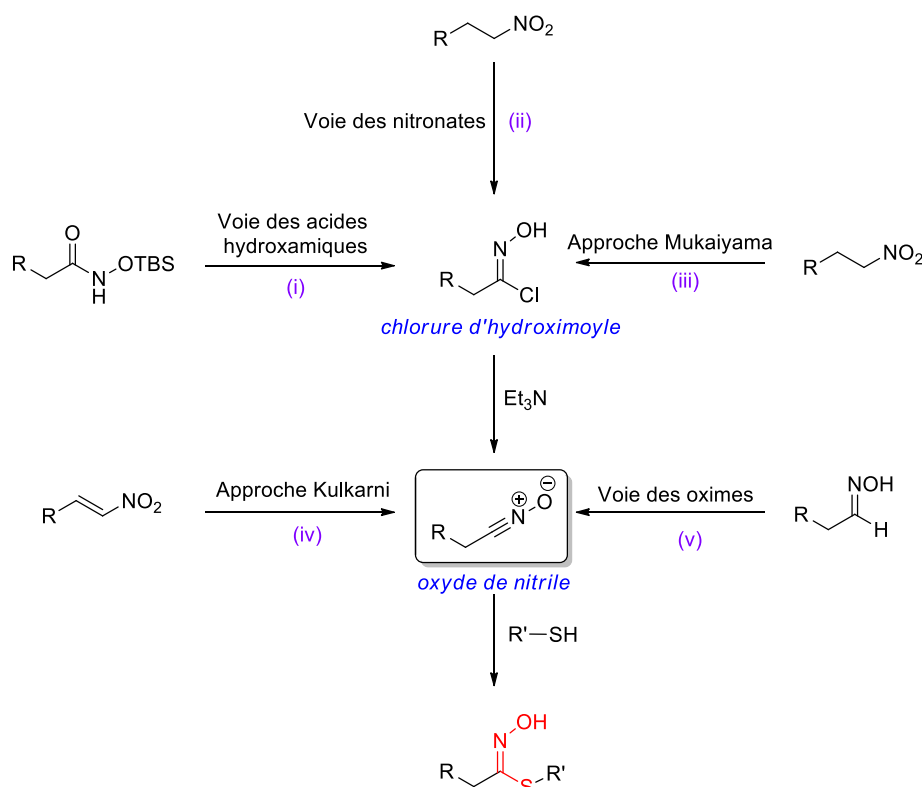
Ce résultat étant concluant, l'acide thiohydroxamique aliphatique **3** a été synthétisé dans les mêmes conditions (Schéma 40).


Schéma 40 synthèse de l'acide thiohydroxamique aliphatique

Les rendements étant modestes, nous avons tout de même continué notre investigation pour l'obtention des acides thiohydroxamiques **1** et **3** *via* une méthode plus robuste.

2.7. Acides thiohydroxamiques et désulfoglucosinolates *via* un oxyde de nitrile

Afin d'accéder aux acides thiohydroxamiques au moyen d'une voie plus efficace, il a été envisagé de déprotéger les thiohydroximates afin d'accéder aux acides thiohydroxamiques correspondants. Différentes synthèses de la fonction thiohydroximate sont connues. L'intermédiaire commun est l'oxyde de nitrile sur lequel vient s'additionner un thiol afin de donner le thiohydroximate correspondant. Il existe alors plusieurs voies pour atteindre cet oxyde de nitrile. Ces réactions ont été développées en particulier pour la synthèse de désulfoglucosinolates.⁵⁵


Schéma 41 schéma global de formation de la fonction thiohydroximate: rôle clé de l'oxyde de nitrile

a. Synthèse des glucosinolates via les acides hydroxamiques

En s'inspirant du travail de Carreira,⁷⁰ Cerniauskaite *et al.* ont proposé la synthèse de la fonction thiohydroximate à partir d'un acide hydroxamique **59**, lui-même issu de la lactone correspondante **58** (Schéma 42).⁷¹

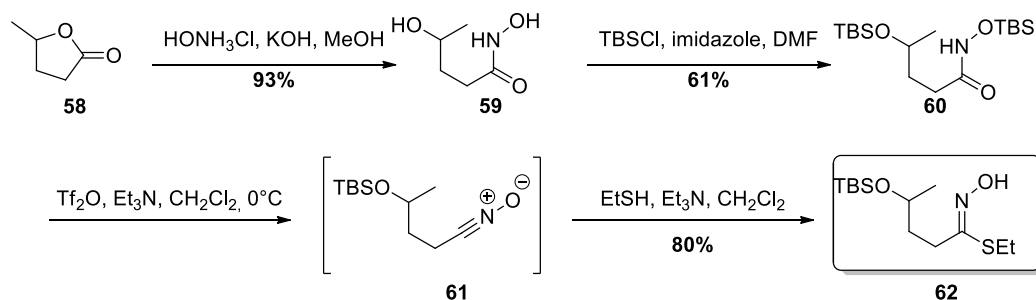


Schéma 42 séquence réactionnelle pour la synthèse du thiohydroximate **62** à partir de la γ -valérolactone **58**

En conditions basiques, la γ -valérolactone **58** s'est condensée à l'hydroxylamine pour former l'acide hydroxamique correspondant avec un rendement de 93%. Le composé a alors subi une étape de bis-*O*-silylation avec un rendement de 61%. L'oxyde de nitrile **61** a été formé en présence d'anhydride triflique et de triéthylamine. Ce dernier a été piégé *in situ* par l'éthanethiol pour former le thiohydroximate final attendu **62** avec un rendement de 80%. Le rendement global de cette réaction est de 45% sur quatre étapes.

Cette réaction a été effectuée à partir de différentes lactones et chlorures d'acide, les composés désirés ont été obtenus avec des rendements de 26 à 50%. De plus, différents désulfoglucosinolates ont été synthétisés par cette méthode, en remplaçant simplement l'éthanethiol par le thioglucose acétylé. Les composés attendus ont été obtenus avec des rendements de 62 à 85%. Nous n'avons pas utilisé cette approche pour accéder aux acides thiohydroxamiques.

b. Voie des nitronates

Il est également possible d'obtenir les oxydes de nitrile à partir de nitroalcanes.⁷² Les premiers à utiliser cette méthode ont été Benn et Ettlinger pour la synthèse de la fonction thiohydroximate et la formation d'un glucosinolate : la sinigrine.⁷³ L'éthanolate de sodium s'est révélée être une base assez forte pour déprotonner en α du groupement nitro. Le chlorure de lithium a ensuite permis la formation du chlorure d'hydroximoylé **65** (Schéma 43).

⁷⁰ Muri, D. ; Bode, J.W. ; Carreira, E.M. *Org. Lett.* **2000**, 2, 539 – 541.

⁷¹ Cerniauskaite, D. ; Rousseau, J. ; Sackus, A. ; Rollin, P. ; Tatibouët, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 2293 – 2300.

⁷² Gil, V. ; MacLeod, A.J. *Tetrahedron* **1980**, 36, 779 – 783.

⁷³ Benn, M.H. ; Ettlinger, M.G. *Chem. Comm.* **1965**, 19, 445 – 447.

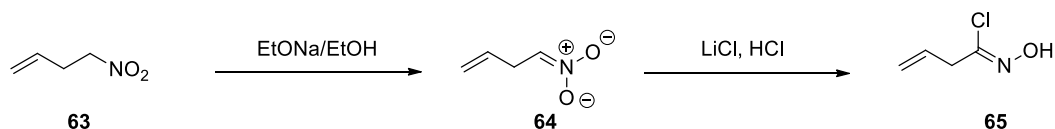


Schéma 43 synthèse du chlorure d'hydroximoyle **61** à partir du nitroalcane **59**

L'utilisation de nitroalcane et de thiol pour former la fonction thiohydroximate était connue depuis 1954 par les travaux de Copenhaver. Cependant, les conditions drastiques utilisées (reflux de la tributylamine, utilisation de solution aqueuse basique à haute température) étaient incompatibles avec la présence du thioglucose. En 1984, Keller *et al.* ont proposé une version modifiée de la synthèse de Copenhaver : à partir du 1-nitropropane, le *tert*-butyldiméthylsilylnitronate **66** est synthétisé. L'oxyde de nitrile, obtenu par addition de triéthylamine, a été piégé par le thioglucose pour donner la fonction thiohydroximate en mélange d'isomères *Z/E* **67/68** (Schéma 44). L'isomère non désiré **68** a été converti en l'isomère **67** en présence de traces d'HCl dans le chloroforme.⁷⁴

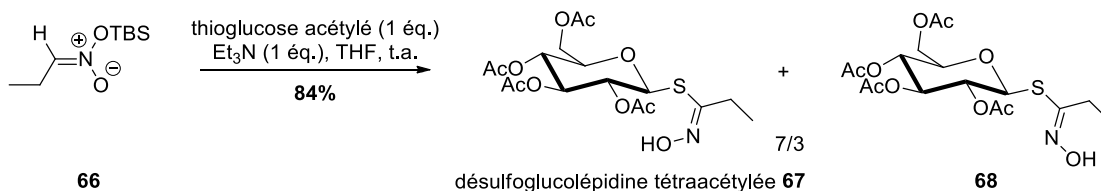


Schéma 44 formation de désulfoglucosinolates *E/Z*

En 2013, une équipe australienne a proposé la préparation de chlorures d'hydroximoyle par la voie du nitronate (Schéma 45). Cependant, cette méthode n'a pas été retenue pour l'accès au désulfoglucosinolate car le rendement était faible et beaucoup de sous-produits inséparables du chlorure d'hydroximoyle étaient obtenus.⁷⁵

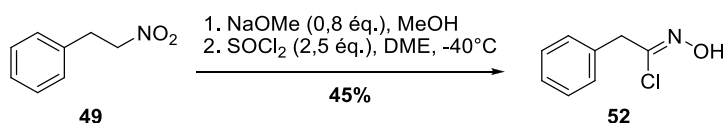


Schéma 45 synthèse du chlorure d'hydroximoyle **52** : voie des nitronates

En effectuant la réaction à basse température, ils se sont affranchis en partie des conditions drastiques utilisées par l'équipe de Copenhaver. Cette méthode n'a pas été essayée au laboratoire, une approche différente a été utilisée au départ de nitroalcanes (approche Mukaiyama).

⁷⁴ Keller, T.H. ; Yelland, L.J. ; Benn, M.H. *Can. J. Chem.* **1984**, *62*, 437 – 440.

⁷⁵ Vo, Q.V. ; Trenerry, C. ; Rochfort, S. ; Wadson, J. ; Leyton, C. Hughes, A.B. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 5945 – 5954.

c. Approche Mukaiyama

En 1960, Mukaiyama décrit la synthèse d'oxydes de nitrile par traitement de nitroalcanes en présence d'isocyanates.⁷⁶ En 1997, basé sur ces travaux, un article d'Hassner décrit la synthèse d'oxydes de nitrile en traitant divers nitroalcanes par $(\text{Boc})_2\text{O}/\text{DMAP}$ (**Schéma 46**). Ces oxydes de nitrile ont alors été piégés en présence d'alcènes afin de former des dihydroisoxazoles.⁷⁷

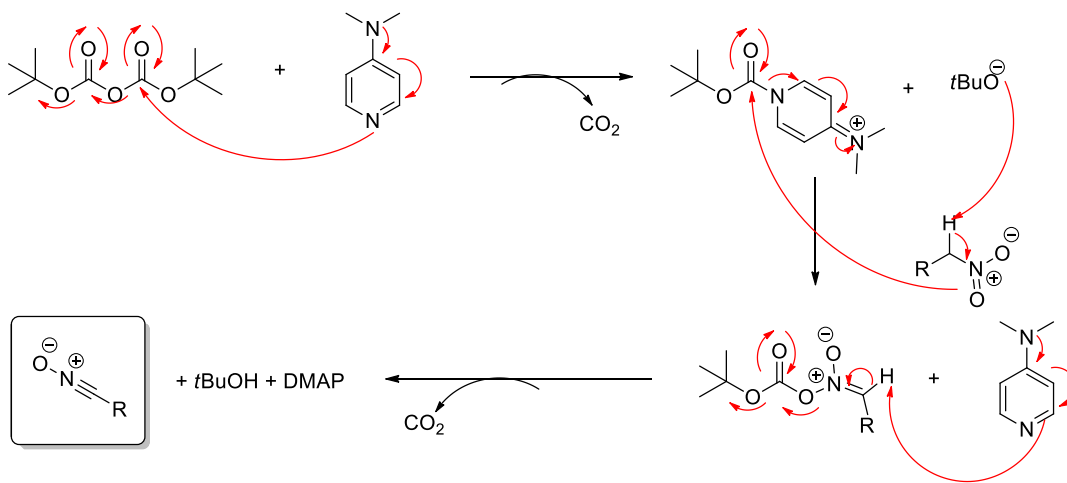


Schéma 46 mécanisme de formation d'oxyde de nitrile en présence de DMAP et $(\text{Boc})_2\text{O}$

Cette approche déjà utilisée pour la formation de désulfoglucosinolates aliphatiques artificiels,⁷⁸ (**Schéma 47**) a donc été envisagée pour la formation d'acides thiohydroxamiques à partir du nitrohexane.

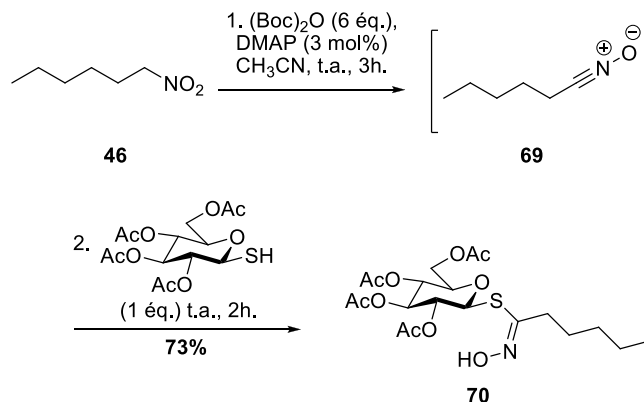


Schéma 47 approche Mukaiyama pour la formation de désulfoglucosinolates

Le nitrohexane **46** a été transformé en oxyde de nitrile **69** en présence de $(\text{Boc})_2\text{O}$ et de DMAP. Ce dernier a alors été piégé par le thioglucose acétylé et a permis d'obtenir le désulfoglucosinolate tétraacétylé **70** avec un rendement de 73%.⁷⁸ Le remplacement du

⁷⁶ Mukaiyama, T.; Hoshino, T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, *82*, 5339-5342.

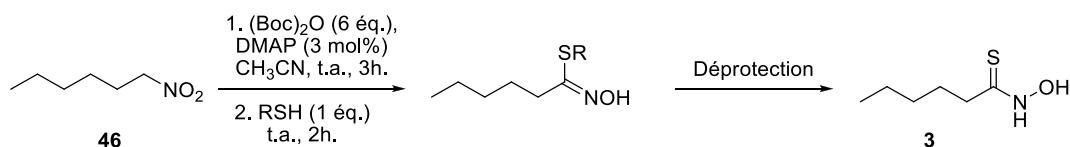
⁷⁷ Basel, Y. ; Hassner, A. *Synthesis* **1997**, *3*, 309 – 312.

⁷⁸ Sabine Montaut, Arnaud Tatibouët, Patrick Rollin, travaux non publiés.

thioglucose par un thiol pouvant être facilement déprotégé pourrait permettre d'accéder à des précurseurs d'acides thiohydroxamiques (**Tableau 8**).

Le tritylthiol et le triisopropylsilanethiol ont été choisis comme nucléophiles. Cependant, l'approche Mukaiyama en présence de ces thiols n'a conduit qu'à de la dégradation (**Tableau 8**, entrées 2,3). Les réactions ont été effectuées dans les mêmes conditions, le produit de départ n'a jamais été récupéré. La formation du désulfoglucosinolate dans les mêmes conditions a, quant à elle, permis d'obtenir le désulfoglucosinolate **70** avec un rendement très modeste de 18% (rendement attendu : 73%) (**Tableau 8**, entrée 1).

Tableau 8 essais de formation de l'acide thiohydroxamique - approche Mukaiyama



Entrée	RSH	Résultat
1	Thioglucose acétylé	18%
2	Triisopropylsilanethiol	Dégradation
3	Tritylthiol	Dégradation

d. Approche Kulkarni

En 1997, Kulkarni et Kumaran ont décrit la synthèse de chlorures d'hydroxymoyle au départ de nitroalcènes (**Schéma 48**).⁷⁹ Le TiCl₄ permet d'activer la fonction nitrée, l'hydrure générée par le triéthylsilane s'additionne et permet d'éliminer l'acide de Lewis pour former la fonction nitroso sur laquelle vient s'additionner l'ion chlorure libéré précédemment. Le chlorure d'hydroximoyle est obtenu après prototropie.

⁷⁹ Kumaran, G. ; Kulkarni, G.H. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 1516 – 1520.

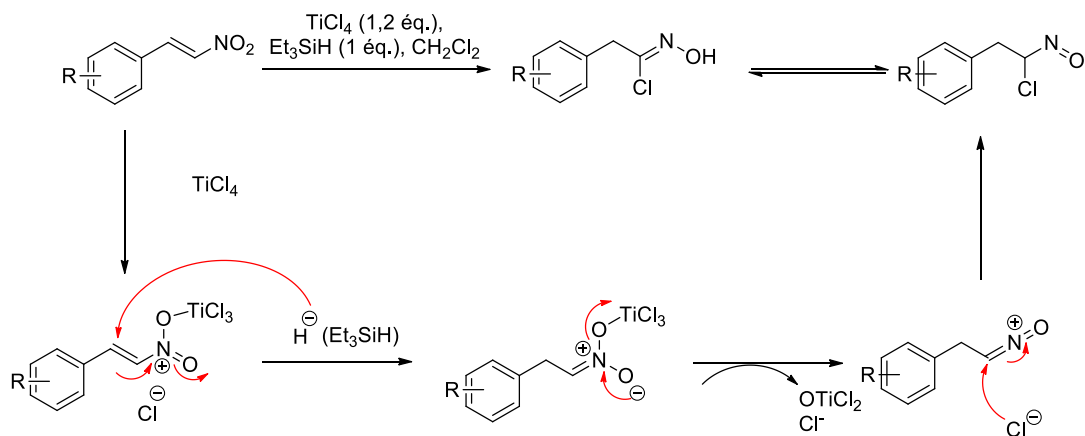


Schéma 48 réaction de Kulkarni et mécanisme proposé pour la formation du chlorure d'hydroximoylé

En 1998, Cassel *et al.* ont utilisé cette méthode pour préparer des arylalkyl- et indolylméthylglucosinolates (**Schéma 49**).⁸⁰

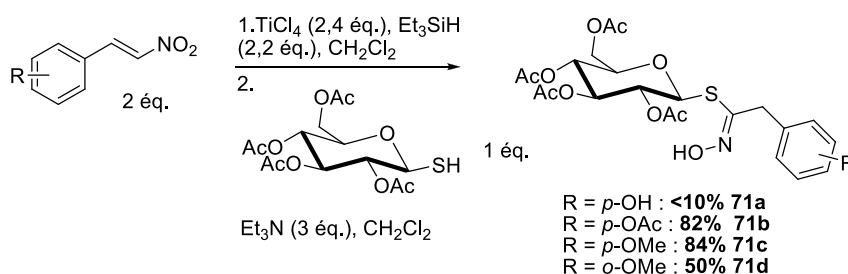


Schéma 49 synthèse d'arylalkylglucosinolates

En 2009, cette méthode a été utilisée par Cerniauskaite *et al.* pour la synthèse d'inhibiteurs de la myrosinase. Les différents chlorures d'hydroximoylé (**Schéma 50**) ont été utilisés, après traitement, dans la formation de la fonction thiohydroximate.⁸¹ Après addition de triéthylamine et de l'éthanthiol, la fonction thiohydroximate a été formée.

⁸⁰ Cassel, S. ; Casenave, B. ; Déléris, G. ; Latxague, L. ; Rollin, P. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 8515 - 8524.

⁸¹ Cerniauskaite, D. ; Gallienne, E. ; Karciauskaite, H. ; Farinha, A.S.F. ; Rousseau, J. ; Armand, S. ; Tatibouët, A. ; Sackus, A. ; Rollin, P. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 3302 – 3305.

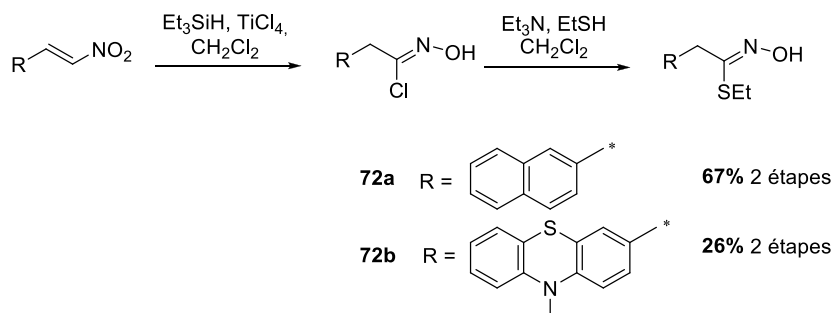


Schéma 50 exemple de chlorures d'hydroximoyle formés

En 2010, Gueyrard *et al.* ont proposé cette même méthode pour la synthèse de glucosinolates artificiels analogues de la glucomoringine (**Schéma 51**).⁸²

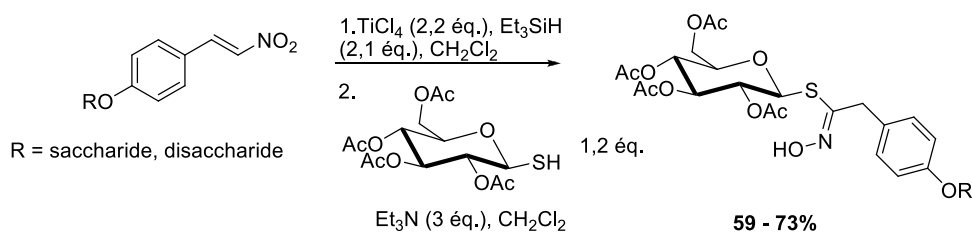
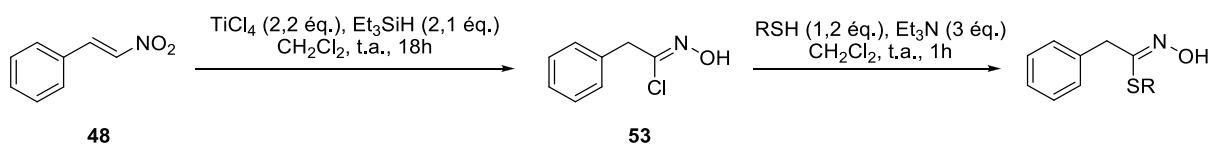


Schéma 51 préparation des désulfoglucosinolates par réaction de Kulkarni

Nous avons envisagé l'approche selon la méthode de Kulkarni pour la formation des acides thiohydroxamiques en utilisant le nitrostyrène **48**. La fonction nitrovinyle a été transformée en chlorure d'hydroximoyle **53** en présence de TiCl_4 et de triéthylsilane, la présence de triéthylamine a ensuite permis la formation de l'oxyde de nitrile sur lequel est venu s'additionner un thiol. L'utilisation de thiols tels que le tritylthiol et le trisopropylsilanethiol semblait intéressante du fait de leur capacité à se déprotéger facilement. Cependant, la réaction de type Kulkarni conduite en présence de ces thiols n'a mené qu'à de la dégradation (**Tableau 9**, entrées 1 et 2). Afin de vérifier la viabilité de cette réaction, celle-ci a été effectuée dans les conditions standards de formation du désulfoglucosinolate tétraacétylé **21**. Ce dernier a été obtenu avec un rendement modeste de 54% (**Tableau 9**, entrée 3).

⁸² Gueyrard, D. ; Iori, R. ; Tatibouët, A. ; Rollin, P. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 3657 – 3664.

Tableau 9 formation de l'acide thiohydroxamique – approche Kulkarni

Entrée	RSH	Résultat
1	Triisopropylsilanethiol	Dégradation
2	Tritylthiol	Dégradation
3	Thioglucose acétylé	54%

Les problèmes de réactivité pourraient provenir de la faible stabilité des thiols utilisés ainsi que de celle de l'acide thiohydroxamique attendu.

e. Voie des oximes

En 1963, Benn a décrit la synthèse de la glucotropaéoline **2** par addition du thioglucose tétraacétylé sur des oxydes de nitrile pour former la fonction thiohydroximate.⁸³ Les oxydes de nitriles étant des composés instables, il convient de les former *in situ* à partir du chlorure d'hydroxymoyle et d'une base. Les chlorures d'hydroxymoyle sont généralement synthétisés par chloration de l'oxime correspondante. Dans ces travaux, la chloration a été effectuée en faisant buller du dichlore dans une solution d'oxime dans le chloroforme (**Schéma 52**). Le chlorure d'hydroxymoyle **53** a été isolé (recristallisé) avec un rendement de 48%. Il a ensuite été mis en solution dans l'éther en présence de thioglucose tétraacétylé, l'addition de triéthylamine a permis de former l'oxyde de nitrile sur lequel est venu s'ajouter le composé soufré. La réaction a été rapide (30 minutes), après traitement et recristallisation, le désulfoglucosinolate **21** a été obtenu avec un rendement de 68% (**Schéma 53**). Cependant, l'auteur a décrit le désulfoglucosinolate de configuration *E* (*syn* pour les groupements R et OH) car il a supposé que l'addition du thioglucose sur l'oxyde de nitrile était « *trans* ».

⁸³ Benn, M.H. *Can. J. Chem.* **1963**, *41*, 2836 – 2838.

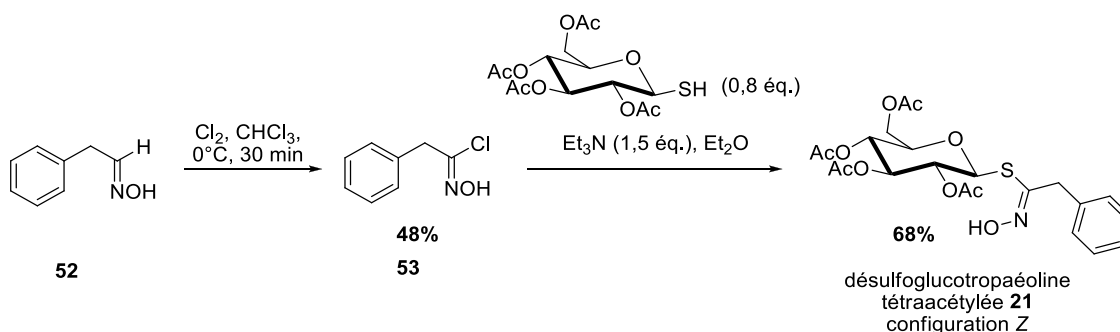


Schéma 52 synthèse de la désulfoglucotropaéoline tétraacétylée **21**

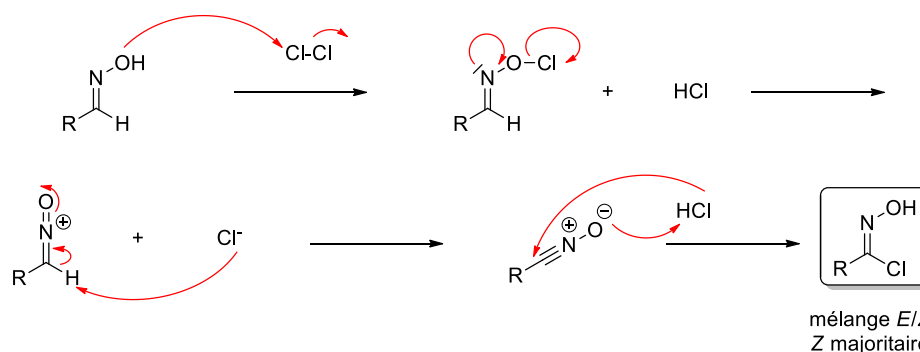


Schéma 53 mécanisme proposé pour la formation des chlorures d'hydroximoylé

Cette méthode de formation du chlorure d'hydroximoylé a également été utilisée par Joseph *et al.* en 1995 pour la formation de pseudodisaccharides liés par une fonction thiohydroximate (**Figure 24**).⁸⁴ Les rendements de synthèses des cinq pseudodisaccharides rapportés sont compris entre 60 et 91%.

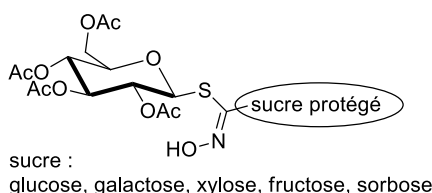


Figure 24 structure générale des pseudodisaccharides synthétisés

Le chlorure d'hydroximoylé peut également être obtenu à partir de l'oxime correspondante traitée par le *N*-chlorosuccinimide.⁵⁴ Cette méthode, décrite pour la première fois en 1980 pour l'accès aux oxydes de nitrile,⁸⁵ est plus facilement réalisable en comparaison à l'utilisation de dichlore gazeux. Le mécanisme reste proche du précédent.

Plus récemment, en 2013, une équipe australienne a utilisé le NCS pour l'accès aux chlorures d'hydroximoylé afin de former des glucosinolates aromatiques artificiels avec des rendements compris entre 83 à 96%.⁸⁶

⁸⁴ Joseph, B. ; Rollin, P. *Carbohydr. Res.* **1995**, 266, 321 – 325.

⁸⁵ Liu, K.C. ; Shelton, B.R. ; Howe, R.K. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 3916 – 3918.

⁸⁶ Vo, Q.V. ; Trenerry, C. ; Rochfort, S. ; Wadeson, J. ; Leyton, C. Hughes, A.B. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 5945 – 5954.

Une dernière technique a permis de transformer des oximes en chlorure d'hydroximoyl par l'utilisation d'eau de Javel (hypochlorite de sodium). Cette méthode, décrite pour l'accès aux oxydes de nitrile,⁸⁷ a été utilisée pour la première fois en 2011 pour la préparation de désulfoglucosinolates tétraacétylés (**Schéma 54**).⁸⁸

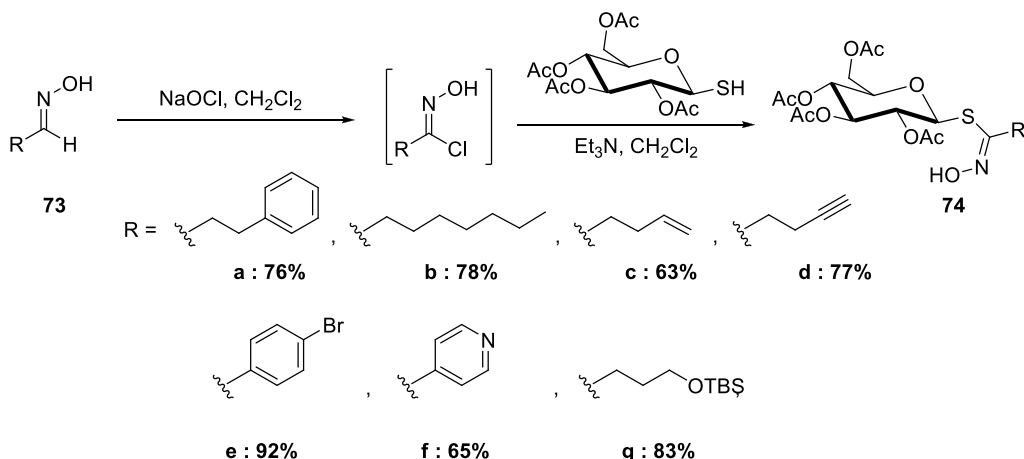


Schéma 54 utilisation d'eau de Javel pour l'accès aux chlorures d'hydroximoyl

Notre seconde approche vers l'acide thiohydroxamique aliphatique **3** a donc été envisagée, par le biais d'un thiohydroximate issu de l'oxime **75** (**Schéma 55**). L'acide thiohydroxamique serait ensuite obtenu par déprotection du thiohydroximate. Le groupement trityle a été choisi pour protéger la fonction thiol.⁸⁹ Ici, notre substrat de départ est l'heptanal **75**. La chaîne a été allongée d'une unité carbone par rapport au substrat précédent, ceci ne devrait pas intervenir notablement sur sa réactivité vis-à-vis de la S-UGT.

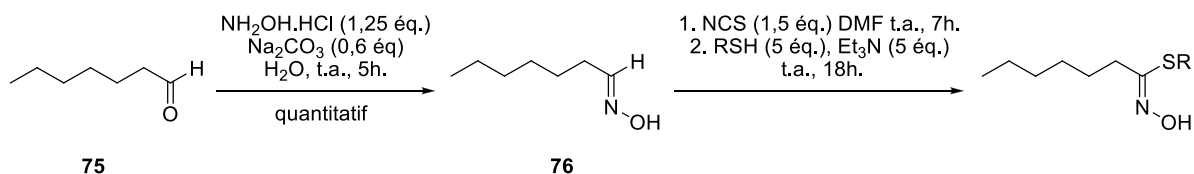


Schéma 55 synthèse d'acides thiohydroxamiques *via* la synthèse d'une oxime

L'heptanal **75** a été transformé en l'oxime correspondante **76** de façon quantitative comme décrit dans la littérature.⁹⁰ La transformation en fonction thiohydroximate s'est révélée décevante, aucun résultat en présence de tritylthiol ou de NaSH (dégradation) n'a été obtenu. Un essai permettant de confirmer la réactivité a été effectué en présence de thioglucose acétylé, substrat

⁸⁷ Van Mesbergen, D. ; Wijnen, J.W. ; Engberts, J.B.F.N. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8801 – 8805.

⁸⁸ Cobb, S.E. ; Morgan, K.F. ; Botting, N.P. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 1605 – 1607.

⁸⁹ Blanc-Muesser, M. ; Driguez, H. ; Joseph, B. ; Viaud, M.C. ; Rollin, P. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 3867 – 3868.

⁹⁰ Blatt, A. H. *Organic Syntheses, Coll. Vol. 2*; Wiley: New York, **1943**, 644 p.

avec lequel la réaction devrait avoir lieu. Cependant, cette réaction n'a donné lieu à aucune conversion (**Tableau 10**). L'oxyde de nitrile ne s'est vraisemblablement pas formé.

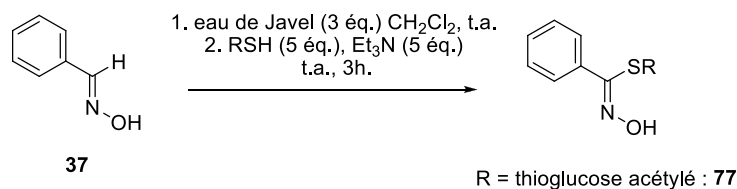
Tableau 10 Essais de formation de l'acide thiohydroxamique - *Via* l'oxime

Entrée	Réactif	RSH	Résultat
1	NCS	Tritylthiol	Dégradation
2	NCS	NaSH	Dégradation
3	NCS	Thiogluucose acétylé	SD : thiogluucose

SD : substrat de départ

L'alternative avec l'eau de Javel pour former le chlorure d'hydroximoylé a alors été testée à partir de la benzaldoxime **37**. Cette approche a produit efficacement le thiohydroximate **77** par réaction avec le thiogluucose (71% de rendement) alors qu'elle n'a pas semblé donner de résultats concluants en présence de triisopropylsilanethiol (**Tableau 11**, entrée 2).

Tableau 11 formation de thiohydroximates en présence d'eau de Javel



Entrée	Source de thiol	Résultat
1	Thiogluucose acétylé	71%
2	Triisopropylsilanethiol	Dégradation

Très récemment, en 2014, l'équipe de Pierce a décrit la synthèse d'acides thiohydroxamiques et de dérivés d'acides thiohydroxamiques.⁹¹ Le chlorure d'hydroximoylé a été formé en présence de NCS dans le DMF. Puis l'ajout de triéthylamine a permis d'accéder à l'oxyde de nitrile sur lequel vient s'additionner le sulfure de sodium Na₂S. La réaction a été effectuée en milieu biphasique éther diéthylique/eau. Plusieurs acides thiohydroxamiques **80** ont ainsi été synthétisés, possédant des groupements aromatiques ou aliphatiques (cyclopropyle **80f** et éthylphényle **80g**) (**Schéma 56**). Il est également intéressant de noter que les chlorures d'hydroximoylé **79** connus pour être instables ont été purifiés par colonne chromatographique, les acides thiohydroxamiques se sont révélés assez purs après un simple traitement aqueux.

⁹¹ Lemerrier, B.C. ; Pierce, J.G. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 2321 – 2330.

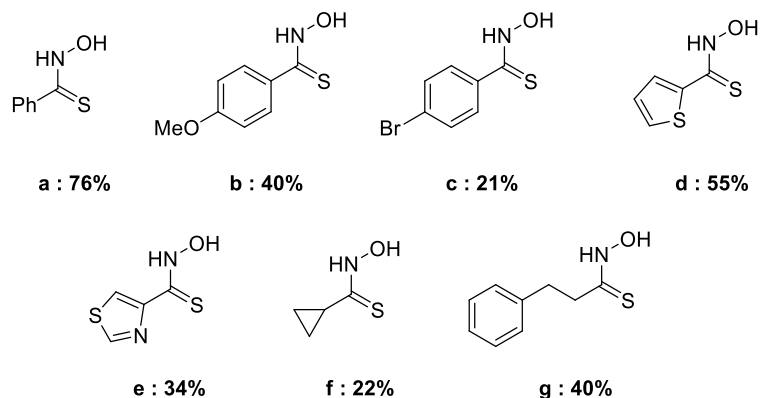
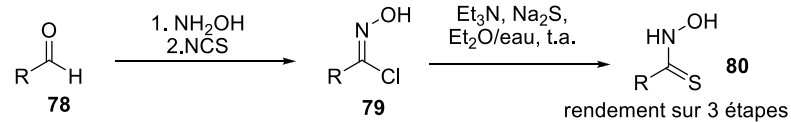


Schéma 56 synthèse des acides thiohydroxamiques par Pierce *et al.*

Leurs résultats prometteurs nous ont poussés à employer cette méthode pour obtenir les acides thiohydroxamiques souhaités. Les deux chlorures d'hydroximoyles ont été synthétisés et purifiés avec des rendements de 29% pour le composé aliphatique **81** et 82% pour le composé benzylque **53**. L'étape de formation des acides thiohydroxamiques **1** et **3** a été effectuée avec un rendement brut de 24% dans les deux séries (**Schéma 57**).

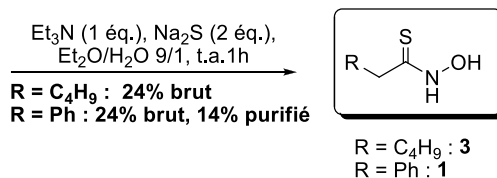
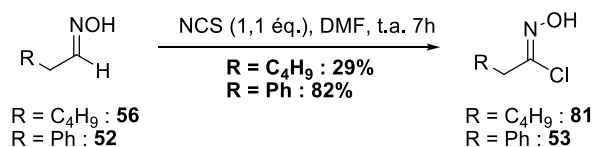


Schéma 57 formation des acides thiohydroxamiques aliphatiques et aromatiques

Le composé benzylque **1** a ensuite été testé comme substrat de la S-UGT, les constantes cinétiques étant différentes de celles décrites dans la littérature, il en a été déduit que les composés brut n'étaient pas assez pur pour être engagés dans les tests biologiques. L'acide benzylthiohydroxamique **1** a donc été purifié par chromatographie inverse sur gel de silice C₁₈ (gradient eau/acétonitrile) ce qui a mené le rendement de la dernière étape à 14%. Le composé aliphatique **3** n'a pas été purifié car il s'est dégradé, il doit de nouveau être synthétisé.

2.8. Conclusion

Comme décrit précédemment, la synthèse des désulfoglucosinolates acétylés a été effectuée selon les approches Kulkarni et Mukaiyama, pour le dérivé benzylique et aliphatique, réciproquement (**Schéma 58**). Une désacétylation en présence de méthanoate de sodium a permis d'obtenir les désulfoglucosinolates attendus **2** et **4** avec des rendements de 37 et 10 % sur 3 étapes. Ces molécules nous serviront de standard pour les études CLHP.

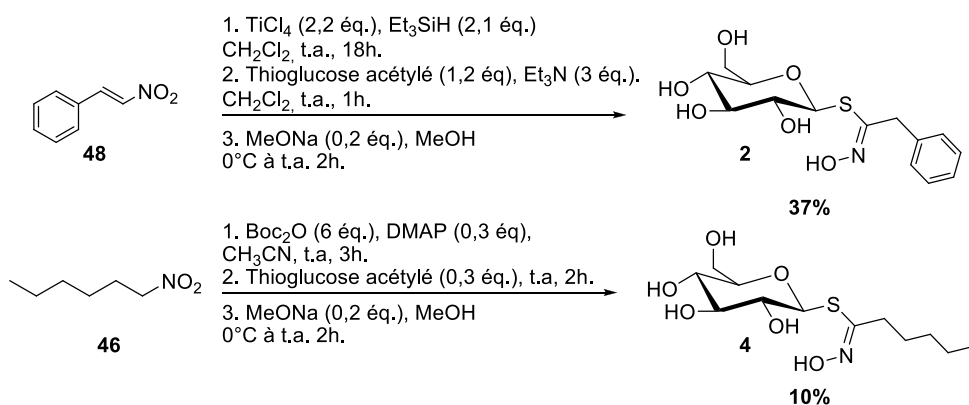
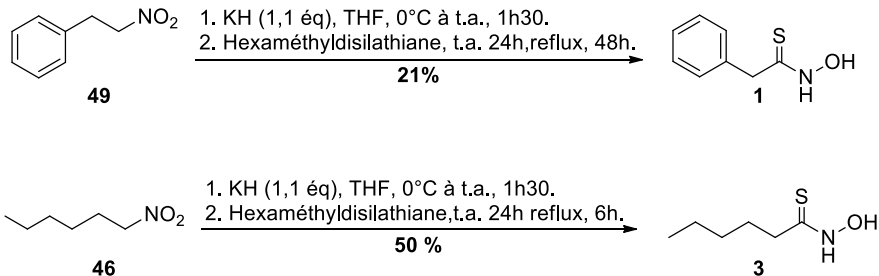


Schéma 58 synthèse des deux désulfoglucosinolates : benzylique et aliphatique

Différentes méthodes nous ont permis d'accéder aux acides thiohydroxamiques désirés. (**Schéma 59**).

1/ conversion des composés nitrés en acides thiohydroxamiques



2/ approche biomimétique

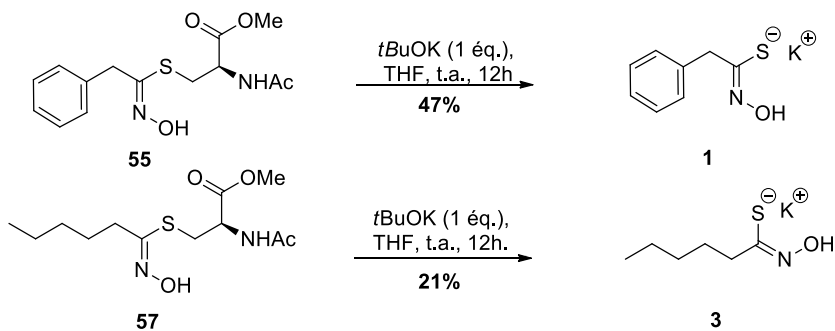
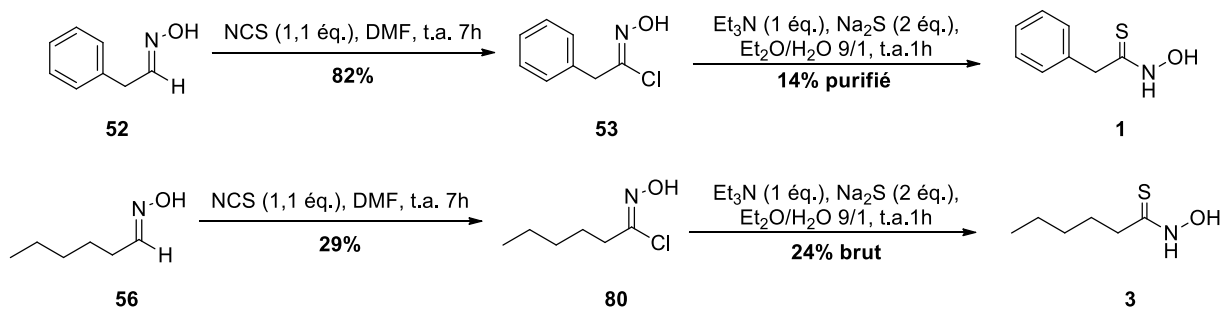

 3/ via l'oxime, en présence de Na₂S


Schéma 59 synthèse des acides thiohydroxamiques

La première voie (1) n'a pas été reproductible et le composé obtenu n'a pas été d'une pureté suffisante pour l'étude enzymatique. De nombreux sous-produits ont dû être séparés du milieu réactionnel, rendant la purification longue et favorisant ainsi la dégradation de l'acide thiohydroxamique.

L'approche biomimétique (2) nous a permis d'obtenir les composés souhaités sous forme de sels de potassium. Cependant, les thiohydroxamates étaient inséparables des sels résiduels générés lors de la réaction. Une acidification suivie d'une extraction a permis de s'affranchir de ces impuretés, cependant en milieu acide, les composés d'intérêt se sont dégradés.

La dernière méthode (3) a permis d'obtenir les composés désirés avec des rendements très modestes mais la purification par chromatographie inverse sur gel de silice C₁₈ nous a permis d'obtenir le PATH 1 avec une pureté suffisante pour l'étude enzymatique. Cette voie sera de

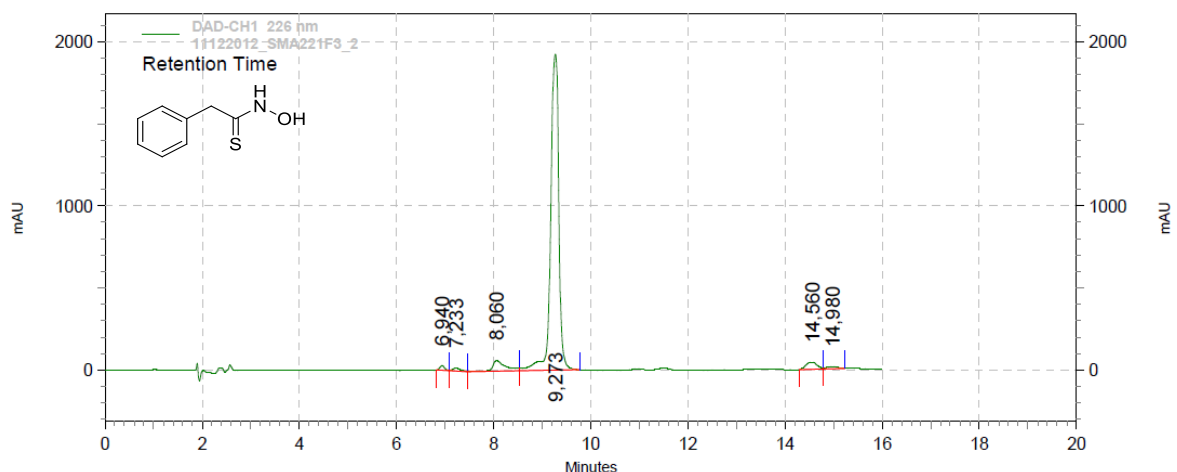
nouveau utilisée pour la synthèse de l'acide thiohydroxamique aliphatique, qui sera ensuite purifié et testé sur l'UGT74C1.

Deux tests différents ont été effectués sur le PATH **1**. Le substrat aliphatique **3** n'a jamais été testé. Un premier test CLHP a été effectué en suivant les modes opératoires des tests biologiques décrits dans la littérature. Les premiers tests enzymatiques ont été effectués à partir des acides thiohydroxamiques obtenus selon la méthode utilisant l'hexaméthylidisilathiane (1). Un second test indirect a été effectué après la mise au point d'une méthode par Guillaume Jousset dans l'équipe du Pr. Richard Daniellou et du Dr. Pierre Lafite. La seconde série de tests enzymatiques a été effectuée à partir du PATH **1** synthétisé à partir du chlorure d'hydroximoyle **50** en présence de Na₂S (3).

2.9. Tests par CLHP

L'acide thiohydroxamique a été utilisé comme substrat de la réaction enzymatique induite par la S-UGT74B1 dans les conditions de pH (pH 6) et de température décrites dans la littérature.³⁰ Le milieu réactionnel est ensuite filtré et analysé par CLHP.

Il est tout d'abord nécessaire de connaître les temps de rétention et les longueurs d'onde maximale des substrats et produits de départ dans des conditions définies. L'étude CLHP des substrats a permis dans le même temps d'avoir une estimation de la pureté des substrats. Les conditions utilisées sont identiques pour tous les composés (Colonne C18, éluant : CH₃CN/H₂O (10/90 à 90/10), 30°C).



Le PATH **1** a été analysé et présente plusieurs impuretés (**Figure 25**). Le pic majoritaire à 226 nm a un temps de rétention de 9,3 min (dans la littérature, dans des conditions proches : environ 10,8 min)³⁰ et son aire représente 89,7% de l'aire totale. La longueur d'onde maximale pour ce composé est de 271 nm (λ max). En se plaçant à 296 nm, (λ max de l'impureté représentant le plus grand pourcentage d'aire sous la courbe à 226 nm), les impuretés se distinguent davantage (**Figure 26**).

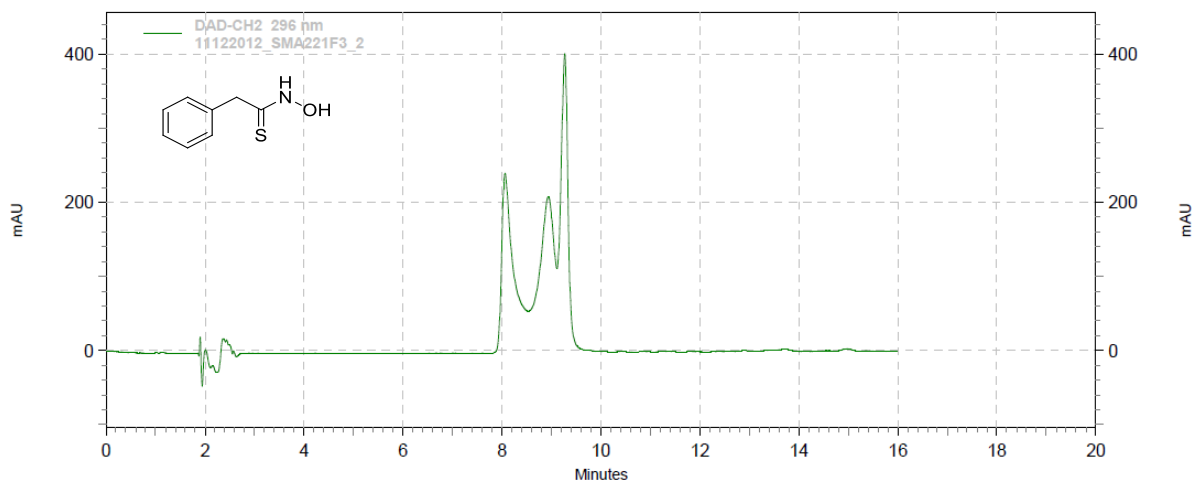


Figure 26 chromatogramme à 296 nm

La désulfoglucotropaéoline **2** présente un temps de rétention de 6,1 min (dans la littérature : environ 6 min)³⁰ et représente 98,9 % de l'aire totale à 226 nm. La longueur d'onde maximale pour ce composé est de 219 nm (**Figure 27**).

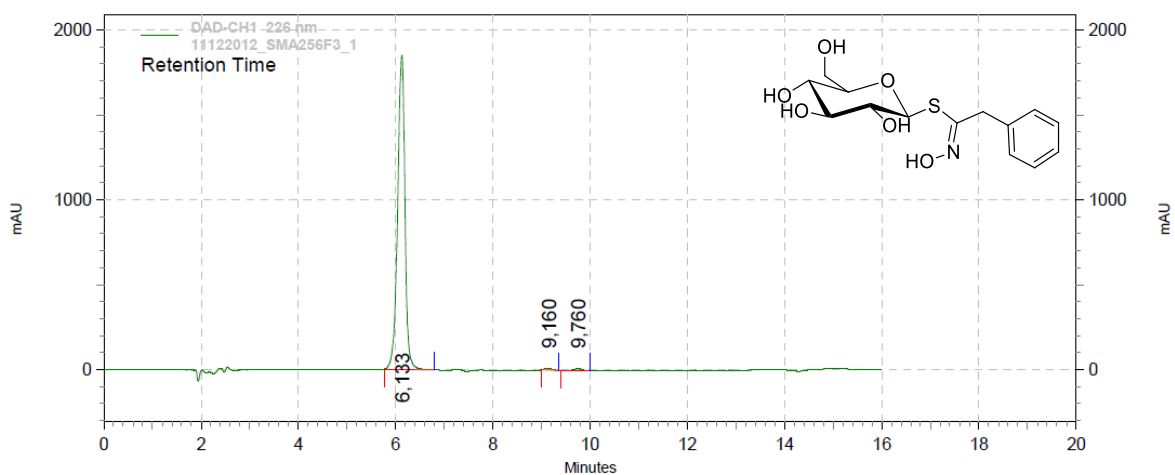


Figure 27 chromatogramme du benzyldésulfoglucosinolate

Le substrat aliphatique de l'enzyme **3**, ne présente pas un chromatogramme concluant à 296 nm. C'est pourquoi, le chromatogramme n'est pas à une longueur d'onde donnée mais en Max Plot c'est-à-dire que pour chaque composé détecté, le pic est représenté à sa longueur d'onde maximale. En Max Plot, il est impossible de calculer les aires relatives (**Figure 28**).

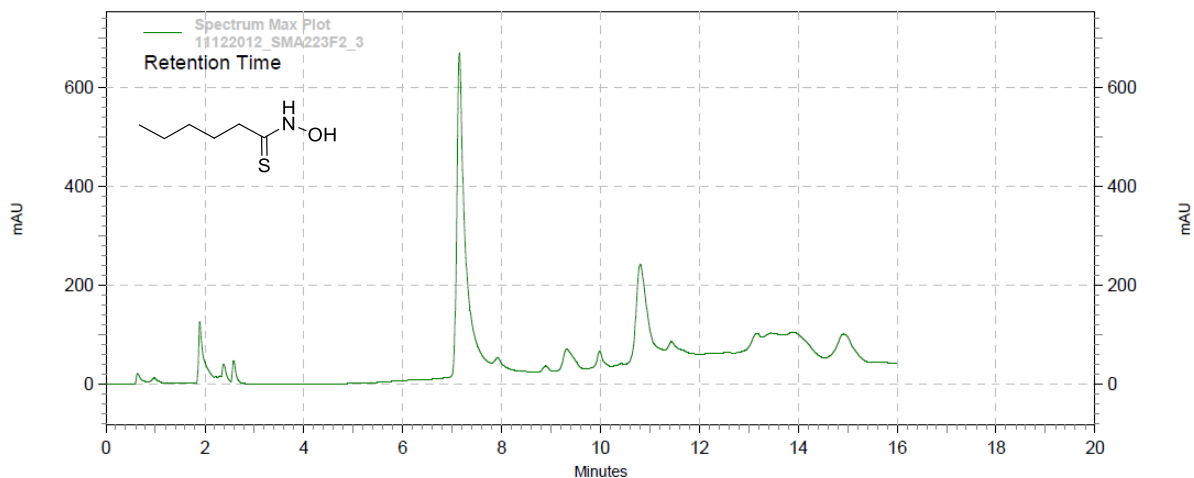


Figure 28 chromatogramme du substrat aliphatique

Le désulfoglucosinolate aliphatique **4**, a un temps de rétention de 6,8 min et représente 92,9 % de l'aire totale en Max Plot. La longueur d'onde maximale pour ce composé est de 219 nm (**Figure 29**).

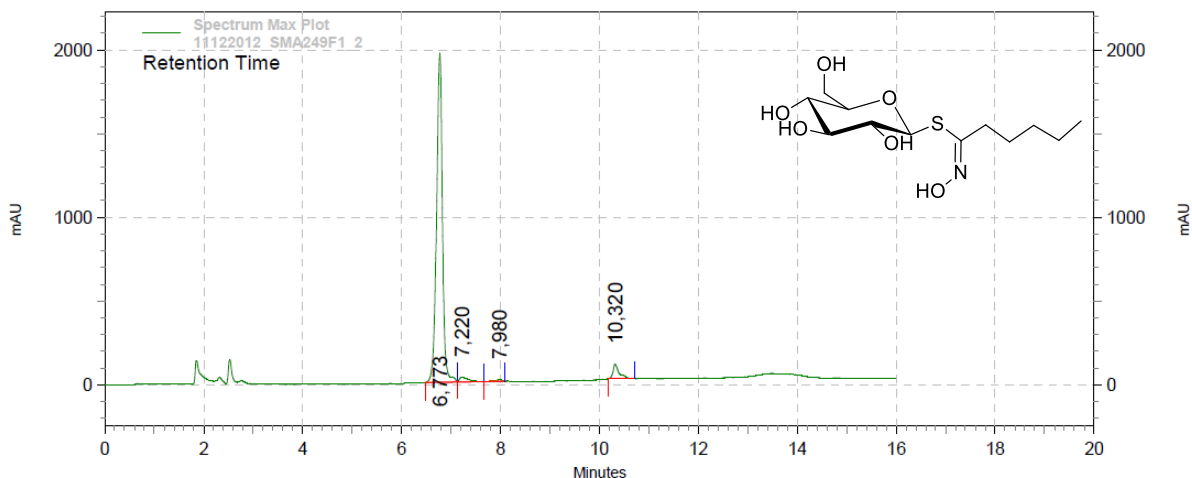


Figure 29 chromatogramme du *n*-pentyl-désulfoglucosinolate

Pour les tests enzymatiques, le PATH **1** a été mis en présence de l'enzyme, dans les conditions de formation du désulfoglucosinolate correspondant **2**. L'analyse par CLHP effectuée après 3h de réaction n'a pas permis de détecter la formation du désulfoglucosinolate et n'a montré que le produit de départ et les réactifs utilisés. Il n'y a eu aucune trace de produit au temps de rétention déterminé précédemment.

Plusieurs hypothèses ont été envisagées. Parmi celles-ci, une pureté insuffisante de l'acide thiohydroxamique ou encore l'inactivité de l'enzyme. Ces deux aspects nous ont conduit à ce que

l'enzyme soit de nouveau produite et purifiée et que la synthèse du substrat soit réalisée selon une méthode alternative et plus fiable.

2.10. Tests spectrophotométriques

a. Principe

Le test tri-enzymatique développé par le Dr. Pierre Lafite et Guillaume Jousset⁹² au sein de l'équipe du Pr. Richard Daniellou est un test indirect inspiré d'un article sur l'étude de la GfT2, une galactofuranosyltransférase mycobactérienne bifonctionnelle (**Schéma 60**).⁹³

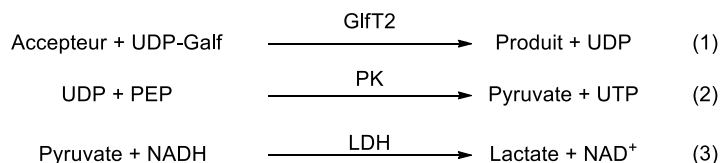


Schéma 60 dosage spectrophotométrique par retour

Le test consiste à détecter la disparition de NADH (Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduite) qui est coloré. Il est également possible d'en déduire sa concentration au moyen d'une courbe d'étalonnage. D'après le Schéma 60 la concentration en NAD⁺ est identique à celle en pyruvate, également identique à l'UDP libérée lors de la formation du produit.

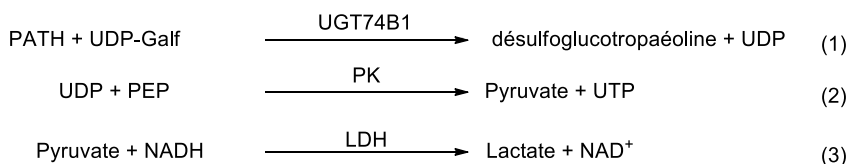


Schéma 61 test enzymatique adapté à la S-UGT

Dans le cas de l'UGT74B1, l'UDP est également le sous-produit de la réaction enzymatique. Le test peut donc s'appliquer à notre enzyme (**Schéma 61**). Le test s'effectue donc en présence d'un milieu réactionnel contenant du PEP, NADH et deux enzymes (PK et LDH) en plus du donneur, de l'accepteur et de l'UGT74B1. Les constantes sont calculées d'après les courbes de Michaelis-Menten obtenues par mesure de l'activité à différentes concentrations en PATH. Les tests sont effectués sur une plaque 96 puits et analysés par un lecteur de plaques toutes les 5 secondes à 340 nm, longueur d'onde d'absorption maximale du NADH. La pente représentative de la vitesse de disparition du NADH (**Figure 30**), c'est-à-dire, de la vitesse de formation du désulfoglucosinolate a permis de déterminer les différentes constantes V_m, K_m, k_{cat}.

⁹² Jousset, G. « S-UGT, vers un outil de synthèse chemo-enzymatique », Rapport de stage de Master 2, **2014**, Université d'Orléans.

⁹³ Rose, N.L. ; Zheng, R.B. ; Pearcey, J. ; Zhou, R. ; Completo, G.C. ; Lowary, T.L. *Carbohyd. Res.* **2008**, *343*, 2130 – 2139.

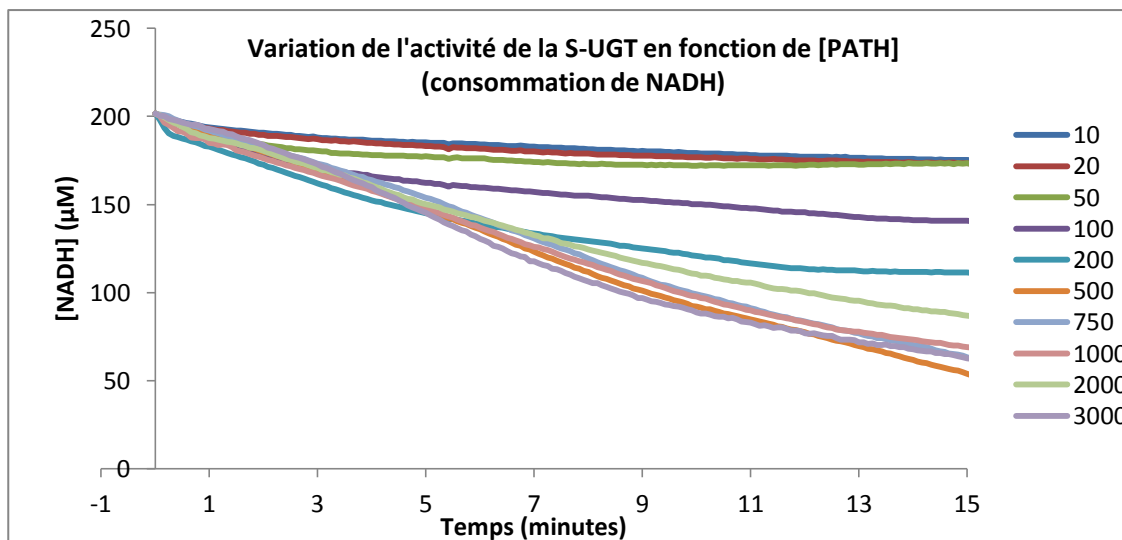


Figure 30 variation de l'activité de la S-UGT en fonction de [PATH]

b. Résultats

Dans un premier temps, au vu des difficultés rencontrées pour la préparation des acides thiohydroxamiques, l'équipe du Pr. Richard Daniellou, a utilisé le 4-chlorothiophénol (4-CTP) comme substrat de référence afin de déterminer les constantes cinétiques de l'enzyme et de pouvoir les comparer à celles de la littérature (**Tableau 12**).

Tableau 12 constantes cinétiques de l'UDP-glucose

Entrée	Référence	Km (μM)	kcat (min^{-1})	kcat/Km ($\text{min}^{-1} \cdot \mu\text{M}^{-1}$)
1	Grubb <i>et al.</i> (2004) ³⁰	48±26	n.d.	n.d.
2	Kopycki <i>et al.</i> (2013) ³¹	2,8±0,5	516±276	184,3
3	Mesurée avec 4-CTP comme accepteur	37,2	219,1	5,9

Les données mesurées ont été du même ordre de grandeur que celles de la littérature, les différences sont dues au fait que l'accepteur est le PATH **1** pour les deux premières entrées alors qu'il s'agit du 4-CTP pour la troisième entrée. Différents donneurs ont alors été testés avec le 4-CTP comme accepteur (**Tableau 13**).

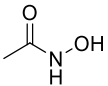
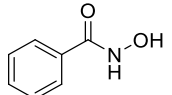
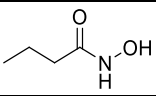
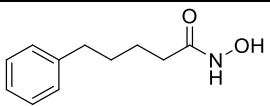
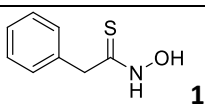
Tableau 13 effet du sucre-donneur sur les constantes cinétiques

Entrée	Sucre-Donneur	Km (μM)	Kcat (min^{-1})	kcat/Km ($\text{min}^{-1} \cdot \mu\text{M}^{-1}$)
1	UDP-glucose	37,2	219,1	5,9
2	UDP-galactose	1427	161,7	0,1
3	UDP-N-acétyl-glucosamine	135,3	11,6	0,08
4	UDP-glucuronide	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. : non déterminé car les composés étaient trop peu actifs pour déterminer graphiquement une valeur.

L'UDP-glucose, donneur naturel de la réaction enzymatique a montré la meilleure efficacité catalytique (kcat/Km). Le kcat, qui représente l'activité, a également été meilleur en ce qui concerne l'UDP-glucose, tout comme le Km, qui représente l'affinité. La position spatiale relative des groupements hydroxyles du sucre doit avoir une importance dans la reconnaissance enzymatique. D'après les tests effectués, les groupements hydroxyle en C₄ et en C₂ semblent devoir être en équatorial pour une bonne activité enzymatique. L'UGT74B1 n'a eu aucune activité quant à l'UDP-glucuronide qui présente un groupement carboxylate à la place du CH₂OH en C₅ de l'UDP-glucose. Cette fonction n'est donc pas reconnue par l'enzyme. Après avoir déterminé la versatilité de l'enzyme vis-à-vis des sucres-donneurs, différents accepteurs ont été testés (**Tableau 14**).

Tableau 14 effet de l'accepteur sur les constantes cinétiques

Entrée	Accepteurs	Km (μM)	kcat (min^{-1})	kcat/Km ($\text{min}^{-1} \cdot \mu\text{M}^{-1}$)
1		n.d.	n.d.	n.d.
2		n.d.	n.d.	n.d.
3		n.d.	n.d.	n.d.
4		487	14,3	0,03
5		321,2	290	0,9

n.d. : non déterminé car les composés étaient trop peu actifs pour déterminer graphiquement une valeur.

Les acides hydroxamiques des entrées 1 à 3 ne semblent présenter aucune activité vis-à-vis de l'UGT74B1 tandis que l'acide 4-phénylbutyrylhydroxamique (entrée 4) présente une activité. Cette activité est plus faible que celle du PATH **1** mais les constantes cinétiques ont pu être

déterminées. L'accepteur reconnu par l'UGT74B1 semble devoir posséder un groupement aromatique, la présence du soufre renforce son affinité et son activité.

Le pKa des accepteurs pourraient être à l'origine de cette forte affinité pour les composés soufrés. En effet le pKa est de 4-5 pour les acides thiohydroxamiques et aux alentours de 8 pour les acides hydroxamiques. Cette hypothèse peut être complétée par le fait que le soufre est plus volumineux que l'oxygène du fait qu'il possède des électrons sur la troisième couche. La géométrie de l'acide thiohydroxamique est également différente de celle de l'acide hydroxamique correspondant, par homologie aux différences de géométrie entre le DMSO et l'acétone (**Figure 31**). Cette différence d'agencement dans l'espace pourrait influencer la reconnaissance du substrat dans le site actif de l'enzyme et donc expliquer les différences de Km et kcat.

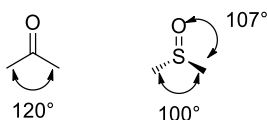


Figure 31 comparaison des structures de l'acétone et du DMSO

Le composé aliphatique n'a, quant à lui, pas été purifié et n'a donc pas été testé sur l'UGT74B1. Aucun test n'a été effectué sur l'UGT74C1 qui semble beaucoup plus compliquée à produire et purifier.

3. Conclusion

Lors de cette étude, il est apparu que les acides thiohydroxamiques sont très difficiles d'accès et se dégradent très rapidement une fois synthétisés.

Une méthode récente⁹¹ nous a permis d'accéder à l'acide thiohydroxamique benzylique **1** pur et les constantes cinétiques obtenues semblent cohérentes avec celles décrites dans la littérature. Cependant, il est nécessaire de préparer d'autres acides thiohydroxamiques afin d'étoffer nos connaissances sur le potentiel de la S-UGT, notamment vis-à-vis des acides thiohydroxamiques aliphatiques. Ces résultats restent donc préliminaires.

Chapitre 3 : Synthèse de N-oxydes de thioimide (TINOs) sur charpente pyranose

1. Rappels bibliographiques

1.1. Découverte de la fonction TINO

La fonction N-oxyde de thioimide a été découverte en 1986, par l'équipe de Coates.⁹⁴ La synthèse de TINOs acycliques a été effectuée par S-alkylation d'acides N-alkylthiohydroxamiques suivie d'un traitement en milieu basique. Les TINOs de configuration E et Z ont été isolés (**Schéma 62**).

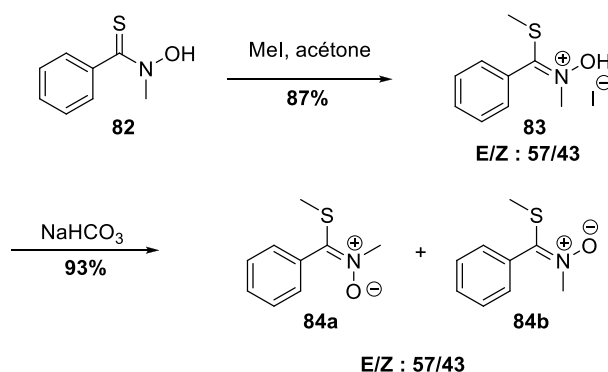


Schéma 62 exemple de synthèse d'un des premiers TINOs

Selon les groupements portés par l'acide thiohydroxamique de départ, les ratios E/Z varient. Six TINOs ont été synthétisés selon cette méthode, les rendements allant de 51 à 93%.

Au laboratoire, en collaboration avec l'équipe du Dr R. Iori, cette fonction TINO a de nouveau été observée au cours de l'analyse de la désulfatation enzymatique de la glucoraphénine **85**, un membre original de la famille des glucosinolates (**Schéma 63**).⁹⁵

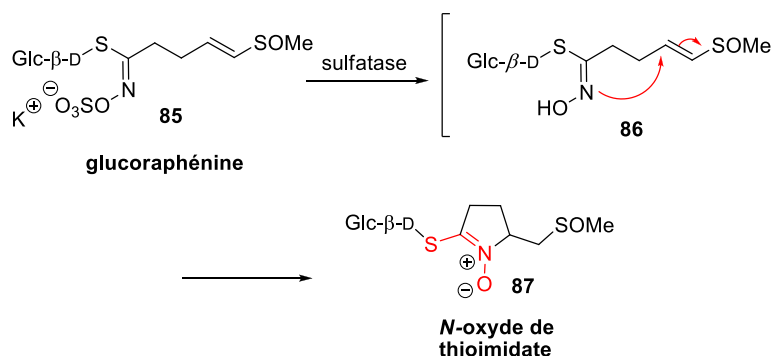


Schéma 63 découverte de la fonction TINO au laboratoire

⁹⁴ Coates, R.M. ; Firsan, S.J. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 5198 – 5209.

⁹⁵ Iori, R. ; Barillari, J. ; Galienne, E. ; Bilardo, C. ; Tatibouët, A. ; Rollin, P. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 292 – 295.

Lors de cette étude, la formation spontanée d'un nouveau composé **87** a été observée et ce produit a pu être caractérisé comme possédant une fonction N-oxyde de thioimide. Ce produit résulte d'une addition de type Michaël intramoléculaire de la fonction thiohydroximate intermédiaire sur le système accepteur vinyl sulfoxyde.

Nous nous proposons de synthétiser des TINOs sur des charpentes pyranoses. Les molécules ciblées, par leur fonction, sont fortement apparentées aux nitrones sur charpente saccharidique, généralement obtenues après cyclisation d'une oxime. Dans notre cas, le produit de départ devra posséder une fonction thiohydroximate à la place de la fonction oxime (**Schéma 64**). Les stratégies décrites pour les synthèses de nitrones pourront être exploitées en vue d'obtenir les TINOs sur charpente saccharidique.

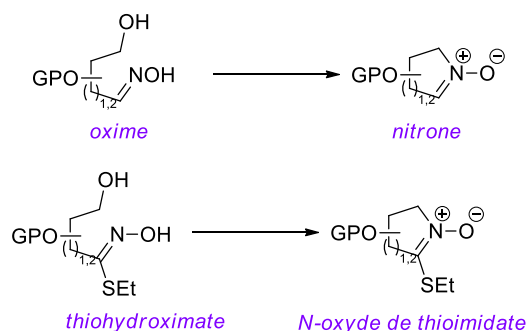


Schéma 64 stratégie envisagée pour la synthèse de TINOs sur charpente de sucre

Nous proposons donc ici de répertorier différentes conditions décrites dans la littérature pour la synthèse de nitrones cycliques à partir d'oximes.

1.2. Généralités sur la synthèse de nitrones cycliques

L'halocyclisation et la substitution nucléophile sont les deux approches privilégiées pour la synthèse de nitrones cycliques à partir d'oximes (**Schéma 65**).

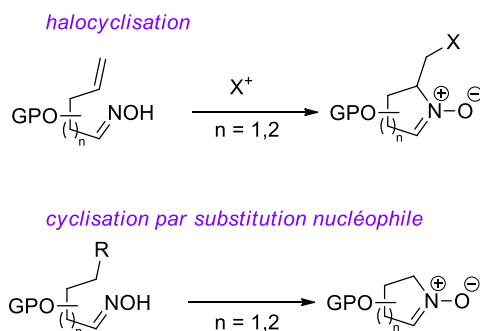


Schéma 65 substitution nucléophile et halocyclisation : deux voies possibles d'accès aux nitrones

a. Approche par halocyclisation

En 1992, Grigg *et al.* ont proposé la synthèse de nitrones par addition de l'oxime sur un alcène activé par du diacétate de mercure (**Schéma 66**).⁹⁶

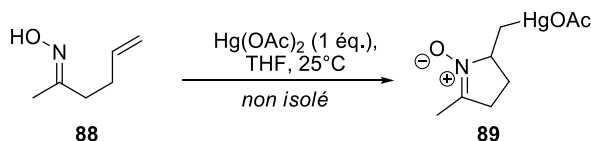


Schéma 66 premier exemple de cyclisation à partir d'une oxime insaturée

Une seconde méthode d'activation a été publiée, en 1993, par Grigg *et al.* pour la synthèse de nitrones cycliques par activation d'une insaturation en présence d'un électrophile. Les électrophiles qui ont été utilisés sont des composés halogénés tels que le diiode ou encore le *N*-bromosuccinimide (**Schéma 67**).⁹⁷

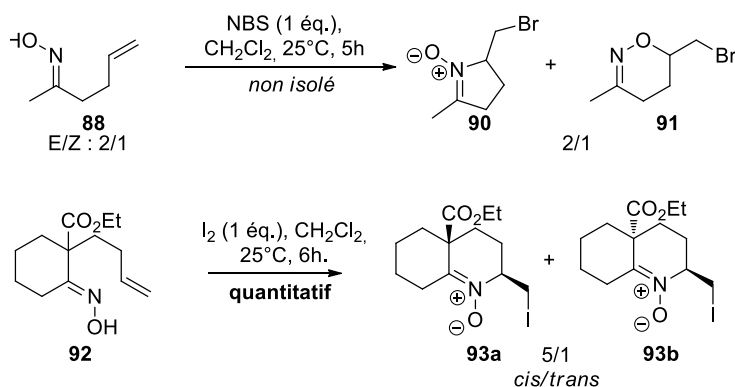


Schéma 67 exemples de Grigg pour l'halocyclisation

Il est également intéressant de noter que selon la stéréochimie de l'oxime, la cyclisation peut s'effectuer par l'hydroxyle et mener à un cycle oxazinique à six chaînons. D'autre part, la réaction d'halocyclisation a montré une certaine stéréosélectivité, l'isomère **93a** *cis* est, dans le cas présenté, majoritaire (**Schéma 67**).

En 2006, l'équipe de Jäger a décrit la synthèse de nitrones cycliques sur charpente saccharidique en présence de diiode.⁹⁸ Les nitrones ont été obtenues en mélange de deux diastéréoisomères avec un rapport 67/33 L-lyxo/D-ribo (**Schéma 68**). Il a également été possible d'activer les alcènes en présence de dérivés de sélénium. Dans cet exemple, les rapports diastéréomériques varient en fonction de l'électrophile.

⁹⁶ Grigg, R. ; Hadjisoteriou, M. ; Kennewell, P. ; Markandu, J. ; Thornton-Pett, M. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 1388 – 1389.

⁹⁷ Grigg, R. ; Hadjisoteriou, M. ; Kennewell, P. ; Markandu, J. ; Thornton-Pett, M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 1340 – 1342.

⁹⁸ Gulla, M. ; Bierer, L. ; Schmidt, S. ; Jäger, V. *Arkivoc* **2006**, 76 – 88.

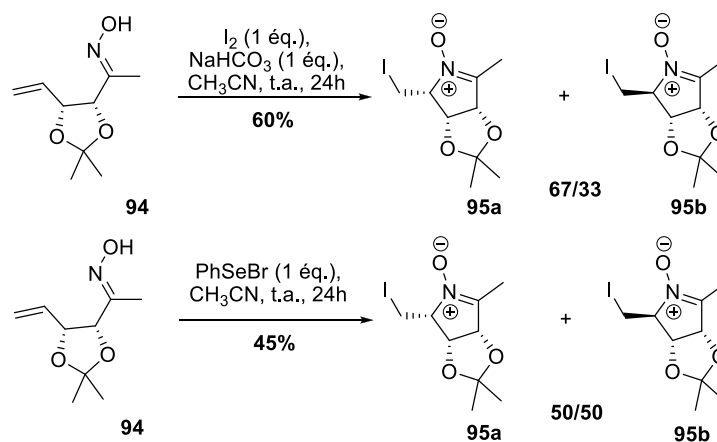
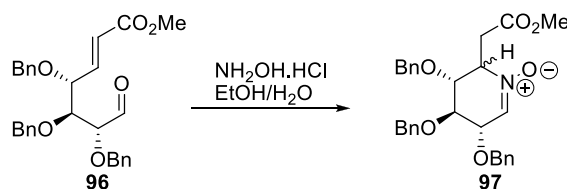


Schéma 68 synthèse de nitrone L-lyxo/D-ribo

D'autres approches ont permis la formation de nitrones cycliques à partir d'oximes insaturées. Notamment, en présence d'un accepteur de Michael et d'allènes (Schéma 69).⁹⁹

a) addition de Michael



b) addition sur un allène

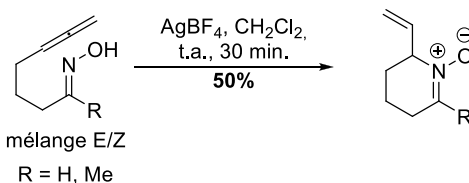


Schéma 69 cyclisation par addition de Michael et sur un allène

b. Approche par substitution nucléophile

Pour obtenir les systèmes cycliques ciblés, nous nous sommes largement inspirés des méthodes de synthèse des nitrones cycliques obtenues par substitution nucléophile intramoléculaire. La grande majorité des nitrones cycliques sur charpentes saccharidiques est constituée de cycles à 5 chaînons, plus stables que leurs analogues à six chaînons dont l'apparition dans la littérature est beaucoup plus récente.

✓ Nitrones sur charpente furanose

⁹⁹ a) Herczegh, P. ; Kovács, I. ; Szilágyi, L. ; Varga, T. ; Dinya, Z. ; Sztaricskai, F. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 1211 – 1214. b) Lathbury, D.C. ; Shaw, R.W. ; Bates, P.A. ; Hursthouse, M.B. ; Gallagher, T. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1* **1989**, 2415 – 2424. c) Buchlovič, M. ; Man, S. ; Potáček, M. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 9953 – 9961.

En 2003, l'équipe de Goti a publié la synthèse de la nitrone **100** selon deux approches différentes à partir du L-xylose et du D-arabinose. La première approche est une cyclisation en milieu basique de l'aldoxime déprotégée **98**, l'alcool secondaire en position 4 étant activé par un groupe mésyle. La seconde voie est une désilylation cyclisante : la substitution nucléophile a été réalisée sur le carbone 4, substitué par un atome d'iode, par une aldoxime O-silylée **99** (Schéma 70).¹⁰⁰

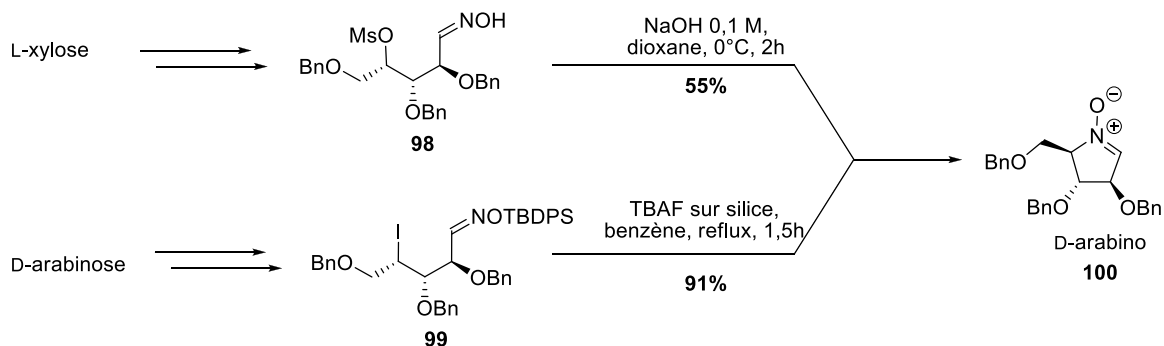


Schéma 70 deux voies de synthèse vers l'accès d'une aldonitrone sur charpente D-arabinofuranose

La cyclisation en présence de base a montré un rendement modeste de 55%. En comparaison, la voie de la désilylation cyclisante s'est révélée bien meilleure avec un rendement de 91%. La même année, l'équipe de Vogel a proposé la préparation de cette nitrone selon un même procédé.¹⁰¹ La réaction s'effectue en présence de TBAF dans le toluène à reflux avec un rendement de 92% comparable au résultat de l'équipe de Goti.

En 2004, Chevrier *et al.* ont également utilisé l'approche par désilylation cyclisante sur un alcool activé sous forme de mésylate. Les auteurs ont montré que lors de la désilylation, la substitution nucléophile peut avoir lieu et ainsi former la nitrone correspondante **102** (Schéma 71), mais une oxime cyclique **103** a également été isolée à hauteur de 7%.¹⁰²

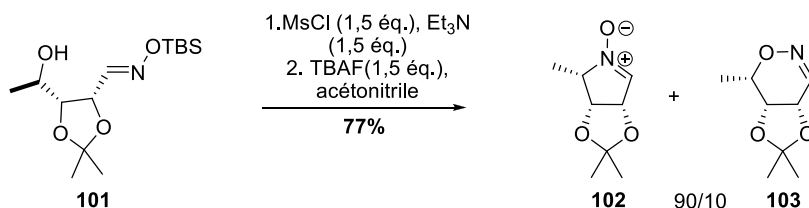


Schéma 71 synthèse de nitrone sur charpente L-lyxose par désilylation cyclisante

¹⁰⁰ Cardona, F. ; Faggi, E. ; Liguoni, F. ; Cacciarini, M. ; Goti, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2315 – 2318.

¹⁰¹ Carmona, A.T. ; Whigtman, R.H. ; Robina, I. ; Vogel, P. *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 3066 – 3073.

¹⁰² Chevrier, C. ; Le Nouen, D. ; Neuburger, M. ; Defoin, A. ; Tarnus, C. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 5363 – 5366.

Plus récemment, plusieurs exemples ont illustré cette approche de la synthèse de nitrones par désilylation cyclisante sur des alcools activés soit sous la forme de mésylate soit sous la forme d'iodoalcane.¹⁰³

Une autre stratégie a été de mettre l'oxime possédant l'alcool activé en présence de chlorhydrate d'hydroxylamine. L'addition d'hydroxylamine sur l'oxime permettant la formation d'un *N,N*-dihydroxyaminal, suivie de la cyclisation par substitution de l'alcool activé (ici mésylé) permet la formation de la nitrone (**Schéma 72**).

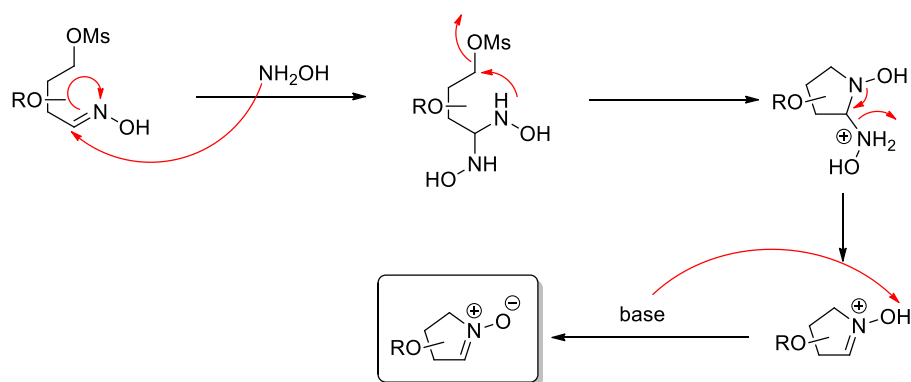


Schéma 72 mécanisme supposé de cyclisation en présence d'hydroxylamine

L'hydroxylamine étant plus nucléophile que l'oxime, elle a pu effectuer la substitution nucléophile. La nitrone a ensuite été obtenue par élimination d'hydroxylamine.¹⁰⁴ En 2005, Desvergnès *et al.* ont utilisé cette méthode et ont obtenu la nitrone sur charpente D-arabino **100** avec un excellent rendement de 92% (**Schéma 73**).¹⁰⁵

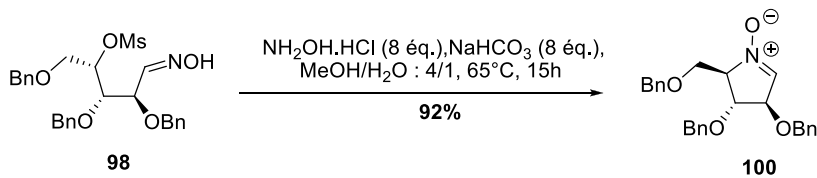


Schéma 73 synthèse d'une aldonitronne sur charpente D-arabino

En 2008, l'équipe de Cheng a proposé également une stratégie identique pour la formation de l'aldonitronne **105** de série L-arabino (**Schéma 74**).^{103b,c}

¹⁰³ a) Gurjan, M.K. ; Borhade, R.G. ; Puranik, V.G., Ramana, C.V. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6979 – 6981 ; b) Tsou, E.-L. ; Chen, S.-Y. ; Yang, M.-H. ; Wang, S.-C. ; Cheng, T.R.R. ; Cheng, W.C. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 10198- 10204 ; c) Tsou, E.-L. ; Yeh, Y.-T. ; Liang, P.-H. ; Cheng, W.-C. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 93 – 100 ; d) Chevrier, C. Le Nouën, D. ; Defoin, A. ; Tarnus, C. *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 1202 – 1211.

¹⁰⁴ Peer, A. ; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1044 – 1065.

¹⁰⁵ Desvergnès, S. ; Py, S. ; Vallée, Y. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1459 – 1462.

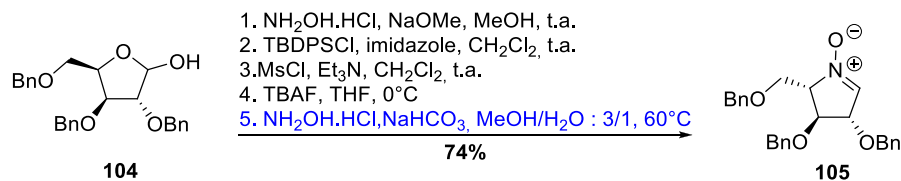


Schéma 74 synthèse d'une aldonitronne sur charpente L-arabino

En 1998, Closa *et al.*¹⁰⁶ puis en 2006, Yu *et al.*¹⁰⁷ ont utilisé une approche équivalente pour la synthèse de cette même nitrone **105** en série L-arabino (**Schéma 75**). Le substrat de départ est un hexénitol dont l'alcène sert de groupe protecteur pour libérer un aldéhyde après activation de l'alcool sous la forme d'un mésylate. Cette séquence a conduit à la même structure que précédemment mais est moins compétitive en termes de rendement.

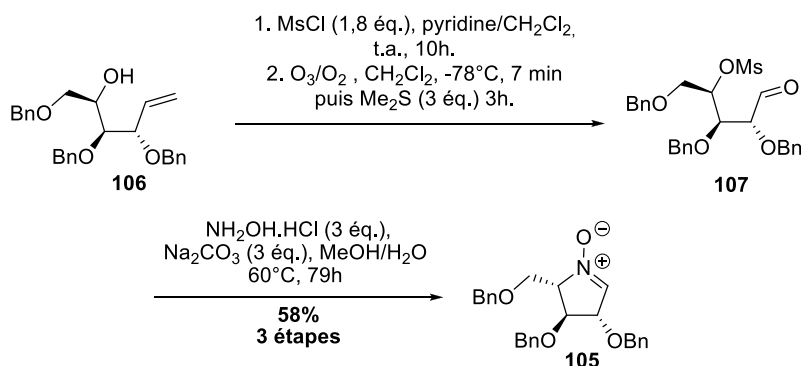


Schéma 75 synthèse de nitrone de série L-arabino par Yu *et al.*

✓ Nitrones sur charpente pyranose

En 1999, l'équipe de Vasella a proposé la synthèse d'une nitrone à six chaînons.¹⁰⁴ C'est à partir de cet article que l'étape de cyclisation assistée par l'addition d'hydroxylamine a pour la première fois été décrite (**Schéma 76**).

¹⁰⁶ Closa, M. ; Wightman, R.H. *Synth. Commun.* **1998**, 28, 3443 – 3450.

¹⁰⁷ Yu. C.-Y. ; Huang, M.-H. *Org. Lett.* **2006**, 8, 3021 – 3024.

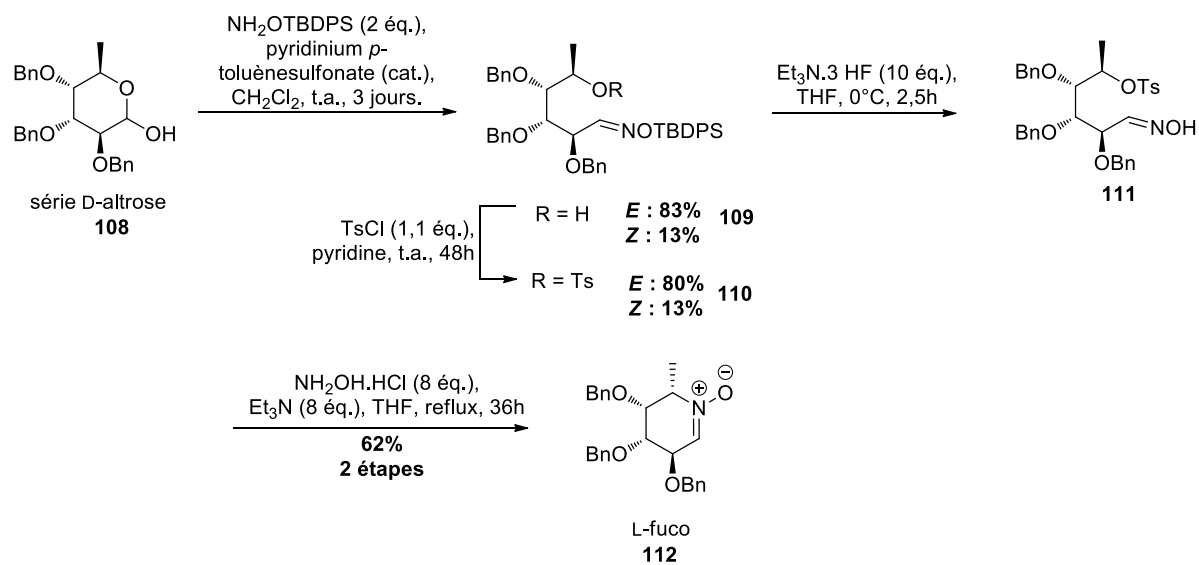


Schéma 76 synthèse de nitrone de série D-altrose par addition d'hydroxylamine sur l'oxime

Cet exemple est un des seuls sur charpente pyranose présentant une cyclisation sur un alcool secondaire. En effet, cette cyclisation n'est pas favorisée du fait de l'encombrement stérique. En 2002, Tamura *et al.* ont publié la synthèse de nitrones par désilylation cyclisante.¹⁰⁸ Suivant cette méthode, deux aldonitrones **116** et **120** ont été élaborées en série L-xylose et D-arabinose (**Schéma 77**). L'agent désilylant est ici le TBAT : tétrabutylammonium difluorotriphénylsilicate.

¹⁰⁸ Tamura, O. ; Toyao, A. ; Ishibashi, H. *Synlett*, **2002**, 8, 1344 – 1346.

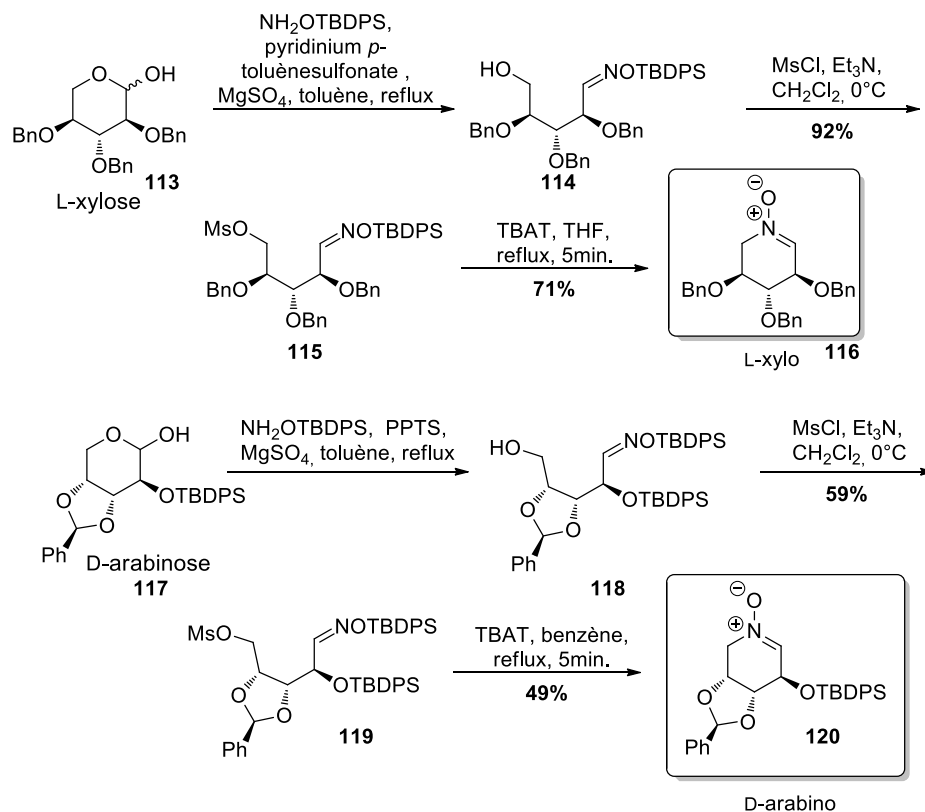


Schéma 77 synthèse des nitrones L-xylose et D-arabinose par désilylation cyclisante

En 2006, l'équipe de Jäger a proposé la préparation d'une nitrone à six chaînons. L'aldéhyde insaturé **121** est mis en présence d'eau pour former l'acétal correspondant qui vient s'additionner sur la double liaison activée par un brome électrophile (NBS). L'oxime **123** est formée par addition d'hydroxylamine sur l'hémiacétal, suivie par l'élimination d'une molécule d'eau. La cyclisation a eu lieu par substitution nucléophile du brome en milieu basique (**Schéma 78**).⁹⁸

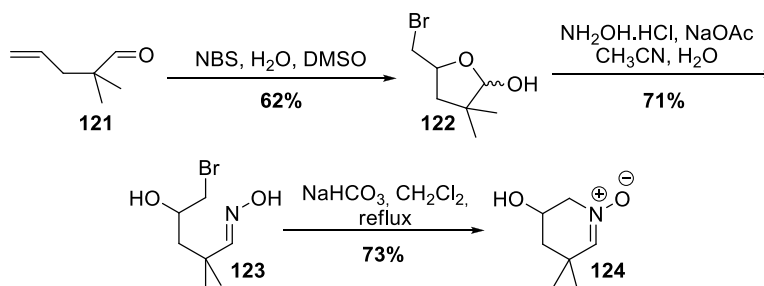
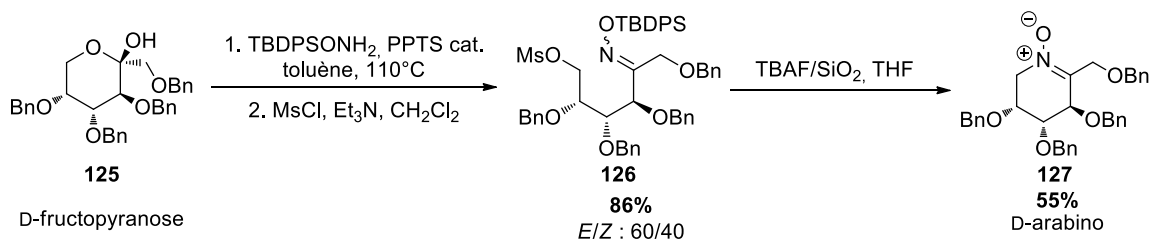


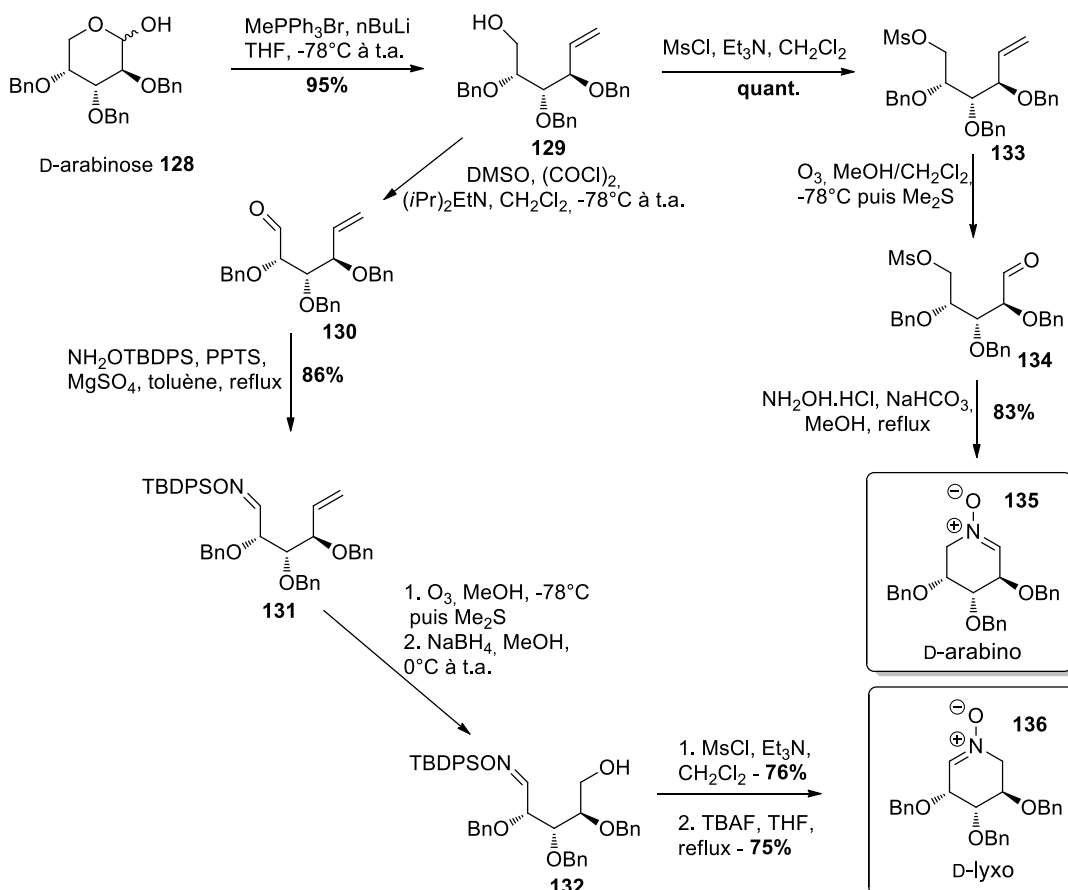
Schéma 78 cyclisation par substitution nucléophile sur un bromoalcane

Plus récemment, en 2009, Racine *et al.* ont proposé une méthode d'accès à une cétonitronne issue du D-fructopyranose **127** par désilylation cyclisante en présence d'un mélange TBAF/SiO₂ avec un excellent rendement de 55% (**Schéma 79**).¹⁰⁹

¹⁰⁹ Racine, E. ; Bello, C. ; Gerber-Lemaire, S. ; Vogel, P. ; Py, S. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1766 – 1769.


Schéma 79 synthèse d'une cétonitrone en série D-arabino

En 2010, Chan *et al.* ont développé une approche divergente de la synthèse de nitrones en série D-arabino et D-lyxo à partir d'un intermédiaire commun. À partir du D-arabinopyranose, par un jeu de protections et fonctionnalisations les auteurs ont préparé deux aldonitrones **135** et **136**. S'appuyant sur l'insertion d'une double liaison par réaction de Wittig, les auteurs ont construit la fonction aldéhyde soit par oxydation de l'alcool libéré, soit par ozonolyse de l'alcène. Les deux approches ont abordé la formation de la nitrone soit par la technique de désilylation cyclisante, soit par une substitution nucléophile (**Schéma 80**). Ces deux approches ont été suivies à partir de quatre pyranosides, ce qui leur a donné accès à 8 nitrones de série différentes.¹¹⁰


Schéma 80 synthèse de nitrones en série D-arabino et D-lyxo

¹¹⁰ Chan, T-H. ; Chang, Y-F. ; Hsu, J-J. ; Cheng, W-C. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 5555 – 5559

La cyclisation par substitution nucléophile sur un mésylate, consécutive à la formation de l'oxime a également été décrite par l'équipe de Yu en 2010. Les rendements obtenus ont été nettement moins bons, mais ces synthèses linéaires ont pu être appliquées à 4 séries de pentoses (**Schéma 81**).¹¹¹

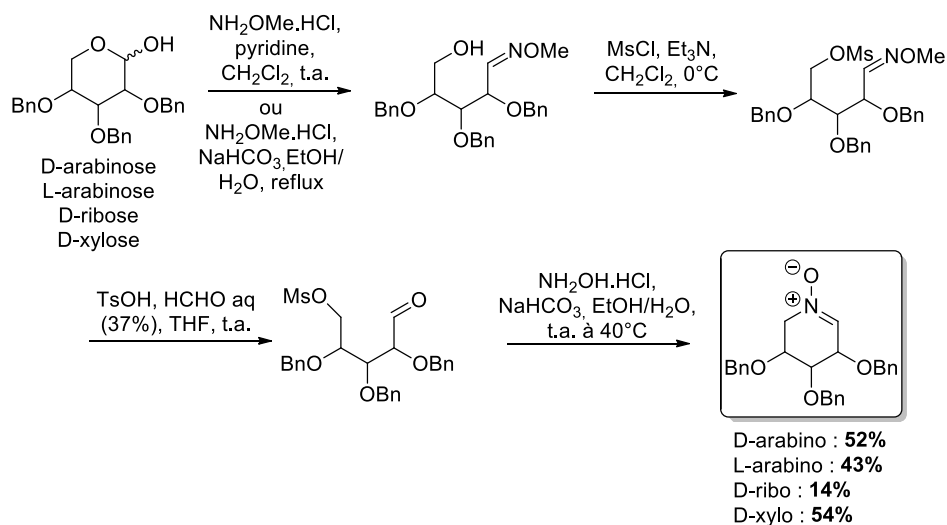


Schéma 81 formation de quatre nitrones par substitution nucléophile

Plus récemment, en 2011, l'équipe de Cheng a décrit la synthèse des nitrones en série D-arabinose **135** et L-arabinose **141** en utilisant une synthèse supportée pour la formation du précurseur mésylé (**Schéma 82**).¹¹²

¹¹¹ Wang, W-B. ; Huang, M-H. ; Li, Y-X. ; Rui, P-X. ; Hu, X-G. ; Zhang, W. ; Su, J-K. ; Zhang, Z-L. ; Zhu, J-S. ; Xu, W-H. ; Xie, X-Q. ; Jia, Y-M. ; Yu, C-Y. *Synlett*, **2010**, 488 – 492.

¹¹² Chang, Y-F. ; Guo, C-W. ; Chan, T-H. ; Pan, Y-W. ; Tsou, E-L. ; Cheng, W-C. *Mol. Divers.* **2011**, *15*, 203 – 214.

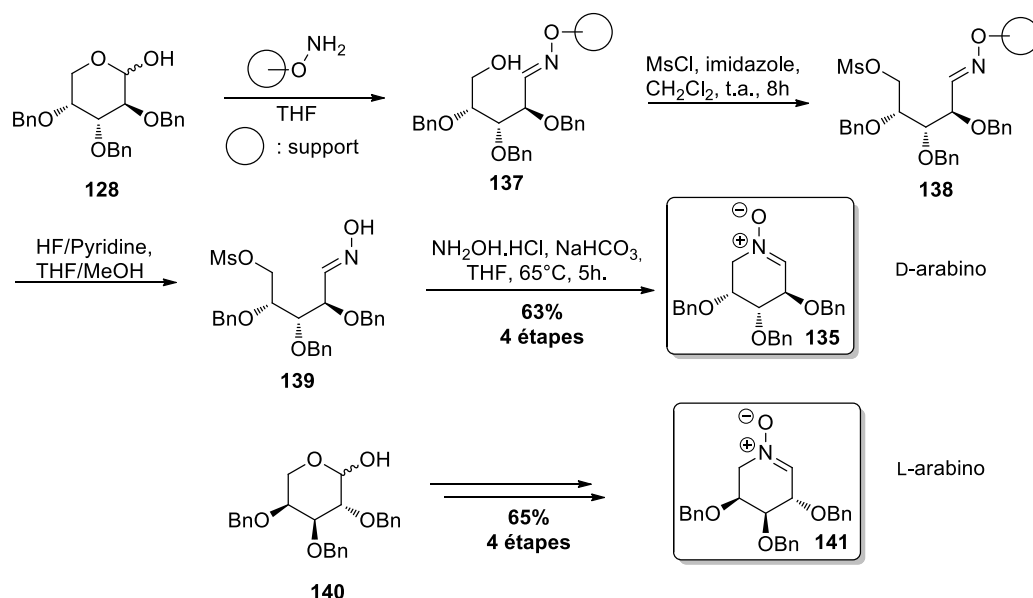


Schéma 82 synthèse supportée pour la formation de nitrones

Cette synthèse a permis d'écourter le temps de purification car les produits greffés sur le support ont été isolés après une simple filtration. Le rendement global d'accès à la nitrone **135** sur charpente D-arabinose est de 63% dans le cas de la synthèse supportée et de 79% lors de la synthèse en solution (**Schéma 80**). La synthèse supportée permet d'accéder en peu de temps à une large gamme de nitrones, les rendements étant légèrement inférieurs que par la synthèse en solution.

c. Autres voies de synthèse

D'autres méthodes de synthèse ont été développées pour conduire aux nitrones. Ainsi, diverses approches par oxydation d'hydroxylamines¹¹³ et d'amines (**Schéma 83**) ont été décrites.¹¹⁴

¹¹³ Cicchi, S. ; Marradi, M. ; Corsi, M. ; Faggi, C. ; Goti, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4152 – 4161.

¹¹⁴ a) Robinson, A.K. ; DeLuca, I. ; Drummond, S. ; Boswell, G.A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 4801-4804 ; b) Goti, A. ; Namelli, L. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 6025 – 6028 ; c) Soldaini, G. ; Cardona, F. ; Goti, A. *Org. Lett.* **2007**, 9, 473 – 476.

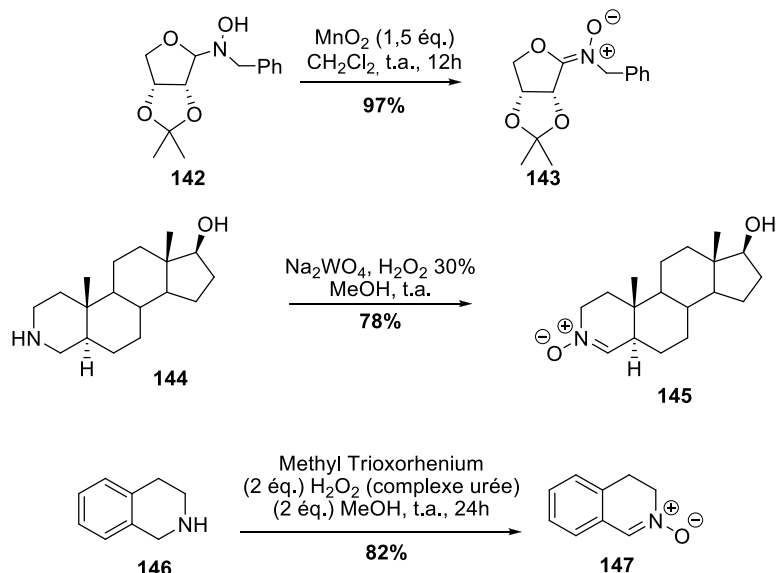


Schéma 83 synthèse de nitrones par oxydation d'hydroxylamine et d'amines

La première méthode représentée a consisté en l'oxydation de l'hydroxylamine **142** par l'oxyde de manganèse. Les deux autres approches ont donné accès aux nitrones **145** et **147** par oxydation d'une amine secondaire en présence de tungstate de sodium ou de methyltrioxorhenium. Cette dernière méthode a également été appliquée à l'oxydation d'imines en nitrones.^{114c}

En 1996, Van den Broeck a décrit la synthèse de la nitron **150** sur charpente D-glucose *via* une oxydation de l'amine en présence de 2,2-diméthylidioxirane. Cependant, deux nitrones **149** et **150** ont été obtenues en mélange inséparable (Schéma 84).¹¹⁵

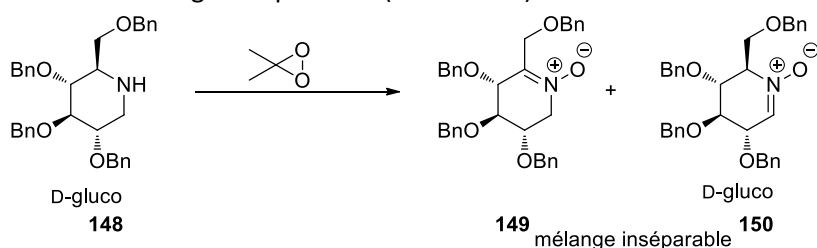


Schéma 84 synthèse de nitron sur charpente D-gluco

Cette méthode a l'avantage de s'effectuer en seulement quatre étapes avec un rendement global de 72% depuis la désoxynojirimycine commerciale, cependant la nitron **150** obtenue doit être engagée dans la réaction suivante sans attendre car elle se dégrade ou se transforme en l'isomère indésirable **149**.

Il est également possible d'obtenir une nitron par condensation d'une hydroxylamine sur une cétone. Cet exemple a été décrit en 1997 par l'équipe de Wang.¹¹⁶

¹¹⁵ Van Den Broeck, L. A. G. M. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 4467 – 4478.

¹¹⁶ Chackalamannil, S. ; Wang, Y. *Tetrahedron*, **1997**, *53*, 11203 – 11210.

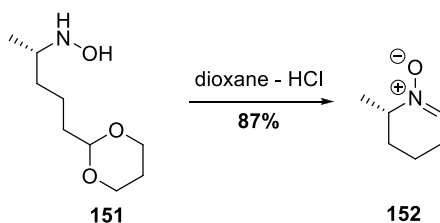


Schéma 85 formation d'une nitrone par condensation d'une hydroxylamine sur une cétone

Très récemment, en 2013, la synthèse des nitrones sur charpente D-gluco **150** et L-ido **158** a été décrite par l'équipe de Yu (**Schéma 86**).¹¹⁷

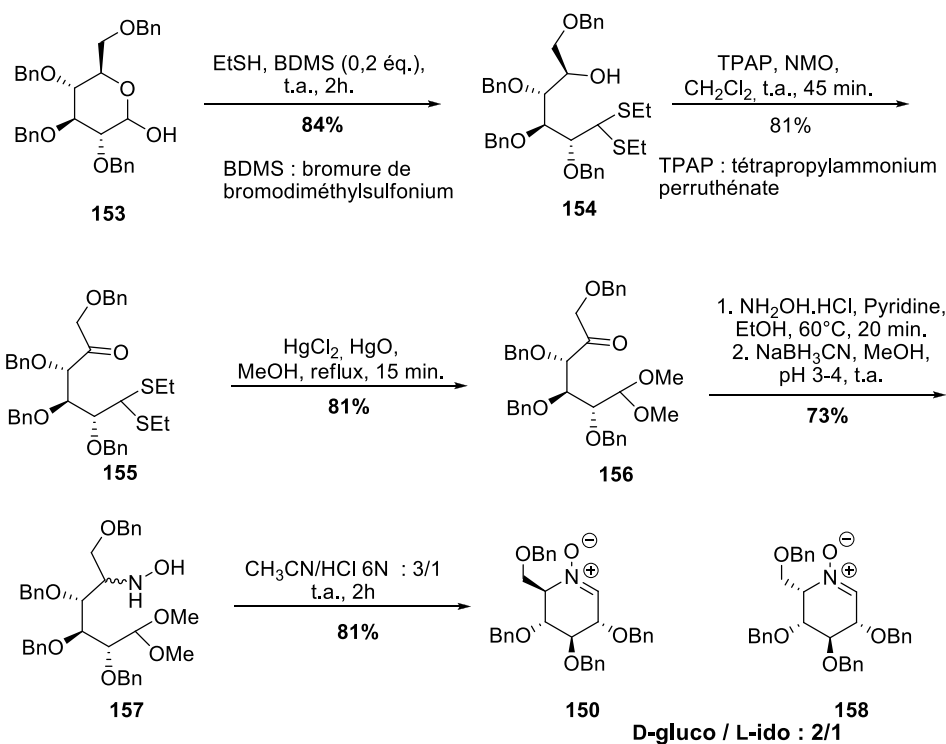


Schéma 86 synthèse de nitrones sur charpente L-ido et D-gluco

En 2014, l'équipe de Py a décrit la synthèse de cétonitrones sur charpente pyranose par expansion de cycle.¹¹⁸

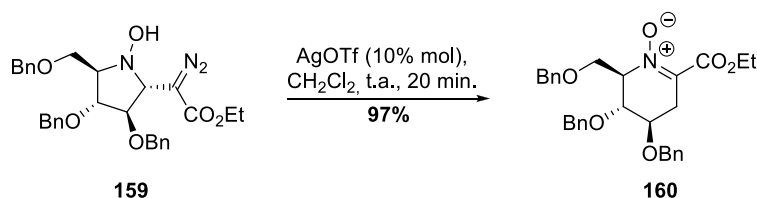


Schéma 87 formation de nitrone par expansion de cycle

¹¹⁷ Zhao, H. ; Zhao, W-B. ; Zhu, J-S. ; Jia, Y-M. ; Yu, C-Y. *Molecules* **2013**, *18*, 6021 – 6034.

¹¹⁸ Lieou Kui, E. ; Kanazawa, A. ; Poisson, J.-F. ; Py, S. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 4484 – 4487.

Plusieurs exemples sont présentés dans cet article ainsi que l'accès à des nitrones à sept chaînons. Le catalyseur utilisé est soit AgOTf, soit CuOTf en fonction de la nature du substrat.

La synthèse de nitrones sur charpente pyranose est actuellement en pleine expansion et donne accès après addition nucléophile et/ou déprotection à de nouveaux iminosucres, connus pour leurs propriétés biologiques notamment vis-à-vis des glycosidases.

1.3. Précédents au laboratoire

Un petit nombre de TINOs a été préalablement décrit au sein du laboratoire. La fonction a été insérée dans un système cyclique à 5 chaînons. L'étape finale de cyclisation a été réalisée par réaction de Mitsunobu sur les thiohydroximates correspondants et permet d'obtenir les TINOs **162** et **163** avec des rendements de 35 à 79 %, leurs analogues en cycle à 6 et 7 chaînons **164** et **165** n'ont, quant à eux, pu être détectés et donc isolés (**Schéma 88**).¹¹⁹

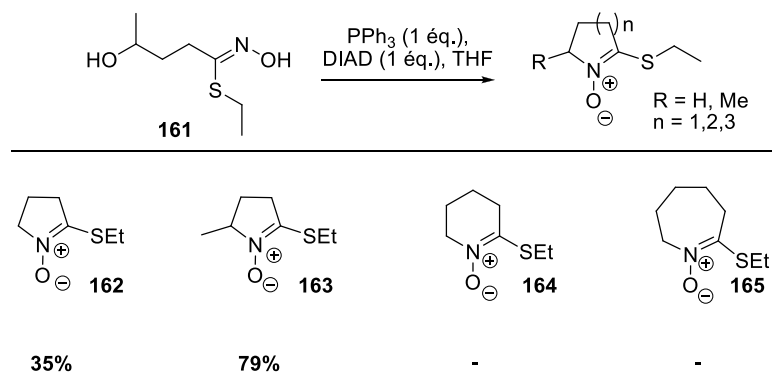
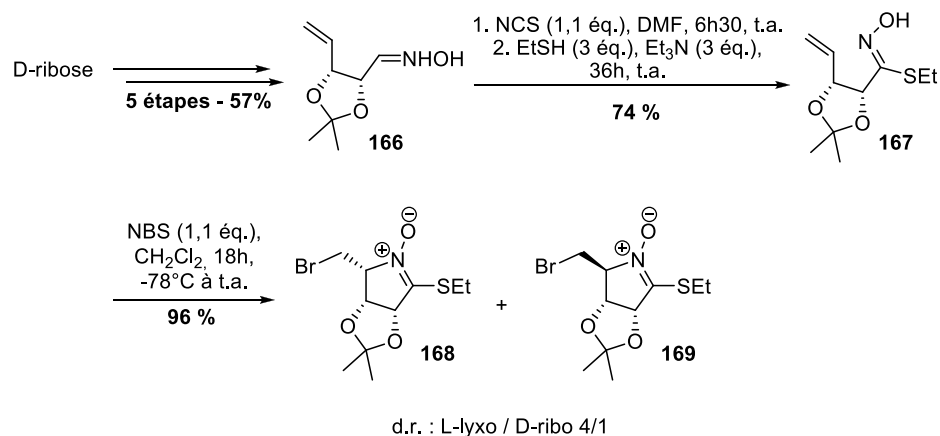


Schéma 88 TINOs synthétisés *via* Mitsunobu par D. Cerniauskaite

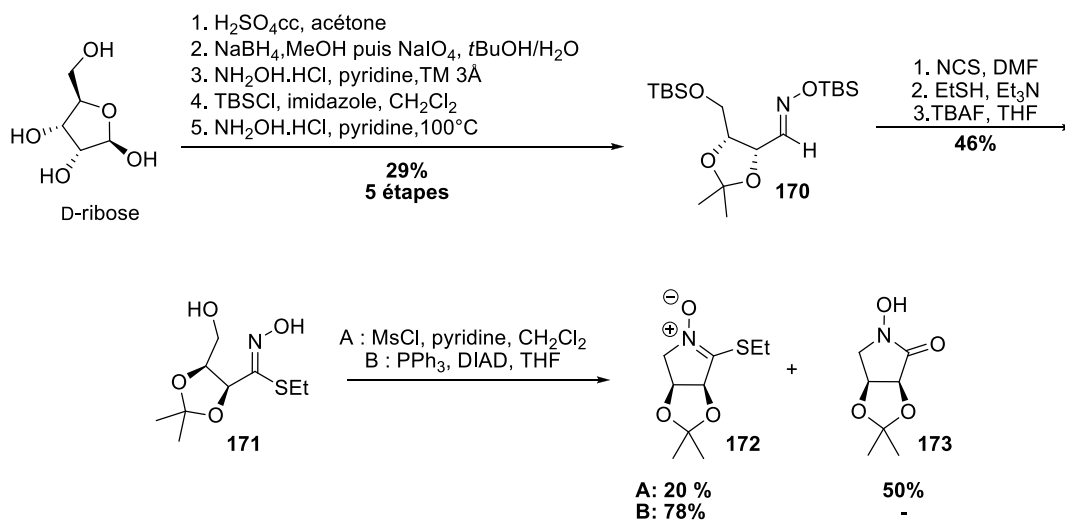
Pour plus de stabilité, ces TINOs ont été synthétisés sur charpente furanose. En 2010, la formation de la fonction TINO a été effectuée à partir du D-ribose par halocyclisation, et a ainsi pu produire les dérivés des séries L-lyxo **168** et D-ribo **169** (**Schéma 89**).¹²⁰ La séquence de réaction a été la suivante : après protection des alcools libres, fragmentation et formation de l'oxime à partir du D-ribose, l'oxime **166** a été formée à hauteur de 57% en 5 étapes. Elle a ensuite été transformée en thiohydroximate en un seul pot puis l'étape d'halocyclisation a été réalisée pour donner la fonction TINO avec formation de deux diastéréoisomères **168** et **169** et un rendement global de 96%.

¹¹⁹ Schleiss, J. ; Cerniauskaite, D. ; Gueyrard, D. ; Iori, R. ; Rollin, P. ; Tatibouët, A. *Synlett* **2010**, 5, 725 – 728.

¹²⁰ Schleiss, J. ; Rollin, P. ; Tatibouët, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 577 – 580.


Schéma 89 première synthèse de TINOs sur charpente saccharidique

D'autre part, le TINO **172** a été synthétisé en série L-érythrose par cyclisation du thiohydroximate sur l'alcool méssylé *via* une S_N2 ainsi que par réaction de Mitsunobu, cette dernière méthode étant la plus prometteuse (**Schéma 90**).¹¹⁹ En effet, le rendement a été de 20% par méssylation et de 78% par réaction de Mitsunobu.


Schéma 90 synthèse du TINO en série L-érythro

2. Synthèse par halocyclisation des TINOs sur charpentes pyranoses.

Nous nous proposons ici d'appliquer la méthode d'halocyclisation pour l'obtention de TINOs sur charpente pyranose. Pour cela, nous avons élaboré une rétrosynthèse (**Schéma 91**).

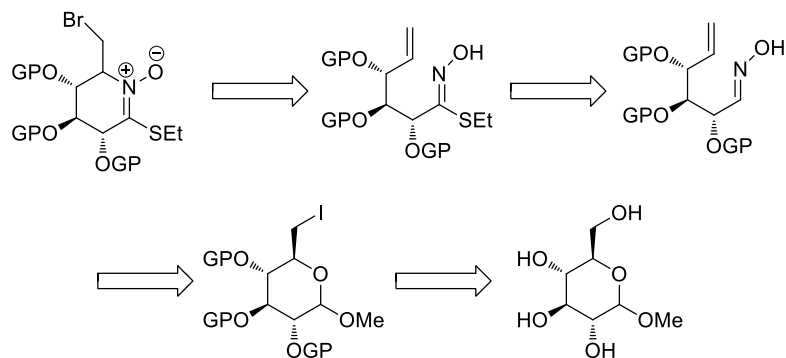


Schéma 91 stratégie envisagée pour la synthèse des TINOs sur charpentes D-gluco

La fonction TINO pourra être formée par cyclisation de la fonction thiohydroximate sur une fonction alcène activée en présence de NBS. La fonction thiohydroximate sera obtenue par addition d'éthanthiol sur un oxyde de nitrile généré *in situ* à partir d'une oxime. Cette dernière sera synthétisée à partir de l'aldéhyde correspondant, formé par fragmentation de type Vasella sur le composé 6-deoxy-iodé. Le dérivé iodé sera, quant à lui, synthétisé par iodation suivie ou précédée de la protection des alcools en positions C₂, C₃, C₄ du β -méthyl-D-glucopyranoside (**Schéma 91**).

Afin de connaître l'effet des groupements protecteurs (électro-donneur ou accepteur) sur l'étape de cyclisation ainsi que sur la stéréochimie du composé final (D-gluco ou L-ido), cette synthèse a été menée en l'absence et avec différents groupements protecteurs : acétyle (Ac), silyle (TBS) et benzyle (Bn).

2.1. Synthèse des aldoximes

La synthèse des aldoximes s'effectue en quatre étapes à partir du méthyl- β -D-glucopyranoside **174**. La première étape est une iodation sélective en utilisant les conditions développées en 1979 par Garegg et Samuelsson pour la synthèse de déoxyiodosucres (**Schéma 92**). Ces derniers ont d'ailleurs été utilisés directement comme agents de contraste en urographie.¹²¹

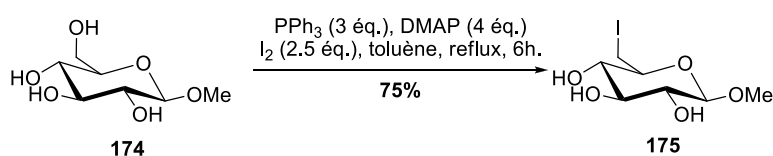


Schéma 92 iodation de type Garegg

Il est possible de réaliser cette synthèse en présence de triphénylphosphine supportée afin de s'affranchir d'une purification fastidieuse.¹²² En 2002, Skaanderup *et al.* ont proposé d'effectuer cette synthèse dans le THF, ce qui a permis de réaliser la réaction à plus basse température avec un

¹²¹ a) Garegg, P.J.; Samuelsson, B. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1979**, 978 – 980; b) Garegg, P.J.; Samuelsson, B. *J. Chem. Soc. Perk. Trans. 1* **1980**, 2866 – 2869.

¹²² Classon, B.; Liu, Z. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 6126 – 6130.

rendement similaire de 77%. Ce rendement a été obtenu après purification sur colonne inverse et recristallisation dans l'EtOH.¹²³

Dans notre cas, le composé iodé **175** a été obtenu avec un rendement isolé de 75% à partir du β -méthyl-D-glucopyranoside commercial **174** en suivant les conditions décrites par Skaanderup *et al.*¹²³ L'oxyde de triphénylphosphine est souvent difficile à séparer du composé iodé mais sa présence ne perturbe pas les réactions suivantes de protection. C'est pourquoi, le composé iodé a été engagé sans purification lors des synthèses ultérieures.

La protection des fonctions alcools en positions C₂, C₃, C₄ de la molécule **175** a été ensuite réalisée (**Schéma 93**). L'acétylation a été effectuée dans les conditions standard décrites (litt : 99%).¹²⁴ La silylation complète du composé iodé a nécessité des conditions plus spécifiques, décrite en 1996, par l'équipe de Chiara.¹²⁵

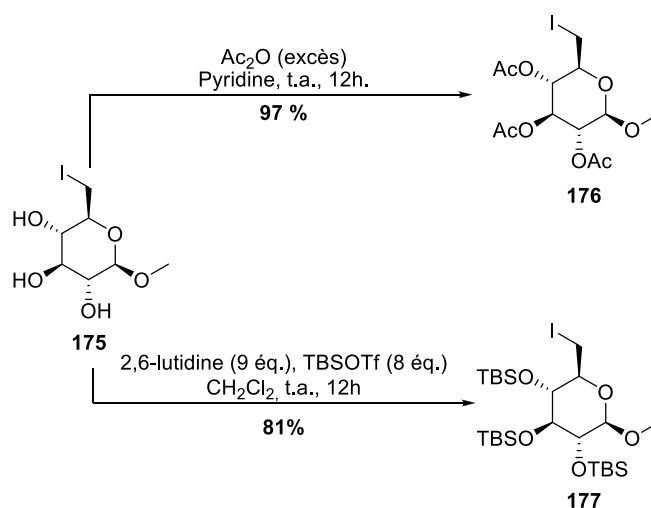


Schéma 93 acétylation et silylation du composé iodé

Différents essais de silylation ont été effectués en présence de TBSCl, cependant la silylation s'est révélée souvent incomplète et conduisait également à la substitution de l'iode par le chlore. La fragmentation de type Vasella étant impossible sur les dérivés 6-déoxy-chloré, l'utilisation de TBSOTf s'est montrée être la meilleure solution pour réaliser une silylation complète sans substitution de l'iode.

Le dérivé benzylé **181** a, quant à lui, été préparé selon une séquence de synthèses différente (**Schéma 94**).

¹²³ Skaanderup, P.R. ; Poulsen, C.S. ; Hyltsoft, L. ; Jorgensen, M.R. ; Madsen, R. *Synthesis* **2002**, *12*, 1721 – 1727.

¹²⁴ Zhdanov, R.I. ; Zhenodarova, S.M. *Synthesis* **1975**, 222 – 245.

¹²⁵ Chiara, J.L. ; Martínez, S. ; Bernabé, M. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6488 – 6489.

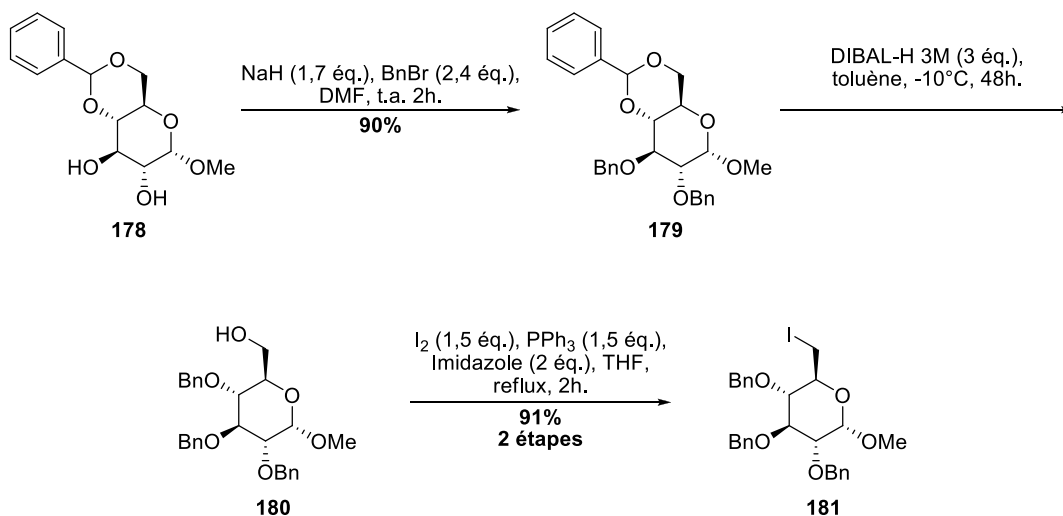


Schéma 94 formation du composé iodé perbenzylé

Le 4,6-benzylidène- α -glucopyranoside commercial **178** a été benzylé sur les fonctions alcools libres en position C₂ et C₃ avec un bon rendement de 90% (litt.¹²⁶ : 88 %) en présence de NaH et de bromure de benzyle. La réduction en présence de DIBAL-H (litt : 91%) a permis une ouverture et une réduction régiosélective et ainsi d'obtenir le composé désiré 2,3,4-tri-O-benzylé **180** avec une très bonne pureté. Ceci nous a permis de directement engager le composé **180** sans purification dans la suite de la synthèse. L'hydroxyle primaire en position 6 a ensuite subi une iodation de type Garreg, le composé iodé **181** a été obtenu avec un très bon rendement de 91%.

Nous avons donc en main les quatre dérivés iodés (**Figure 32**), produits de départ de la fragmentation de type Vasella qui nous a permis d'aboutir à la formation des fonctions aldéhyde et alcène, et ainsi à la mise en place des éléments nécessaires à l'étape d'halocyclisation.

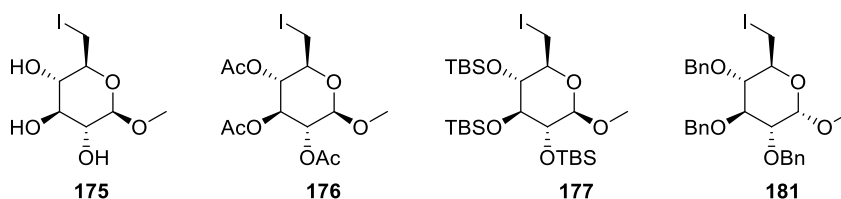


Figure 32 les quatre précurseurs pour la fragmentation de type Vasella

En 1979, l'équipe de Vasella¹²⁷ a décrit la fragmentation d'un sucre C₆-halogéné (bromé ou iodé) pour former un aldéhyde insaturé. La fragmentation s'effectue soit en présence de zinc soit en présence de *n*BuLi.¹²⁸ Les aldéhydes insaturés ont ensuite été utilisés dans différentes réactions,

¹²⁶ Spencer, R.P.; Bae Yu, H.K.; Cavallaro, C.L.; Schwartz, J. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4507 – 4509.

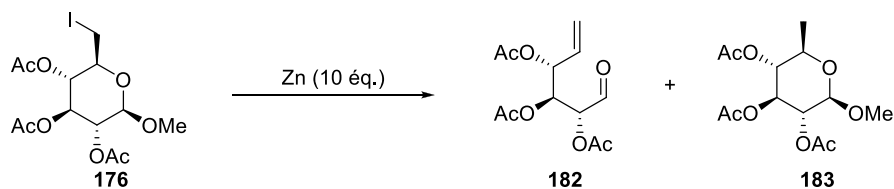
¹²⁷ Bernet, B.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **1979**, *62*, 1990 – 2016.

¹²⁸ Bernet, B.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 1328 – 1347.

notamment dans la formation de carbacycles à 5 chaînons,¹²⁷ dans des cyclisations radicalaires,¹²⁹ dans des synthèses d'azasucres¹³⁰ et de produits naturels complexes.¹³¹

Le dérivé iodé per-acétylé **176** a déjà été décrit comme précurseur dans la fragmentation de Vasella. Utilisant un mélange Zn/Ag, le composé **182** a ainsi été obtenu avec un rendement de 87%.¹³² Un exemple existe également en présence de vitamine B12 qui a donné le composé de fragmentation avec un rendement de 79%.¹³³ Nous avons choisi d'explorer les conditions traditionnelles de cette réaction en présence de zinc (**Tableau 15**).

Tableau 15 optimisation de la réaction de fragmentation avec les acétates comme groupements protecteurs



Entrée	Température	Solvant	Activation	Durée	Rendement
1	reflux	THF	-	12h	dégradation
2	reflux	THF	ultrasons	18h	pas de conversion
3	t.a.	AcOH	-	8h	98 % de 183
4	60°C	THF/H ₂ O	ultrasons	1h30	182 (instable)

Le zinc a dû être préalablement activé pour réaliser cette transformation. Cela a été réalisé par un lavage en présence d'HCl pour permettre d'éliminer la couche d'oxyde de Zn formé par contact avec l'air. La conduite de la réaction en conditions anhydres n'a donné lieu qu'à de la dégradation lors du chauffage thermique (entrée 1) et à l'absence de conversion lors de l'activation par ultrasons (entrée 2). La présence de 10 % d'eau et une activation par ultrasons ont permis d'obtenir l'aldéhyde attendu (entrée 4). La réaction n'a pas été effectuée dans un mélange THF/H₂O en chauffage thermique. Lors du premier essai concluant (entrée 4), la présence de l'aldéhyde a été observée par RMN du proton. En effet le déplacement chimique caractéristique de l'aldéhyde a été observé à 9,48 ppm. Cependant, la purification sur gel de silice n'a conduit qu'à de la dégradation, le rendement sur cette étape n'a donc pas pu être déterminé.

Par la suite, l'aldéhyde **182** a été engagé directement après traitement dans la formation de l'aldoxime **184** (**Schéma 95**).

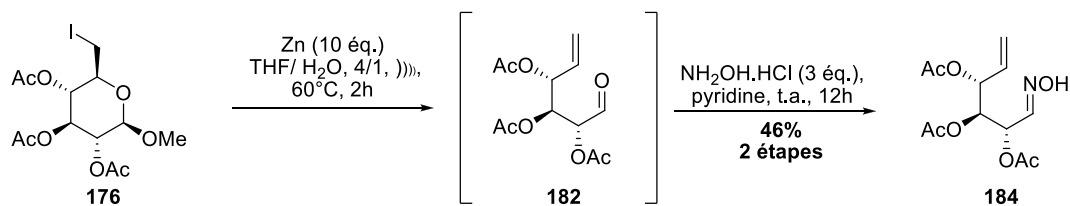
¹²⁹ Desiré, J. ; Prandi, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 3075 – 3084.

¹³⁰ Bernotas, R.C. ; Papandreou, G. ; Urbach, J. ; Ganem, B. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 3393 – 3396.

¹³¹ Villalobos, A. ; Danishefsky, S.J. *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 2776 – 2786.

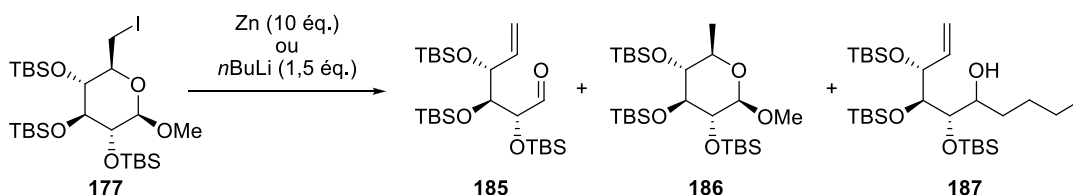
¹³² Fürstner, A. ; Jumbam, D. ; Teslic, J. ; Weidmann, H. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2213 – 2117.

¹³³ Kleban, M. ; Kautz, U. ; Greul, J. ; Hilgers, P. ; Kulger, R. ; Dong, H.Q. ; Jäger, V. *Synthesis* **2000**, 1027 – 1033.


Schéma 95 formation de l'oxime **184**

L'oxime **184** a ainsi été obtenue avec un rendement de 46% (*E/Z* : 75/25) sur les deux étapes. Le sous-produit de la réaction de fragmentation **183** provenant de la réduction de la liaison CH₂-I en CH₃ a été détecté mais n'a pas été isolé.

Les conditions optimisées pour la fragmentation du composé acétylé n'ont pas fonctionné sur le composé silylé en présence de 10% d'eau (entrée 1) ou en milieu anhydre (entrée 2) (**Tableau 16**).

Tableau 16 essais de fragmentation du composé silylé


Entrée	Réactif	Solvant	Température	Activation	Durée	Résultat
1	Zn poussière	THF/H ₂ O	60°C	ultrasons	2h	pas de conversion
2	Zn poussière	THF	60°C	ultrasons	2h	pas de conversion
3	Zn poussière	dioxane	reflux	-	2h30	pas de conversion
4	Zn poussière	EtOH/AcOH (7/3)	reflux	-	30 min	186 : 68%
5	<i>n</i> -BuLi	THF	-78°C à t.a.	-	2h	187 : 73 %
6	Zn poussière	EtOH 5% H ₂ O	Reflux	-	30 min	185 : 99%

Une fragmentation en présence de *n*-BuLi a permis d'obtenir l'aldéhyde **185** (entrée 5) mais celui-ci a subi instantanément une addition nucléophile du butyllithium pour donner le composé **187**. Ce phénomène était observé à l'état de traces par l'équipe de Vasella sur des composés différents.¹²⁸ La réaction a donc été effectuée avec le zinc. En présence d'acide acétique dans l'éthanol,¹³⁴ le composé **186** issu de la réduction de la liaison CH₂-I en CH₃ a été obtenu avec un

¹³⁴ Uenishi, J.; Ohmiya, H. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 7011 – 7022.

rendement de 68% (entrée 4), alors que dans l'éthanol contenant 5% d'eau, l'aldéhyde attendu **185** a été obtenu avec un rendement quasi-quantitatif.

L'aldéhyde a donc été engagé après purification dans la formation de l'oxime **188** en présence de chlorhydrate d'hydroxylamine. Le composé attendu **188** est stable, il a ainsi été obtenu avec un très bon rendement quasi-quantitatif sur deux étapes (**Schéma 96**).

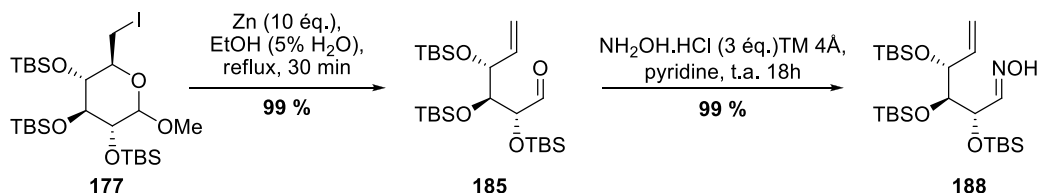


Schéma 96 formation de l'oxime **188**

Nous nous sommes alors concentrés sur la formation des oximes tribenzylés **189** et sans groupement protecteur **191**. Le dérivé iodé tribenzylé **181** a été engagé dans l'étape de fragmentation qui s'effectue en présence de Zn dans l'éthanol à reflux comme décrit dans la littérature.¹³⁵ L'aldéhyde a directement été soumis aux conditions de formation de l'oxime **189**, obtenue avec un rendement de 34 % sur les deux étapes (**Schéma 97**). Le rendement assez faible est peut être dû à l'instabilité de l'aldéhyde intermédiaire.

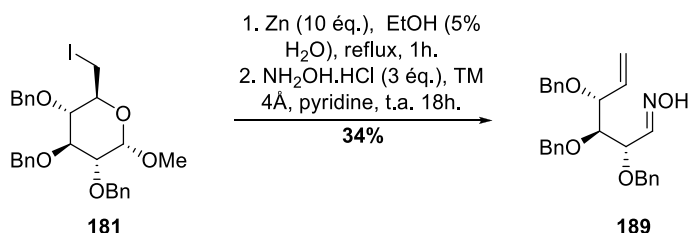
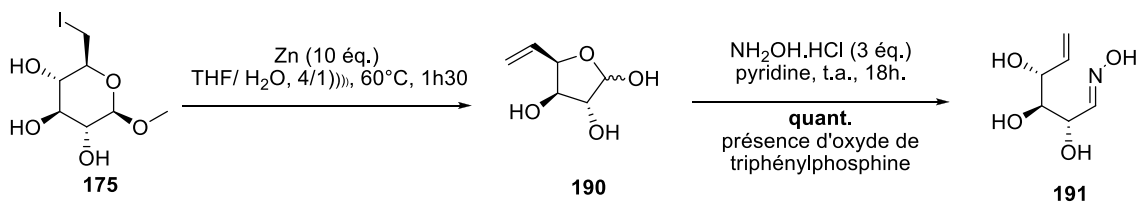


Schéma 97 fragmentation/formation de l'oxime pour le composé tribenzylé

Le composé iodé **175** a été soumis aux conditions de fragmentation conformément aux conditions décrites dans la littérature,¹³⁶ en présence de Zn dans un mélange THF/H₂O sous activation par les ultrasons (litt : 94%). L'hémiacétal **190** a été engagé sans purification dans l'étape de formation de l'oxime (**Schéma 98**). L'oxime **191** a alors été utilisé tel quel pour les étapes suivantes malgré la présence d'oxyde de triphénylphosphine issue de l'étape précédente et que nous n'avons pu séparer au cours des deux étapes.

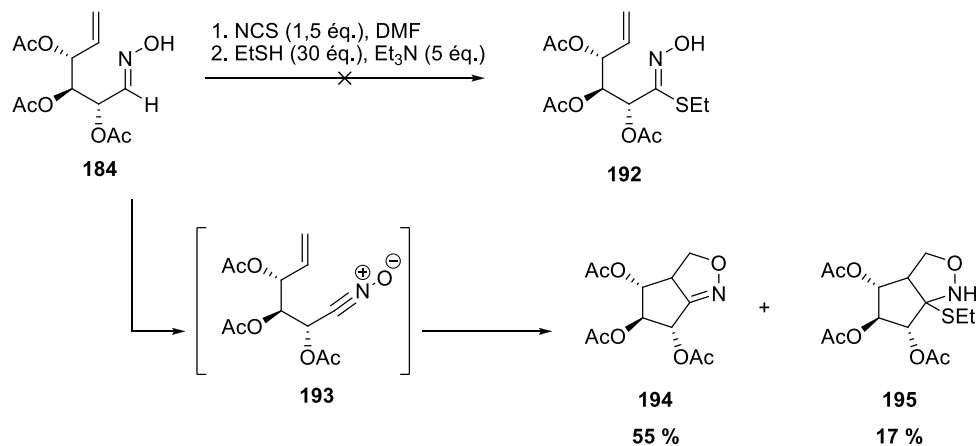
¹³⁵ Li, Y. ; Meng, Y. ; Meng, X. ; Li, Z. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 4002 – 4008.

¹³⁶ Skaanderup, P.R.; Hyltoft, L.; Madsen, R. *Monatsh. Chem.* **2002**, *133*, 467 – 472.



2.2. Synthèse de la fonction thiohydroximate

La construction de la fonction thiohydroximate à partir d'une oxime commence par la formation d'un intermédiaire, le chlorure d'hydroximoyle en présence de NCS. Une fois le chlorure d'hydroximoyle formé, l'addition de triéthylamine permet d'obtenir l'oxyde de nitrile sur lequel viendra s'additionner l'éthanethiol, formant ainsi le thiohydroximate correspondant.



Les tentatives de formation du thiohydroximate **192** n'ont jamais conduit au produit attendu mais au produit de cycloaddition **194** (**Schéma 99**). Lorsqu'un large excès d'éthanethiol est introduit dans le milieu réactionnel, ce dernier s'additionne sur le produit de cycloaddition **194** pour conduire à la formation minoritaire de l'isoxazolidine **195** dont la stéréochimie n'a pas pu être déterminée.

Un suivi par RMN a mis en évidence la formation du composé **194** avant l'ajout de la triéthylamine et de l'éthanethiol. Lors de la formation classique d'un chlorure d'hydroximoyle celui passe par la formation transitoire d'un oxyde de nitrile **193** sur lequel s'additionne l'ion chlorure. Dans notre cas, la cycloaddition intramoléculaire de la double liaison est plus rapide que l'addition du chlorure (**Schéma 100**). La cycloaddition est donc plus rapide que l'addition du thiol, contrairement à ce nous avons pensé.

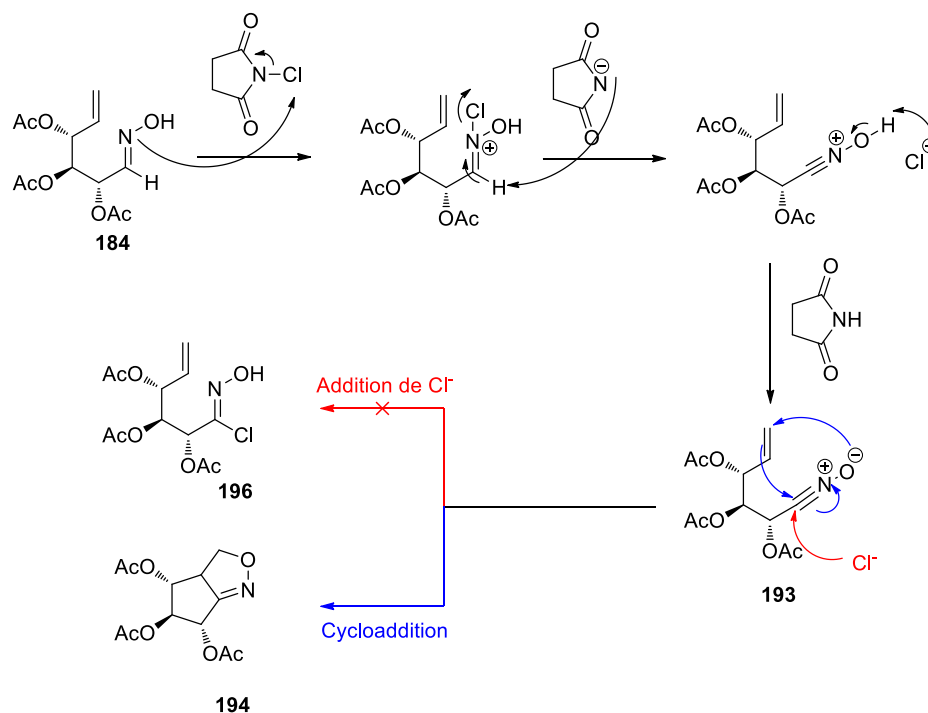


Schéma 100 mécanisme proposé pour la synthèse de l'isoxazoline **194**

Ce type de cycloaddition intramoléculaire a déjà été décrit en présence d'oxydants puissants (agents de chloration), tels que l'hypochlorite de sodium¹³⁷ ou la chloramine T (**Schéma 101**).¹³⁸

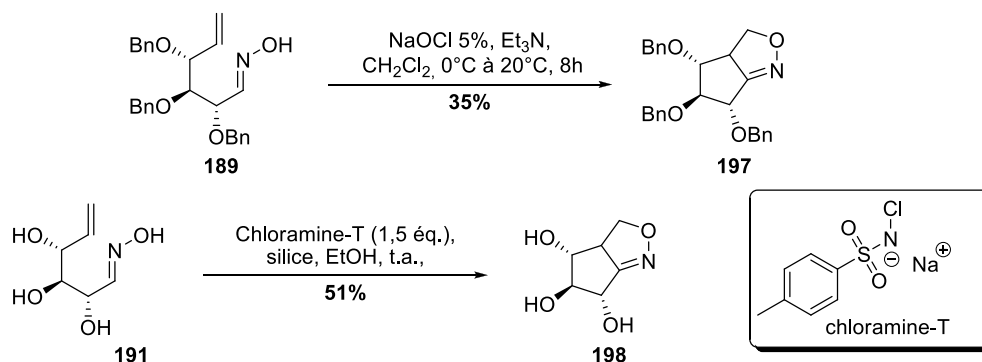
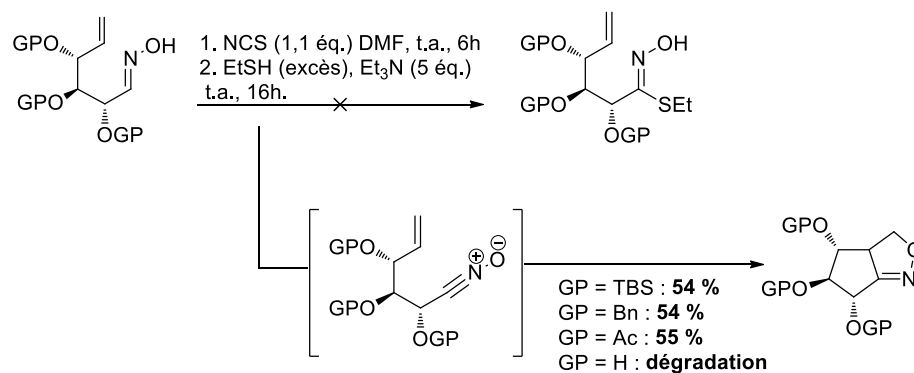


Schéma 101 exemple de cycloaddition en présence d'eau de Javel et de chloramine-T

Nos essais ont conduit, quel que soit le groupement protecteur, à l'isoxazoline avec des rendements moyens de 55%. Seule de la dégradation a été observée dans le cas de l'oxime déprotégée **191** (**Schéma 102**).

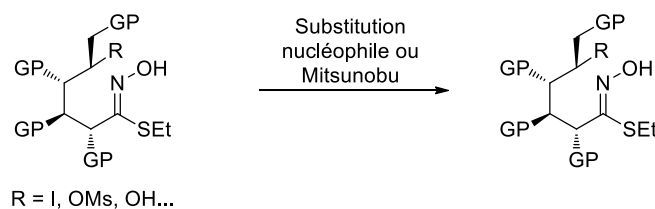
¹³⁷ Gallos, J.K.; Koumbis, A.E.; Xinpbaki, V.P.; Dellios, C.C.; Coutouly-Argyropoulou, E. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 15167 – 15180.

¹³⁸ Shing, T.K.M.; Wong, W.F.; Cheng, H.M.; Kwok, W.S.; So, K.H. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 753 – 756.


Schéma 102 formation des isoxazolines

La formation de l'isoxazolidine, c'est-à-dire le produit résultant de l'addition de l'éthanthiol sur l'isoxazoline, n'a été observée que dans le cas de la série acétylée et ce, malgré l'emploi d'un large excès de thiol dans toutes les séries.

Cette première approche vers les N-oxydes de thioimide sur charpente pyranose n'a conduit qu'aux produits de cycloaddition de la double liaison sur l'oxyde de nitrile formé intermédiairement en présence de NCS ou à de la dégradation. Aucune méthode permettant de masquer temporairement cette double liaison n'a été réalisée car nous avons privilégié d'autres voies de synthèse. En effet, parallèlement à cette étude, nous avons envisagé de synthétiser les TINOs par substitution nucléophile intramoléculaire de l'oxime sur l'alcool en position 5 activé (**Schéma 103**).


Schéma 103 formation du TINO par substitution nucléophile

3. Synthèse des TINOs par réaction de substitution nucléophile/Mitsunobu

Pour effectuer la synthèse des TINOs sur charpente pyranose, nous avons élaboré la rétrosynthèse suivante (**Schéma 104**).

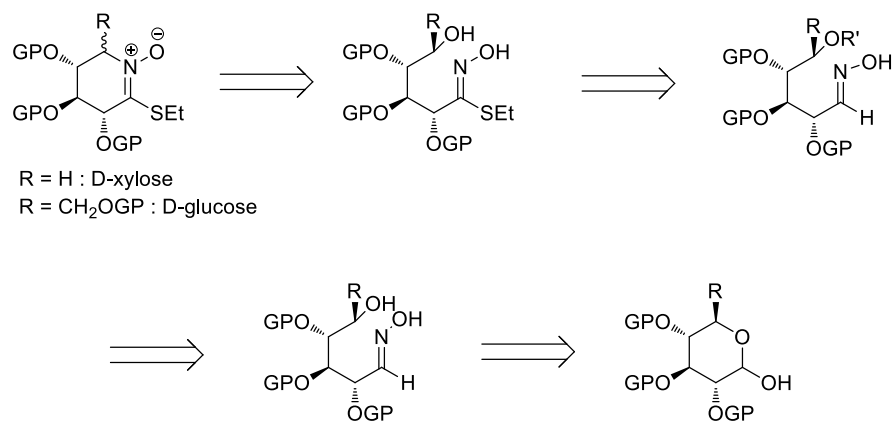


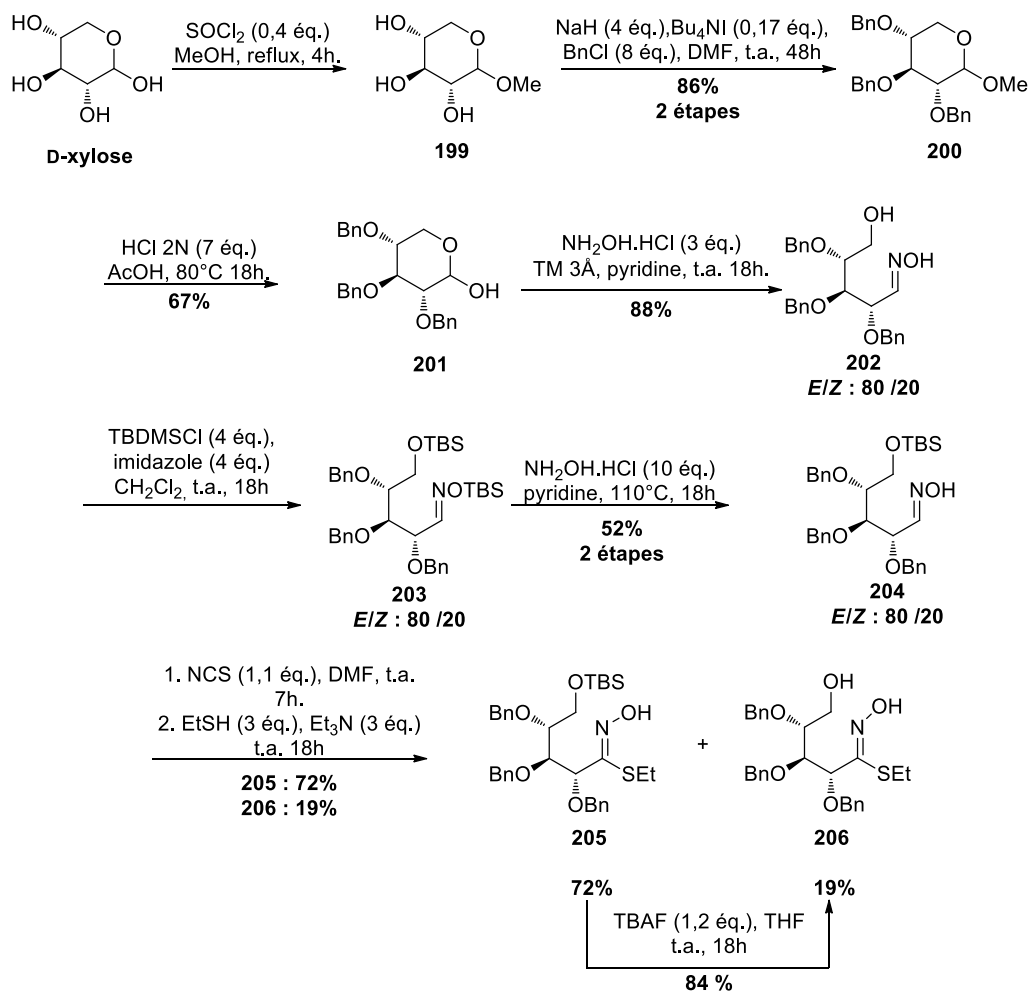
Schéma 104 Seconde voie de rétrosynthèse proposée pour la formation du TINO

La fonction TINO a été formée par substitution nucléophile sur l'alcool en C₅, primaire (dans le cas d'un pentose) ou secondaire (dans le cas d'un hexose) par la fonction thiohydroximate. Cette dernière a préalablement été formée à partir de l'oxime correspondante. Lors de la formation de la fonction thiohydroximate, l'alcool en C₅ doit être protégé. Il a donc été nécessaire d'effectuer une protection sélective de l'alcool en C₅. L'oxime de départ a été synthétisée par ouverture de l'hémiacétal dérivé du 2,3,4-tri-*O*-benzyl-D-xylopyranose ou du 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-D-glucopyranose.

3.1. Synthèse de TINO sur charpentes pentoses

a. Approche utilisant un groupe protecteur silylé en C₅

Au regard des résultats de la littérature, au moment d'aborder ce travail, la formation du TINO en série D-xylose nous a semblé plus aisée à mettre en place et plus judicieuse. En effet, ce dernier possède sur le cycle la même stéréochimie que le D-glucopyranose. De plus, l'absence du bras méthylèneoxy permet d'envisager une cyclisation plus aisée et une comparaison entre une position primaire et une position secondaire avec son homologue D-glucopyranose. L'ensemble de la séquence réalisée pour préparer l'intermédiaire clé (thiohydroximate) est représenté ci-dessous (**Schéma 106**).


Schéma 105 formation du thiohydroximate **64** en série D-xylo

Le 2,3,4-tri-*O*-benzyl-D-xylopyranose **201** a été obtenu à partir du D-xylose. Les rendements obtenus sont proches de ceux rapportés dans les protocoles de la littérature (litt : 81%).¹³⁹ L'hémiacétal **201** a été engagé dans la formation de l'aldoxime **202** qui a été obtenue avec un rendement de 88% (litt. : 92%¹⁴⁰). La présence de l'oxime a été caractérisée en RMN du proton par les signaux caractéristiques du proton H₁ des oximes aux déplacements chimiques de 7 ppm pour l'oxime *Z* et de 7,5 ppm pour l'oxime *E*. Il est également possible de remarquer la présence des groupements hydroxyles NOH sous forme de singulet à un déplacement chimique d'environ 8 ppm.

La protection sélective de l'alcool primaire en C₅ n'a jamais été observée en présence d'un équivalent strict de TBSCl. Un excès de TBSCl a permis de donner l'aldoxime **203**, protégée à la fois au niveau de l'oxime et de l'alcool en C₅. Les signaux des oximes sont légèrement blindés en RMN du proton. Les signaux des protons des groupements silylés apparaissent sous formes de deux massifs à 1 ppm et 0 ppm environ et nous ont permis d'affirmer la présence des deux groupements

¹³⁹ a) Nadein, O.N. ; Kornienko, A. *Org. Lett.* **2004**, 6, 831 – 834; b) Tejima, S. ; Ness, R.K. ; Kaufman, R.L. ; Fletecher, Jr, H.G. *Carbohydr. Res.* **1968**, 7, 485 – 490.

¹⁴⁰ Malik, M. ; Witkowski, G. ; Ceborska, M. *Org. Lett.* **2013**, 15, 6214 – 6217.

TBS. Le composé bis-silylé a été engagé sans purification dans une étape de transoximation¹⁴¹ pour conduire à l'aldoxime non protégée **204** avec un rendement de 52% sur les deux étapes. Les signaux des oximes sont légèrement déblindés et les protons de l'hydroxyle NOH apparaissent de nouveau aux alentours de 8 ppm.

L'oxime ainsi libérée a été soumise aux conditions développées au sein du laboratoire pour la formation de la fonction thiohydroximate. En effet, en présence de NCS, l'oxime **204** est transformée en chlorure d'hydroximoyle, la présence de la triéthylamine permet de libérer l'oxyde de nitrile, sur lequel vient s'ajouter l'éthanethiol. La réaction a été efficace et a conduit à la formation de la fonction attendue avec un rendement global de 91%, sous la forme de la molécule silylée attendue **205** à hauteur de 72% de rendement accompagnée du produit de désilylation **206** à hauteur de 19%, du fait de la présence de base dans le milieu réactionnel.

Les signaux caractéristiques des protons des oximes disparaissent tandis que la présence d'un groupement éthyle apparaît, ce qui nous a confirmé l'insertion de l'éthanethiol. En RMN du carbone, le CH-1 disparaît au profit d'un nouveau carbone quaternaire à 153 ppm. L'éther silylé est déprotégé en présence d'ions fluorure avec un rendement de 84%. Les massifs caractéristiques des protons portés ou proche d'un atome de silicium (aux environs de 1 et 0 ppm) ont disparu ce qui a confirmé la déprotection de l'alcool primaire. Il est apparu également une nette augmentation de la polarité observée lors du suivi CCM et de la purification.

Cette séquence de réactions a été relativement efficace puisque nous avons obtenu le composé **206** avec un rendement global de 28% sur 5 étapes (**Schéma 105**).

b. Approche utilisant le groupe protecteur acétyle en C₅

Une alternative aux fonctions éthers silylés a été envisagée pour protéger les fonctions alcools du composé **202**. L'utilisation des groupements protecteurs acétyles a été réalisée. Après bis-acétylation de l'alcool en C₅ et de l'oxime, le brut réactionnel contenant la molécule **207** qui s'est révélé de très bonne qualité a été mis en réaction pour réaliser une déprotection sélective de l'oxime. La déprotection a été effectuée en présence de benzylamine à température ambiante (**Schéma 106**).

¹⁴¹ Polyakov, V.A. ; Nelen, M.I. ; Nazarpak-Kandlousy, N. ; Ryabov, A.D. ; Eliseev, A.V. *J. Phys. Org. Chem.* **1999**, *12*, 357 – 363.

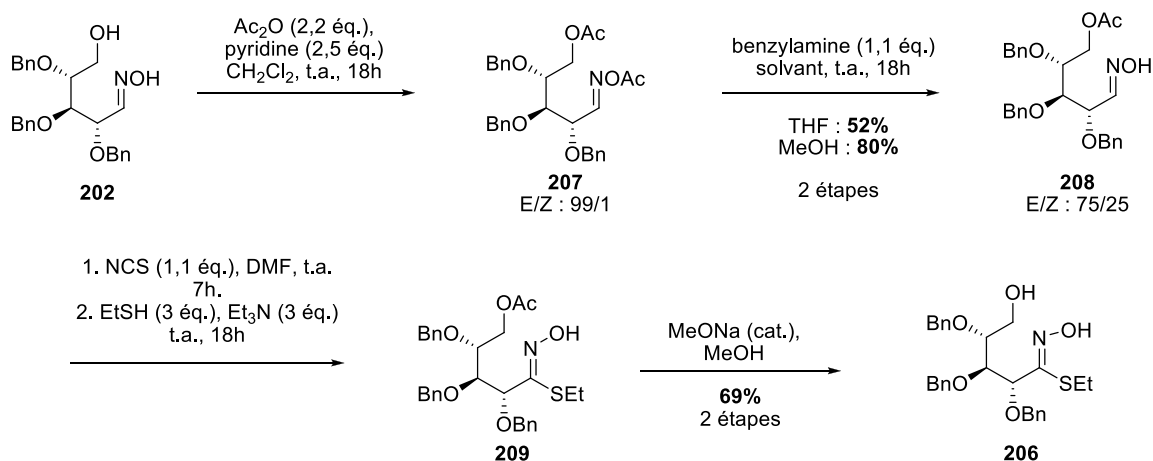


Schéma 106 synthèse du thiohydroximate *via* l'acétylation de l'oxime et de l'alcool en C₅

L'étape de désacétylation du composé **207** a été optimisée en utilisant le MeOH comme solvant, en remplacement du THF, le rendement obtenu a ainsi été de 80% sur les deux étapes (au lieu de 52%, précédemment). La formation de la fonction thiohydroximate a été quantitative. Le composé **209** a été engagé sans purification dans l'étape de désacétylation de l'alcool primaire afin d'obtenir la molécule **206** avec un rendement de 69% sur deux étapes. Le rendement global de ces quatre étapes a été de 55% contre 31% lorsque les protections étaient effectuées avec TBSCl.

La séquence acétylation/désacétylation sélective offre trois avantages. D'une part, le rendement global est nettement supérieur. L'anhydride acétique et la benzylamine ont l'avantage d'être des réactifs peu coûteux en comparaison du TBSCl. D'autre part, la désacétylation s'effectue à température ambiante contrairement à la désilylation qui s'effectue au reflux de la pyridine, ce qui permet d'éviter une éventuelle dégradation du milieu réactionnel.

c. Cyclisation par réaction de Mitsunobu

Deux stratégies sont proposées pour former le cycle, l'une par méthylation, l'autre par réaction de Mitsunobu.

Les essais de méthylation directe (**Schéma 107**) ont abouti à l'obtention d'un milieu réactionnel complexe, le produit de départ n'étant plus présent. Lorsque le mélange réactionnel brut est analysé par spectrométrie de masse basse résolution, le produit attendu **211** n'a pas été détecté. Par ailleurs, aucune des molécules présentes dans le milieu réactionnel n'a pu être identifiée (y compris un éventuel composé bis-méthylé).

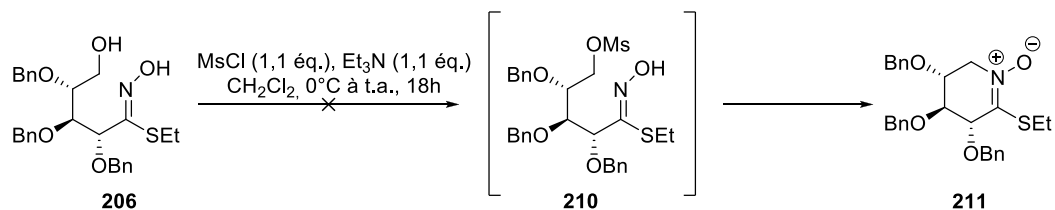


Schéma 107 formation du TINO **211** *via* une méthylation

Une approche de cyclisation par la réaction de Mitsunobu a donc été privilégiée. En 1967, Mitsunobu *et al.* ont montré que les alcools secondaires pouvaient être acylés en présence d'un acide carboxylique, de diéthylazodicarboxylate (DEAD) et de triphénylphosphine (PPh₃).¹⁴² En outre cette acylation s'effectue avec une inversion de configuration (**Schéma 108**). Actuellement, toutes les réactions de substitution nucléophile d'alcool primaire ou secondaire en présence de trialkyl- ou triaryl- phosphines et d'un dérivé de type diazodicarboxylate sont considérées comme des réactions de Mitsunobu ou apparentées.

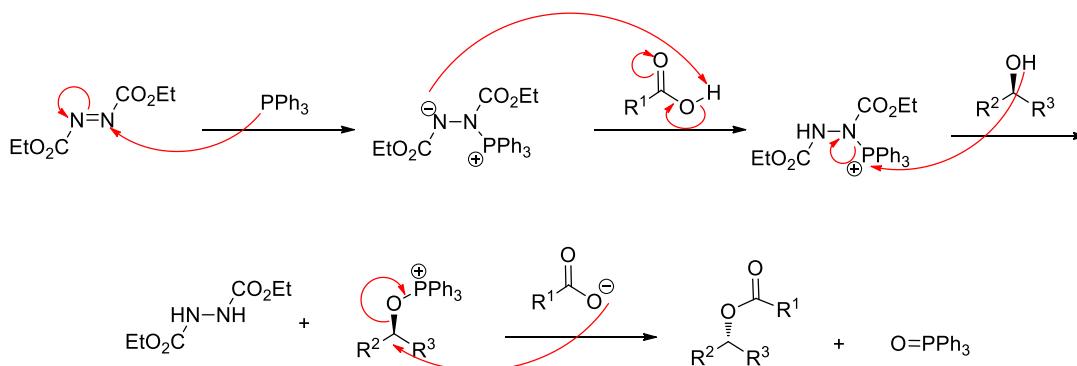


Schéma 108 mécanisme général de la réaction de Mitsunobu

Depuis 1967, les conditions ont été optimisées afin d'améliorer les rendements mais également de simplifier l'étape de purification.¹⁴³ Différentes phosphines peuvent être utilisées telles que la tributylphosphine,¹⁴⁴ triméthylphosphine,¹⁴⁵ les phosphines possédant un groupement amine sont également décrites car un lavage aqueux en conditions légèrement acides permet de les séparer du produit d'intérêt situé dans la phase organique.¹⁴⁶ L'inconvénient majeur de la réaction de Mitsunobu est la difficulté de purification. Soit pour l'élimination de l'adduit de la DEAD (DEADH₂) soit pour l'élimination de la triphénylphosphine et/ou de son oxyde. Pour pallier ce problème, certaines améliorations ont été apportées, notamment l'utilisation de phosphines supportées qui peuvent être séparées du milieu réactionnel par filtration en fin de réaction.¹⁴⁷ Il est également courant de remplacer la DEAD par la DIAD, plus stable et moins toxique.

Le couple « PPh₃-DEAD » est principalement efficace lorsque le nucléophile est légèrement acide (pKa < 11). Les rendements sont nettement moins bons avec des nucléophiles dont la basicité est trop élevée (pKa > 11). Il est alors possible d'utiliser la tributylphosphine en présence de différents activateurs plus basiques : (ADDP), (TMAD) ou (DHTD) (**Figure 33**).

¹⁴² Mitsunobu, O. ; Yamada, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40*, 2380 – 2382.

¹⁴³ Kumara Swamy, K. C. ; Bhuvan Kumar, N. N. ; Balaraman, E. ; Pavan Kumar, K. V. P. *Chem. Rev.* **2009** *109*, 2551-2651

¹⁴⁴ Olsen, C.A. ; Jorgensen, M.R. ; Witt, M. ; Mellor, I.R. ; Ushewood, P.N.R. ; Jaroszewski, J.W. ; Franzyk, H. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 3288 – 3299.

¹⁴⁵ Hillier, M.C. ; Desrosiers, J.-N. ; Marcoux, J.-F. ; Grabowski, E.J.J. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 573 – 576.

¹⁴⁶ Kiankarimi, M. ; Lowe, R. ; McCarthy, J.R. ; Whitten, J.P. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4497 – 4500.

¹⁴⁷ Pelletier, J.C. ; Kincaid, D. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 797 – 800.

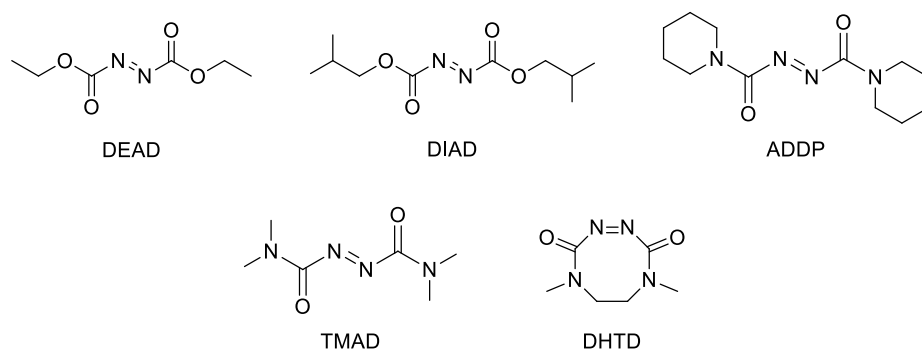


Figure 33 exemples d'activateurs utilisés dans les réactions de Mitsunobu

Il existe des exemples de synthèses de nitrones par réaction de Mitsunobu. En 2009, Sin *et al.* ont décrit la synthèse de nitrones exocycliques par *N*-alkylation d'oximes (**Schéma 109**).¹⁴⁸

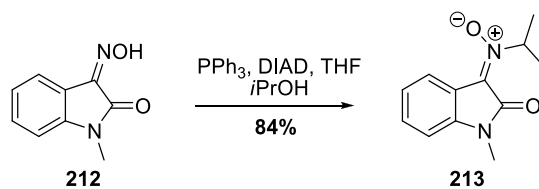
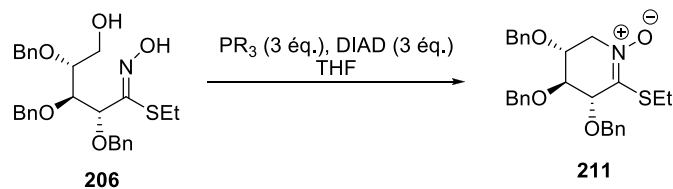


Schéma 109 exemple de formation de nitrone par réaction de Mitsunobu sur une oxime

¹⁴⁸ Sin, N. ; Venables, B.L. ; Liu, X. ; Huang, S. ; Gao, Q. ; Ng, A. ; Dalterio, R. ; Rajamani, R. ; Meanwell, N.A. *J. Heterocyclic Chem.* **2009**, *46*, 432 – 442.

Dans notre cas, différents tests de cyclisation du thiohydroximate **206** ont été effectués. Ceux-ci sont présentés dans le tableau suivant (**Tableau 17**) :

Tableau 17 Essais de formation du TINO



Entrée	Phosphine	Température	Durée	Echelle	Purification	Résultat
1	PPh_3	reflux	2h	0,2 mmol	colonne chromatographique	Traces
2	PPh_3 supportée sur polystyrène	reflux	2h	0,2 mmol	colonne chromatographique	dégradation
3	PCy_3	reflux	2h	0,2 mmol	colonne chromatographique	79%
4	PCy_3	reflux	2h	0,9 mmol	2 colonnes chromatographiques	60%
5	PCy_3	t.a.	4h	0,9 mmol	colonne chromatographique puis C18	73%
6	PCy_3 (1,5 éq.)	t.a.	15h	0,2 mmol	colonne chromatographique puis C18	77%

En présence de PPh_3 et de DIAD, le composé attendu **211** a été observé par analyse de spectrométrie de masse basse résolution ainsi que par RMN d'une fraction minoritaire issue d'une purification sur colonne de chromatographique, la triphénylphosphine supportée sur polystyrène a été testée. Cependant, aucune conversion n'a été observée car, chauffée au reflux du THF celle-ci a pris en masse et a entraîné la dégradation du milieu réactionnel (entrée 2). La formation du TINO étant obtenue en très faible quantité avec la triphénylphosphine, nous avons choisi la tricyclohexylphosphine afin d'augmenter à la fois le caractère basique et nucléophile du partenaire phosphine. L'activation de la DIAD sera plus rapide en présence de PCy_3 que de PPh_3 car la tricyclohexylphosphine est plus riche en électrons. En utilisant la tricyclohexylphosphine, le TINO **211** attendu a été obtenu avec un rendement de 79% (entrée 3). L'augmentation de la quantité de substrat à 0,9 mmole a conduit à une certaine dégradation ainsi qu'à la nécessité de deux purifications consécutives par chromatographie sur silice (entrée 4). Afin d'améliorer ces deux aspects, la réaction a été réalisée à température ambiante et la purification a été réalisée par deux chromatographies, l'une sur silice normale et la seconde sur silice C-18 afin d'éliminer l'oxyde de tricyclohexylphosphine qui a une polarité identique au TINO. Le rendement obtenu est proche du précédent avec 73% (entrée 5). Le nombre d'équivalent de phosphine peut être diminué de moitié

(1,5 éq.), le rendement est similaire 77% après 15h de réaction (**Tableau 17**, entrée 6). Les essais effectués avec moins de DIAD n'ont pas conduit à la conversion totale du produit de départ.

Il est intéressant de noter que l'utilisation de PCy₃ est peu courante dans la littérature pour les réactions de Mitsunobu. En 2001, l'équipe de Weissman décrit son utilisation pour l'époxydation du styrène **214** par réaction de cyclodéshydratation de type Mitsunobu.¹⁴⁹

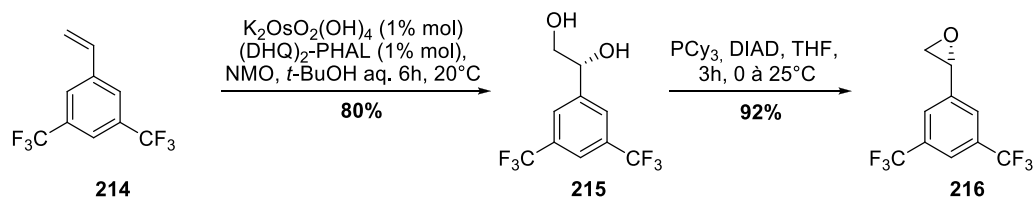


Schéma 110 époxydation par réaction de Mitsunobu

D'autre part, pour éviter les purifications sur silice C-18, il a été envisagé de silyler la fonction thiohydroximate **209** puis de trouver une méthode de désacétylation qui n'affecterait pas le groupement OTBS. L'alcool primaire libre obtenu pourrait ensuite subir l'étape de mésylation et le composé obtenu pourrait ainsi aboutir au TINO souhaité **211** suite à une désilylation cyclisante (**Schéma 111**).

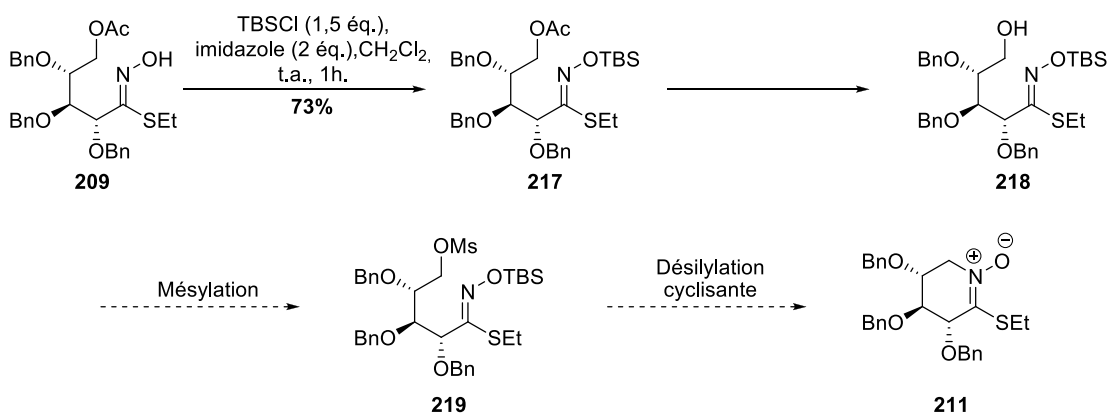
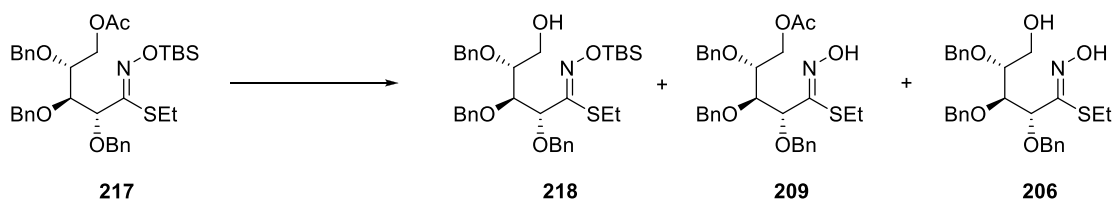


Schéma 111 voie de synthèse alternative proposée pour l'accès au TINO D-xylo **211**

Malgré la vingtaine de conditions utilisées pour désacétyler sans désilyler (K₂CO₃, benzylamine, acétate d'hydrazine, soude, triéthylamine, chlorure d'acétyle, diiode, BF₃.Et₂O, tamis moléculaire dans différents solvants, à différentes température), aucun résultat n'est apparu prometteur. Le produit s'est désilylé en milieu basique pour donner le composé **209**. Lorsque le composé de départ **217** s'est désacétylé, la molécule **218** qui en a résulté, semblait plus réactive que la molécule de départ, conduisant ainsi au composé désacétylé et désilylé **206** (**Schéma 112**).

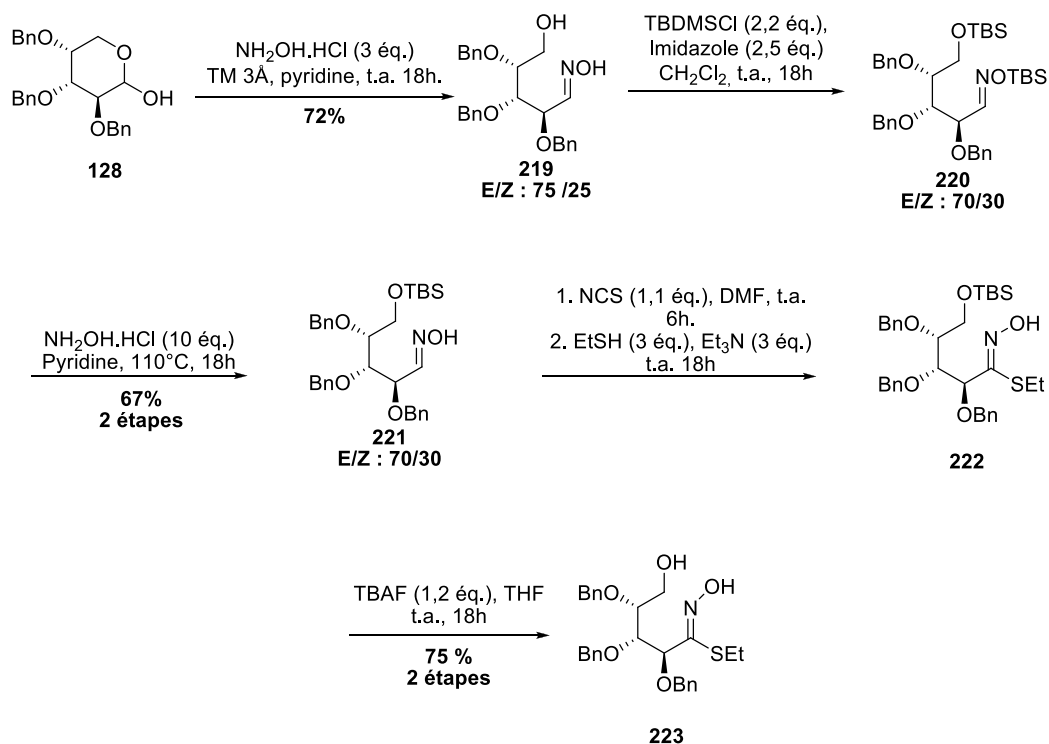
¹⁴⁹ Weissmann, S.A. ; Rossen, K. ; Reider, P.J. *Org. Lett.* **2001**, 3, 2513 – 2515.


Schéma 112 essais de désacétylation

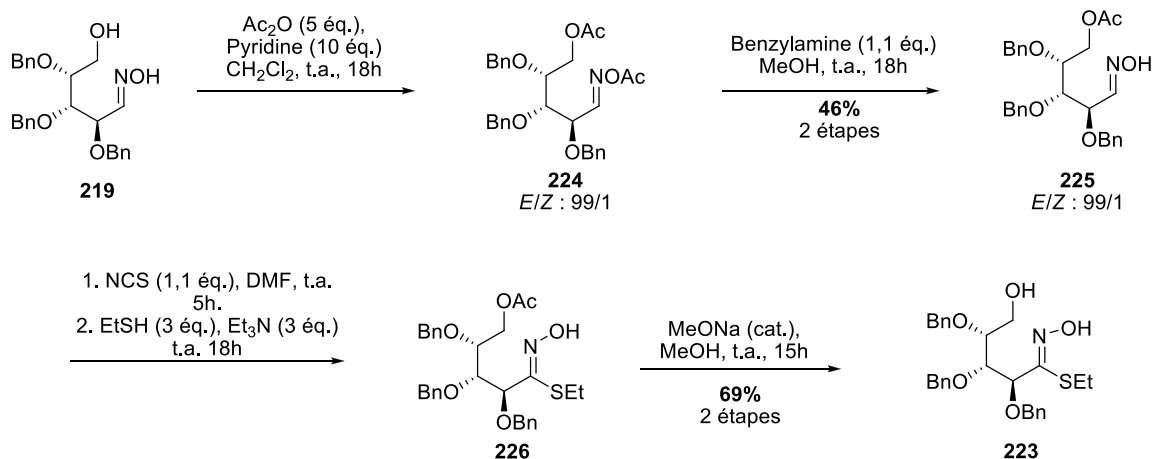
Nous avons donc conservé la voie utilisant la réaction de Mitsunobu en effectuant les réactions sur une échelle d'un gramme environ afin de faciliter la purification.

d. Synthèse du TINO en série D-arabinose

En parallèle à la synthèse du TINO de série D-xylose, le TINO sur une charpente D-arabinose a été synthétisé au laboratoire par le Dr. Marie Schuler (**Schéma 113**).

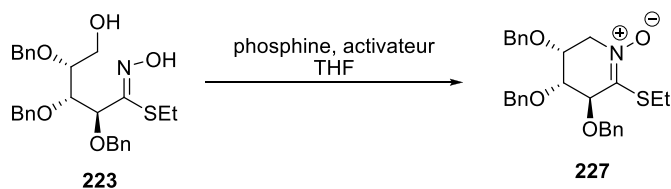

Schéma 113 synthèse du thiohydroximate **223** en série D-arabinose

La synthèse du thiohydroximate précurseur a tout d'abord été effectuée en utilisant des groupements protecteurs silylés. L'optimisation des groupements protecteurs a également été entreprise en remplaçant des groupements silylés par les groupements acétyles (**Schéma 113**).


Schéma 114 protection par les acétyles en remplacement des silyles

En série D-arabinose, la séquence réactionnelle utilisant les groupements protecteurs silyles offre un meilleur rendement global de 36% contre 26% en utilisant les groupements protecteurs acétyles. Les rendements dépendent donc des séries de sucre de départ, en effet, en série D-xylose il est préférable de protéger par des acétyles.

L'étape de cyclisation a été effectuée dans les mêmes conditions qu'optimisées pour la série D-xylose, et permet d'accéder au TINO **227** avec un rendement maximum de 75% (comparable aux 77% en série D-xylose). Cependant, en série D-arabinose, quelques problèmes de reproductibilité ont été observés, et les rendements les plus couramment observés fluctuent de 53 à 57%. Pour cela, différentes conditions ont été testées en vue d'améliorer la reproductibilité et d'utiliser une quantité moindre de réactifs (**Tableau 18**).

Tableau 18 formation du TINO **227** en série D-arabinose *via* une réaction de Mitsunobu


Entrée	Phosphine (éq.)	Activateur (éq.)	Conditions	Rendement
1	PPh ₃ (3 éq.)	DIAD (3 éq.)	reflux, 2h	-
2	PCy ₃ (3 éq.)	DIAD (3 éq.)	t.a., 4h	53 – 75%
3	PCy ₃ (1,5 éq.)	DIAD (1,5 éq.)	t.a., 4h	57%
4	PCy ₃ (1,5 éq.)	ADDP (1,5 éq.)	t.a., 15h	-
5	<i>n</i> Bu ₃ P (3 éq.)	ADDP (3 éq.)	t.a., 6h	79%
6	<i>n</i> Bu ₃ P (1,5 éq.)	ADDP (1,5 éq.)	t.a., 4h	83%

Les conditions retenues sont alors l'utilisation d'ADDP comme activateur, à hauteur de 1,5 équivalents et la tributylphosphine (1,5 équivalents). Le rendement de 83% est meilleur que lors de l'utilisation de 3 équivalents de phosphine et d'activateur car la purification est plus aisée notamment pour séparer et éliminer l'oxyde de phosphine.

3.2. Synthèse de TINO sur charpentes hexoses

La voie de synthèse étant optimisée pour le D-xylose et le D-arabinose, nous nous sommes tournés vers la série D-glucose. Ce fut l'occasion de comparer et d'exploiter la différence de réactivité de l'alcool secondaire en C₅ des hexoses par rapport à l'alcool primaire des pentoses.

a. Synthèse du précurseur thiohydroximate

La séquence réactionnelle menant à l'introduction de la fonction thiohydroximate en série D-xylose a été dans un premier temps, directement transposée à la série D-glucose (**Schéma 115**).

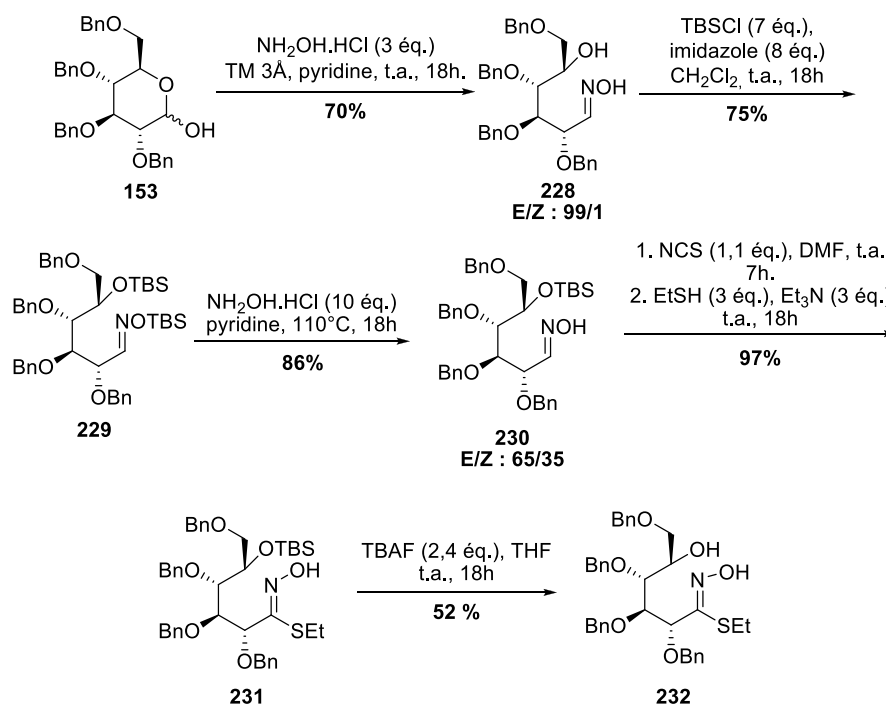


Schéma 115 Synthèse du thiohydroximate **232**

Le tétrabenzylglucopyranose commercial **153** a été engagé dans l'étape de formation de l'oxime en présence de chlorhydrate d'hydroxylamine dans la pyridine, pour donner la molécule **228** qui a été identifiée par le proton caractéristique de l'oxime, au déplacement chimique de 7,7 ppm. L'oxime **228** a ensuite été protégée avec un large excès de TBSCl. Un équivalent de TBSCl a suffit pour silyler l'oxime, les 6 autres équivalents supplémentaires ont été nécessaires à la silylation complète de l'alcool secondaire. Cette dernière a été vérifiée par la disparition du signal de l'alcool secondaire qui apparaissait précédemment sous forme d'un doublet vers 2,5 ppm. L'oxime bis-silylée **229** subit une étape de déprotection sélective de la fonction oxime menant ainsi au composé

230 avec un bon rendement de 86%. Ce dernier a pu être engagé dans la formation du thiohydroximate en présence de NCS et d'éthanethiol. Le thiohydroximate silylé **231** a été obtenu avec un excellent rendement de 97% et a été caractérisé en RMN du proton par la disparition des signaux caractéristiques des protons H₁ des aldoximes et par la présence des signaux du groupement éthyle de l'éthanethiol. La dernière étape de désilylation a été délicate car l'alcool secondaire est peu réactif, le rendement a été alors de 52%, malgré une conversion complète et aucun produit secondaire observé. La désilylation a également été testée en présence de difluorotriphénylsilicate de tétrabutylammonium (TBAT), aucune conversion n'a alors été observée. Au bilan, le thiohydroximate **232** a été obtenu en 5 étapes avec un rendement global de 22% (**Schéma 115**).

b. Optimisation de la synthèse

L'utilisation d'un large excès de TBSCl dans la voie de synthèse du TINO de série D-glucose pose des problèmes évidents de coût. Afin de pallier ce problème, la mise en place d'un nouveau système de protection a été étudiée.

Comme pour les pentoses, le groupement acétyle a été choisi en remplacement du groupement *tert*butyldiméthylsilyle (**Schéma 116**).

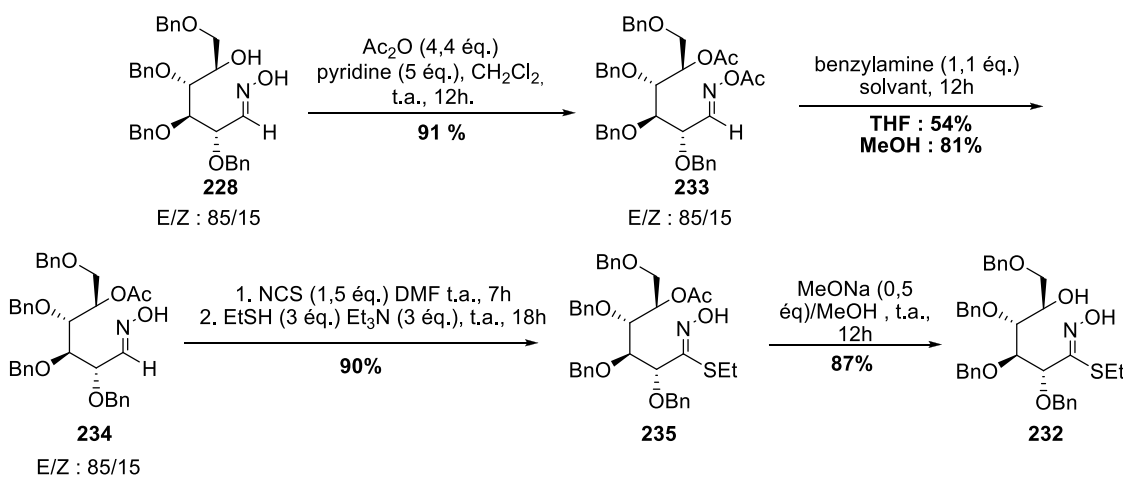


Schéma 116 optimisation de la voie de synthèse

L'acétylation est effectuée avec un excellent rendement de 91%. En RMN du proton, la présence du composé **233** a été confirmée par l'apparition des deux singulets caractéristique des CH₃ des acétyles à 2,01 et 2,00 ppm. Après désacétylation sélective de l'oxime, un seul singulet est présent, et l'hydroxyle de l'oxime **234** est parfois identifiable à 8 ppm. Cette désacétylation s'est effectuée en présence de benzylamine dans le THF avec un rendement de 54%, qui a pu être amélioré par l'utilisation du MeOH pour atteindre un rendement de 81%. Le thiohydroximate **235** a été formé dans les conditions standard avec un excellent rendement de 90%, les doublets caractéristiques des aldoximes disparaissent et le groupement éthyle du SEt est visible sous forme d'un multiplet pour le CH₂ et d'un triplet pour le CH₃. Le produit désacétylé **232** qui est obtenu avec

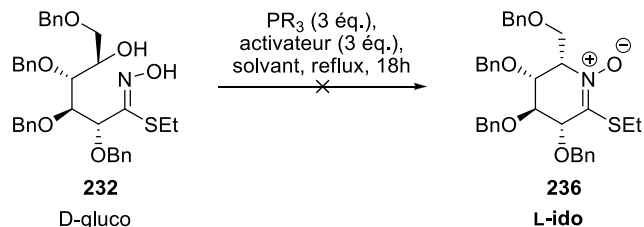
un rendement de 87%, a également été caractérisé par la disparition du singulet caractéristique du CH₃ du groupement acétyle et par l'apparition du doublet caractéristique de l'alcool secondaire vers 2.5 ppm.

Le rendement sur les quatre étapes menant au composé **232**, est de 58% contre 32% lorsque le groupement protecteur utilisé est le TBS.

c. *Cyclisation par réaction de Mitsunobu*

La réaction de Mitsunobu pourrait permettre d'activer l'alcool secondaire en présence de phosphine et d'un activateur et ainsi de former le N-oxyde de thioimide **236** par substitution nucléophile avec une inversion de configuration pour donner le TINO en série L-ido **236** (**Tableau 19**). Différents essais ont été effectués mais aucun n'a conduit à la détection du TINO attendu dans le milieu réactionnel. Le produit de départ **232** a toujours été récupéré en totalité en fin de réaction (**Tableau 19**).

Tableau 19 essais de formation du TINO L-ido par réaction de Mitsunobu



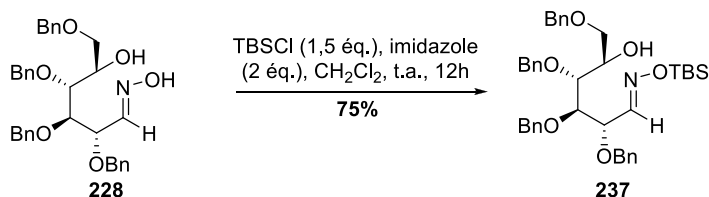
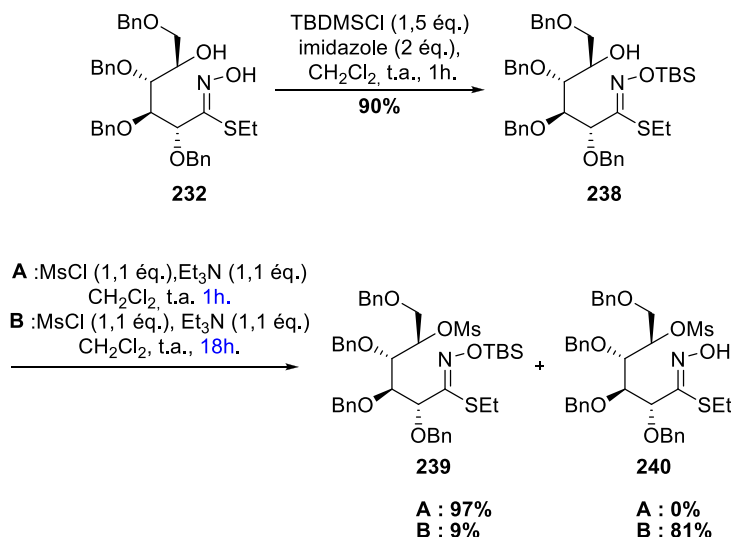
Entrée	Phosphine	Activateur	Solvant
1	PPh ₃	DEAD 2,2 M dans le toluène	THF
2	PPh ₃	DEAD	Toluène
3	PPh ₃	DIAD	THF
4	PCy ₃	DIAD	THF
5	PPh ₃	ADDP	THF
6	<i>n</i> Bu ₃ P	ADDP	THF

Les conditions optimisées pour la formation du TINO en série D-xylose (entrée 4) ou D-arabinose (entrée 6) n'ont pas conduit à la formation du N-oxyde de thioimide **236**. Aucune trace de produit n'a été détecté par spectrométrie de masse basse résolution, ce qui nous a conduit à abandonner cette approche de cyclisation.

d. Désilylation cyclisante

Pour accéder au TINO, une autre stratégie a été mise en place : l'utilisation de la désilylation cyclisante. Cette méthode a déjà été décrite pour la formation de nitrones sur charpente saccharidique.¹⁰⁸

Nous avons remarqué qu'il était possible de silyler sélectivement l'oxime **228** avec un faible excès de TBSCl (1,5 éq.). Le composé **237** correspondant a ainsi pu être isolé avec un rendement de 75% (Schéma 117).

Schéma 117 synthèse de l'aldoxime monosilylée **237**Schéma 118 synthèse de **239** et **240**, précurseurs du TINO

De la même façon, l'alcool secondaire étant peu réactif et stériquement encombré, il a été possible de silyler sélectivement la fonction thiohydroximate. Le thiohydroximate **238** a été obtenu avec un rendement de 90% et a pu être engagé dans une étape de méthylation. La réaction de méthylation a eu lieu rapidement en présence de chlorure de mésyle et de triéthylamine, et a donné le composé **239** avec un rendement quasi-quantitatif. Lorsque la réaction a été maintenue à température ambiante pendant 18h, le thiohydroximate désilylé **240** a été obtenu avec un rendement de 81% (Schéma 118). Ce phénomène de désilylation avait déjà été observé par l'équipe

de Goti qui proposait alors l'ion chlorure comme agent désilylant.¹⁵⁰ Par ailleurs, d'après une publication de notre groupe,⁷¹ la désilylation d'acide hydroxamique **60** peut s'effectuer en présence d'anhydride triflique et de triéthylamine, cette dernière pourrait elle-même être à l'origine de la déprotection (**Schéma 119**).

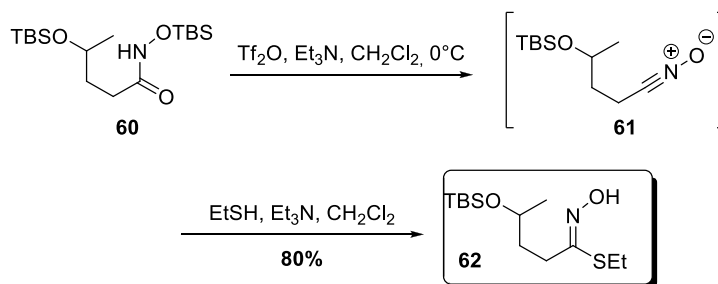


Schéma 119 exemple de désilylation de l'acide hydroxamique **60** en présence d'anhydride triflique et de triéthylamine

Deux voies de cyclisation peuvent alors être envisagées pour la formation du N-oxyde de thioimidate **236** (**Schéma 120**). En s'inspirant des stratégies utilisées pour la formation de nitrones cycliques à partir des oximes correspondantes,¹⁰⁸ nous avons envisagé la synthèse des TINOs de deux façons possibles. En présence d'un agent désilylant à partir du composé **239**, ou en présence d'une base suffisamment forte, à partir du composé **240**.

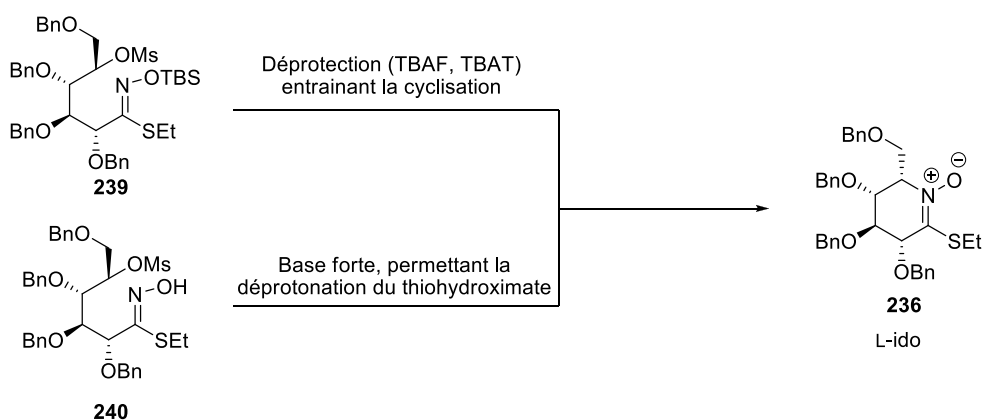


Schéma 120 stratégie d'obtention du TINO en série L-idose

En présence de différentes bases, telles que la triéthylamine (pKa = 10,65) et le DBU (pKa = 12) aucune cyclisation n'a été observée, le thiohydroximate **240** a été récupéré en intégralité.

La désilylation nous a semblé une approche plus rapide et plus prometteuse. En présence de TBAT et de TBAF dans le THF, cette réaction n'a mené qu'à de la dégradation lorsque le milieu réactionnel est chauffé au reflux (entrées 1 et 2). En conduisant cette réaction dans l'acétonitrile sans tamis moléculaire, 19% du composé attendu **236** ont été obtenus (entrée 3). Il reste également

¹⁵⁰ a) Cicchi, S. ; Corsi, M. ; Brandi, A. ; Goti, A. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1678 – 1681 ; b) Cicchi, S. ; Marradi, M. ; Vogel, P. ; Goti, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1614 – 1619.

du produit désilylé **240** ainsi qu'un second sous-produit **241** issu de l'hydrolyse du thiohydroximate (**Tableau 20**).

Tableau 20 essais de synthèse de TINO L-ido en présence d'agent désilylant

Entrée	Agent désilylant	Solvant	Température	Conditions	Rendement
1	TBAT	THF	t.a., 24h puis reflux 24h	TM 4Å	traces ^a (dégradation)
2	TBAF	THF	t.a., 2h puis reflux 48h	TM 4Å	dégradation traces de 241 ^b
3	TBAF	acétonitrile	t.a., 1h puis reflux 1h	-	19% (240 : 16% 241 : 20%)
4	TBAF	acétonitrile	t.a., 2h puis reflux 3h	TM 3Å	43%
5	TBAT	acétonitrile	reflux, 4h	TM 3Å	93%

^a analyse par spectrométrie de masse basse résolution ; ^b analyse du mélange réactionnel par RMN du proton

La conduite de la réaction dans un milieu strictement anhydre, en présence de tamis moléculaire a permis de doubler le rendement (entrée 4). Le TINO **236** a été obtenu avec un rendement de 43%. Le remplacement du TBAF par le TBAT, a alors permis d'obtenir le composé attendu avec un excellent rendement de 93% (entrée 5). Le TBAT est moins nucléophile et moins basique que le TBAF. Il présente un net avantage comme solide cristallin car non hygroscopique, ce qui permet d'éviter les problèmes dus à la présence d'eau, fréquemment rencontrés dans le cas du TBAF.¹⁵¹ La réaction en présence du TBAT nous permettant d'accéder au TINO **236** avec un rendement satisfaisant, aucun essai complémentaire d'utilisation de base forte et cyclisation du composé **240** n'a été effectué. Le sous-produit hydroximate **241** isolé précédemment semble provenir d'une désilylation de la molécule **239** suivie de l'hydrolyse de la fonction thiohydroximate. L'attaque nucléophile du carbonyle sur C₅ conduit au composé cyclique avec une inversion de configuration (**Schéma 121**).

¹⁵¹ a) Pilcher, A.S. ; Ammon, H.L. ; DeShong, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5166 – 5167 ; b) Pilcher, A.S. ; DeShong, P. *J. Org. Chem.* **1966**, *61*, 6901 – 6905.

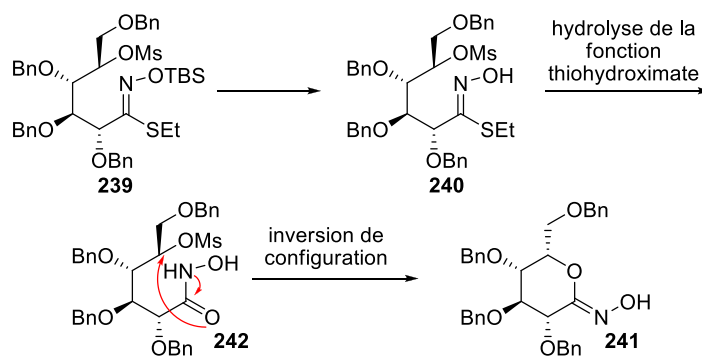


Schéma 121 mécanisme proposé pour la formation du composé **241**

e. *Inversion de configuration sur la position 5*

La réaction de S_N2 a entraînée l'inversion de configuration du carbone en position C_5 , la molécule **236** appartient à la série L-ido et non D-gluco. L'inhibiteur ciblé devrait avoir une charpente de type D-gluco, c'est pourquoi une double inversion de configuration a été nécessaire pour arriver à la molécule souhaitée. Une étape de iodation soit sous les conditions de Garegg ou par inversion du mésylate avec l'iodure de sodium permettrait d'obtenir un thiohydroximate en série L-ido qui par réaction de S_N2 , inverserait de nouveau la configuration, pour donner le TINO de configuration D-gluco **243**. De plus, l'iode est un meilleur groupe partant que le mésylate, ce qui pourrait faciliter la formation du TINO (**Schéma 122**).

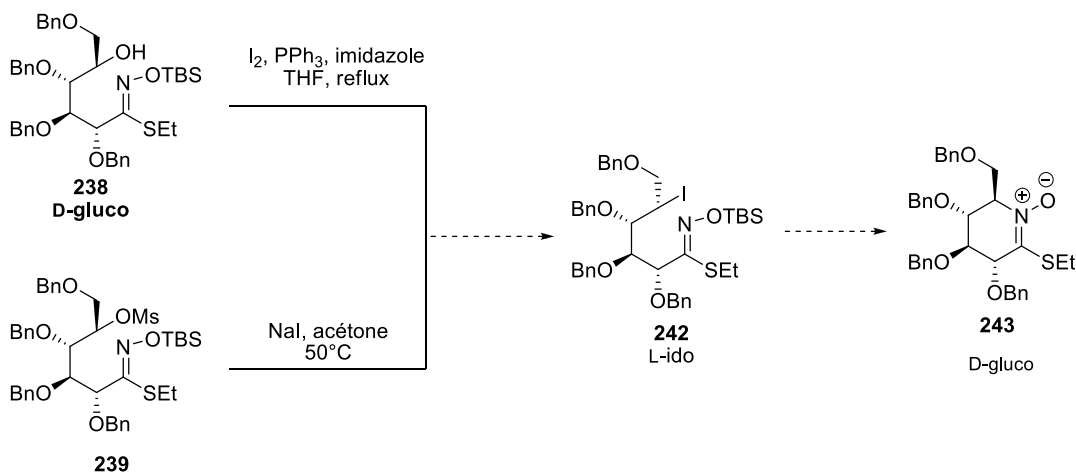
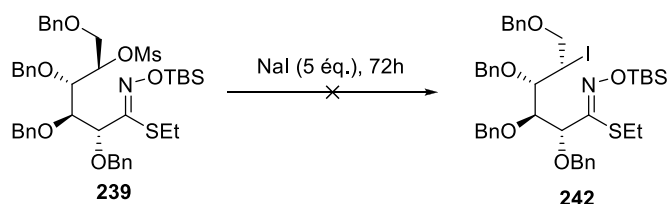


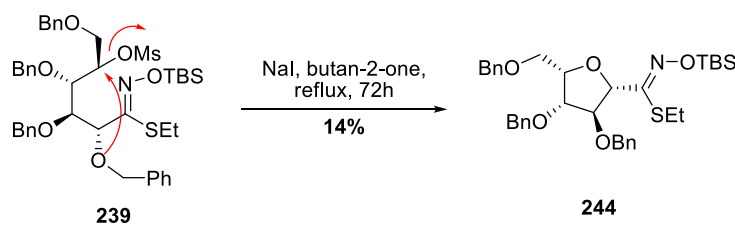
Schéma 122 inversion de configuration en C_5 *via* une iodation

La réaction de Garegg, conduite à partir du composé **238**, n'a mené qu'au composé **241** et à de la dégradation. La réaction d'iodation à partir de **239** en présence de NaI ne montre aucun avancement après 72h dans différents solvants (**Tableau 21**).

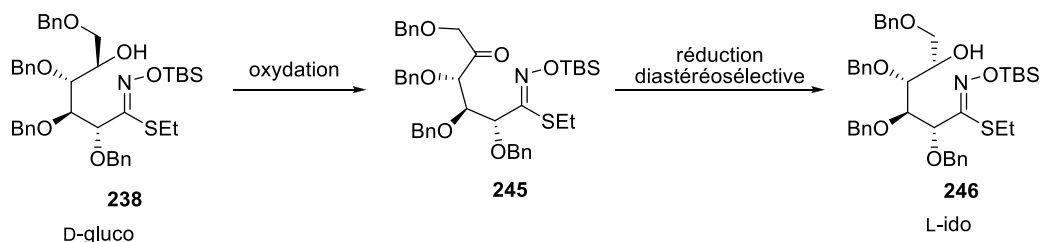
Tableau 21 essais d'iodation en présence d'iodure de sodium


Entrée	Solvant	Température
1	Acétone	reflux
2	DMF	90°C
3	butan-2-one	reflux

Lors de l'essai d'iodation dans la butan-2-one, le sous-produit **244** a été identifié à hauteur de 14%. Il s'agit du produit de substitution nucléophile du mésylate par l'oxygène porté par le C₂ (Schéma 123).


Schéma 123 mécanisme envisagé pour la formation du sous-produit **244**

À partir du composé **238**, il a été envisagé d'oxyder l'alcool secondaire pour former la cétone **245**, puis de la réduire diastéréosélectivement afin d'obtenir l'isomère en C₅ **246** (de série L-ido) (Schéma 124).


Schéma 124 inversion de configuration en C₅ *via* une séquence oxydation/réduction

L'équipe de Vasella a préalablement proposé cette approche de l'inversion de configuration en C₅ après oxydation et réduction en présence de NaBH₄ et de CeCl₃ (**Schéma 125**).¹⁵²

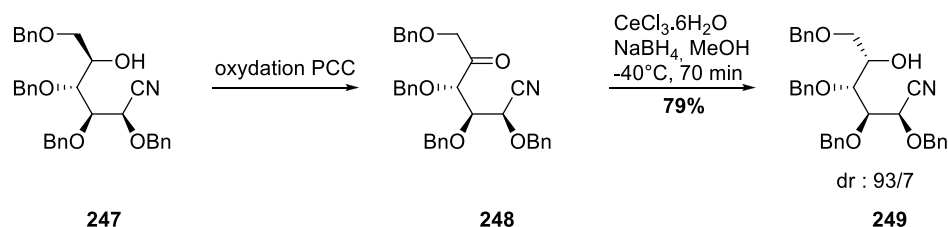


Schéma 125 inversion de configuration *via* une oxydation/réduction diastérosélective

Les essais d'oxydation ont été effectués en amont, sur l'oxime **237**. Cependant, après oxydation et réduction, nous obtenons un mélange des deux diastéréoisomères ido/gluco, chacun présent sous la forme *Z* et *E* (**Figure 34**). Afin de faciliter l'étude de réduction diastérosélective, notre substrat a donc été le thiohydroximate silylé **238** (**Tableau 22**).

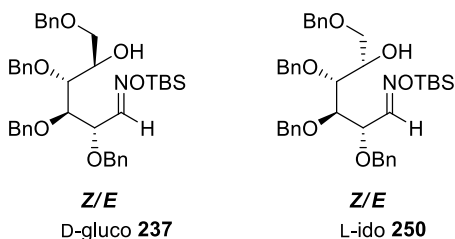
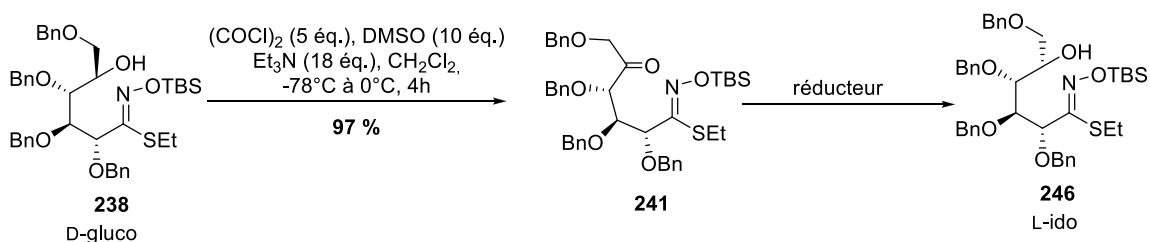


Figure 34 mélange des 4 oximes obtenues après oxydation et réduction

En présence de PCC, le rendement n'excède pas 10%. La réaction de Swern a, quant à elle, permis d'obtenir la cétone **241** avec un excellent rendement de 97%. Trois essais de réduction ont été ensuite effectués (**Tableau 22**).

¹⁵² a) Ermert, P ; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **1991**, 74, 2043-2053; b) Ermert, P. ; Vasella, A ; Weber, M ; Rupitz, K ; Withers, S.G. *Carbohydr. Res.* **1993**, 250, 113-128.

Tableau 22 essais de réduction diastéréosélective

Entrée	Réducteur	Solvant	Température	Durée	Ratio 246/238	Rendement Global
1	$\text{NaBH}_4/\text{CeCl}_3$	MeOH	-78°C à -40°C	2h	60/40	50%
2	K-selectride	THF	-78°C	1h	22/78	77%
3	$\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$	THF	0°C	1h	80/20	95%

Dans notre cas, le système « réducteur/chélatant » décrit par Vasella n'a pas fonctionné avec la même efficacité (**entrée 1**). En effet, l'alcool de la série L-ido **246** a été formé majoritairement (ratio **246/238** : 60/40) lors de la réduction mais le rendement de la réaction a été modéré et après purification le composé **246** a été isolé avec un rendement faible de 30%. En présence de K-selectride, la sélectivité a été contraire à celle souhaitée, le rendement global étant de 77% (entrée 2). La réaction de réduction en présence de borohydrure de zinc a permis d'obtenir un mélange des composés **246** et **238** avec un rendement global de 95% (**Tableau 22**, entrée 3). Le ratio est de 80/20 en faveur du composé L-ido attendu **246**. Après chromatographie sur gel de silice les diastéréoisomères ont pu être séparés, cependant des traces du dérivé D-glucosyl **238** ont encore été détectées dans la fraction contenant majoritairement le dérivé L-ido **246**.

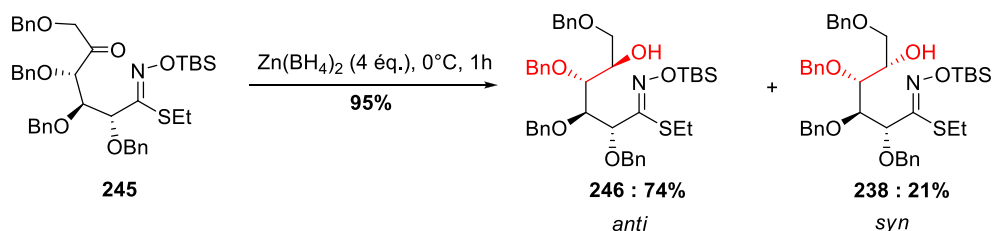


Schéma 126 réduction diastéréosélective en présence de borohydrure de zinc

Si l'on considère la cétone **245** comme étant une α -hydroxy cétone, les produits de réduction sont formés selon deux mécanismes connus, de type Cram chélaté pour le produit *anti* **246** et de type Felkin-Anh pour le produit *syn* **238**.¹⁵³ Dans le cas des α -hydroxy cétones, afin de

¹⁵³ Brückner, R. *Mécanisme réactionnels en chimie organique*, De Boeck Université : Paris, Bruxelles, 1999, 622p.

favoriser le produit de Cram chélaté, l'oxygène du groupement hydroxyle et le réactif doivent pouvoir former un intermédiaire chélaté à cinq chaînons. Le groupement benzyle en α ne créant pas de contrainte stérique, la formation de cet intermédiaire est possible. Lorsque le $Zn(BH_4)_2$ est employé, l'ion Zn^{2+} pontre entre l'oxygène de la cétone et le benzyloxy en α (**Figure 35**). Le produit attendu est alors formé.

Dans le cas du K-selectride ($KBH(sec-Bu)_3$), aucun atome présent (K^+ ou le bore) n'agit comme acide de Lewis, l'intermédiaire réactionnel à cinq chaînons ne pouvant pas se former, le produit de Felkin-Anh est alors majoritaire.

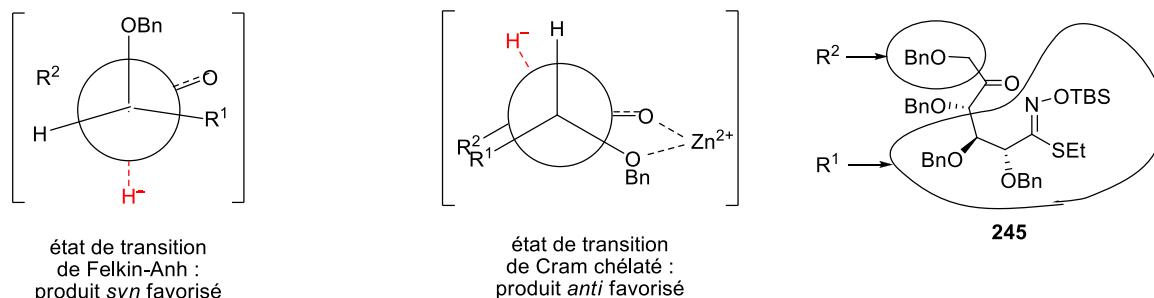


Figure 35 modèles des états de transition supposés

Ces modèles ont appuyé les résultats obtenus ; en présence de borohydrure de zinc, le produit majoritaire a été le produit attendu, alors que l'utilisation de K-selectride a donné accès à l'alcool de départ. Nous avons toutefois obtenu une part non négligeable de l'isomère non désiré (20%), ceci peut s'expliquer par la complexité du substrat qui n'est pas une simple α -hydroxy cétone. En effet, ce composé possède d'autres fonctions benzyloxy susceptibles de participer à la chélation du zinc.

La cyclisation permettant la formation de la fonction TINO est identique à celle utilisée à partir du thiohydroximate D-glucose pour former le TINO de série L-idose. Après une étape de méthylation qui s'effectue avec un très bon rendement de 90% (**Schéma 127**), différents systèmes de désilylation cyclisante ont été testés (**Tableau 23**).

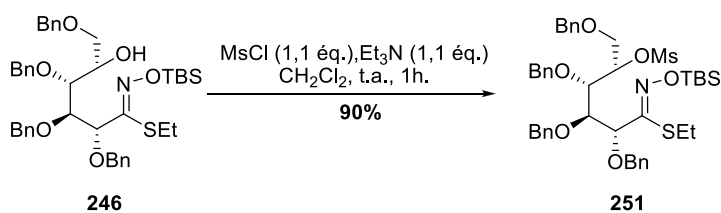
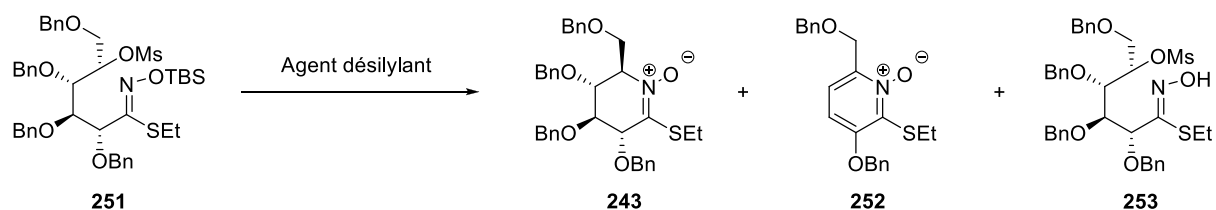


Schéma 127 méthylation du composé **246** de série L-ido

Tableau 23 essais de désilylation cyclisante



Entrée	Agent désilylant	Solvant	Température	Durée	Résultat		
					243	252	253
1	TBAT 1 éq.	CH ₃ CN	reflux	3h	Aucune conversion		
2	TBAF 1 éq.	CH ₃ CN	reflux	3h	-	99%	-
3	TBAF 1 éq.	THF	t.a. puis reflux	6h	20%	-	3%
4	TBAF 3 éq.	THF	t.a. puis reflux	6h	-	99%	-
5	TBAF 3 éq.	Toluène	t.a. puis reflux	6h	-	74%	-
6	CsF 1 éq.	CH ₃ CN	t.a.	4h	-	-	69%
7	TBAT 1 éq.	THF	t.a. puis reflux	18h	25%	-	75%
8	TBAT 1 éq. Tamis 4Å	THF	Reflux	5h	41%	-	21%
9	TBAT 1 éq. Tamis 4Å	Dioxane	Reflux	12h	66%	-	-
10	TBAT 1 éq. Tamis 4Å	Dioxane	Reflux	1h	83%	-	-

La conduite de la réaction en présence de TBAT dans l'acétonitrile n'a mené à aucune cyclisation, aromatisation ou désilylation du composé **251** (entrée 1). En présence de TBAF, le composé aromatique **252**, obtenu après élimination de deux groupements benzyloxy, a été isolé avec un rendement quasi-quantitatif (entrée 2). La cyclisation attendue a été obtenue en présence de TBAF dans le THF avec un rendement de 20% (entrée 3) ainsi que 3% du composé désilylé **253**. Lorsque la quantité de TBAF est triplée, le composé aromatique **252** a de nouveau été obtenu, de façon quasi-quantitative dans le THF et à hauteur de 74% dans le toluène (entrées 4 et 6). L'utilisation de fluorure de césium a conduit à la désilylation et la formation de la molécule **253** sans entrainer l'observation de cyclisation (entrée 6).

Le TINO attendu a de nouveau été isolé à hauteur de 25% lorsque la réaction a été conduite en présence de TBAT dans le THF. Le rendement a été amélioré à 41% en présence de tamis moléculaire (entrée 8). À plus haute température, dans un solvant similaire, le dioxane, le

rendement a de nouveau été amélioré mais est resté modeste à 66% (entrée 9). Ceci s'explique par le fait que le produit de départ contenait 27% (rapport RMN) du composé **239**. Cependant, ce produit n'a pas cyclisé dans ces conditions réactionnelles et s'est dégradé. Lorsque le produit de départ ne contenait le composé **239** qu'à l'état de traces, le rendement s'est élevé à 83% (entrée 10). Le suivi réactionnel étant plus aisé, la réaction a pu être stoppée après consommation totale du produit de départ, c'est-à-dire au bout d'une heure de réaction.

f. Optimisation de la séquence

Nous avons envisagé d'améliorer la séquence notamment en réduisant le nombre d'étapes. Cela a été abordé en réalisant la métylation en amont dans la synthèse. La silylation sélective de l'aldoxime est réalisée puis l'alcool secondaire est métylé (**Schéma 129**). Contrairement à ce que nous avons préalablement observé lors de la métylation du thiohydroximate (**Schéma 118**), aucune désilylation n'est observée malgré l'ajout d'1,1 équivalents supplémentaires de réactifs (chlorure de métyle et triéthylamine) et une durée de réaction prolongée à une nuit (**Schéma 128**).

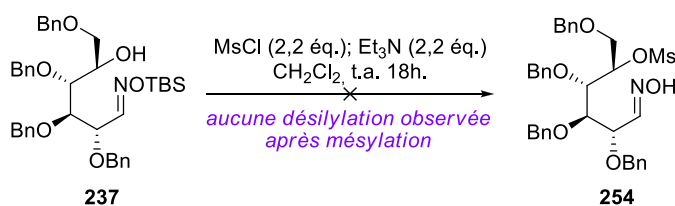
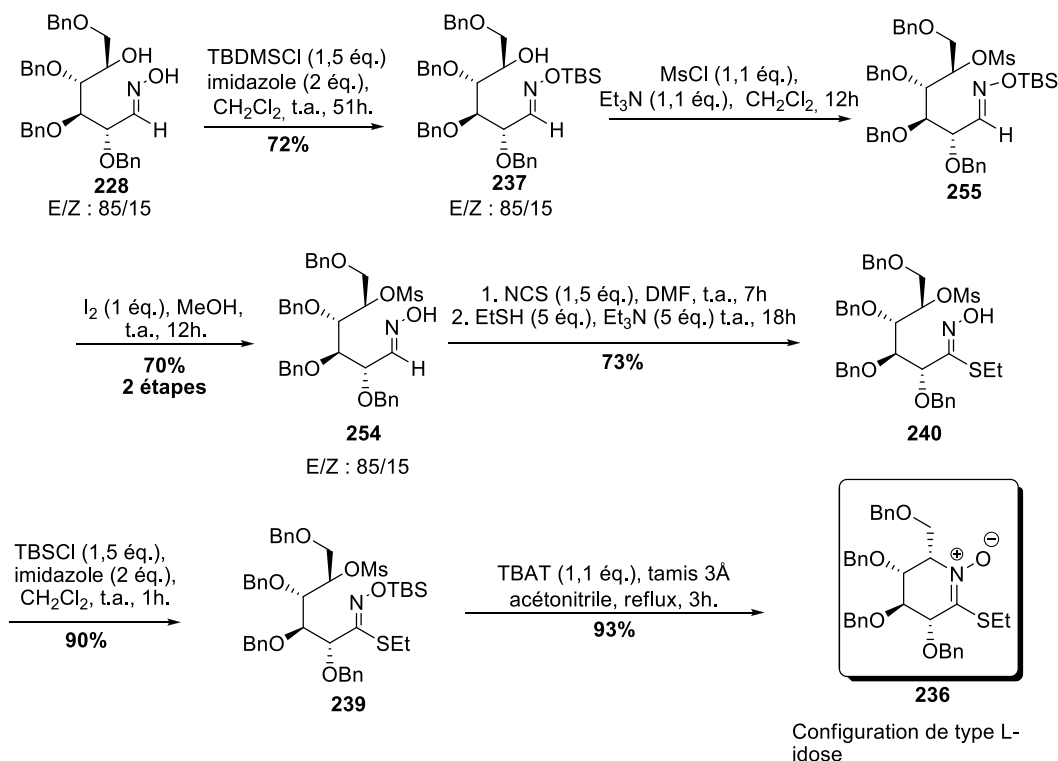


Schéma 128 tentative de désilylation du thiohydroximate lors de la métylation

La désilylation a été donc réalisée en présence de diiode dans le MeOH et le composé **254** est obtenu avec un rendement global de 70% sur deux étapes.¹⁵⁴ L'oxime libre possédant l'alcool secondaire métylé **254** a donc été engagée dans la formation de la fonction thiohydroximate, la molécule désirée a été obtenue avec un rendement de 73%. Cette dernière a ensuite été silylée et cyclisée pour former le TINO attendu **236** (**Schéma 129**). Aucun essai de cyclisation directe n'a été effectué car les essais préliminaires s'étaient révélés infructueux.

¹⁵⁴ Ren, B. ; Cai, L. ; Zhang, L.-R. ; Yang, Z.-J. ; Zhang, L.-H. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 8083 – 8086.


Sch\u00e9ma 129 synth\u00e8se du TINO L-idose

Le rendement de l'ensemble de la s\u00e9quence est de 30% sur ces 6 \u00e9tapes. En comparaison avec celui de la s\u00e9quence pr\u00e9c\u00e9dente (rendement global de 46% sur 7 \u00e9tapes), le rendement est nettement moindre. La voie de synth\u00e8se passant par la s\u00e9quence d'ac\u00e9tylation/d\u00e9sac\u00e9tylation donne de meilleurs r\u00e9sultats m\u00eame si le nombre d'\u00e9tape est sup\u00e9rieur. Cependant, un criblage de plusieurs bases fortes pourraient \u00eatre effectu\u00e9 afin de permettre la cyclisation du compos\u00e9 **240** et d'obtenir en une seule \u00e9tape le TINO d\u00e9sir\u00e9 **236**.

3.3. Extension de la s\u00e9quence \u00e0 la s\u00e9rie D-manno, L-gulo

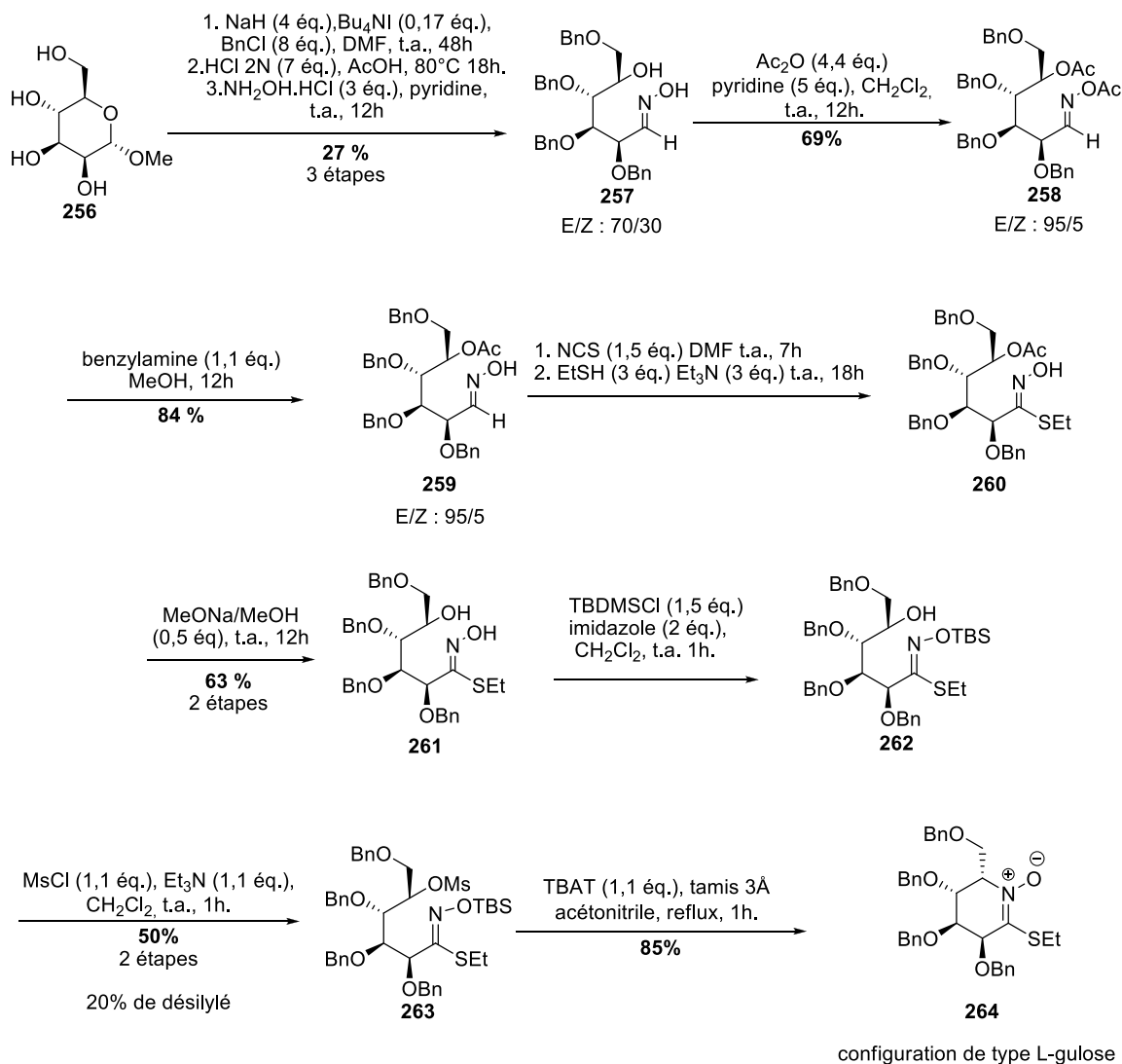
Afin d'acc\u00e9der \u00e0 de nouveaux TINOs sur charpente pyranose. La s\u00e9quence r\u00e9actionnelle optimis\u00e9e pour le TINO de s\u00e9rie D-glucose a \u00e9t\u00e9 appliqu\u00e9e \u00e0 la s\u00e9rie D-mannose (**Sch\u00e9ma 130**).

La synth\u00e8se de l'oxime **257** a \u00e9t\u00e9 effectu\u00e9e en trois \u00e9tapes \u00e0 partir du m\u00e9thyl- α -D-mannopyranoside **256** avec un rendement de 27%. La pr\u00e9sence de l'oxime **257** a \u00e9t\u00e9 observ\u00e9e en RMN du proton par les signaux caract\u00e9ristique du proton H₁ dont le signal est un doublet au d\u00e9placement chimique d'environ 7,5 ppm pour l'oxime *E*, majoritaire et de 7 ppm pour l'oxime *Z*, minoritaire. La bisac\u00e9tylation a pr\u00e9sent\u00e9 un rendement de 69% contre 91% en s\u00e9rie D-glucose. Apr\u00e8s d\u00e9sac\u00e9tylation s\u00e9lective en pr\u00e9sence de benzylamine qui s'est effectu\u00e9e avec un rendement de 84%, le compos\u00e9 **259** a \u00e9t\u00e9 engag\u00e9 dans la formation de la fonction thiohydroximate. Cette transformation a \u00e9t\u00e9 confirm\u00e9e par la disparition des doublets des aldoximes en RMN du proton, ainsi que l'apparition des massifs « \u00e9thyle » du SET.

La désacétylation de l'alcool secondaire a été effectuée en présence de méthanolate de sodium avec un rendement de 63% sur deux étapes. Le thiohydroximate **261** a été engagée dans la silylation sélective du thiohydroximate. Cette silylation a été caractérisée par la présence des protons du groupement TBS aux déplacements chimiques d'environ 1 ppm et 0 ppm. La silylation a été effectuée uniquement sur la fonction thiohydroximate. En effet, le singulet de l'hydroxyle a disparu, tandis que le doublet de l'alcool secondaire en C₅ était toujours présent.

La méthylation s'est effectuée avec un rendement global de 70%, comprenant 50% du composé désiré **263** ainsi que 20% du composé désilylé sur la fonction thiohydroximate. Cette réactivité était déjà observée dans le cas de la série D-glucose. L'apparition d'un singulet au déplacement chimique d'environ 3 ppm intégrant pour 3 protons a mis en évidence la présence du méthyle.

La dernière étape de cyclisation s'est effectuée au reflux de l'acétonitrile en présence de TBAT et de tamis moléculaire avec un rendement de 85% pour donner, après inversion de configuration, le TINO de série L-gulose **264**.


Schéma 130 synthèse du TINO L-gulose

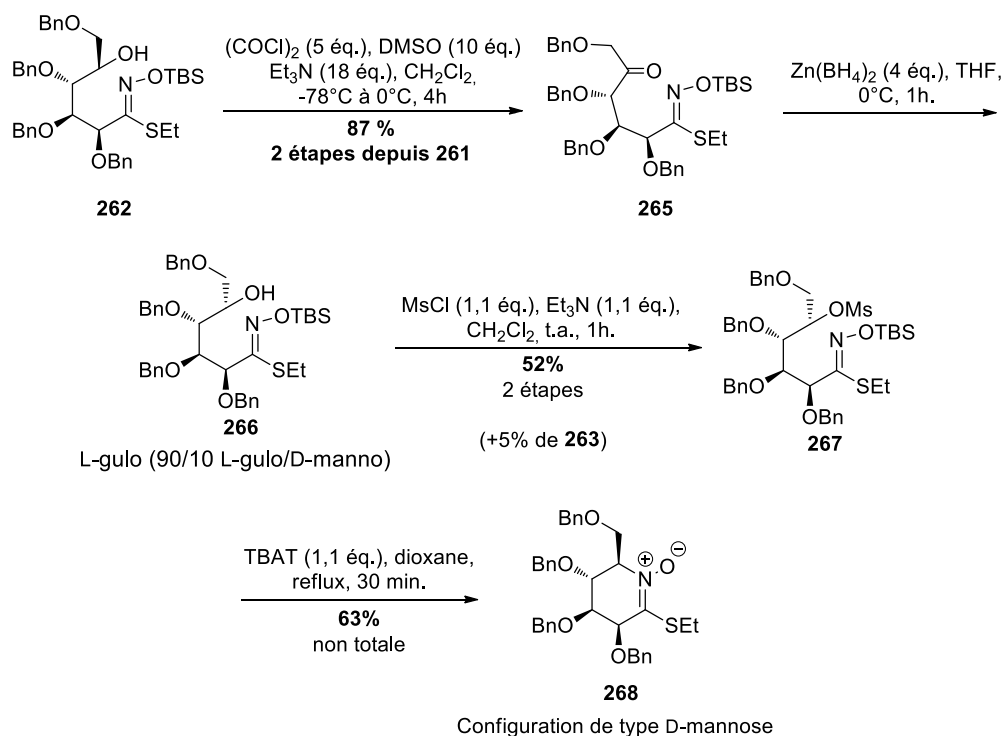
Ainsi, le TINO **264** a été synthétisé à partir du méthylmannopyranoside en 10 étapes, avec un rendement global de 4% (**Schéma 130**). La réactivité des composés de la séquence en série D-mannose a été légèrement différente de celle observée en série D-glucose. Le rendement de l'étape de méthylation pourrait être amélioré en diminuant notamment le temps de réaction, ce qui pourrait empêcher la désilylation d'être observée.

Pour obtenir la fonction TINO sur une charpente D-manno, la stratégie d'inversion utilisée en série D-glucose a été appliquée (**Schéma 131**). L'oxydation de Swern a été effectuée avec un bon rendement de 87% sur deux étapes. La présence de la cétone a été confirmée par la disparition du signal de l'alcool secondaire ainsi que par la présence en RMN du carbone caractéristique d'une cétone à 208 ppm.

La réduction diastéréosélective a permis d'accéder au composé de série L-gulose avec un rapport diastéréoisomérique de 90/10 (L-gulo/D-manno) déterminé par RMN en s'appuyant sur l'intégration des signaux des alcools présents sous forme de doublets. Ce composé a ensuite été engagé sans purification majeure dans l'étape de méthylation. Ces deux étapes ont conduit à un

rendement global de 57%, comprenant 52% du composé attendu **266** ainsi que 5% du composé en série D-mannose **263**. À noter que lors de cette étape, aucune désilylation n'a été observée pour l'obtention du composé **267**.

La cyclisation intramoléculaire pour donner la fonction TINO, a été effectuée au reflux du dioxane, en présence de TBAT. Lorsque la cyclisation est maintenue à reflux plus de 30 minutes, le milieu réactionnel se dégrade.



Sch\u00e9ma 131 synth\u00e8se du TINO D-mannose

Le TINO de s\u00e9rie D-mannose **268** a \u00e9t\u00e9 obtenu avec un rendement de 3% sur douze \u00e9tapes (**Sch\u00e9ma 131**). Le rendement global est de 10% \u00e0 partir de l'oxime **257** alors qu'il \u00e9tait de 28% en s\u00e9rie D-glucose. Une optimisation de ces rendements est envisageable. L'\u00e9tape de m\u00e9sylation peut s'effectuer \u00e0 plus basse temp\u00e9rature (0\u00b0C) afin d'\u00e9viter la d\u00e9gradation du milieu réactionnel. Diff\u00e9rentes conditions pourront \u00eatre envisag\u00e9es pour la cyclisation (diff\u00e9rents solvants, diff\u00e9rentes sources d'ions fluorures), ces deux \u00e9tapes \u00e9tant les r\u00e9actions qui font consid\u00e9rablement chuter le rendement global de la synth\u00e8se.

4. Conclusion

La synth\u00e8se des TINOs par substitution nucl\u00e9ophile de l'alcool primaire ou secondaire par la fonction thiohydroximate a \u00e9t\u00e9 men\u00e9e sur diff\u00e9rentes charpentes de sucres : D-xylose, D-arabinose, D-glucose, D-mannose, L-idose et L-gulose avec de bons rendements (**Sch\u00e9ma 132**).

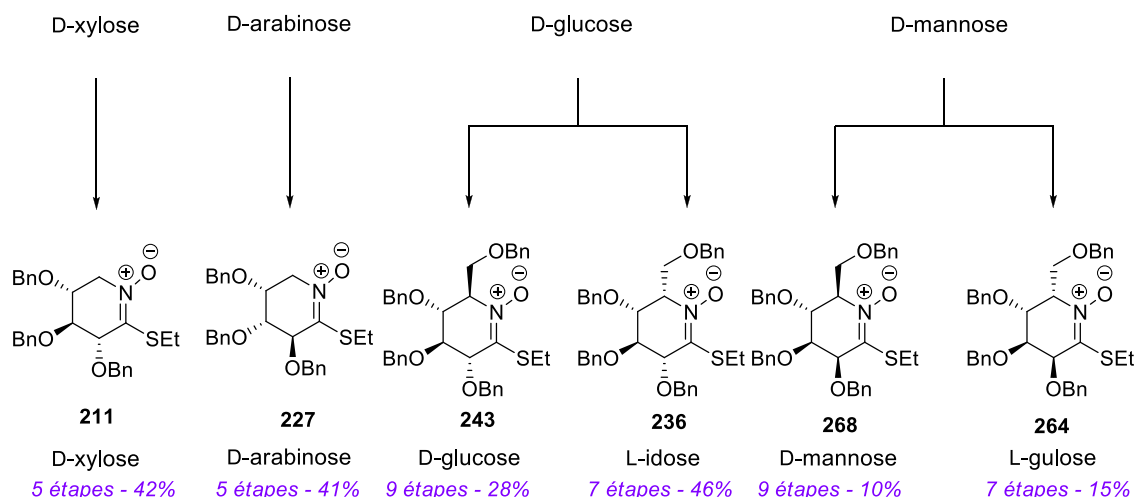


Schéma 132 schéma-bilan des TINOs synthétisés

Diverses stratégies de protections et déprotections sélectives ont été mises en oeuvre afin d'accéder au composé possédant l'oxime libre et l'alcool primaire ou secondaire en C₅ protégé, et de permettre la formation de la fonction thiohydroximate. Les groupes protecteurs silylés ont tout d'abord été utilisés et ont conduit à des réactions présentant de bons rendements. Cependant, dans le cas des hexoses, l'alcool secondaire nécessite un large excès de TBSCl. Ceci nous a conduits à choisir un autre groupe protecteur. L'utilisation des acétyles comme groupements protecteurs s'est révélée être une bonne alternative non seulement pour la protection mais également pour la déprotection sélective sous conditions plus douces des aldoximes.

L'étape de cyclisation pour former la fonction TINO s'est révélée plus complexe. La réaction de Mitsunobu intramoléculaire a abouti dans le cas des séries D-xylose et D-arabinose à la synthèse des TINOs correspondants dans des conditions relativement particulières en utilisant notamment la tricyclohexylphosphine. Dans le cas des hexoses, la réaction de Mitsunobu n'a pas été la solution de choix. En s'inspirant des synthèses des nitrones sur charpente saccharidique ainsi qu'en tirant profit de la forte différence de réactivité entre les hydroxyles de la fonction thiohydroximate et l'alcool secondaire, il a été possible de trouver les conditions de cyclisation intramoléculaire. Il est à noter que pour chaque TINO une optimisation des conditions réactionnelles est nécessaire. Cette approche sur les hexoses a été mise à profit pour donner accès aux différentes configurations possibles des série D-glucose et D-mannose par une étape d'inversion de configuration nécessaire au niveau du C₅. Ici aussi, différentes stratégies ont été envisagées. La séquence oxydation/réduction diastéréosélective s'est révélée être la plus efficace, et a permis d'accéder aux TINOs de configuration souhaitée. Cette voie de synthèse peut vraisemblablement s'appliquer au D-galactose pour permettre d'obtenir les TINOs de type D-galactose et L-altrose.

Les TINOs ainsi synthétisés ont pu être engagés dans une étude de réactivité. Dans le chapitre suivant, un premier aperçu de la réactivité des TINOs sera abordé vis-à-vis du couplage palladocatalysé et activé au Cu (I) de Liebeskind-Srogl. Ce couplage permettra en une étape d'accéder à des cétonitrones.

Chapitre 4 : Synthèse de cétonitrones par couplage de Liebeskind-Srogl

Srogl

1. Rappels bibliographiques

1.1. Intérêts des nitrones sur charpentes saccharidiques

Les nitrones ont été synthétisées pour la première fois par Beckmann en 1890.¹⁵⁵ Le terme nitrone a été employé par Pfeiffer en 1916, il s'agit de la contraction de « nitrogene » et « ketone ».¹⁵⁶ Les nitrones peuvent être des aldonitrones ou des cétonitrones, et peuvent être de configuration *E* ou *Z* (**Figure 36**).

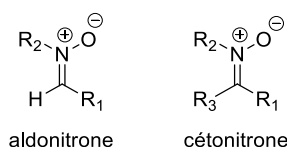


Figure 36 aldonitron et cétonitron

Les nitrones ont montré diverses activités biologiques, notamment antioxydantes et dont certaines sont issues de leur capacité et utilité comme piège à radicaux.¹⁵⁷

Les nitrones sur charpentes saccharidiques peuvent être des précurseurs d'iminosucres. En effet, l'introduction de nucléophiles en position C₁ de la nitrone permet d'accéder à des iminosucres tout en contrôlant la stéréosélectivité de l'addition (**Figure 37**).

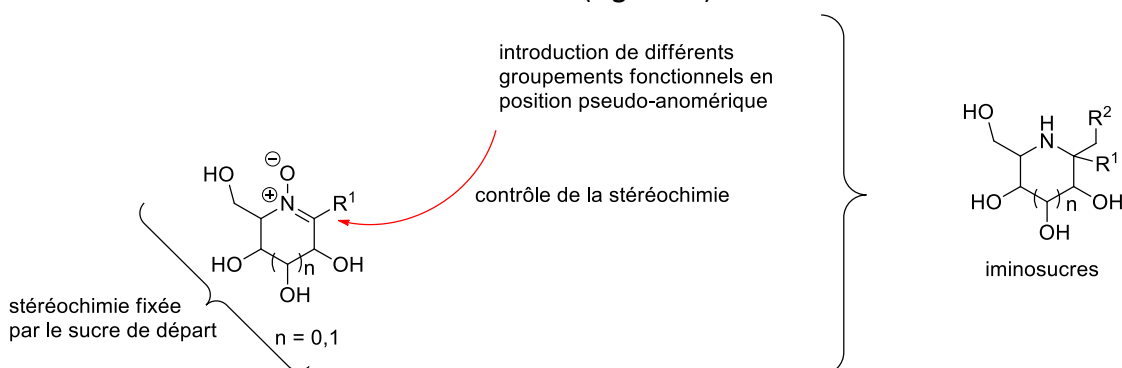


Figure 37 les nitrones comme précurseurs d'iminosucres

¹⁵⁵ a) Jones, R.C.F. ; Martin J.N. In *Synthetic applications of 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry Toward Heterocycles and Natural Products*; Padwa, A., Pearson, W. H., Eds. Wiley: New York, NY, **2002**, pp 1 – 81; b) Beckmann, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1890**, *23*, 3331 – 3341.

¹⁵⁶ a) Cikotiene, I. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 2766 – 2773 ; b) Pfeiffer, P. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1916**, *411*, 72 – 158.

¹⁵⁷ Floyd, R.A. ; Kopke, R.D. ; Choi, C.H. ; Foster, S.B. ; Doblas, S. ; Towner, R.A. *Free Radical Bio. Med.* **2008**, *45*, 1361 – 1374.

Ici, nous nous intéressons à la synthèse de cétonitrones sur charpente pyranose, précurseurs d'iminosucre à six chaînons qui sont donc des pipéridines¹¹⁰ ou des indolizidines¹⁵⁸ polyhydroxylées. Ces iminosucre sont connus comme étant des inhibiteurs de glycosidases pour le traitement du diabète, de la maladie de Gaucher, du virus du SIDA, d'infections virales et de cancers (**Figure 38**).

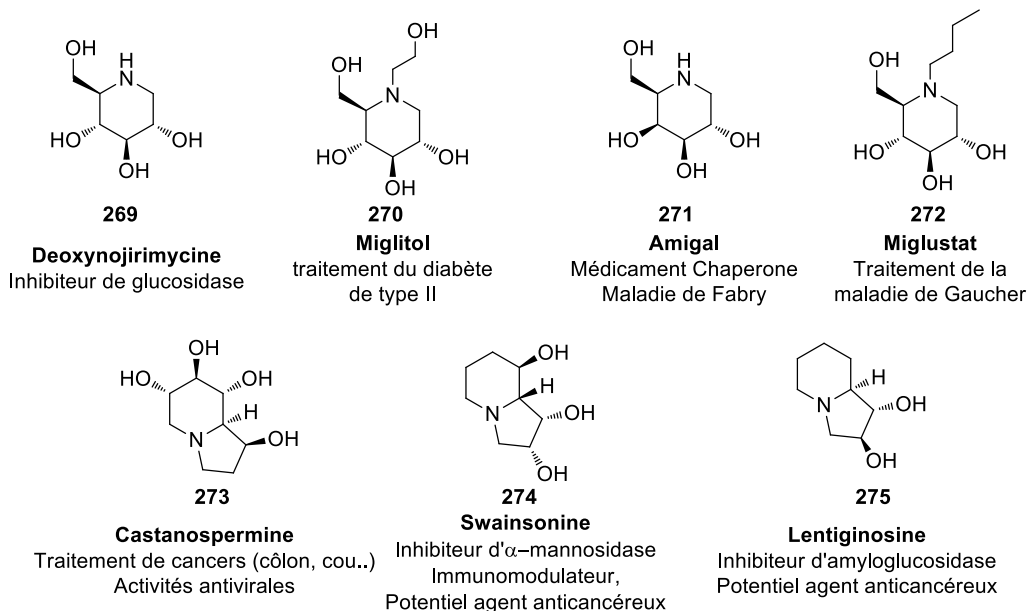


Figure 38 pipéridines et indolizidines polyhydroxylées, inhibiteurs de glycosidases

Plusieurs synthèses sont connues pour accéder aux nitrones sur charpente saccharidiques, la plupart conduisant à des aldonitrones. Les stratégies de *N*-alkylation d'oximes par halocyclisation ou par substitution nucléophile ont été abordées au chapitre précédent, seulement quelques exemples montraient la synthèse de cétonitrones sur charpentes saccharidiques (**Schéma 133**). À partir d'un TINO sur charpente pyranose, nous souhaitons accéder à un large panel de cétonitrones par couplage de Liebeskind-Srogl.

¹⁵⁸ Brandi, A. ; Cardona, F. ; Cicchi, S. ; Cordero, F.M. ; Goti, A. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 7808 – 7821.

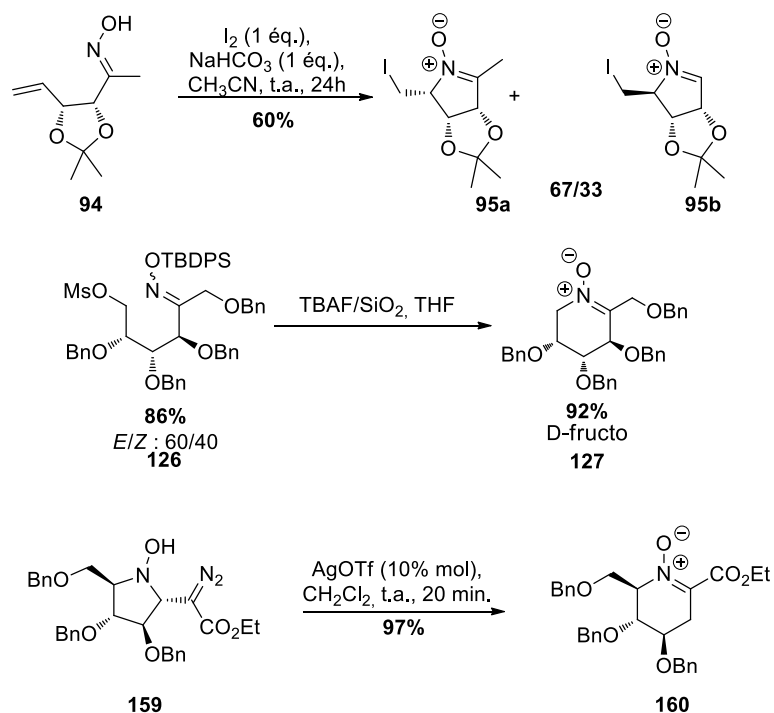


Schéma 133 synthèses de cétonitrone décrites au chapitre précédent

1.2. Le couplage palladocatalysé de Liebeskind-Srogl

Les réactions de couplages croisés pour la formation de liaison C-C ont révolutionné la pratique de la synthèse organique depuis une trentaine d'années. Elles présentent l'avantage de s'effectuer dans des conditions douces et tolérantes vis-à-vis des groupements fonctionnels présents. La plupart des couplages croisés mettent en jeu un composé halogéné électrophile (ou équivalent) et un nucléophile organométallique. En 2000, Liebeskind et Srogl ont découvert un couplage pallado-catalysé donnant accès à des cétones à partir de thioesters et d'acides boroniques, en conditions neutres.¹⁵⁹ La réaction décrite fonctionne avec une quantité catalytique de Pd(0) et une quantité stœchiométrique de Cu(I) (Schéma 134). Cette synthèse est compatible avec un large panel de thioesters et d'acides boroniques.

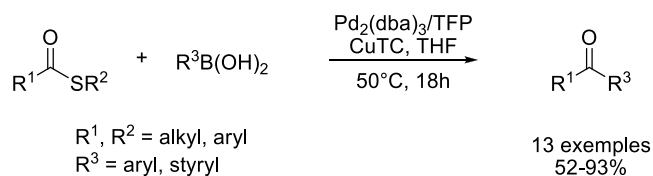


Schéma 134 couplage de Liebeskind-Srogl

¹⁵⁹ Liebeskind, L.S. ; Srogl, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11260 – 11261.

L'utilisation d'acides boroniques est devenue très populaire car ils sont thermiquement stables, inertes dans l'eau et stables à l'air, et peuvent donc être manipulés sans précaution particulière. Ils sont également peu toxiques et beaucoup sont faciles d'accès.¹⁶⁰

Le mécanisme de la réaction de Liebeskind-Srogl est présenté ci-dessous (**Schéma 135**). La première étape est une addition oxydante. Le palladium s'insère entre le soufre et le carbonyle, il est alors au degré d'oxydation (II). Une étape de transmétallation passant par un intermédiaire complexe, permet le départ du soufre et l'insertion du groupement R³. Après une dernière étape d'élimination réductrice, la cétone attendue est obtenue, le palladium (0) est libéré et peut entrer dans un nouveau cycle catalytique.

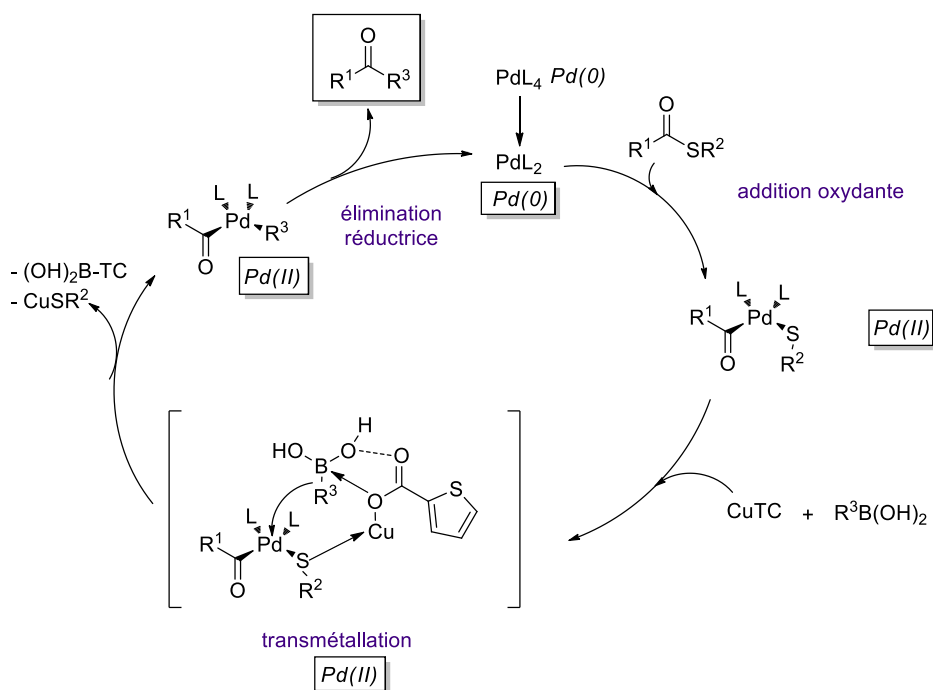


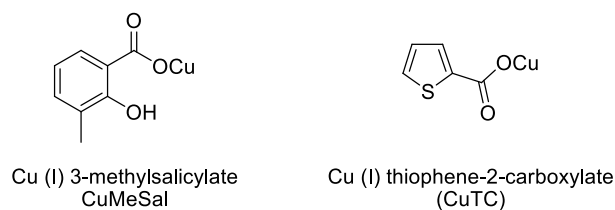
Schéma 135 cycle catalytique proposé pour la réaction de Liebeskind-Srogl¹⁶¹

L'étape cruciale du couplage de Liebeskind est l'activation de la liaison très stable qui se forme entre le soufre et le métal (Pd).¹⁶² La transmétallation de l'acide boronique par le « métalthiolate » est une étape problématique car ce dernier est engagé dans une liaison avec le soufre. Il a donc fallu introduire un métal thiophile pour favoriser le départ du soufre, ici le Cu(I). L'utilisation de CuI ou CuCN à la place du CuTC ou du CuMeSal (**Figure 39**) n'a mené à aucune réactivité, ce qui laisse à supposer que le carboxylate permet l'activation de l'atome de bore. Le mécanisme envisagé pour la réaction de Liebeskind-Srogl illustre cette activation (**Schéma 135**).

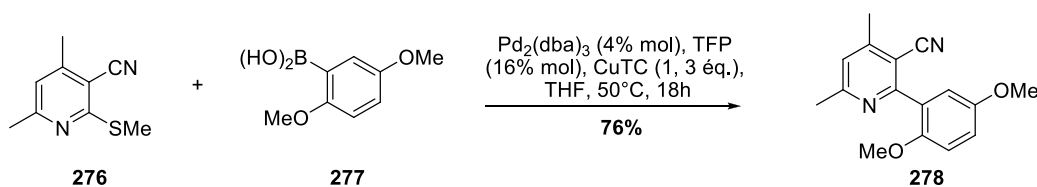
¹⁶⁰ Tyrell, E. ; Brookes, P. *Synthesis* **2003**, 469 – 483.

¹⁶¹ a) Prokopcová, H. ; Kappe, C.O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2276 – 2286 ; b) Modha, S.G. ; Mehta, V.P. ; Van der Eycken, E.V. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 5042-5055

¹⁶² Nakazono, T. ; Kinomoto, M. ; Kurosawa, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2375 – 2376.

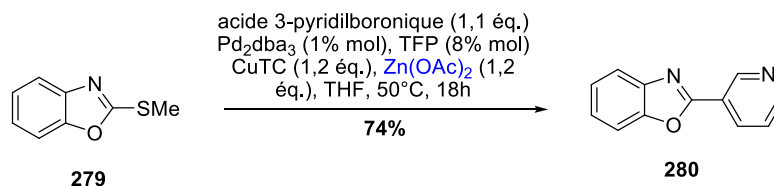
**Figure 39** structures du CuMeSal et du CuTC

Dans ce premier article,¹⁵⁹ différentes conditions ont été testées. Il s'est avéré que l'utilisation d'une base, nécessaire dans la réaction de Suzuki-Miyaura, fait considérablement chuter le rendement. Différents solvants se sont montrés de bons candidats (*i*PrOH, EtOH), toutefois le THF reste le solvant de choix. Depuis 14 ans, de nombreuses améliorations et variations ont été apportées à la réaction de Liebeskind-Srogl.¹⁶¹ Par exemple, la réaction fonctionne également avec les thioethers (**Schéma 136**).¹⁶³

**Schéma 136** exemple de couplage à partir d'un thioether aromatique

Il existe cependant une limitation car seuls les thioéthers portés par des hétérocycles déficients en électrons réagissent dans ces conditions.

Certains réactifs ont pu être additionnés au milieu réactionnel afin d'augmenter la réactivité des substrats vis-à-vis du couplage. C'est le cas de l'acétate de zinc (Zn(OAc)₂) qui, utilisé en quantité stœchiométrique, a permis vraisemblablement d'éviter la déprotonation de l'acide boronique, et de masquer l'atome d'azote qui aurait pu empoisonner le catalyseur (**Schéma 137**).¹⁶³

**Schéma 137** couplage de Liebeskind-Srogl en présence d'acétate de zinc

D'autre part, les couplages ont semblé difficiles en présence d'acides boroniques portant un groupement aliphatique. Ces problèmes ont pu être résolus par l'utilisation de boro-alkyl 9-BBN (9-borabicyclo[3,3,1]nonane). Cependant, du fait de l'encombrement stérique, le cuivre n'a pas joué son rôle d'activateur du composé boro-alkyl 9-BBN. De ce fait, dans ce cas, l'utilisation d'une base

¹⁶³ Liebeskind, L.S. ; Srogl, J. *Org. Lett.* **2002**, 4, 979 – 981.

(ici Cs_2CO_3) a permis d'activer le boro-alkyl 9-BBN **282** et ainsi d'obtenir des rendements satisfaisants (**Schéma 138**).¹⁶⁴

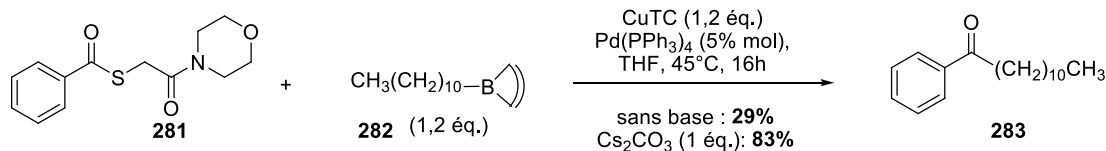


Schéma 138 utilisation d'une base pour activer l'espèce borée

Cette réaction a été étendue aux dérivés stannylés, ce qui est très intéressant car il arrive que leurs équivalents borés ne soient pas commerciaux, et réciproquement. En 2003, Liebeskind,¹⁶⁵ puis Guillaumet¹⁶⁶ ont publié l'extension de la réactivité aux dérivés stannylés, qui peut s'apparenter au couplage de Stille (**Schéma 139**). Depuis, d'autres exemples ont été décrits dans la littérature.^{167,168} La réaction fonctionne également avec des partenaires silylés.¹⁶⁸

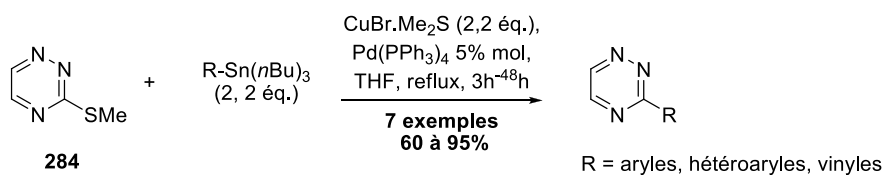


Schéma 139 exemples de couplage à partir de la 3-méthyl-thiothiazine¹⁶⁶

En 2002, Alphonse *et al.* ont montré que l'utilisation du sel de trifluoroborate **285** en remplacement d'acides boroniques était possible.¹⁶⁹ Ces sels présentent l'avantage d'être plus stables que les acides boroniques correspondants. De plus, certains sont commerciaux alors que leurs analogues boroniques doivent être préparés *in situ*.¹⁷⁰ Ce résultat préliminaire de 42% est prometteur quant à l'utilisation de sels de trifluoroborates comme partenaires de la réaction de Liebeskind-Srogl.

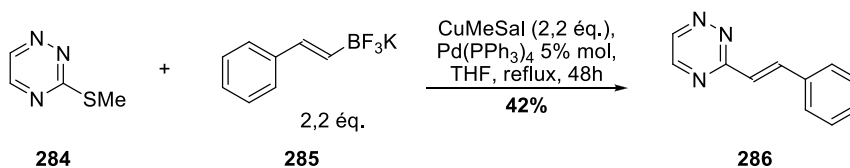


Schéma 140 utilisation de sels de trifluoroborate dans le couplage de Liebeskind-Srogl

¹⁶⁴ Liebeskind, L.S. ; Yu, Y. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3554 – 3557.

¹⁶⁵ a) Wittenberg, R. ; Srogl, J. ; Egi, M. ; Liebeskind, L.S. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3033 – 3035 ; b) Egi, M. ; Liebeskind, L.S. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 801 – 803.

¹⁶⁶ Alphonse, F.-A. ; Suzenet, F. ; Keromnes, A. ; Lebret, B. ; Guillaumet, G. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 803 – 805.

¹⁶⁷ Sun, Q. ; Suzenet, F. ; Guillaumet, G. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 2694 – 2698.

¹⁶⁸ Nuzhat, A. ; Jamshed, H. ; Kappe, C. O. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5118 – 5121.

¹⁶⁹ Alphonse, F.-A. ; Suzenet, F. ; Keromnes, A. ; Lebret, B. ; Guillaumet, G. *Synlett* **2002**, 447 – 450.

¹⁷⁰ a) Mollander, G.A. ; Ellis, N. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 275 – 286. b) Darses, S. ; Genêt, J.-P. ; Brayer, J.-L. ; Demoute, J.-P. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4393 – 4396.

En 2008, Silva *et al.* ont développé l'utilisation d'alcynes vrais afin d'effectuer une réaction de Sonogashira apparentée au couplage de Liebeskind (**Schéma 141**).¹⁷¹ Les substrats de départ sont des oxazolinethiones (**287**) et permettent d'accéder à des analogues de nucléosides possédant un groupement alcyne. À noter ici qu'une utilisation conjointe de 0,5 équivalent d'iodure de cuivre et de CuTC à hauteur de 0,1 équivalent a suffit pour catalyser la réaction, contrairement aux exemples précédents où il était nécessaire d'employer au minimum un équivalent de Cu (I).

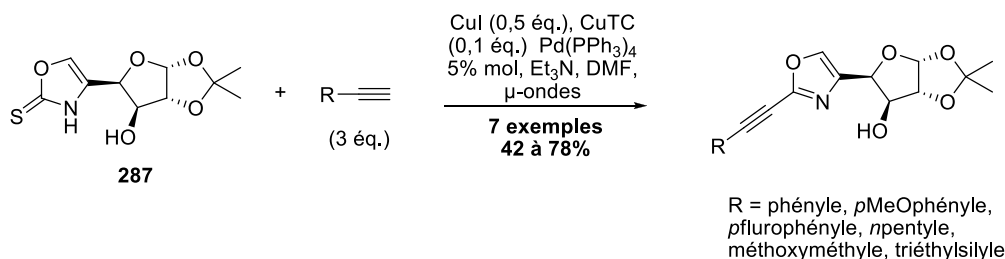


Schéma 141 réaction de Sonogashira appliqu\u00e9e au couplage de Liebeskind

Un exemple plus r\u00e9cent reprend ces couplages de Sonogashira modifi\u00e9s,¹⁷² et montre que la r\u00e9action de Liebeskind peut \u00eatre effectu\u00e9e sur des thioamides et thiour\u00e9es, comme d\u00e9crit pr\u00e9c\u00e9demment par l'\u00e9quipe de Kappe.¹⁷³

En 2005, l'\u00e9quipe de Liebeskind a d\u00e9crit un couplage en utilisant un complexe d'indium \u00e0 la place de l'acide boronique, la r\u00e9action ayant lieu sans cuivre (**Schéma 142**).¹⁷⁴

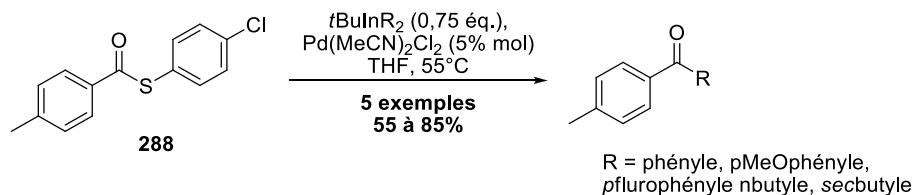


Schéma 142 couplage sans Cu en pr\u00e9sence d'indium

Il a \u00e9t\u00e9 montr\u00e9 une certaine orthogonalit\u00e9 de la r\u00e9action de Liebeskind-Srogl vis-\u00e0-vis des couplages classiques de Suzuki-Miyaura, Sonogashira ou Stille. Il a donc \u00e9t\u00e9 envisag\u00e9 des r\u00e9actions one-pot-s\u00e9quentielles : « couplage palladi\u00e9 suivi de couplage de Liebeskind » et inversement. En 2003, l'\u00e9quipe de Neumann a propos\u00e9 deux synth\u00e8ses s\u00e9quentielles menant au m\u00eame compos\u00e9 disubstitu\u00e9 **292** (**Schéma 143**).¹⁷⁵

¹⁷¹ Silva, S. ; Sylla, B. ; Suzenet, F. ; Tatibou\u00e9t, A. ; Rauter, A.P. ; Rollin, P. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 853 – 856.

¹⁷² Maltsev, O.V. ; Poethig, A. ; Hintermann, L. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1282 – 1285.

¹⁷³ a) Lengar, A. ; Kappe, C.O. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 771 – 774 ; b) Prokopcov\u00e1, H. ; Kappe, C.O. *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 448 – 452 ; c) Prokopcov\u00e1, H. ; Kappe, C.O. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4440 – 4448.

¹⁷⁴ Fausett, B.W. ; Liebeskind, L.S. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4851 – 4853.

¹⁷⁵ Kusturin, C. ; Liebeskind, L.S. ; Rahman, H. ; Sample, K. ; Schweitzer, B. ; Srogl, J. ; Neumann, W.L. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4349 – 4352.

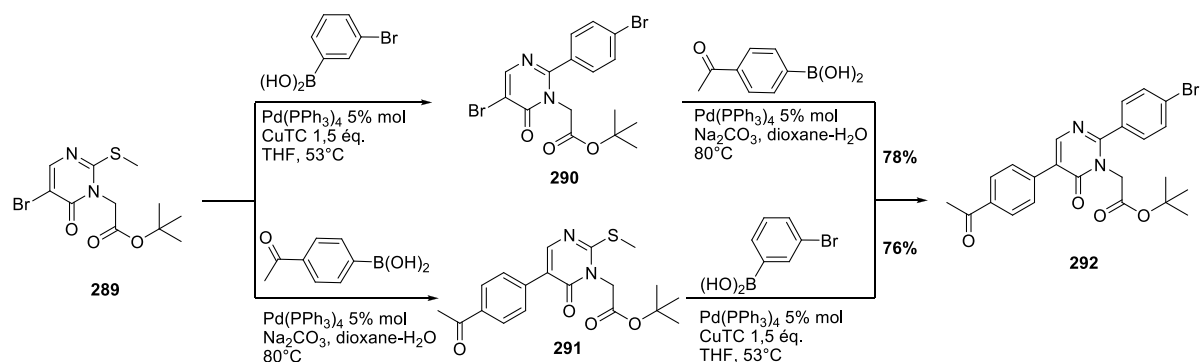


Schéma 143 exemple de synthèse one-pot séquentielle

Ce type de réaction one-pot séquentielle a depuis lors connu un large succès.¹⁷⁶ Par ailleurs, le couplage de Liebeskind-Srogl a été intégré dans de nombreuses séquences de synthèses : synthèses de molécules bioactives,¹⁷⁷ d'oligopeptides¹⁷⁸ ainsi que pour des applications en synthèses supportées.¹⁷⁹

1.3. Précédents au laboratoire

Afin d'étudier la réactivité du TINO sur charpente pyranose, nous avons envisagé de le soumettre aux conditions de Liebeskind-Srogl préalablement développées au laboratoire à partir de TINO en série furanose (**Schéma 144**).¹⁸⁰ Cette réaction, principalement utilisée à partir de substrats aromatiques, est ici employée sur des TINO dont la structure s'apparenterait plus à des vinylthioethers.

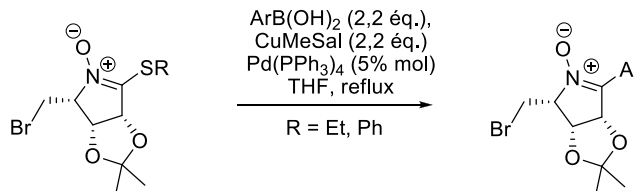
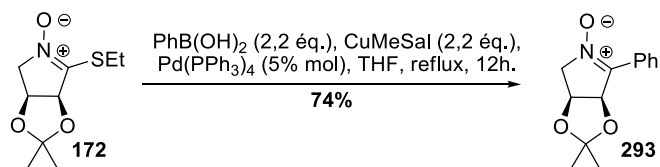
¹⁷⁶ a) Aguilar-Aguilar, A. ; Peña-Cabrera, E. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4163 – 4166 ; b) Tikad, A. ; Routier, S. ; Akssira, M. ; Leger, J.-M. ; Jarry, C. ; Guillaumet, G. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4673 – 4676 ; c) Peña-Cabrera, E. ; Aguilar-Aguilar, A. ; Gonzalez-Dominguez, M. ; Lager, E. ; Zamudio-Vasquez, R. ; Godoy-Vargas, J. ; Villanueva-Garcia, F. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3985 – 3988 ; d) Mehta, V.P. ; Sharma, A. ; Van Hecke, K. ; Van Meervelt, L. ; Van der Eycken, E. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3985 – 3988 ; e) Koley, M. ; Wimmer, L. ; Schnuerch, M. ; Mihovilovic, M.D. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *10*, 1972 – 1979 ; f) Cernova, M. ; Pohl, R. ; Klepetarova, B. ; Hocek, M. *Synlett* **2012**, *23*, 1305 – 1308.

¹⁷⁷ a) Morita, A. ; Kuwahara, S. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1613 – 1616 ; Morita, A. ; Kuwahara, S. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2006**, *70*, 2564 – 2566 ; b) Yang, H. ; Liebeskind, L.S. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2993 – 2995 ; c) Saito, T. ; Fuwa, H. ; Sasaki, M. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 5274 – 5277 ; d) Gebhardt, B. ; Koenig, C. M. ; Schleth, C. ; Dauber, M. ; Koert, U. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 5934 – 5941 ; e) Vasilikevich, T. ; Groer, C.E. ; Lehner, K. ; Navarro, H. ; Prisinzano, T.E. *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 1817 – 1824.

¹⁷⁸ Yang, H. ; Li, H. ; Wittenberg, R. ; Egi, M. ; Huang, W. ; Liebeskind, L.S. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1132 – 1140.

¹⁷⁹ a) Kaval, N. ; Singh, B.K. ; Ermolat'ev, D.S. ; Claerhout, S. ; Parmar, V.S. ; Van der Eycken, J. ; Van der Eycken, E. *J. Comb. Chem.* **2007**, *9*, 446 – 453 ; b) Singh, B.K. ; Mehta, V.P. ; Parmar, V.S. ; Van der Eycken, E. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2962 – 2965 ; c) Testero, S.A. ; Mata, E.G. *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 487 – 497.

¹⁸⁰ Schleiss, J. ; Rollin P. ; Tatibouët, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 577 – 580.

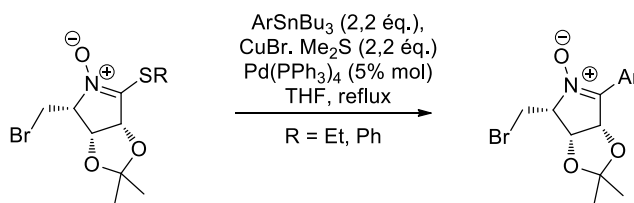


18 exemples
70 à 92%

Ar = phényle, styryle, *p*MeOphényle, *m*MeOphényle, naphthyle, *p*fluorophényle, *m*NO₂phényle, benzothiophényle, furyle

Schéma 144 couplages de Liebeskind-Srogl effectués au laboratoire à partir de TINOs sur charpentes furanoses

Les couplages ont eu lieu en présence d'une quantité catalytique de $\text{Pd(PPh}_3)_4$ ainsi que du CuMeSal comme source de Cu(I) à hauteur de 2,2 équivalents. La réaction a eu lieu au reflux du THF et a fonctionné en présence de divers acides boroniques aromatiques. Comme montré précédemment, ce couplage a pu également s'effectuer sous les conditions de type Stille, en présence de dérivés stannylés (**Schéma 145**).



10 exemples
58 à 95%

Ar : phényle, thiophényle, furyle, vinyles

Schéma 145 couplage de Liebeskind-Srogl en présence de dérivés stannylés

La source de cuivre a alors été le $\text{CuBr.Me}_2\text{S}$, les conditions réactionnelles n'ont pas variées et la réaction a pu avoir lieu en présence de différents dérivés stannylés aromatiques et vinyliques.

Cette approche appliquée aux TINOs sur charpente pyranose permettrait d'accéder à des cétonitrones α -substituées dont l'architecture pourra être utilisée comme point de départ pour introduire les fonctions nécessaires au développement des molécules affines des *S*-glucosyltransférases. Nous avons donc étudié la réactivité de couplage pallado-catalysée sur les TINOs précédemment synthétisés.

2. Couplages de Liebeskind-Srogl sur le TINO sur charpente pyranose

2.1. Optimisation en série D-xylose

Le TINO utilisé pour cette étude de réactivité a été le TINO de série D-xylose **211** car il est apparu comme étant le plus facile d'accès. L'acide boronique utilisé pour les tests a été l'acide phénylboronique, commercial et stable à température ambiante. La réactivité du TINO en série D-xylose **211** s'est révélée différente de celle des précédents TINO étudiés au laboratoire. Dans les conditions standard de couplage, nous avons obtenu un produit de couplage de type Liebeskind-Srogl : le produit **294**, mais ce dernier a également subi l'élimination d'un groupement *O*-benzyle, conduisant à une insaturation (**Schéma 146**). Notre premier postulat a été que pour la formation de cette nitrone **294**, l'étape d'élimination observée aurait été réalisée après la réaction de couplage.

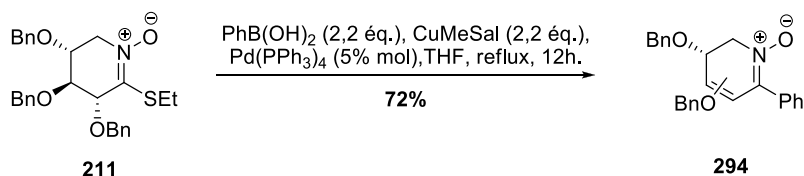


Schéma 146 couplage sur le TINO D-xylose

Cette réaction a donné le composé **294** avec un bon rendement de 72% (**Schéma 146**). La position de l'insaturation a été étudiée par RMN du proton et celle-ci semble être située entre les carbones 2 et 3. Le proton éthylénique est présent sous forme d'un singulet, ce qui nous a laissé supposer qu'il ne couple pas avec le proton H_4 et que nous sommes donc en présence de la nitrone **294b**. Les massifs des protons H_4 , H_{5a} et H_{5b} sont apparus sous forme de multiplets, ce qui n'a pas permis d'éliminer toute possibilité de couplage entre le H_4 et le proton éthylénique. Une étude de RMN par HMBC a confirmé l'hypothèse proposée après étude de la RMN du proton. Le proton sp^2 couple avec un seul CH_2 benzylique ainsi qu'avec le C_1 ce qui peut nous laisser penser que le OBn se situe en C_3 . Aucun couplage n'a eu lieu avec le C_5 ce qui nous a conforté dans la position du OBn (**Figure 40**). Il existe un couplage avec le C_4 qui pourrait également être présent dans le cas où le OBn serait en C_2 .

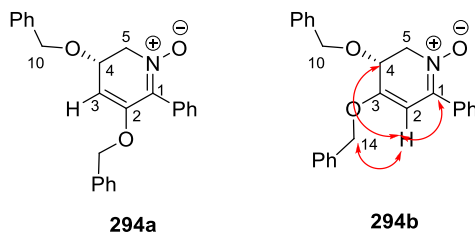


Figure 40 molécules potentiellement formées et couplages remarquables en HMBC

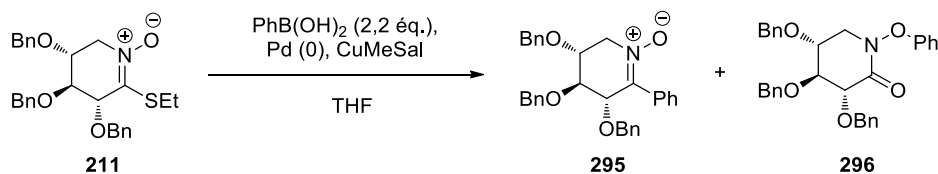
Aucune corrélation n'est visible entre le proton sp^2 et le C_5 ce qui ne signifie pas que le couplage n'existe pas. Nous pouvons conclure que nous sommes en présence de la nitrone **294b** car

pour la molécule **294a** le proton éthylénique devrait apparaître sous forme d'un doublet couplant avec le H₄. La position est de plus confirmée par les différentes expériences RMN 2D effectuées.

a. *Optimisation du couplage en présence de CuMeSal*

Les essais d'optimisation de cette réaction ont tout d'abord été effectués avec le CuMeSal comme source de Cu(I).

Tableau 24 essais de couplage en présence de CuMeSal



Entrée	Température	Pd(0)	CuMeSal	Durée	Résultat	
					295	296
1	0°C	Pd(PPh ₃) ₄ (5 mol%)	2,2 éq.	5h	26%	n.d.
2	t.a.	Pd(PPh ₃) ₄ (5 mol%)	2,2 éq.	1h	34%	n.d.
3	reflux	Pd(PPh ₃) ₄ (5 mol%)	2,2 éq.	10 min	35%	n.d.
4	t.a.	Pd(PPh ₃) ₄ (5 mol%)	2,2 éq.	18h	18%	69%
5	t.a.	-	2,2 éq.	5h	0%	66%
6	t.a.	-	0,2 éq.	24h	0%	37%

n.d. : non détecté

Afin de limiter l'élimination observée, différents essais ont été effectués à 0°C et à température ambiante (**Tableau 24**, entrées 1 et 2). La cétonitrone **295** attendue a été obtenue avec des rendements de 26 et 34% malgré la conversion totale. En conduisant un essai au reflux du THF sur une période très courte de 10 minutes, la cétonitrone attendue **295** a été formée avec un rendement de 35% (**Tableau 24**, entrée 3). Le sous-produit **294** n'a, quant à lui, pas été observé ce qui nous a conforté dans l'hypothèse d'une réaction de couplage de Liebeskind-Srogl suivie d'une élimination. De toutes les conditions testées, aucune ne s'est révélée efficace en termes de rendement. Une étude attentive de la réaction nous a révélé la formation d'un sous-produit, le *N*-phénoxy lactame **296** à hauteur de 69% de rendement. Ce produit est issu d'une réaction compétitive avec le couplage et nous a permis d'expliquer les faibles rendements observés lors des couplages précédents (**Tableau 24**, entrée 4). Une réaction a alors été effectuée sans palladium. Après consommation totale du produit de départ, le composé **296** a été obtenu avec un rendement de 66% (**Tableau 24**, entrée 5). La formation de ce composé a résulté d'un couplage à l'oxygène soit directement sur la fonction TINO, soit sur une *N*-hydroxylactame formée *in situ* par hydrolyse du TINO (**Schéma 147**).

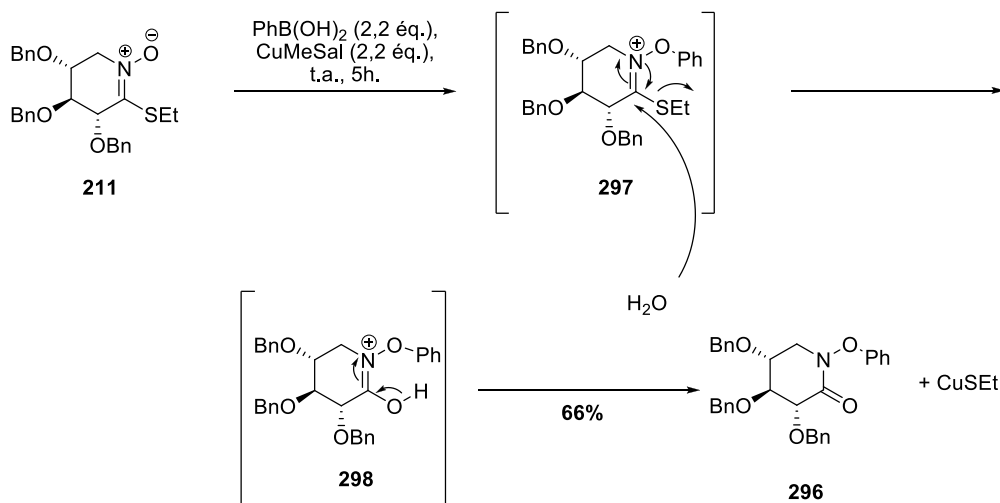


Schéma 147 formation supposé du produit de couplage C-O en présence de Cu(I)

La difficulté de détection de ce sous-produit **296** nous a amené à penser que le produit était déjà présent dans les premiers tests à température ambiante. En effet, ce composé est très peu UV actif et ne révèle pas dans les mêmes conditions que le TINO de départ **211**. De fait, il a été difficile de détecter sa présence. Lorsqu'une quantité catalytique de CuMeSal a été utilisée, le composé **296** ne s'est formé qu'à hauteur de 37% (**Tableau 24**, entrée 6). La réaction n'a pas été totale mais le rendement est supérieur au rendement théorique maximal de 20% si l'on considère que la réaction est stœchiométrique. La réaction a donc été catalysée au Cu(I) , cependant la catalyse ne semble pas très performante.

Nous n'avons trouvé aucun exemple de formation de liaison C-O à partir d'une nitrone et d'un acide boronique en présence de Cu(I) dans la littérature.¹⁸¹ Des exemples similaires concernent des *N*-hydroxyphthalimide (**Schéma 148**)¹⁸² et des oximes (**Schéma 149**).¹⁸³

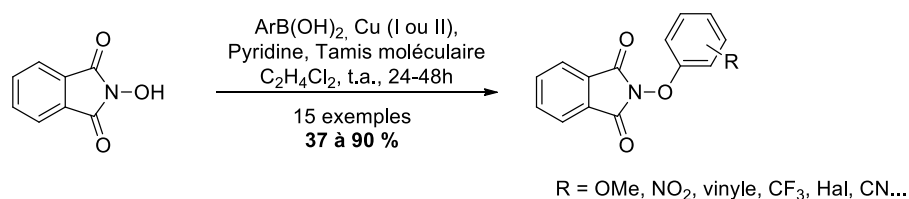
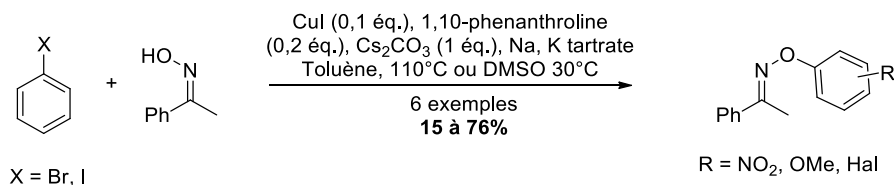


Schéma 148 couplage C-O sur un hydroxyphthalimide

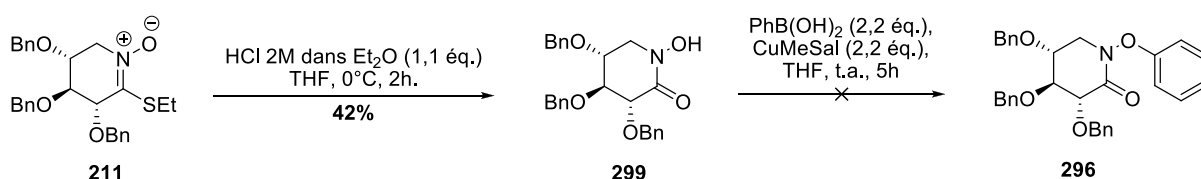
¹⁸¹ a) Evano, G.; Blanchard, N.; Toumi, N. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 3054 – 3131 ; b) Beletskaya, T.P.; Cheprakov, A.V. *Coord. Chem. Rev.* **2004**, *248*, 2337 – 2364.

¹⁸² Petrassi, H. M.; Sharpless, K. B.; Kelly, J.W. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 139 – 142.

¹⁸³ Nonappa, P.D.; Pandurangan, K.; Maitra, U.; Wailes, S. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2767 – 2770.


Schéma 149 couplage C-O catalysé au Cu (I) sur une oxime

Nous avons émis l'hypothèse que le phénoxy lactame **296**, issu du couplage sur l'oxygène, était formé en deux étapes : couplage suivi de l'hydrolyse de l'intermédiaire formé. Pour déterminer l'ordre de ses deux étapes et appréhender le mécanisme, le produit **299** d'hydrolyse du TINO **211** a été préparé avec un rendement de 42% après réaction en milieu aqueux acide (**Schéma 150**).


Schéma 150 hydrolyse de la fonction TINO

Le composé **299** a été ensuite soumis aux conditions réactionnelles permettant le couplage sur l'oxygène. Le produit **296** attendu n'a pas été observé. Il est donc envisageable que l'hydrolyse ait lieu après le couplage sur l'oxygène, comme décrit sur le Schéma 147. Ce couplage semble apparenté aux couplages de Chan-Lam (également décrit par Evans).¹⁸⁴ En 1998, ces trois principaux auteurs ont découvert simultanément la formation de liaisons C-O ou C-N catalysée par le Cu(II) en présence d'acides boroniques. Cependant, dans notre cas, l'utilisation d'une quantité catalytique de cuivre n'a pas semblé mener à une conversion totale du produit de départ, d'autre part le cuivre utilisé dans notre couplage est au degré d'oxydation (I) contrairement au degré d'oxydation (II) du couplage de Chan-Lam. Un mécanisme a tout de même pu être proposé en s'inspirant du mécanisme du couplage de Chan-Lam, lui-même apparenté au couplage d'Ullmann (**Schéma 151**).

¹⁸⁴ a) Chan, D.M.T. ; Monaco, K.L. ; Wang, R.-P. ; Winters, M.P. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2933 – 2936 ; b) Lam, P.Y.S. ; Clark, C.G. ; Saubern, S. ; Adams, J. ; Winters, M.P. ; Chan, D.M.T. ; Combs, A. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2941 – 2944 ; c) Evans, D.A. ; Katz, J.L. ; West, T.R. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2937 – 2940.

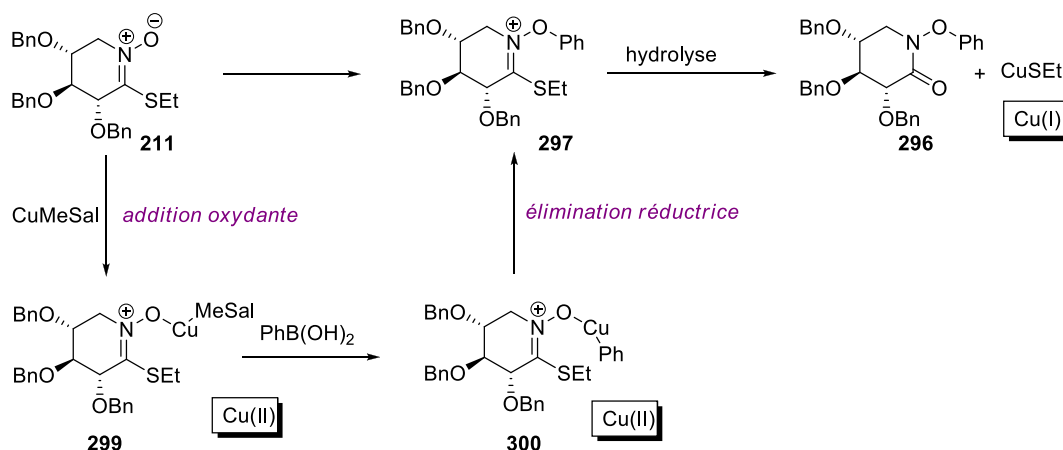


Schéma 151 mécanisme suggéré pour le couplage sur l'oxygène catalysé au Cu(I)

Un intermédiaire réactionnel a pu être proposé pour expliquer l'affinité préférentielle du cuivre pour l'oxygène par rapport au soufre (**Schéma 152**). En effet, le cuivre ne semble pas accessible du fait que l'oxygène de l'alcool du méthylsalicylate s'y complexe.

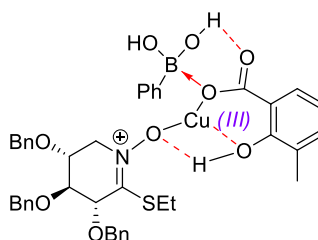


Schéma 152 intermédiaire réactionnel proposé

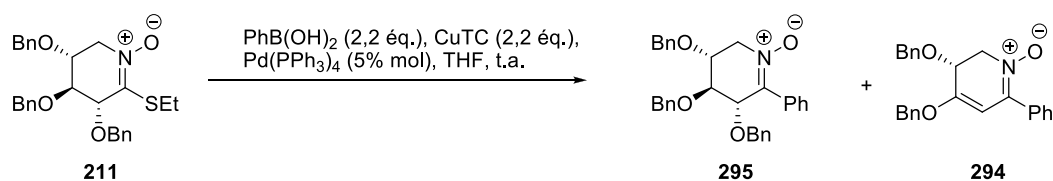
Dans nos conditions de réactions, nous avons rencontré deux orientations de couplage qui pourraient dépendre de la nature du cuivre. Le CuMeSal semble « partagé » entre deux affinités l'une thiophile et la seconde oxophile conduisant à une mauvaise sélectivité de la réaction. Nous avons décidé d'utiliser une autre source de Cu (I) montrant un caractère thiophile plus prononcé.

b. Essais de couplage en présence de CuTC

Le CuTC nous paraissait une bonne alternative au CuMeSal car il a été très souvent utilisé pour les couplages de Liebeskind et qu'il présente un atome de soufre, pouvant renforcer le caractère « mou » du cuivre et ainsi son affinité pour les composés soufrés. L'utilisation des conditions optimisées en présence de CuMeSal a conduit à une conversion totale et à la formation de la cétonitronne **295** avec un rendement de 55%. Ce résultat a été encourageant en comparaison du rendement de 34% lors de l'utilisation du CuMeSal (**Tableau 25**, entrée 1). Le *N*-phénoxy lactame **296** n'a pas été détecté dans ces conditions. Afin d'améliorer le rendement, le milieu réactionnel a été porté à reflux sur une courte période de 2h. Dans ce cas, la formation du produit d'élimination **294** a de nouveau été observée avec un rendement de 44% (**Tableau 25**, entrée 2). Un essai en présence de 20% molaire de catalyseur a été effectué, cependant, il a fait chuter le rendement en

produit désiré à 28%, nous avons également observé la présence du composé **294** à hauteur de 44% (**Tableau 25**, entrée 3). Cette augmentation de la quantité du composé **294** n'a pas été uniquement la conséquence de la présence de 20% molaire de catalyseur palladié mais a pu être accentuée par l'augmentation de la durée de la réaction, pouvant entraîner une dégradation du milieu réactionnel. En l'absence de CuTC, aucune conversion n'a été observée, le TINO de départ a été récupéré en intégralité (**Tableau 25**, entrée 4).

Tableau 25 essais de formation de la cétonitronne **295**



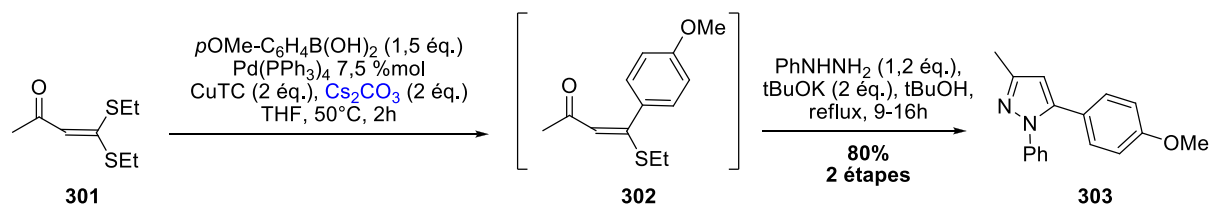
Entrée	Température	Pd(PPh ₃) ₄	CuTC	Durée	Résultat	
					295	294
1	t.a.	5% mol	2,2 éq.	5h	55%	0%
2	reflux	5% mol	2,2 éq.	5h	0%	42%
3	t.a.	20% mol	2,2 éq.	24h	28%	44%
4	t.a.	5% mol	0 éq.	5h	0%	0%

À noter que le *N*-phénoxy lactame **296** n'a jamais été observée. Aucune explication n'a été trouvée quant au fait que le couplage sur l'oxygène n'ait jamais eu lieu en présence de CuTC. Cependant, nous pouvons émettre l'hypothèse que le cuivre est plus accessible du fait qu'il n'y ait pas de complexation supplémentaire comme c'est le cas en présence de l'alcool du méthylsalicylate. De plus, la présence du soufre du thiophène renforce le caractère « mou » du cuivre et augmente ainsi son caractère thiophile.

c. Couplages de Liebeskind-Srogl en présence de base

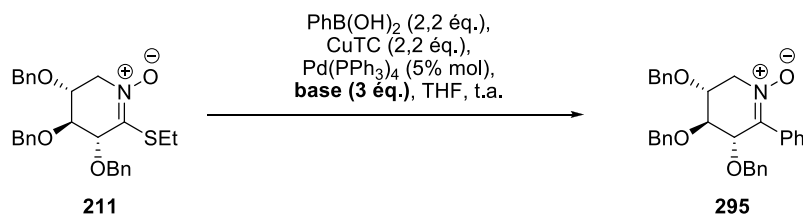
La particularité de la réaction de Liebeskind-Srogl est d'être réalisée en milieu neutre, contrairement aux réactions de Suzuki-Myaura ou de Stille où la présence d'additifs ioniques et/ou basiques est nécessaire. Il existe cependant quelques exemples de l'utilisation d'une base. Tout d'abord, l'exemple de l'équipe de Liebeskind cité dans ce chapitre au paragraphe 1.b.¹⁶³ Plus récemment, en 2011, l'équipe de Yu a proposé un couplage de Liebeskind en présence de base, suivi d'une condensation afin de former des pyrazoles trisubstitués.¹⁸⁵

¹⁸⁵ Jin, W. ; Yu, H. ; Yu, Z. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 5884 – 5887.


Schéma 153 couplage de Liebeskind en conditions basiques

Cinq exemples ont été décrits, les rendements vont de 77 à 89%. Aucune explication n'a été mentionnée concernant l'utilisation de base. Il est intéressant de noter que dans ces deux exemples, la base utilisée est le carbonate de césium (Cs_2CO_3).

Ayant observé une réactivité modeste, nous avons envisagé l'utilisation de base dans nos conditions de couplage pour améliorer la réaction. Pour notre couplage, différentes bases (préalablement séchées à l'étuve) ont été utilisées, le Cs_2CO_3 s'est révélé être la meilleure base pour activer l'acide boronique (**Tableau 26**, entrée 5).

Tableau 26 effet de l'utilisation d'une base sur le couplage de Liebeskind-Srogl


Entrée	Base 3 éq.	Durée	Résultat
1	-	5h	55%
2	K_2CO_3	5h	66%
3	Li_2CO_3	48h	11% ^a
4	Cs_2CO_3	48h	64% ^a
5	Cs_2CO_3	3h	88%

^a réaction non totale, le TINO xylose ne s'est pas dégradé mais il n'est cependant pas récupéré en fin de réaction

Ce tableau montre également les problèmes de reproductibilité de cette réaction. En l'absence de base ou en présence de K_2CO_3 , les réactions étaient complètes après 5h à température ambiante. Lors des premiers essais en présence de Li_2CO_3 et de Cs_2CO_3 , les réactions n'étaient pas totales après 48h. Nous avons pensé qu'il s'agissait d'un problème de reproductibilité dû à l'humidité ambiante et que lorsque la réaction n'était pas terminée après 24h, celle-ci ne devait pas être considérée comme représentative et devait donc être de nouveau réalisée (**Tableau 26**, entrées 3 et 4). La conduite de la réaction en tube scellé et l'utilisation d'argon séché par CaCl_2 a

permis de retrouver des rendements de l'ordre de 80-90% pour la réaction témoin en présence de PhB(OH)_2 et l'optimisation a donc repris dans ces conditions optimisées.

La réaction est de nouveau effectuée en présence de Cs_2CO_3 . Le suivi CCM a montré que la réaction était terminée après seulement 3h. Le rendement était alors de 88% (entrée 5). Notre hypothèse est que la présence de la base permettrait d'activer l'acide boronique qui ne peut l'être par le cuivre, déjà impliqué dans une complexation avec le soufre. Les conditions du Tableau 26, entrée 5, ont été retenues pour la suite de l'étude (**Schéma 154**). Une optimisation des solvants et quantités des réactifs a ensuite été effectuée (**Tableau 27**).

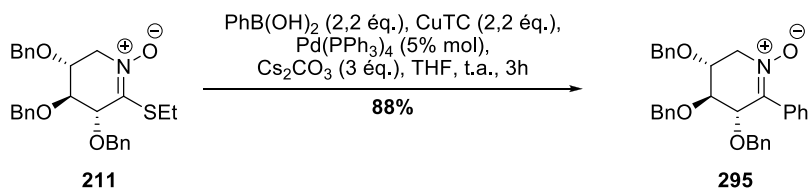
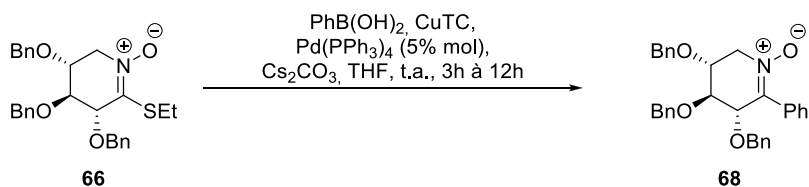


Schéma 154 conditions optimisée du couplage de type Liebeskind

Tableau 27 optimisation des solvants et des quantités de réactifs introduits



Entrée	CuTC	PhB(OH)_2	Base	Solvant	Rendement
1	2,2 éq.	2,2 éq.	3 éq.	THF	88%
2	2,2 éq.	2,2 éq.	3 éq.	CH_2Cl_2	49% (TINO : traces)
3	2,2 éq.	2,2 éq.	3 éq.	Dioxane	89%
4	2,2 éq.	1,2 éq.	3 éq.	THF	39% (TINO : 30%)
5	1,2 éq.	2,2 éq.	3 éq.	THF	29% (TINO : 66%)
6	2,2 éq.	2,2 éq.	2 éq.	THF	57% (TINO : 20%)

Nous avons testé deux autres solvants (**Tableau 27**, entrées 1 et 2). Le dioxane a permis d'avoir un rendement identique à celui obtenu dans le THF. Le dichlorométhane, quant à lui, donne un rendement moyen de 49%. Dans le dichlorométhane, le milieu semble moins homogène que dans le THF.

Sur la même durée de 3h, nous avons diminué la quantité d'acide boronique (entrée 4), la proportion de l'additif de cuivre (entrée 5) ainsi que le nombre d'équivalent de la base (entrée 6).

Dans ces trois tests, les réactions conduisent au produit de couplage **295** mais elles ne sont pas complètes.

D'autre part, nous obtenons des résultats encourageants lorsque le sel de trifluoroborate est utilisé en remplacement de l'acide boronique (**Schéma 155**).

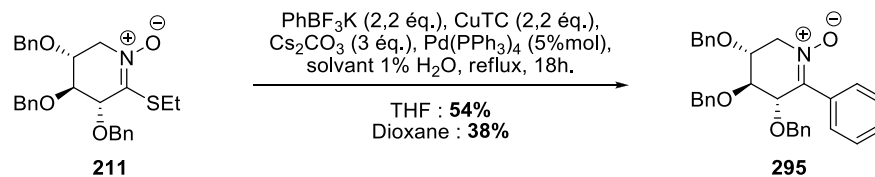


Schéma 155 utilisation de sels de trifluoroborate

Les sels de trifluoroborates sont plus stables que les acides boroniques, mais présentent une réactivité comparable. Les acides boroniques présentent une case quantique vide qui les expose à des réactions parasites en présence d'oxydants, de bases, de nucléophiles et qui limite les conditions dans lesquelles ils peuvent être utilisés. Les sels de trifluoroborates de potassium ne sont pas aussi sensibles que les acides boroniques car ils ne possèdent pas cette case quantique vide, ils sont considérés comme des acides boroniques protégés.¹⁸⁶ Les sels de trifluoroborate sont, entre autres, utilisés pour les couplages palladocatalysés de Suzuki-Miyaura. Ils vont s'hydrolyser lentement lors de la réaction, en acides boroniques en présence d'un solvant protique (eau, *i*PrOH, MeOH). Cette hydrolyse lente permet d'éviter les réactions secondaires d'homocouplage et de protodéboronation.¹⁸⁷ C'est pourquoi, dans notre cas, la réaction s'effectue dans un mélange THF/eau : 99/1. La réaction ne fonctionne pas à température ambiante mais donne un rendement de 54% après 18h à reflux, la nitrone non désirée **294** n'est pas observée malgré le chauffage au reflux du THF. Ce premier résultat encourageant nous a permis d'envisager pour la suite l'utilisation des sels de trifluoroborates lorsque les acides boroniques correspondants ne seront pas commerciaux (pour l'introduction d'un groupement vinylique par exemple).

Pour ces mêmes raisons, le couplage de Stille a également été testé à partir du TINO en vue d'obtenir la nitrone **295** (**Schéma 156**). Le composé est obtenu après 24h à reflux avec un faible rendement de 22% qui pourrait être amélioré par l'utilisation du CuTC, utilisé jusqu'alors. En effet, l'utilisation de $\text{CuBr} \cdot \text{Me}_2\text{S}$ comme source de Cu(I) a été inspirée des méthodes employées au laboratoire lors des couplages en présence de PhSnBu_3 .

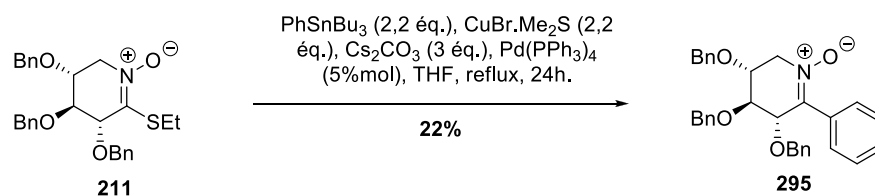


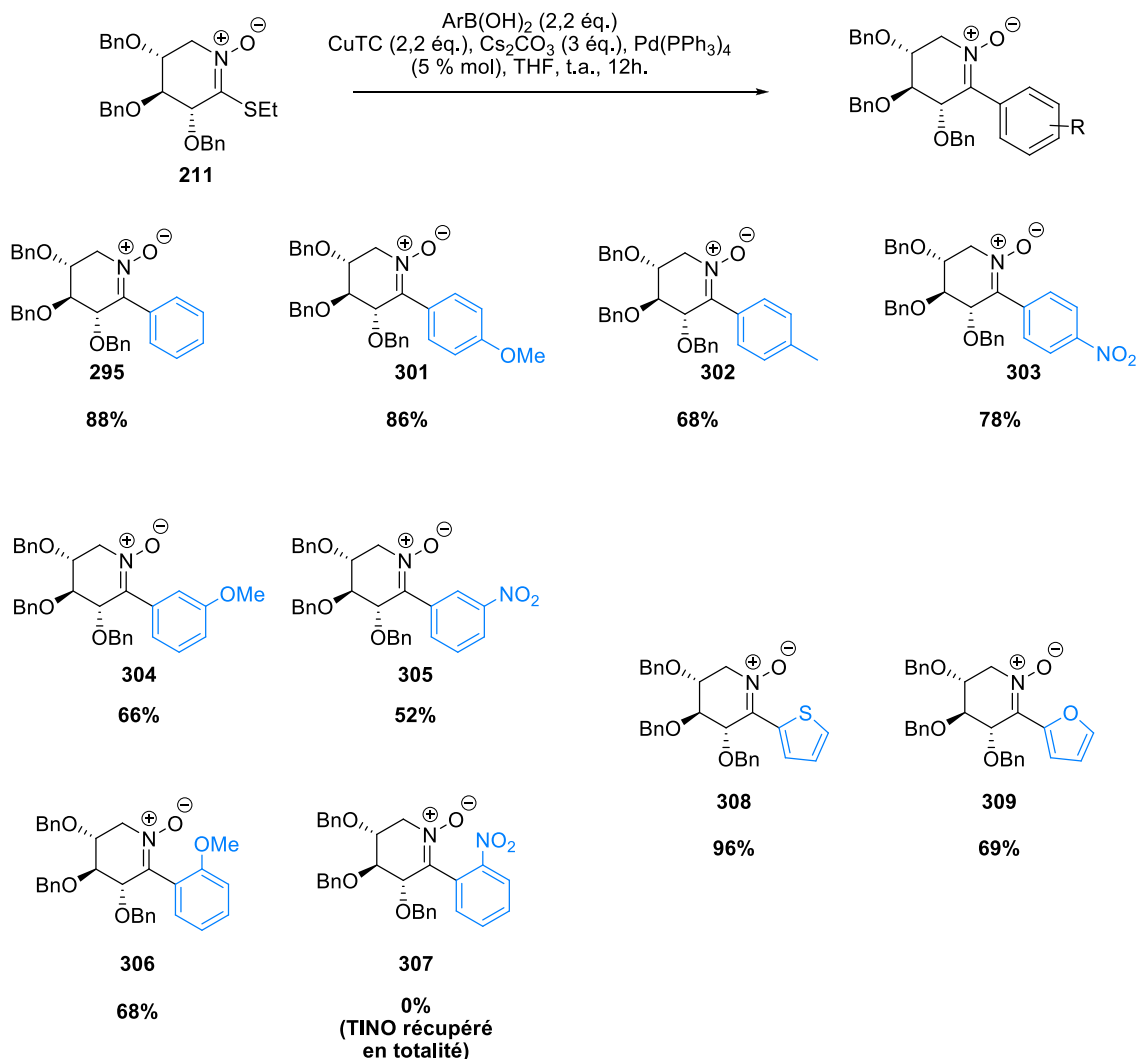
Schéma 156 essai du couplage de Liebeskind en présence de dérivés stannyllés

¹⁸⁶ Molander, G.A. ; Ellis, N. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 275 – 286.

¹⁸⁷ Lennox, A. J. J. ; Lloyd-Jones, G.C. *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134* 7431 – 7441.

2.2. Exemplification

Une exemplification a été effectuée, avec divers acides boroniques portant des groupements électrodonneurs ou électroattracteurs en position *ortho*, *mé*ta et *para*. La durée de réaction pour une conversion totale s'est révélée non homogène selon la nature des réactifs. Elle a donc été portée à 12h à température ambiante afin d'obtenir des réactions complètes.



Sch\u00e9ma 157 exemplification en pr\u00e9sence de diff\u00e9rents acides boroniques

Les cétonitrones correspondantes ont été obtenues avec de bons rendements allant de 52 à 96% excepté pour le cas de l'*o*-nitroph\u00e9nyle. Il apparaît que la nature du groupement en position *para* du ph\u00e9nyle de l'acide boronique n'a pas une influence consid\u00e9rable sur le rendement. En pr\u00e9sence de l'acide *p*-nitroph\u00e9nylboronique, le rendement reste tr\u00e8s satisfaisant, tout comme en pr\u00e9sence du groupement tolyle. Les rendements sont l\u00e9g\u00e8rement plus faibles lorsque les groupements OMe ou NO₂ se situent en position *m\u00e9*ta du ph\u00e9nyle. Aucune r\u00e9activit\u00e9 n'est observ\u00e9e dans le cas o\u00f9 le groupement nitro est situ\u00e9 en *ortho* du ph\u00e9nyle, alors qu'un rendement de 68% est

observé dans le cas du groupement OMe. La réaction a pu être étendue à des acides boroniques hétéroaromatiques, tels que le thiophène et le furane qui présentent des rendements de 96% et 69%, respectivement. Une seconde exemplification a été réalisée en changeant la nature du substrat de départ. (**Schéma 158**).

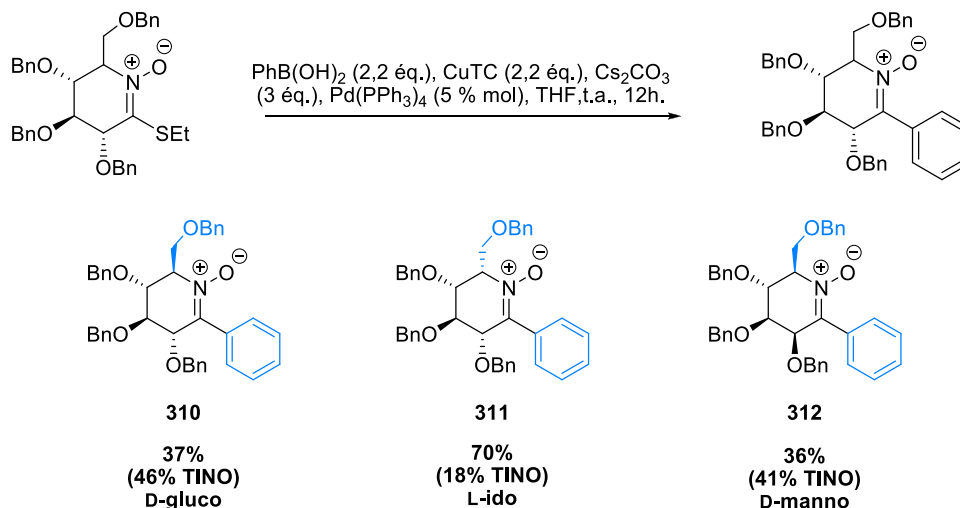


Schéma 158 exemplification à différents substrats de départ

Les conditions précédentes ont été appliquées sur ces substrats. Les résultats sembleraient indiquer qu'en série D (D-glucose, D-mannose), la position du CH₂OH induit une gêne stérique pour la formation du complexe nécessaire au couplage de Liebeskind. Les rendements sont alors de 37 et 36% respectivement. Dans le cas du L-idose, le rendement s'élève à 70%. Dans tous les cas, la réaction n'est pas totale. Le couplage en présence du TINO de série L-gulose qui n'a pour le moment pas été effectué permettra de confirmer ou d'infirmer notre hypothèse concernant l'encombrement stérique.

2.3. Formation d'une vinylnitrone

L'étude préalable sur la méthodologie de couplage par la réaction de Liebeskind-Srogl avait notamment pour objet l'accès à un groupe fonctionnel. La formation d'une vinylnitrone permet d'insérer un point de fonctionnalisation par la double liaison vinyle permettant diverses réactions ultérieures nécessaires au développement d'un inhibiteur de l'enzyme (formation d'une fonction thiohydroximate ou d'un mime de l'UDP-glucose (**Schéma 159**)).

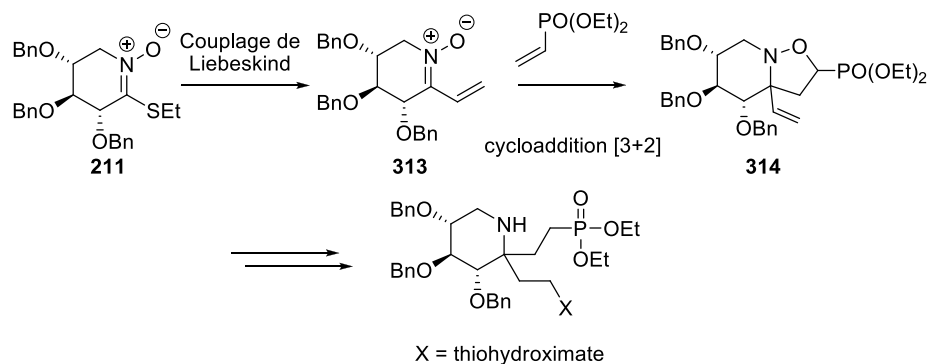


Schéma 159 stratégie envisagée pour l'accès à l'iminosucre α,α -disubstitué

L'acide vinylboronique ne peut pas être utilisé dans la réaction optimisée précédemment. En effet, il polymérise spontanément et se dégrade en quelques jours seulement.¹⁸⁸ Les méthodes les plus couramment utilisées sont l'emploi du vinylstannanes **320**¹⁸⁰ dont la toxicité peut freiner l'utilisation, ou encore l'emploi de l'ester pinacolique de vinylboronate **318**.¹⁸⁹ En 2002, l'équipe d'O'Shea a proposé de synthétiser un complexe d'acide vinylboronique avec la pyridine **316**. Le composé qui en résulte est stable. Une trace d'eau est alors nécessaire pour convertir l'anhydride boronique (boroxine) en acide correspondant. Cette technique leur a permis d'accéder à des vinylpyridines avec de bons rendements (**Schéma 160**).

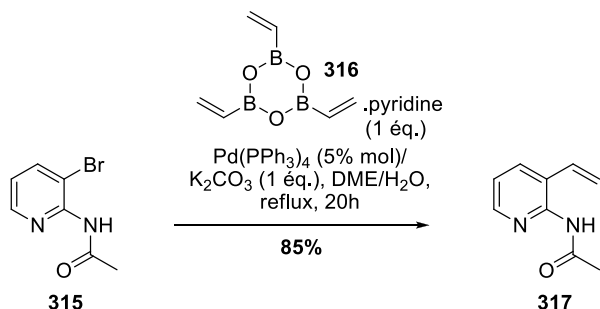
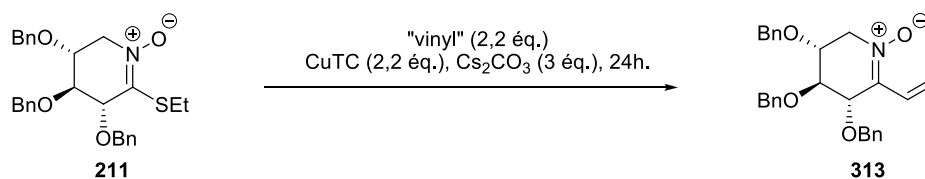


Schéma 160 couplage vinylique en présence d'anhydride vinylboronique complexé à la pyridine

Le sel de trifluoroborate, utilisé précédemment pour insérer un groupement phényle, peut également être envisagé pour la synthèse de la vinylnitronne. Ces différentes sources de vinyle ont été testées (**Tableau 28**).

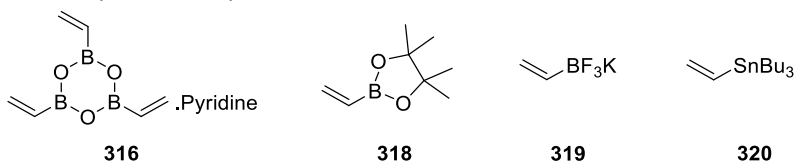
¹⁸⁸ Kerins, F. ; O'Shea, D.F. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4968 – 4971.

¹⁸⁹ Itami, K. ; Tonogaki, K. ; Ohashi, Y. ; Yoshida, J.-I. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4093 – 4096.

Tableau 28 essais d'optimisation du couplage pour l'obtention de la vinylnitronne

Entrée	Cu(I)	«vinyl»	Pd (5% mol)	Cs ₂ CO ₃	Solvant	Temp.	Rendement
1	CuTC	316	Pd(PPh ₃) ₄	3 éq.	THF	t.a.	48%
2	CuTC	316	Pd(PPh ₃) ₄	-	THF	t.a.	34%
3	CuTC	316	Pd ₂ dba ₃ TFP (15 % mol)	3 éq.	THF	t.a.	48% (TINO ^a : 42%)
4	CuTC	318	Pd(PPh ₃) ₄	3 éq.	THF	reflux	TINO
5	CuTC	318	Pd(PPh ₃) ₄	3 éq.	THF 1% H ₂ O	reflux	Dégrad.
6	CuTC	318	Pd(PPh ₃) ₄	3 éq.	THF 1% H ₂ O	reflux	Dégrad.
7	CuBr.Me ₂ S	319	Pd(PPh ₃) ₄	3 éq.	THF	Reflux	43%
8	CuBr.Me ₂ S	319	Pd ₂ dba ₃ TFP	-	THF	t.a.	46%
9	CuBr.Me ₂ S	319	Pd ₂ dba ₃ TFP	3 éq.	THF	t.a.	52%

^a composé **66** : produit de départ = TINO xylose



L'acide vinylboronique en complexe avec la pyridine **316** a permis d'obtenir un rendement de 48%, l'absence de carbonate de césium a fait chuter le rendement à 34% (entrée 1 et 2). La réaction a été totale sans ajout d'eau, de ce fait la réaction n'a jamais été effectuée en présence d'1% d'eau. L'acide vinylboronique en complexe avec la pyridine **316** a été utilisé avec une nouvelle source de palladium (Pd₂dba₃, TFP, système classique utilisé par Liebeskind), la réaction a présenté un rendement de 48% après 12h à température ambiante, le TINO a été récupéré à hauteur de 42% et pourra de nouveau être utilisé dans une réaction de couplage (entrée 3). Dans le cas de l'ester pinacolique **318** et du sel de trifluoroborate de potassium **319**, l'emploi d'eau et le chauffage à reflux ont été nécessaires. Cependant, la réaction n'a pas été totale au bout de 12h, et le milieu réactionnel se dégrade lorsque le chauffage est maintenu plus longtemps (entrées 4, 5, 6). L'utilisation du vinylstannane **320** dans les conditions de Stille déterminées précédemment ont permis la synthèse du composé désiré à hauteur de 43% (entrée 7). La source de Pd a alors été de

nouveau modifiée. L'utilisation du système « Pd₂dba₃ – TFP » a permis d'effectuer la réaction à température ambiante tout en maintenant le rendement à 46%, sans utiliser de base (entrée 8). Lorsque la base a été ajoutée, le rendement s'est élevé à 52% (entrée 9). Cependant, dans tous ces essais, le produit de départ **211** n'a pas été récupéré en fin de réaction.

Les conditions retenues seront donc l'utilisation de l'acide vinylboronique en complexe avec la pyridine **316** en présence du couple « Pd₂dba₃ – TFP » à température ambiante dans le THF. En effet, cette réaction nous a permis de récupérer le TINO **211** non réagi, c'est-à-dire 42% de la quantité engagée ainsi que la cétonitronne **313** à hauteur de 48%.

2.4. Conclusion

Nous avons mis au point un couplage de Liebeskind-Srogl adapté aux TINO sur charpente pyranose. Des conditions plus douces que sur charpente furanose ont été nécessaires afin d'éviter toute dégradation et formation de produits secondaires. L'utilisation de base a permis d'obtenir un très bon rendement de 88% dans le cas de notre modèle, l'acide phénylboronique. L'exemplification a montré l'étendue de la réactivité de ce couplage (**Schéma 161**). Il a également été très intéressant d'étudier les sous-produits formés lors des différents essais, notamment le couplage catalysé au Cu(I) sur l'oxygène suivi ou précédé de l'hydrolyse du TINO pour lequel nous avons proposé un intermédiaire expliquant la faible disponibilité du cuivre pour le soufre.

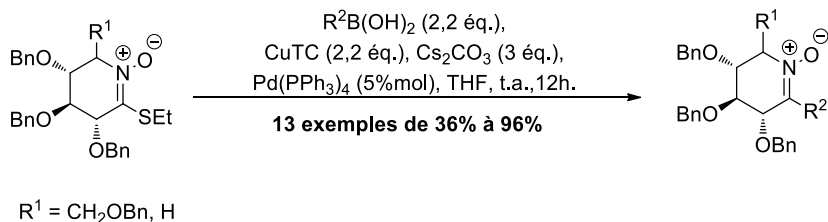


Schéma 161 exemple de nitrones synthétisées par couplage de Liebeskind-Srogl

La vinylnitronne **313** a, quant à elle, nécessité des étapes supplémentaires d'optimisation. De plus, cette nitronne est très instable à température ambiante et doit être utilisée sans attendre dans les essais de cycloaddition qui permettront d'accéder aux précurseurs (**314**) d'iminosucres α,α -disubstitués (**Schéma 162**).

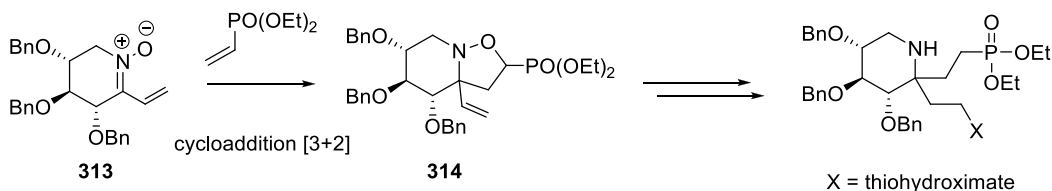


Schéma 162 stratégie envisagée pour l'accès aux iminosucres α,α -disubstitués

Dans le chapitre suivant, l'accès aux cétonitrones sera envisagé par addition nucléophile. La réaction de cycloadditions au départ de la vinylnitronne **313** synthétisée par couplage de Liebeskind-

Srogl sera également exposée. La réactivité des TINOs sera étudiée vis-à-vis des additions de thiols et d'amines, des réductions ainsi que des débenzylations.

Chapitre 5 : Étude de réactivité de la fonction N-oxyde de thioimide et de la vinylnitronne sur charpente D-xylose

La synthèse des fonctions N-oxyde de thioimide sur charpentes saccharidiques s'est largement inspirée de la synthèse des nitrones cycliques. Il en est de même pour l'étude de la fonctionnalisation. Trois grandes familles de réactions se distinguent : les réactions de réduction, d'addition (nucléophile et électrophile) et les réactions de cycloaddition (**Figure 41**).

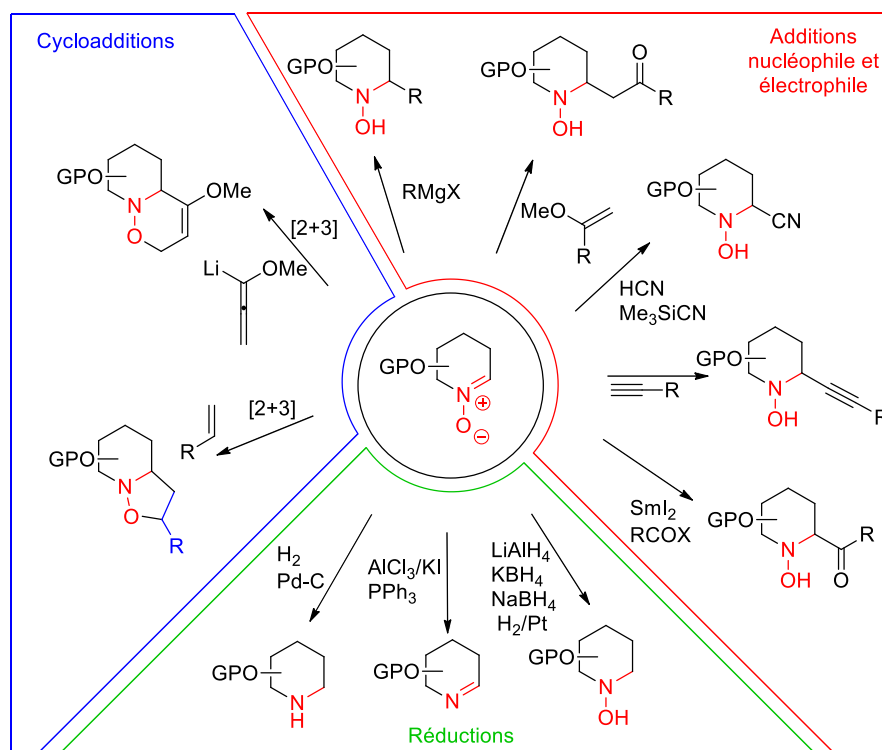


Figure 41 aperçu de la réactivité des nitrones cycliques

Les réactions de cycloadditions ont été testées sur la vinylnitronne en série D-xylose pour donner accès à des systèmes bicyclics, tandis que les réactions de réductions et d'additions nucléophiles ont été abordées sur un TINO de charpente D-xylose (**Schéma 163**).

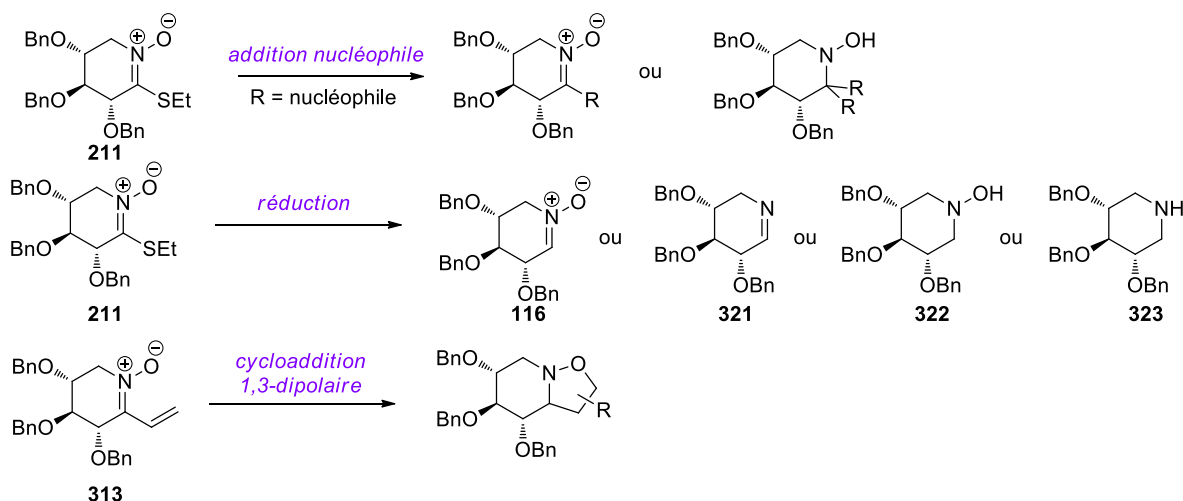


Schéma 163 étude de réactivité envisagée

Notre objectif concernant la fonction TINO a été de développer une réactivité permettant la formation de deux liaisons C-C et conduisant ainsi à une hydroxylamine α,α -disubstituée. La première réaction par couplage pallado-catalysé donne accès à des cétonitrones que nous avons présentées au chapitre précédent. Une seconde transformation est l'utilisation de la réactivité de la nitronne intermédiaire pour conduire à une double addition. De manière complémentaire, la réactivité du TINO D-xylose a été abordée par diverses réductions afin d'accéder à des amines, hydroxylamine ou imines.

1. Cycloaddition 1,3-dipolaire

1.1. Rappels bibliographiques

Les réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire ont été largement appliquées aux nitrones sur charpentes saccharidiques.¹⁹⁰ Tout comme pour la synthèse des nitrones, les réactions de cycloaddition sont décrites en majorité sur les nitrones à cinq chaînons, présentant une plus grande stabilité et également une plus grande réactivité vis-à-vis des réactions de cycloaddition. Les cycloadduits désirés présentent un intérêt car ils sont précurseurs de pipéridines, pyrrolidines, pyrrolizidines et indolizidines polyhydroxylées. Il s'agit donc d'analogues d'alcaloïdes de type iminosucres qui peuvent être bioactifs, notamment comme inhibiteurs de glycosidases et qui peuvent présenter un potentiel de développement pour le traitement de nombreuses maladies (maladie de Gaucher, virus du SIDA, cancers...).

La cycloaddition 1,3-dipolaire est contrôlée principalement par la théorie des orbitales frontières.¹⁹¹ En demande normale, la HO (haute occupée) du dipôle se lie à la BV (basse vacante) du dipolarophile. C'est le cas, lorsque le dipolarophile est substitué par un groupement

¹⁹⁰ a) Fišera, L. *Top. Heterocycl. Chem.* **2007**, 7, 287 – 323 ; b) Nguyen, T.B. ; Martel, A. ; Gaulon-Nourry, C. ; Dhal, R. ; Dujardin G. *Org. Prep. Proced. Int.* **2010**, 42, 387 – 431 ; c) Nguyen, T.B. ; Martel, A. ; Gaulon-Nourry, C. ; Dhal, R. ; Dujardin G. *Org. Prep. Proced. Int.* **2012**, 44, 1 – 81.

¹⁹¹ Sustmann, R. *Pure Appl. Chem.* **1974**, 40, 569 – 593.

électroattracteur. En demande inverse, la HO du dipolarophile se lie à la BV du dipôle. C'est le cas lorsque le dipolarophile est substitué par un groupement électrodonneur (**Figure 42**).

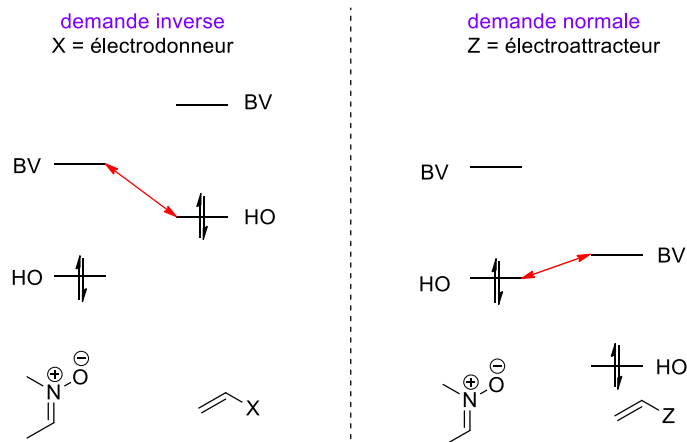


Figure 42 théorie des orbitales frontières : demande normale et inverse

La réaction de cycloaddition sera d'autant plus facile que la différence entre les niveaux énergétiques de la BV et de la HO impliquées dans la formation de la liaison est faible. L'addition d'un activateur (acide de Lewis) peut faire varier les niveaux énergétiques et donc favoriser la demande inverse ou la demande normale. La théorie des orbitales frontières, permet de comprendre en partie le contrôle de la régio- et de la stéréosélectivité. En effet, deux régioisomères peuvent se former et ceux-ci (**Schéma 164**) peuvent être présents sous la forme de quatre diastéréoisomères.

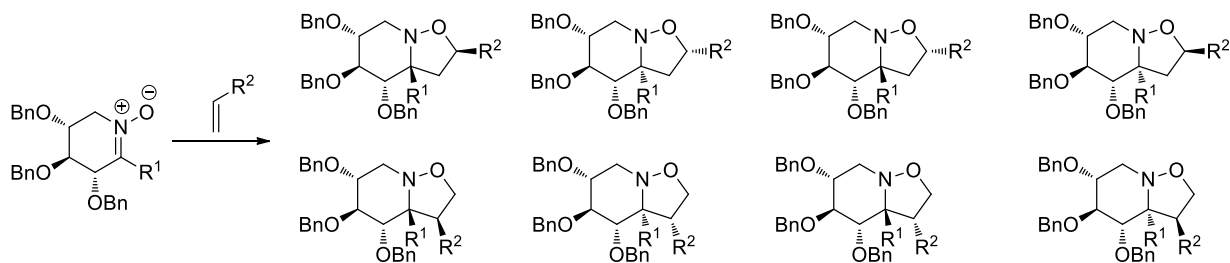


Schéma 164 résultat possible de la cycloaddition

En effet, l'attaque du dipolarophile peut se faire sur la face α ou β , et également de façon *endo* ou *exo* (**Schéma 165**).

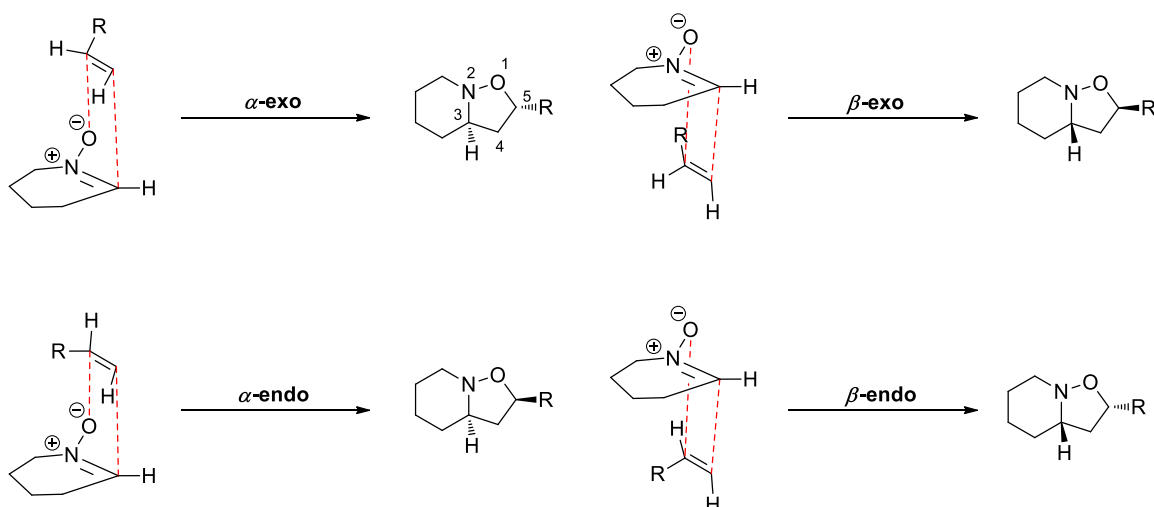


Schéma 165 approche *endo/exo* et sélectivité faciale α/β pour le composé 5-substitué

Dans le cas des nitrones sur charpente saccharidique la stéréosélectivité est difficile à prédire, le moindre changement dans la structure du substrat nitrono pouvant induire un changement de stéréosélectivité. À noter que pour la suite des descriptions des réactions de cycloaddition, la numérotation sera identique à celle indiquée sur le Schéma 165, peu importe les groupements fonctionnels présents sur le cycloadduit, afin de faciliter la discussion.

En 1988, l'équipe d'Ali a étudié la régiosélectivité et la stéréosélectivité des cycloadditions sur les nitrones cycliques.¹⁹² Dans le cas d'une nitrono à six chaînons, quatre composés ont pu être obtenus après cycloaddition (**Schéma 166**). Différents alcènes ont été testés, les résultats ont montré que les produits 5-substitués sont largement majoritaires (les composés 4-substitués étant soit minoritaires lorsque R est un groupement électro-attracteur, soit non détectés lorsque R est un alkyle ou *O*-alkyle). L'approche β -*exo* a également été favorisée.

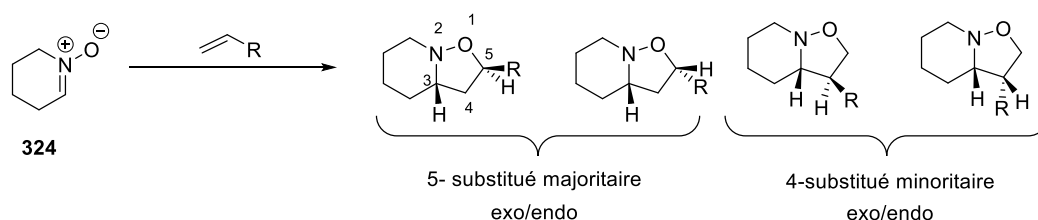


Schéma 166 produits de cycloadditions observés lors de la réaction de cycloaddition au départ de l'aldonitrono cyclique **324**

En 1992, Grigg *et al.* ont étudié les réactions de cycloaddition sur des nitrones cycliques. Le composé **325** a été engagé dans une réaction de cycloaddition en présence de *N*-méthylmaléimide

¹⁹² Ali, S. A. ; Khan, J.H. ; Wazeer, M.I.M. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 5911 – 5920.

au reflux du toluène. Un seul stéréoisomère **326** a été obtenu à hauteur de 70% de rendement (**Schéma 167**). La réaction a donc une diastéréospécificité faciale β et la sélectivité est *exo*.¹⁹³

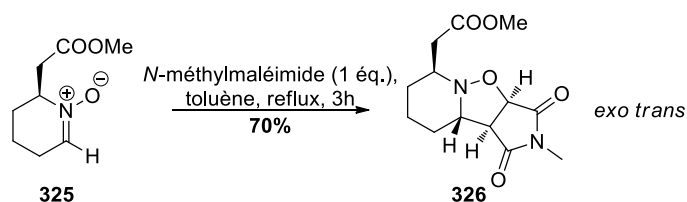


Schéma 167 cycloaddition stéréosélective et stéréospécifique sur une aldonitronne à six chaînons

En 1993, l'équipe d'Herczegh et Sztaricskai a proposé la synthèse d'une nitronne sur charpente D-glucose/L-idose **328** suivie d'une cycloaddition en présence d'acrylate de méthyle (**Schéma 168**).^{99a} Le produit **329** a été obtenu avec un rendement de 36% sur deux étapes, la nitronne intermédiaire **328** n'étant pas isolée lors de la séquence.

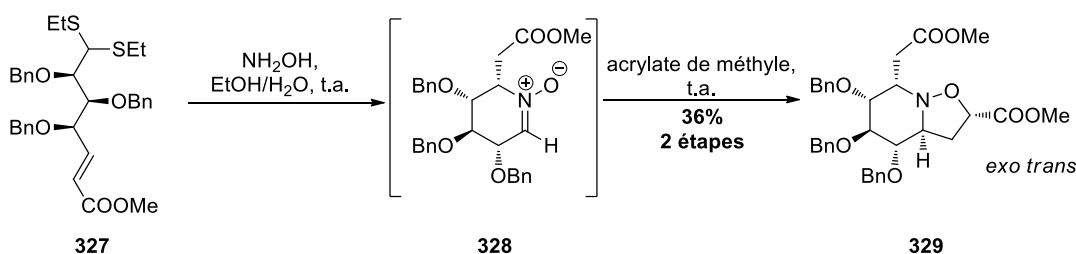


Schéma 168 synthèse d'une nitronne sur charpente L-ido/D-gluco suivie d'une cycloaddition en présence d'acrylate de méthyle

Le composé bicyclique diastéréomériquement pur précipite dans le milieu réactionnel, le surnageant contient un mélange de deux diastéréomères en proportion 3/1 en faveur du stéréoisomère **329**, le composé minoritaire n'étant pas décrit. Trois centres stéréogènes ont donc été générés en seulement deux étapes.

En 1996 puis en 2000, l'équipe de Tamura a étudié les réactions de cycloadditions entre la nitronne **330** et différents alcènes.¹⁹⁴ L'attaque a lieu de façon β -*exo*, le cycloadduit correspondant étant obtenu seul ou majoritairement en présence d'autres stéréoisomères selon l'alcène utilisé (**Schéma 169**).

¹⁹³ Grigg, R. ; Markandu, J. ; Perrior, T. ; Surendrakumar, S. ; Warnock, W.J. *Tetrahedron*, **1992**, *48*, 6929 – 6952.

¹⁹⁴ a) Tamura, O. ; Gotanda, K. ; Terashima, R. ; Kikuchi, M. ; Miyawaki, T. ; Sakamoto, M. *Chem. Commun.* **1996**, 1861 – 1862 ; b) Tamura, O. ; Gotanda, K. ; Yoshino, J. ; Morita, Y. ; Terashima, R. ; Kikuchi, M. ; Miyawaki, T. ; Mita, N. ; Yamashita, M. ; Ishibashi, H. ; Sakamoto, M. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8544 – 8551.

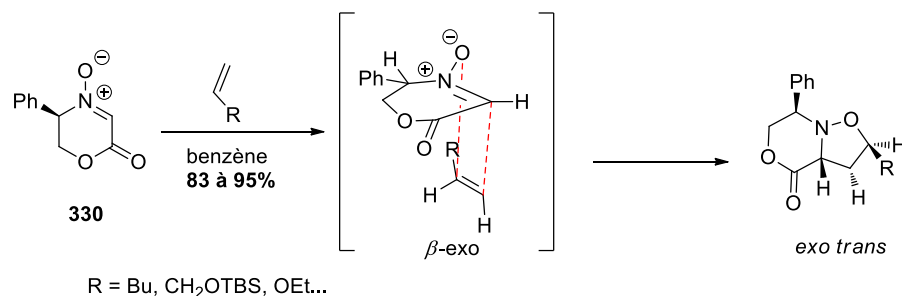


Schéma 169 cycloaddition de sélectivité β -exo

La même année, Van den Broek a exposé la synthèse de différents bicycles obtenus par réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire entre la cétonitronne **331** et un acétate de vinyle en présence d'une quantité catalytique de piègeurs de radicaux dont la structure n'est pas précisée, sous une pression de 15kbar (**Schéma 170**).¹¹⁵

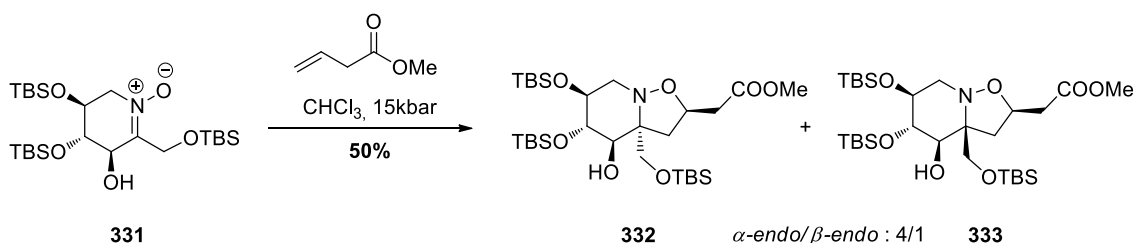


Schéma 170 cycloaddition sous haute pression

En 1999, l'équipe de Vasella a proposé une cycloaddition de l'acrylate de méthyle sur la nitronne **112** sur charpente L-fucose. Deux analogues d'indolizidines diastéromères, 5-substitués **334** et **335**, ont été obtenus par une unique approche α avec un ratio 6/4 en faveur de l'attaque *exo* (**Schéma 171**).¹⁰⁴

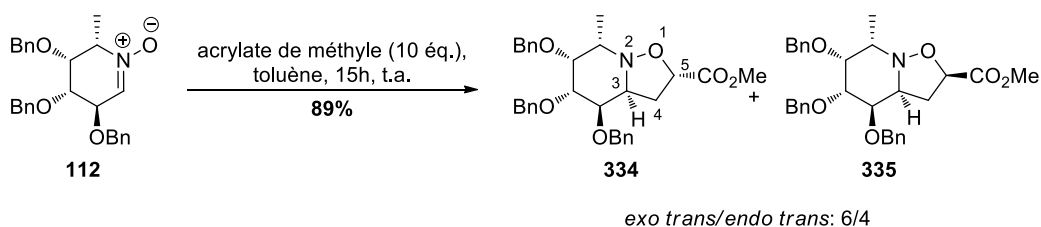


Schéma 171 cycloaddition régiosélective sur l'aldonitronne **112** en présence d'acrylate de méthyle

Après coupure de la liaison N-O en présence de zinc, suivie d'une cyclisation de l'amine sur l'ester et débenzylation, les indolizidines ont été testées comme inhibiteurs de α -L-fucosidase.

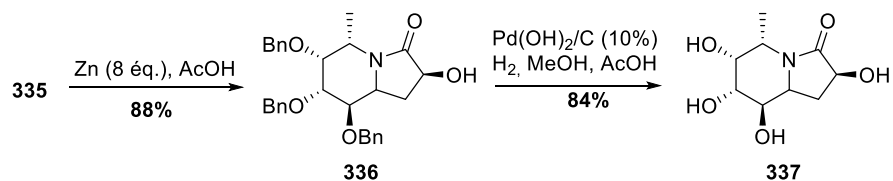


Schéma 172 synthèse d'un inhibiteur de fucosidase sur charpente L-fucose

En 2000, la synthèse d'aza-C-disaccharides **340** par cycloaddition d'une nitronne sur charpente D-lyxose **338** (Schéma 173) a été publiée par l'équipe de Wightman.¹⁹⁵ La sélectivité est *trans exo*.

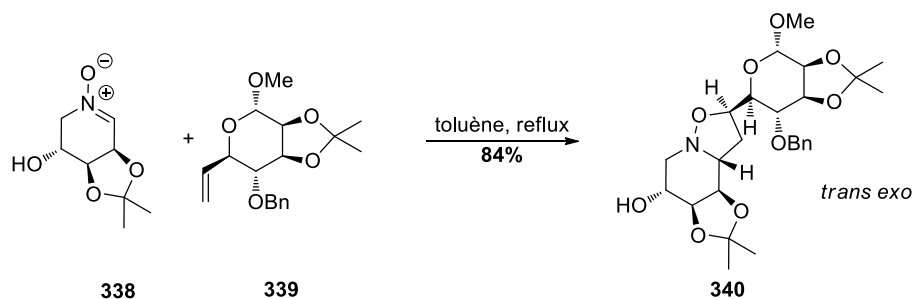


Schéma 173 exemple de synthèse de disaccharides par réaction de cycloaddition

En 2002, Brandi *et al.* ont présenté la synthèse d'une nitronne à six chaînons **341** suivie d'une étape de cycloaddition en présence de maléate de diméthyle (Schéma 174).¹⁹⁶

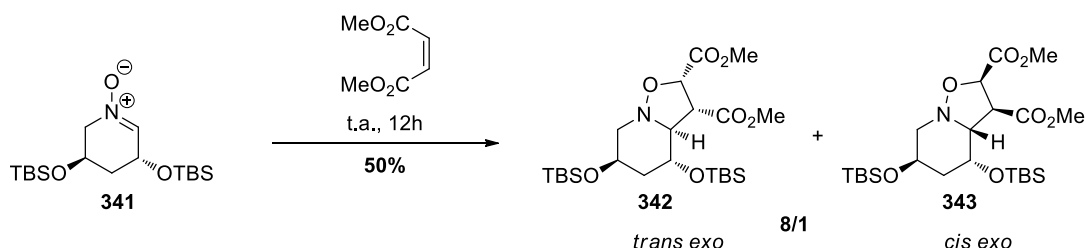


Schéma 174 cycloaddition en présence de maléate de diméthyle

L'approche préférentielle a été l'attaque *exo* et a mené au composé **342**. Les composés issus des attaques *endo* n'ont pas été observés.

Tout récemment, en 2014, Siriwardena *et al.* ont exposé la formation d'une nitronne **344** et sa cycloaddition en présence de différents alcènes de façon séquentielle en un seul pot (one-pot).¹⁹⁷ Un seul diastéréoisomère a été obtenu.

¹⁹⁵ Duff, F.J. ; Vivien, V. ; Wightman, R.H. *Chem. Commun.* **2000**, 2127 – 2128.

¹⁹⁶ Brandi, A. ; Cicchi, S. ; Paschetta, V. ; Gomez-Pardo, D. ; Cossy, J. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 9357 – 9359.

¹⁹⁷ Siriwardena, A. ; Sonowane, D.P. ; Bande, O.P. ; Markad, P.R. ; Yonekawa, S. ; Tropak, M.B. ; Ghosh, S. ; Chopade, B.A. ; Mahuran, D.J. ; Dhavale, D.D. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 4398 – 4404.

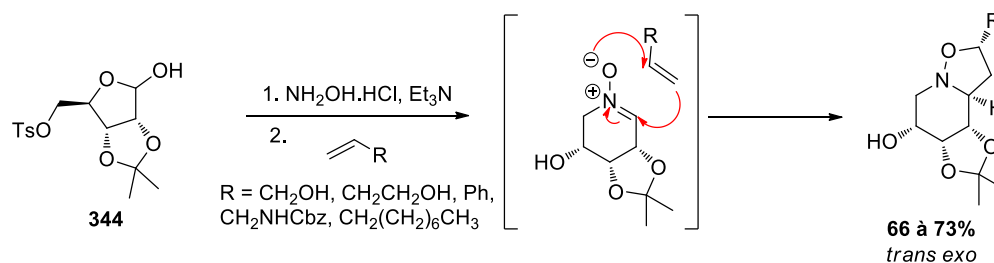


Schéma 175 synthèse de nitronne et cycloaddition en version one-pot

Certains réactifs peuvent être ajoutés au milieu réactionnel afin d'activer la nitronne en chélatant l'oxygène mais également afin de modifier la stéréosélectivité de la réaction de cycloaddition. Dans le cas des nitrones acycliques, ces additifs peuvent permettre de bloquer la nitronne sous forme *Z* ou *E* afin d'obtenir une meilleure stéréosélectivité. Dans le cas des nitrones cycliques, l'ajout de chélatant peut permettre d'activer la réactivité ou de modifier la sélectivité.

En effet, lorsque $\text{Eu}(\text{fod})_3$ est ajouté au milieu réactionnel, Tamura *et al.* ont observé une modification spectaculaire de réactivité (**Schéma 176**).¹⁹⁸

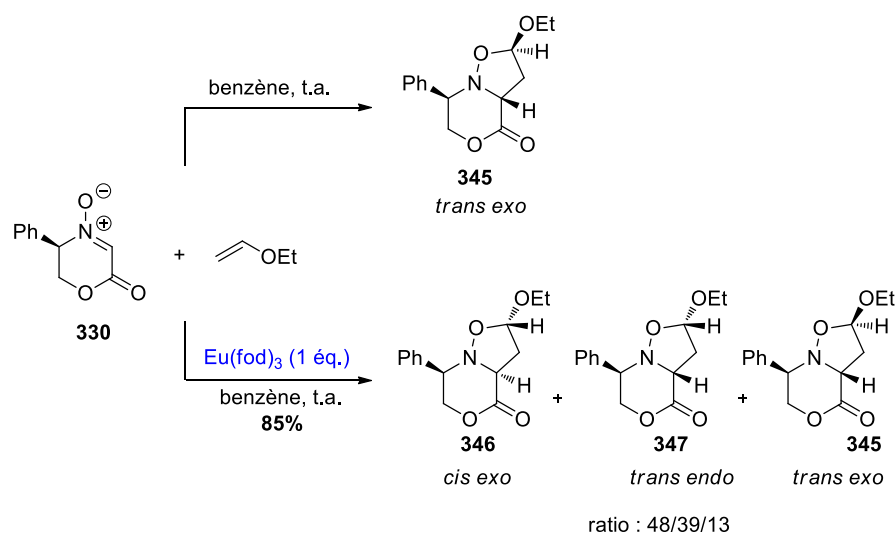


Schéma 176 effet d' $\text{Eu}(\text{fod})_3$ sur la stéréosélectivité

Sans additif la stéréosélectivité observée était excellente, tandis qu'en ajoutant $\text{Eu}(\text{fod})_3$, le composé précédemment majoritaire **345** résultant d'une attaque β -endo n'est observé qu'à hauteur de 13% du milieu réactionnel alors que les attaques α -exo **346** (48%) et β -exo **347** (39%) sont devenues majoritaires. Différents acides de Lewis ont également été utilisés comme additifs : $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$, AlMe_3 , TiCl_4 , TMSOTf .¹⁹⁹

¹⁹⁸ Tamura, O. ; Mita, N. ; Imai, Y. ; Nishimura, T. ; Kiyotani, T. ; Yamasaki, M. ; Shiro, M. ; Morita, N. ; Okamoto, I. ; Takeya, T. ; Ishibashi, H. ; Sokamoto, M. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 12227 – 12236.

¹⁹⁹ Jacobsen, M. F. ; Skrydstrup, T. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7112.

De façon plus spécifique, pour nos objectifs d'applications biologiques, les dipolarophiles souhaités sont le diéthylvinylphosphonate et diéthylallylphosphonate (**Schéma 177**). Après cycloaddition, la rupture de la liaison N-O permettra d'obtenir un premier composé α,α -disubstitué.

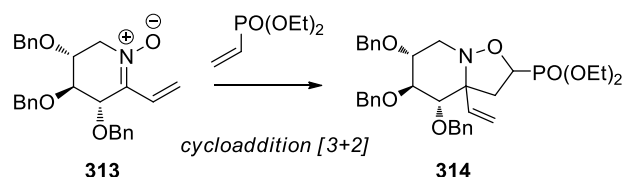


Schéma 177 voie de synthèse de l'iminosucre α,α -disubstitué

La cycloaddition 1,3-dipolaire de vinylphosphonate sur des nitrones cycliques est très peu décrite dans la littérature. En 1990, Brandi *et al.* ont réalisé cette réaction à partir d'une nitron à cinq chaînons. Le produit majoritaire est le composé 5-substitué lorsque la réaction est effectuée à température ambiante, la régiosélectivité est inversée en conditions thermiques.²⁰⁰

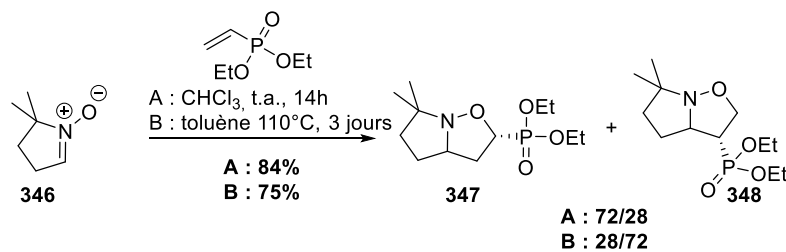


Schéma 178 deux produits de cycloaddition du diéthylvinylphosphonate

En 2004, Chevrier *et al.* ont montré qu'une cycloaddition entre la nitron sur charpente L-lyxose **102** et le diéthylvinylphosphonate était possible (**Schéma 179**).²⁰¹

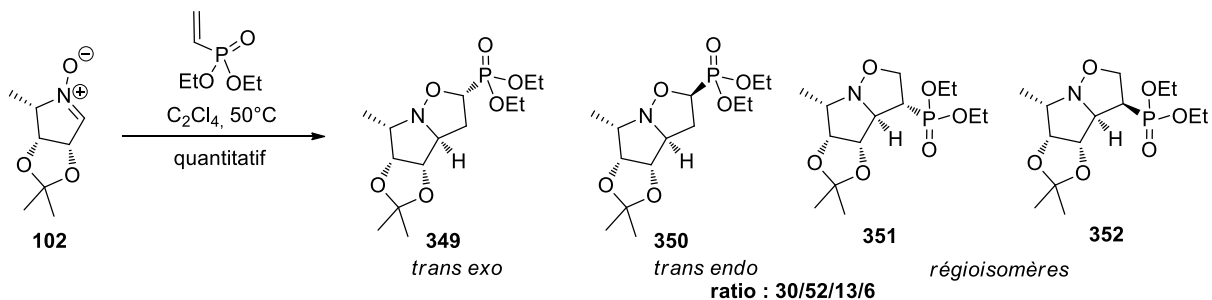


Schéma 179 cycloaddition en présence de diéthylvinylphosphonate

²⁰⁰ Brandi, A. ; Cicchi, S. ; Goti, A. ; Pietrusiewicz, K.M. ; Wisniewski, W. *Tetrahedron*, **1990**, *46*, 7093 – 7104.

²⁰¹ Chevrier, C. ; LeNouen, D. ; Neuburger, M. ; Defoin, A. ; Tarnus, C. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 5363 – 5366.

Le cycloadduit **350** issu de l'approche *trans endo* et 5-substitué a été majoritaire. La stéréosélectivité a cependant été moyenne, trois autres composés ont été isolés en quantité non négligeable.

En 2006, Liautard *et al.*²²³ ont décrit une cycloaddition entre l'aldonitrone **353** et un allylphosphonate (**Schéma 180**). Un seul cycloadduit **354** issu de l'attaque α -*exo* a été obtenu.

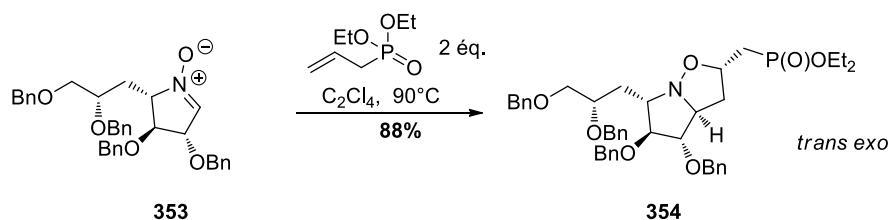


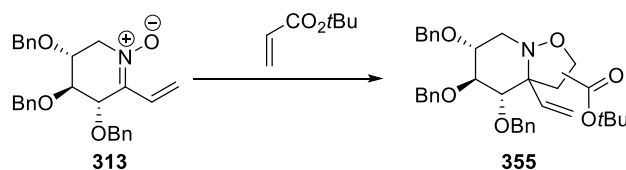
Schéma 180 cycloaddition entre l'aldonitrone **353** et l'allylphosphonate

1.2. Résultats

Les réactions de cycloaddition peuvent être conduites directement en solution dans l'alcène ou dans un solvant tel que le toluène, le dichlorométhane, l'acétone ou l'acétonitrile, à température ambiante ou à reflux. Selon la réactivité observée, des acides de Lewis peuvent être testés en vue d'augmenter la réactivité ou la stéréosélectivité. Des tests ont été effectués dans un premier temps en utilisant l'acrylate de *tert*-butyle (électroattracteur) et par la suite en utilisant l'éthylvinyléther (électrodonneur) comme alcènes afin de comparer les sélectivités.

Les premiers tests ont été effectués sur la vinylnitrone **313** en présence de l'acrylate de *tert*-butyle (**Tableau 29**). Cependant, malgré les différentes conditions testées, aucune n'a conduit à la formation du produit de cycloaddition **355**. Certaines des conditions testées ont permis de détecter par spectrométrie de masse basse résolution et RMN du proton, le cycloadduit **355** à l'état de traces mais aucune molécule n'a pu être isolée et caractérisée. La nitrone de départ n'a pas été récupérée en fin de réaction, ceci étant sûrement dû à la dégradation du milieu réactionnel.

Tableau 29 essais de cycloaddition sur la vinylnitronne **313**



Entrée	vinylacrylate de tBu	Acide de Lewis	Solvant	Température	Durée	Résultat
1	1,1 éq.	-	C ₂ Cl ₄	t.a. puis 55°C puis 80°C	24h	Dégradation
2	2,2 éq.	-	C ₂ Cl ₄	80°C	24h	Traces
3	10 éq.	-	C ₂ Cl ₄	50°C	48h	Traces
4	1,1 éq.	-	sans solvant	110°C	12h	Dégradation
5	10 éq.	-	sans solvant	110°C	7h	Traces
6	10 éq.	-	sans solvant	50°C	7h	Dégradation
7	10 éq.	TMSOTf (1éq.)	CHCl ₃	t.a.	12h	Traces
8	10 éq.	TMSOTf (1éq.)	Toluène	t.a.	12h	Traces

D'après les premiers résultats, il nous a semblé nécessaire d'effectuer cette réaction à température ambiante afin d'éviter toute dégradation du milieu réactionnel. Afin d'activer la nitronne **313**, qui ne réagit pas à température ambiante, celle-ci est mise en présence d'un équivalent de TMSOTf. Cependant, aucune des conditions testées n'a produit le composé au-delà de l'état de traces. L'acétate de vinyle et l'éthylvinylphosphonate ont également été utilisés en remplacement de l'acrylate de *tert*-butyle, sans plus de succès.

La forte instabilité de la vinylnitronne nous a conduits à tester les réactions de cycloaddition sur la phénylnitronne **295** ou le TINO **211**. Quelques tests ont été effectués au départ du TINO D-xylose **211** ou de la phénylnitronne **295**, et de l'acrylate de *tert*-butyle dans le toluène avec ou sans AlMe₃ comme acide de Lewis. Cependant, ces essais ont conduit à un mélange inextricable de plusieurs produits. La masse molaire du composé attendu est détectée par spectrométrie de masse basse résolution mais aucun produit n'a pu être isolé et donc caractérisé.

2. Réduction et additions nucléophiles

2.1. Réductions

a. Rappels bibliographiques

❖ Formation d'hydroxylamines

La réaction de réduction de nitrones conduisant à la formation d'hydroxylamines est la plus décrite dans la littérature. La majorité des réductions est décrite en présence d'hydrures classiques, tels que le NaBH_4 ou le KBH_4 . Cependant, pour la réduction des cétonitrones conduisant à deux diastéréoisomères possibles, le L-selectride donne parfois de meilleures diastéréosélectivités, en comparaison au NaBH_4 . Ainsi, en 2009, Racine *et al.* ont montré que la réduction diastéréosélective de la cétonitronne de série D-arabinose **127** conduisait à une charpente de type D-mannopyranose avec une diastéréosélectivité totale (**Schéma 181**).¹⁰⁹

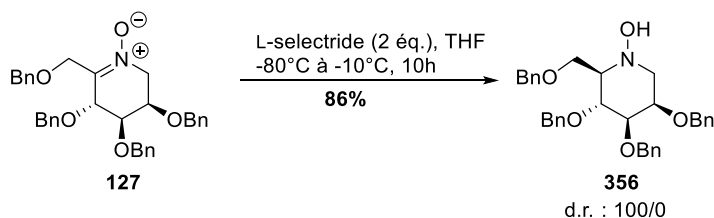


Schéma 181 réduction diastéréosélective d'une nitronne sur charpente arabinopyranose

La réaction a également été totale en présence de NaBH_4 , cependant, la diastéréosélectivité n'a pas été aussi bonne (dr : 90/10).

La majorité des exemples trouvés dans la littérature, ont concerné des nitrones sur charpentes saccharidiques, de type furanose (**Schéma 182**).²⁰²

²⁰² Merino, P. ; Delso, I. ; Tejero, T. ; Cardona, F. ; Marradi, M. ; Faggi, E. ; Parmeggiani C. ; Goti A. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2929-2947.

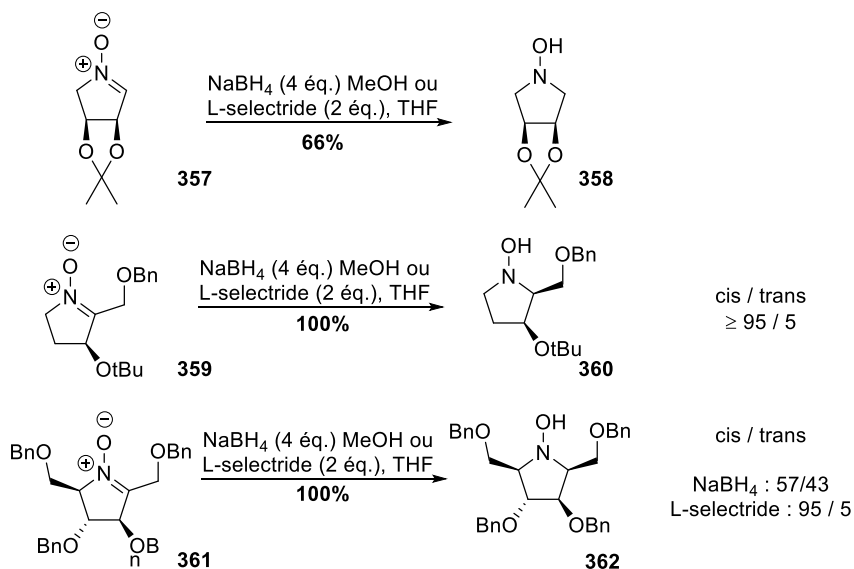


Schéma 182 réduction diastéréosélective de nitrones sur charpente furanose

Les hydroxylamines suivantes ont été synthétisées à partir des nitrones correspondantes avec des rendements quantitatifs en présence de NaBH_4 dans le MeOH, et d'excellentes diastéréosélectivités ($\text{dr} > 95/5$) (**Schéma 183**).²⁰²

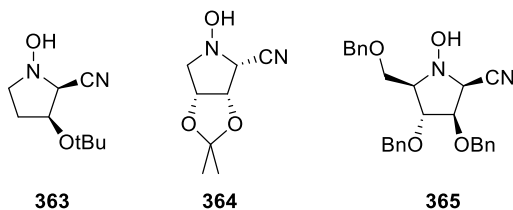


Schéma 183 formation d'hydroxylamines en présence de NaBH_4

Sur une structure similaire, la réduction n'a fonctionné qu'en présence de DIBAL-H (**Schéma 184**). Le substrat **366** n'a pas réagit lorsque la réaction a été conduite en présence de NaBH_4 ou de LiAlH_4 .²⁰²

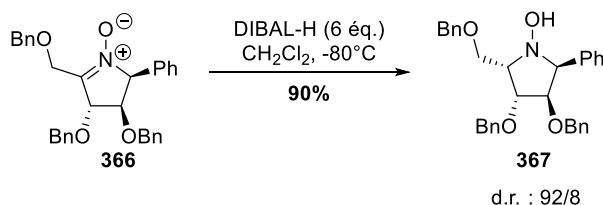


Schéma 184 réduction en présence de DIBAL-H

L'hypothèse émise a été que la présence de l'aluminium a permis de chélater l'oxygène et ainsi d'activer le caractère électrophile de la nitronne.

D'autres réductions de cétonitrone n'ont pas fonctionné en présence de borohydrure de sodium malgré le fait que les nitrone concernées aient une structure similaire aux exemples précédents (**Schéma 185**).²⁰³ La présence de l'aluminium a pu augmenter le caractère électrophile du carbone 1 par chélation sur la fonction nitrone.

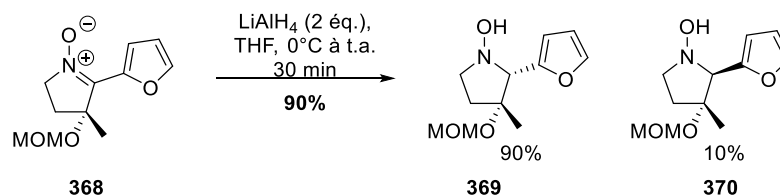


Schéma 185 réduction en présence de LiAlH₄

En 2006, Duvall *et al.* ont exploité l'oxyde de platine en présence de dihydrogène pour réduire une nitrone **371** en hydroxylamines **372** et **373** (**Schéma 186**).²⁰⁴

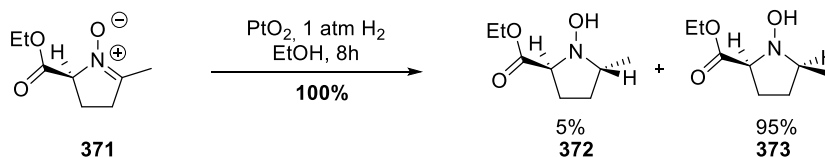


Schéma 186 réduction en présence de dihydrogène et PtO₂

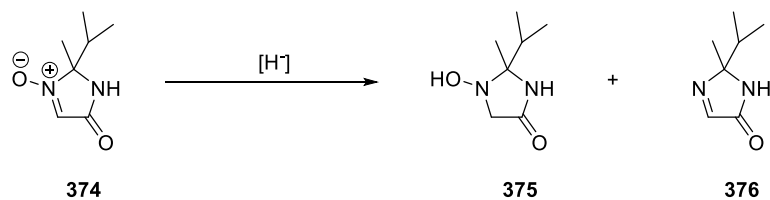
La plupart des questions soulevées lors des réactions de réduction décrites dans la littérature, ont concerné la diastéréosélectivité, mais le contrôle du degré de réduction (en hydroxylamine ou en imine) a également été l'objet de quelques travaux (**Tableau 30**).²⁰⁵

²⁰³ Merino, P. ; Revuelta, J. ; Tejero, T. ; Cicchi, S. ; Goti, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 776 – 782.

²⁰⁴ Duvall, J.R. ; Wu, F. ; Snider, B.B. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 8579 – 8590.

²⁰⁵ Thiverny, M. ; Demory, E. ; Baptiste, B. ; Philouze, C. ; Chavant, P-Y. ; Blandin, V. *Tetrahedron Asymm.* **2011**, 22, 1266 – 1273.

Tableau 30 compétition hydroxylamine/imine



Entrée	Réactif	Equivalent	Solvant	Rendement	% A	% B
1	NaBH ₄	3 éq.	MeOH	Pas de rdt dégradation	70	30
2	BH ₃ .DMS	1,3 éq.	THF	84%	100	0
3	BH ₃ .DEAN	1,3 éq.	THF	Pas de rdt dégradation	100	0
4	NaBH ₄	2 éq.	THF	Quantitatif	100	0
5	LiBH ₄	2 éq.	THF	83%	100	0

Le rendement n'a pas été précisé lorsque le composé final se dégrade.

Espèces borées utilisées lors des réactions de réduction :

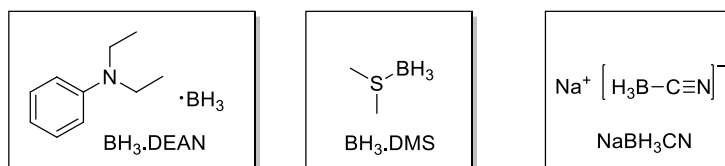


Figure 43 boranes utilisés lors des réductions de nitrones en imines/hydroxylamines

Une première réduction en présence de NaBH₄ a mené à l'obtention d'un mélange d'imine **376** et d'hydroxylamine **375**. Divers boranes et borohydrures ont été testés, le BH₃.DMS et le LiBH₄ ont donné les meilleurs résultats. En effet, les rendements se sont élevés à 84 et 83% avec comme unique produit formé, l'hydroxylamine **375**.

❖ Formation d'imines

Les réductions en imines nécessitent des réducteurs particuliers tels les dérivés phosphorés (Schéma 187).

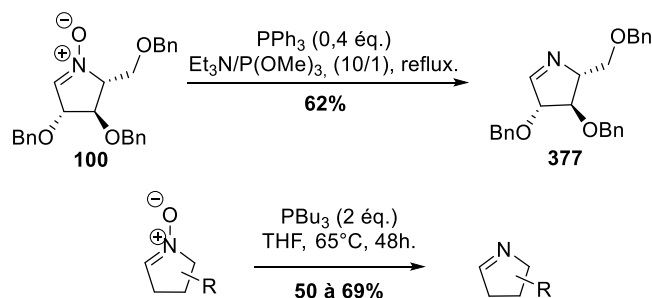


Schéma 187 réduction en présence de phosphine

Dans le premier cas, le triméthylphosphite a été utilisé et permet d'accéder à l'imine attendue **377** avec un rendement de 62%.²⁰² Dans le second cas, différentes phosphines ont été testées, les meilleurs rendements ont été obtenus en présence de tributylphosphine. Les rendements sont modestes car les imines semblent instables.²⁰⁶

❖ Formation d'amines

Les réductions utilisées pour la formation d'amines à partir de nitrones ont généralement été des hydrogénations en présence de dihydrogène et de Pd/C. Cependant, comme prévu, en présence de groupement protecteurs de type benzyle, la déprotection a également été observée. Un exemple sur charpente pyranose a récemment été décrit dans la littérature (**Schéma 188**).¹⁰⁹

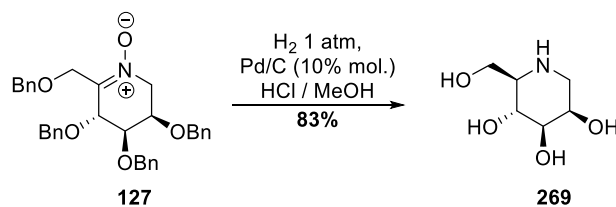


Schéma 188 réduction en série pyranose

La synthèse d'amines à partir de nitrones est également décrite en deux étapes de réduction *via* la formation de l'hydroxylamine, facilement réduite en amine en présence de H₂ - Pd/C ou de nickel de Raney,²⁰⁷ mais également en présence de TiCl₃ ou de dérivés d'indium.²⁰⁸

Le dioxyde de soufre peut également être utilisé (**Schéma 189**). Il s'ajoute sur la nitrone **102** et permet dans le même temps de couper la liaison N-O.²⁰⁷

²⁰⁶ Cividino, P. ; Dheu-Andries, M-L. ; Ou, J. ; Milet, A. ; Py, S. ; Toy, P.H. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 7038 – 7042.

²⁰⁷ Chevrier, C. ; Le Nouën, D. ; Defoin, A. ; Tarnus, C., *Carbohydr. Res.* **2011**, 346, 1202 – 1211.

²⁰⁸ Dondoni, A. ; Junquera, F. ; Merchán, F.L. ; Merino, P. ; Scherrmann, M.C. ; Tejero, T. *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 5484 – 5496.

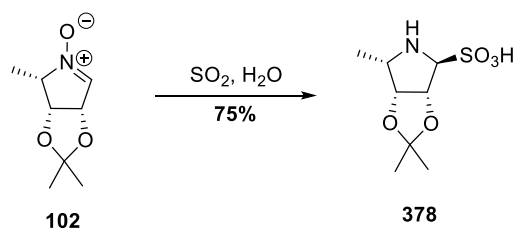


Schéma 189 réduction en présence de SO₂

b. Résultats

Les essais de réduction nous ont permis de comparer les réactivités entre TINOs sur charpente pyranose et furanose. Les réductions visaient l'accès à des amines, hydroxylamines, imines, aldonitrone, inhibiteurs potentiels de glycosidases. Les tests de réduction ont été réalisés sur la fonction TINO portée par la charpente D-xylopyranose. En présence de NaBH₄ dans le MeOH aucune conversion n'a été observée malgré l'utilisation d'un large excès d'hydrure. La conduite de la réaction dans le THF a permis d'obtenir à l'état de traces le composé **322** issu d'une réaction d'addition-élimination puis d'une deuxième addition d'hydrure sur l'aldonitrone intermédiaire. (**Schéma 190**).

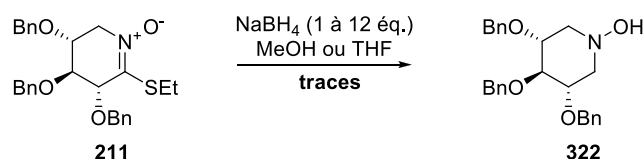


Schéma 190 réduction en présence de borohydrure de sodium

La forte stabilité de cette structure TINO nous a conduits à vérifier cette réaction de réduction sur une autre structure TINO, en série D-ribose. La réaction sur cette molécule a permis d'accéder efficacement aux deux produits attendus **379** et **380** (**Schéma 191**) avec un rendement global de 70%. L'un des produits est le résultat de l'addition directe de l'hydrure pour conduire à un acétal mixte **380**. Le second **379** résulte de l'élimination de la fonction éthane thiol pour conduire à l'aldonitrone. Il nous a semblé étonnant que l'aldonitrone ne soit pas réduite et nous supposons que la formation de celle-ci n'est pas observée en solution mais qu'elle est le résultat du traitement de la réaction.

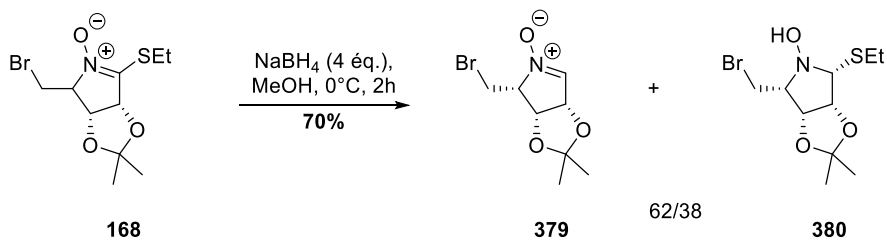


Schéma 191 réaction test sur le TINO D-ribose

L'absence de réactivité sur la structure pyranose nous a conduits à tester la réduction en présence de DIBAL-H. La réaction s'est effectuée à basse température et a donnée après purification l'aldonitrone correspondante **116**. Celle-ci présente quelques impuretés mais les intégrations en RMN et la spectrométrie de masse basse résolution ont confirmé la présence du produit attendu (**Schéma 192**).

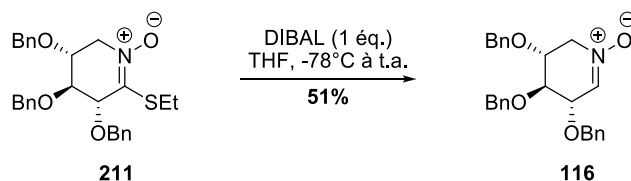


Schéma 192 réduction du TINO en présence de DIBAL

Cette réaction a également été menée à partir du TINO D-glucose **243** avec un rendement plus faible de 42%. La caractérisation de cette aldonitrone **150** nous a également permis de confirmer la stéréochimie du TINO D-glucose **243** car cette molécule a déjà été décrite dans la littérature.¹¹⁷ En effet, il a été nécessaire de confirmer la stéréochimie du carbone C₅ après la cyclisation.

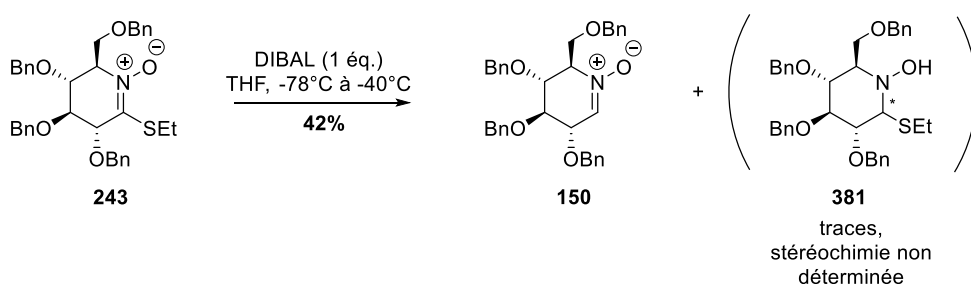


Schéma 193 réduction du TINO D-glucose en aldonitrone

La nitrone est, quant à elle, réduite en hydroxylamine en présence de LiAlH₄ (**Schéma 194**).

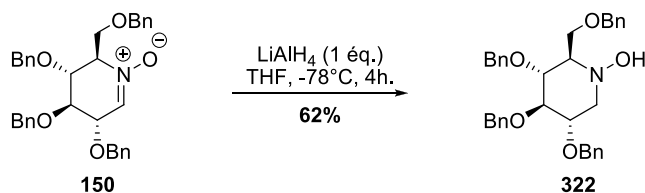


Schéma 194 réduction de l'aldonitrone en hydroxylamine

L'aluminium, présent à la fois dans le DIBAL et le LiAlH₄, a semblé activer le TINO **243** et la nitrone **150** par chélation de l'oxygène par la case vacante de l'aluminium. Ceci a permis d'augmenter l'électrophilie du C₁ et donc sa réactivité. L'insensibilité aux hydrures de type NaBH₄ pourrait provenir d'un encombrement stérique trop important et d'une absence de complexation et d'activation de la fonction TINO.

2.2. Additions nucléophiles

a. Rappels bibliographiques

Les additions nucléophiles sur des nitrones acycliques ont largement été décrites dans la littérature.²⁰⁹ Les additions ont lieu, entre autres, en présence d'organométalliques, tels que les réactifs de Grignard, des anions stabilisés, des acétals de cétène silylés, des dérivés lithiés.

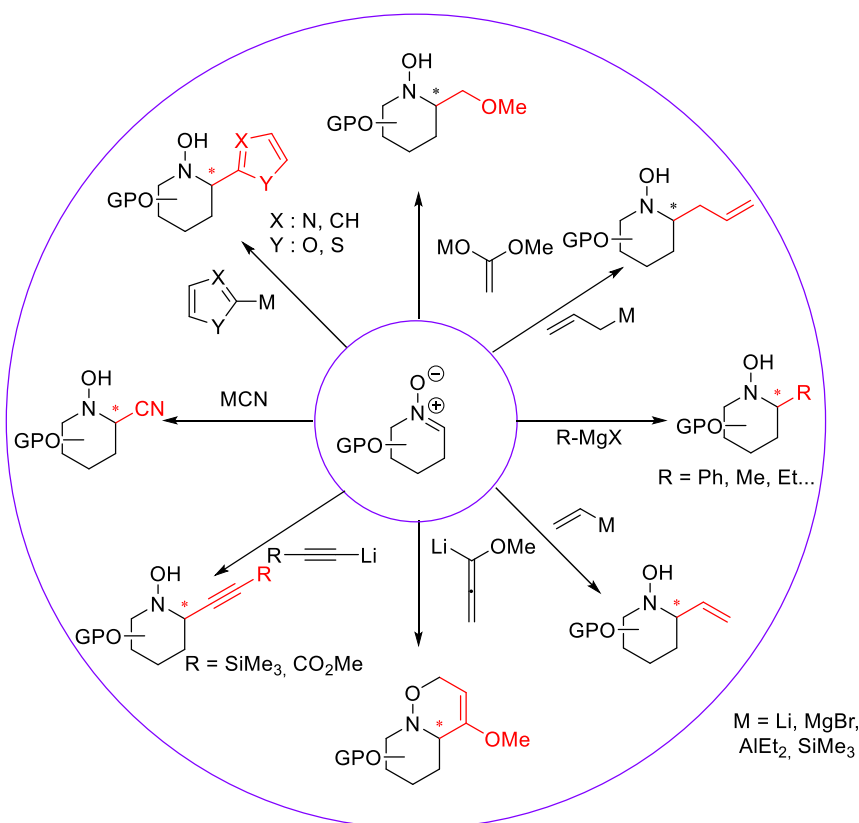
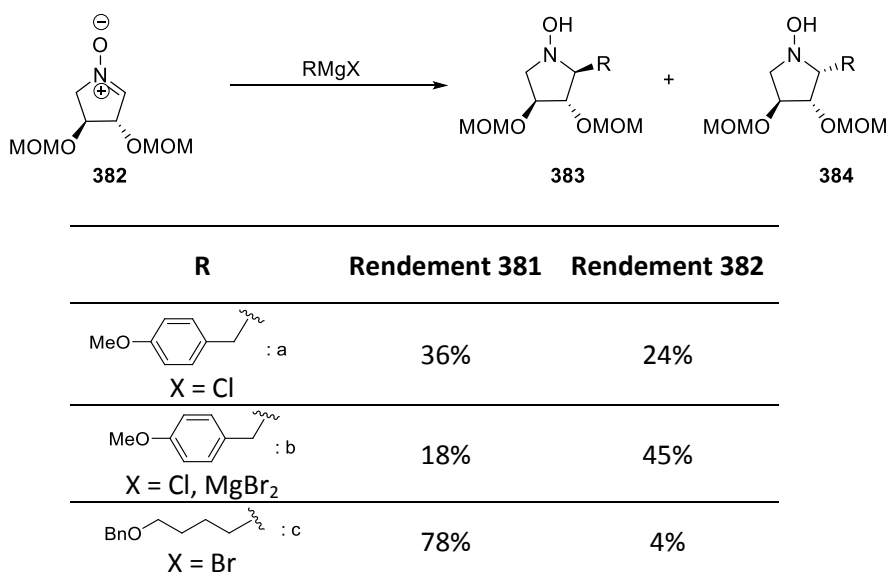


Schéma 195 aperçu des additions nucléophiles sur une aldonitronne à six chaînons^{209b}

L'addition d'un nucléophile sur une nitronne a été étudiée en vue de comprendre la diastéréosélectivité et d'accéder à des molécules d'intérêt; l'addition d'un nucléophile sur une nitronne peut conduire à deux produits épimères en position α .

²⁰⁹ a) Lombardo, M. ; Trombini, C. *Synthesis*, **2000**, *6*, 759 – 774 ; b) Merino, P. ; Franco, S. ; Merchan, F.L. ; Tejero, T. *Synlett*, **2000**, *4*, 442 – 454; c) Merino, P. *C. R. Chimie*, **2005**, *8*, 775 – 788.

Tableau 31 addition d'organomagnésien sur une nitronne cyclique



Les additions d'organomagnésiens sur la nitronne cyclique **382** ont présenté des rendements moyens à bons (**Tableau 31**).^{209a} Les réactifs de Grignard benzyliques ont montré une légère sélectivité *trans* mais qui a pu être inversée par addition d'un chélatant, tel que MgBr₂. La stéréosélectivité *trans* a toutefois été plus importante dans le cas de l'utilisation du bromure de 4-benzyloxybutylmagnésium qui a présenté par ailleurs un meilleur rendement. Des organozinciques peuvent également être introduits, la stéréosélectivité varie selon le groupement introduit.²¹⁰

En 2010, Chan *et al.* a étudié l'addition nucléophile stéréocontrôlée d'organomagnésiens sur des nitrones cycliques à six chaînons.¹¹⁰

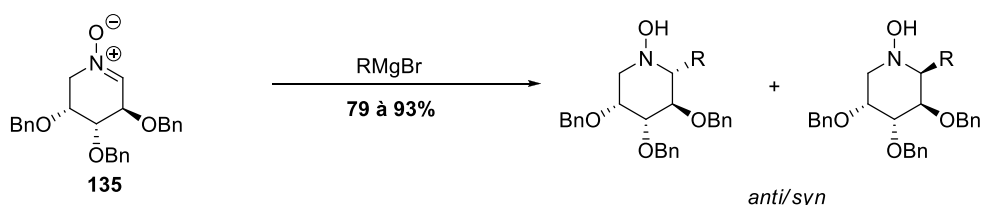


Schéma 196 addition d'organomagnésiens sur une nitronne sur charpente pyranose

Lorsque l'organomagnésien utilisé a été l'*isopropyl*, le *benzyl* ou l'*allylmagnésien*, les rendements ont été élevés et la diastéréosélectivité excellente. En effet le rapport *2,3-anti/2,3-syn* a été supérieur à 95/5 pour l'*isopropyle* et le *benzyle*, et de 77/23 pour l'*allylmagnésien*. Les réactions ont alors été effectuées à 0°C dans le THF. Dans ces mêmes conditions, le *vinylmagnésien* a présenté une faible diastéréosélectivité, le rapport *anti/syn* est de 66/33, il en est de même à très basse température (-78°C). En présence d'acide de Lewis, tel Et₂AlCl, la sélectivité a été inversée, et le ratio *anti/syn* est devenu 19/81. En effectuant cette réaction dans le dichlorométhane en

²¹⁰ Fiumana, A. ; Lombardo, M. ; Trombini, C. *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 5623 – 5626.

présence de $(i\text{Bu})_2\text{AlCl}$ le composé *syn* a été obtenu nettement majoritairement (ratio *anti/syn*: 5/95).

Deux états de transition ont été proposés par les auteurs, en l'absence d'acide de Lewis, la nitrone serait sous forme de demi-chaise alors qu'en présence d'acide de Lewis, la conformation serait sous forme chaise (**Schéma 197**). En l'absence d'acide de Lewis, l'attaque du nucléophile a donc été favorisée du côté opposé au groupement en C₃. En présence d'acide de Lewis, la face supérieure a été plus accessible, l'attaque a donc été *syn*.

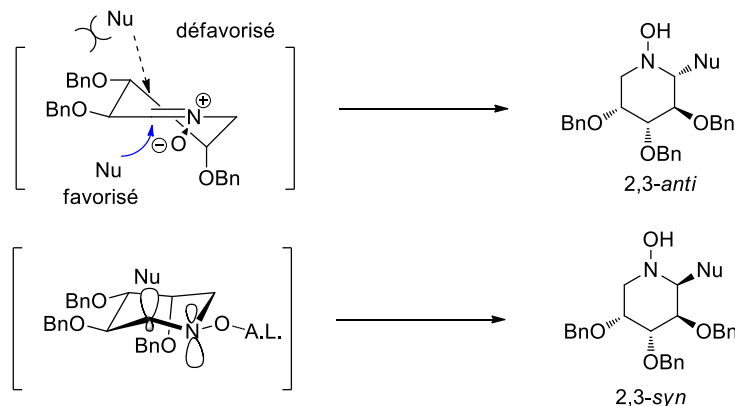


Schéma 197 états de transition proposés

En 2011, l'équipe de Merino a montré que l'addition du bromure d'allylmagnésien sur une cétonitrone de série D-arabinofuranose conduisait à une excellente diastéréosélectivité de 98% en faveur de l'isomère *trans* **386**, soit un excès diastéromérique de 96% (**Schéma 198**).²¹¹

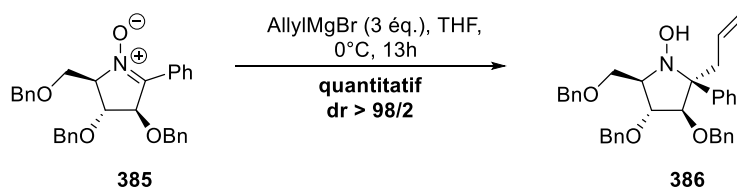


Schéma 198 addition du bromure d'allylmagnésien sur une cétonitrone sur charpente D-arabinose

En 2010, cette même équipe avait déjà réalisée cette réaction sur l'aldonitrone **100**, donnant également un excellent rendement et une excellente diastéréosélectivité (**Schéma 199**).²¹²

²¹¹ Delso, I. ; Tejero, T. ; Goti, A. ; Merino, P. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 4139 – 4143.

²¹² Delso, I. ; Tejero, T. ; Goti, A. ; Merino, P. *Tetrahedron* **2010**, 66, 1220 – 1227.

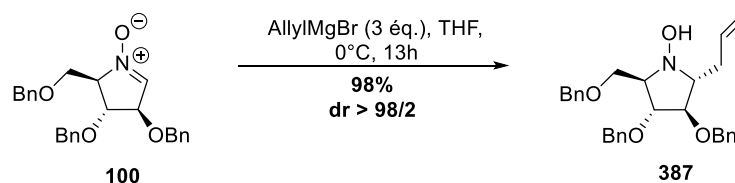


Schéma 199 addition du bromure d'allylmagnésien sur une aldônitrone sur charpente D-arabinose

Au préalable des additions d'organomagnésien, en 2000, Merino *et al.* ont étudié l'addition d'un acétal de cétène silylé sur une nitronne à cinq chaînons **388** (Schéma 200).²¹³

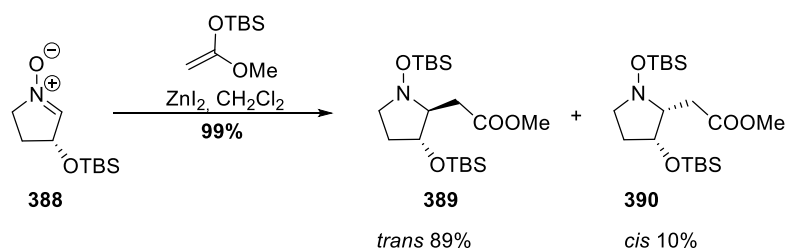


Schéma 200 addition d'un acétal de cétène silylé

L'addition de l'acétal de cétène silylé est quantitative ; en présence d'iodure de zinc, une bonne diastéréosélectivité est observée. Cette addition a pu être utilisée sur des nitrones encombrées sur lesquelles les énolates métalliques de l'acétate de méthyle ne pouvaient s'additionner malgré le nombre de conditions testées (différentes bases, différents solvants, ajouts d'acides de Lewis, différentes températures) ; le produit de départ était soit récupéré soit dégradé. Afin de pallier cette absence de réactivité, Merino *et al.*,²¹³ se sont inspirés des travaux de Kita²¹⁴ afin d'introduire un acétal de cétène silylé. Après désilylation, les composés souhaités ont été obtenus.

L'addition de nucléophiles carbonés tels que les allènes ou des cyanures a également été décrite sur des nitrones cycliques par la même équipe.²¹⁵ Les additions d'ions cyanures s'effectuent en présence de Me₃SiCN ou d'Et₂AlCN (Schéma 201). Dans cet exemple, la diastéréosélectivité est très bonne (>20/1).

²¹³ Merino, P. ; Franco, S. ; Merchan, F.L. ; Tejero, T. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5575 – 5589.

²¹⁴ a) Kita, Y. ; Itoh, F. ; Tamura, O. ; Ke, Y.Y. ; Tamura, Y. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 1431-1434; b) Kita, Y. ; Tamura, O. ; Itoh, F. ; Kishino, H. ; Miki, T. ; Kohno, M. ; Tamura, Y. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1988**, 761 – 763.

²¹⁵ a) Merino, P. ; Tejero, T. ; Revuelta, J. ; Romero, P. ; Cicchi, S. ; Mannucci, V. ; Brandi, A. ; Goti, A. *Tetrahedron Asymm.* **2003**, *14*, 367 – 379; b) Schade, W. ; Reissig, H.U. *Synlett.* **1999**, 632 – 634 ; c) Zhu, J.-S. ; Nakagawa, S. ; Chen, W. ; Adachi, I. ; Jia, Y.-M. ; Hu, X.-G. ; Fleet, G.W.J. ; Wilson, F.X. ; Nitoda, T. ; Horne, G. ; van Well, R. ; Kato, A. ; Yu, C.-Y. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 10298 – 10309.

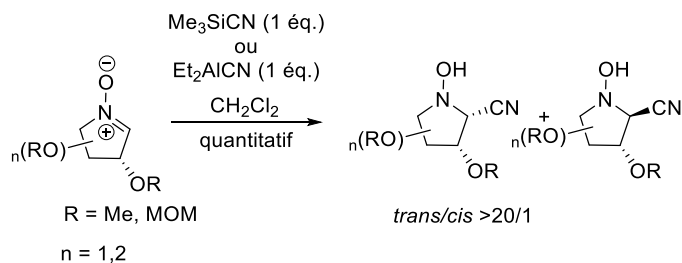


Schéma 201 addition de groupements cyanures

L'addition d'allénures de lithium s'effectue avec de bons rendements, le retour à température ambiante entraîne la formation de la dihydrooxazine **392** de façon quantitative (**Schéma 202**).²¹⁴

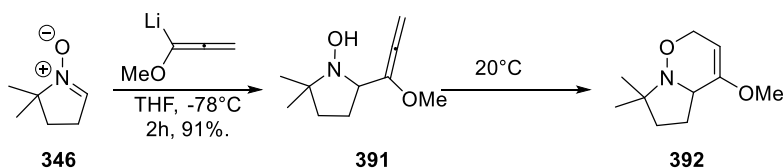


Schéma 202 addition d'allénures de lithium

Beaucoup plus récemment, en 2013, l'addition nucléophile de diazoesters en présence de base a été rapportée par l'équipe de Py (**Schéma 203**).²¹⁶

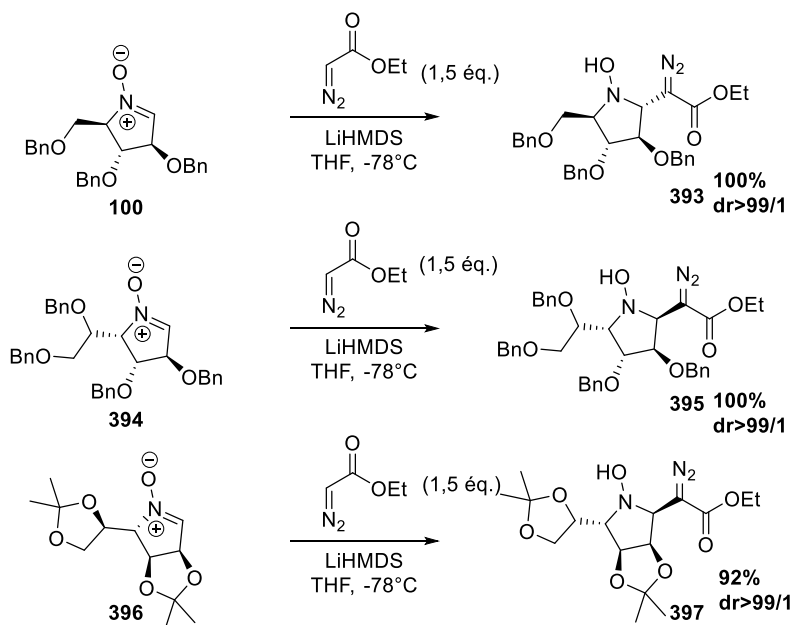


Schéma 203 addition de diazoester sur nitrones sur charpentes saccharidiques

En 2014, quelques exemples ont été exposés sur charpente pyranose. À partir de l'aldonitronne **135**, le rendement est excellent mais la diastéréosélectivité est faible, alors que dans

²¹⁶ Lieou Kui, E. ; Kanazawa, A. ; Poisson, J-F. ; Py, S. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 5103 – 5105.

le cas de la cétonitronne **127**, le rendement est bon et la diastéréosélectivité est excellente (**Schéma 204**).²¹⁷

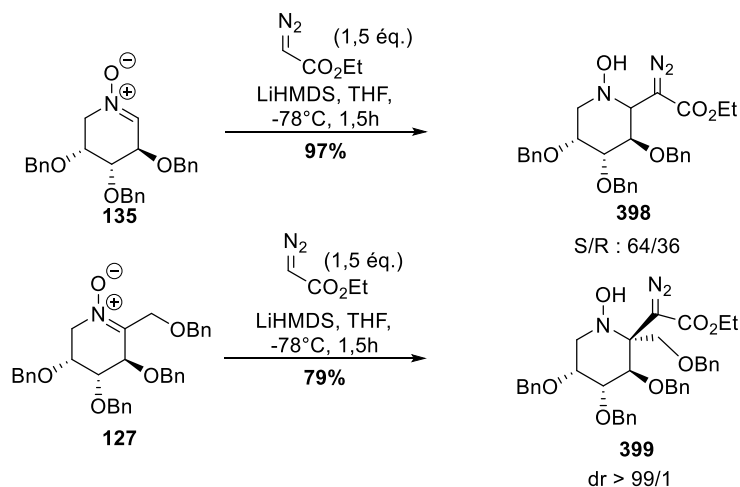


Schéma 204 extension aux nitrones sur charpente pyranose

Par ailleurs, la formation d'hydroxylamines est également possible par réaction d'umpolung. En effet, en présence de SmI_2 , la nitronne **100** devient nucléophile, et peut se coupler avec des accepteurs de type Michael comme un acrylate, ou avec des chlorures d'acide (**Schéma 205**).²¹⁸

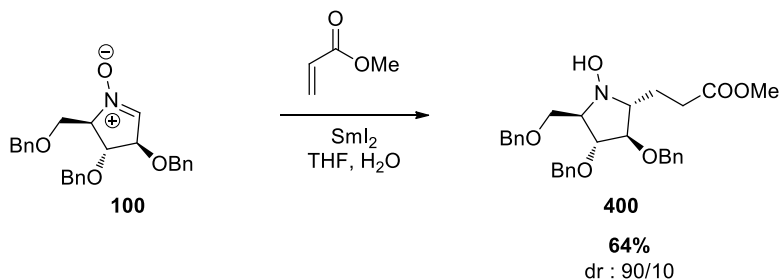


Schéma 205 addition d'acrylate par umpolung de la nitronne

b. Résultats

L'objectif premier était d'accéder à des cétonitrones par simple addition et à des hydroxylamines par double addition nucléophile. (**Schéma 206**).

²¹⁷ Lieou Kui, E. ; Kanazawa, A. ; Poisson, J-F. ; Py, S. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 4484 – 4487.

²¹⁸ a) Desvergnès, S. ; Py, S. ; Vallée, Y. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1459 – 1462 ; b) Wu, S.-F. ; Ruan, Y.-P. ; Zheng, X. ; Huang, P.-Q. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 1653 – 1660 ; c) Zhang, H.-K. ; Xu, S.-Q. ; Zhuang, J.-J. ; Ye, J.-L. ; Huang, P.-Q. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 6656 – 6664.

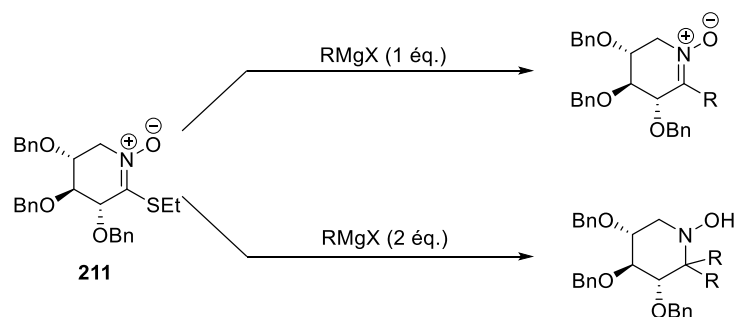


Schéma 206 formation d'une cétonitrone et d'une hydroxylamine par addition nucléophile sur un TINO

Quelques réactions d'additions nucléophiles ont été effectuées sur les TINOs de série L-érythrose **172**. L'essai en présence de bromure de phénylmagnésium permet *via* une réaction d'addition-élimination de former la phénylnitrone correspondante **401** avec un rendement moyen de 58%. L'hydroxylamine issue d'une double addition n'a jamais été observée lorsqu'un large excès de PhMgBr a été employé. Dans le cas du chlorure d'allylmagnésium, l'addition-élimination suivie d'une seconde addition, a permis d'obtenir l'hydroxylamine α,α -disubstituée **402** avec un rendement satisfaisant de 67% (**Schéma 207**). Dans ce cas, la réaction de monoaddition n'a jamais été observée malgré l'utilisation d'un équivalent strict et une réaction menée à basse température.

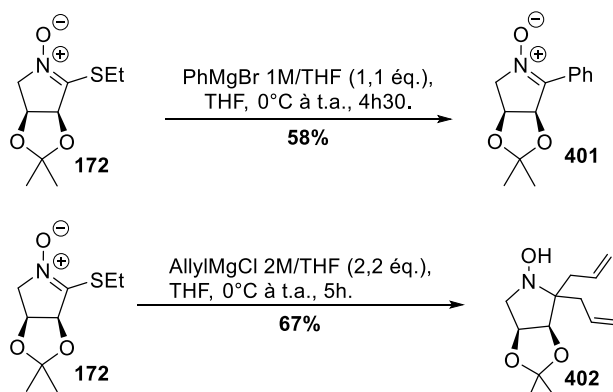


Schéma 207 formation d'une nitrone à partir du TINO en série L-érythrose

L'addition de bromure de phénylmagnésium sur le TINO D-xylose n'a conduit à aucune conversion, et ceci, également lorsque $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ était utilisé comme additif. La même absence de réactivité a été observée en présence de chlorure d'allylmagnésium. Lorsque la fonction TINO portée par une charpente D-xylopyranose **211** a été mise en réaction en présence de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ et du chlorure d'allylmagnésium, deux produits de réduction **403** et **404** ont été détectés par spectrométrie de masse à basse résolution.

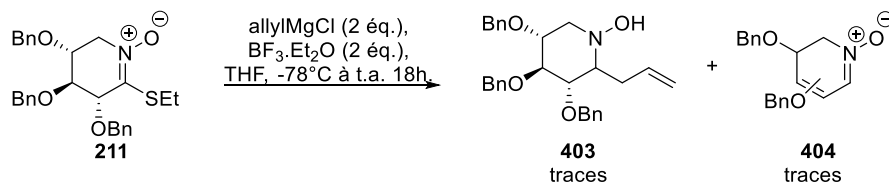


Schéma 208 addition de l'allylMgCl en présence de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ sur le TINO D-xylose

La faible réactivité observée nous a poussés à supposer que l'organomagnésien agissait comme une base et déprotonnait en position 5, bloquant ainsi une réaction sur la fonction TINO. Nous avons essayé de piéger cet intermédiaire hypothétique par réaction avec l'iodométhane, mais sans succès. En présence de phényllithium, la réaction n'a pas été totale (15% de TINO sont isolés) mais plusieurs produits se forment. Cependant, les analyses ne nous ont pas permis de déterminer la structure des molécules obtenues. Différents essais d'addition nucléophile se sont révélés infructueux : addition de malonate de diéthyle, de triéthylphosphite, de diéthylzinc, de triméthylacétylène (**Schéma 209**).

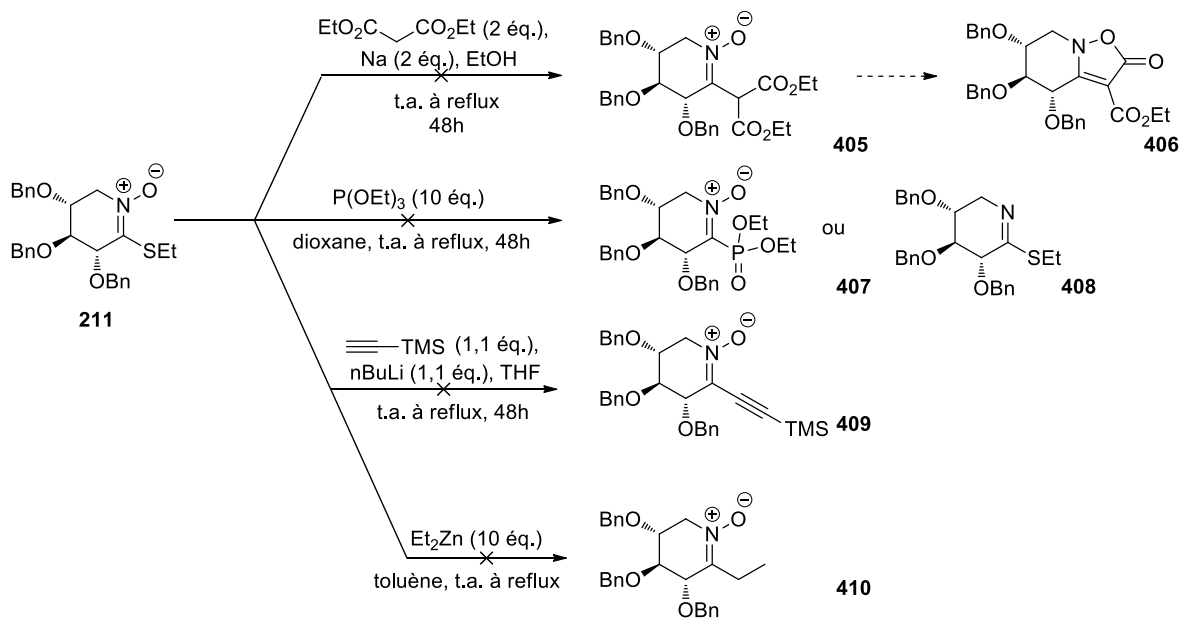


Schéma 209 essais d'addition nucléophile

Dans ces conditions, aucune transformation n'a été détectée, même à l'état de trace. Le TINO initial est récupéré intact après purification.

Les essais d'addition de différents nucléophiles carbonés ne donnant aucun résultat probant, nous nous sommes intéressés aux nucléophiles azotés et sulfurés afin de poursuivre l'évaluation de la réactivité de la fonction TINO. Notre ambition était alors de permettre un accès à des N-oxydes d'amidine ou des TINO possédant un autre groupement que l'éthyle au niveau de l'atome de soufre (**Schéma 210**).

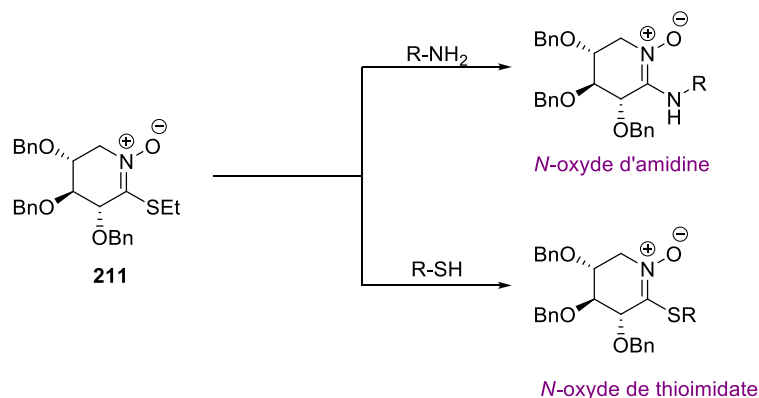
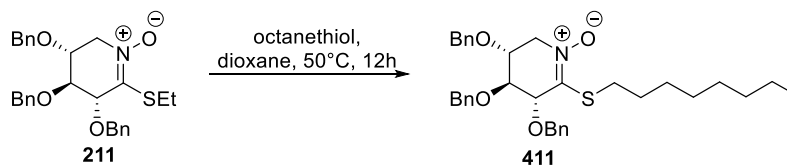


Schéma 210 accès aux N-oxyde d'amidine et de thioimide

L'addition d'octanethiol dans le dioxane en présence d'imidazole, base qui permet de déprotonner le thiol, a donné un premier résultat concluant. Le TINO correspondant **411** a été obtenu avec un rendement de 69%. Une rapide optimisation montre que présence d'imidazole ne semble pas nécessaire et que la quantité d'octanethiol peut être réduite à 3 équivalents (**Tableau 32**).

Tableau 32 addition d'octanethiol



Entrée	octanethiol	imidazole	rendement
1	10 éq.	10 éq.	69%
2	10 éq.	-	61%
3	3 éq.	-	62%

Deux essais supplémentaires ont été réalisés en présence de thiols. Le rendement s'est élevé à 51% pour l'addition de la N-acétyl-méthylester-L-cystéine malgré une conversion totale et nous a permis d'accéder à un TINO original **412**. La réaction ne mène à aucune conversion dans le cas du 4-méthoxythiophenol (**Figure 44**). Aucun avancement n'est observé après 12h à 50°C. Lorsque la réaction a été maintenue plus longtemps à 50°C, le milieu réactionnel se dégrade. Aucun sous-produit n'a pu être identifié.

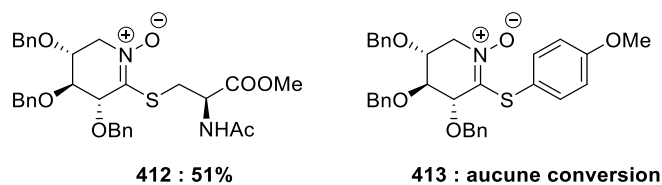


Figure 44 exemples d'addition de thiols

Dans les mêmes conditions, l'addition de l'allylamine a conduit à la formation d'un produit d'ouverture **415** dont nous proposons une structure possible en nous appuyant sur la RMN et la HRMS. Il semble que la réaction de substitution du thiol ait lieu mais que le N-oxyde d'amidine formé **414** s'ouvre spontanément et conduise après une étape d'oxydation d'une hydroxylamine intermédiaire au composé **415** portant une fonction aldoxime et une fonction amide (**Schéma 211**).

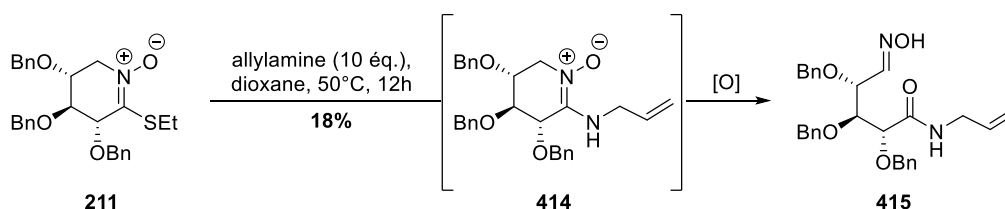


Schéma 211 produit formé lors de l'addition de l'allylamine

Il nous a semblé important que la réaction d'addition de l'amine se déroule à température ambiante afin de ne pas conduire au produit d'ouverture **415**. Cependant, l'amine ne s'est pas additionnée sur le TINO dans ces conditions, à température ambiante. Pour que la réaction ait lieu, il a été nécessaire de trouver un moyen d'activer la nucléophilie de l'amine. Dans la littérature, il est connu que les amines forment des amidures d'aluminium, fortement nucléophiles, en présence d'AlMe₃ (**Schéma 212**).²¹⁹ De plus, la présence de l'aluminium pourrait permettre une complexation de la nitronne et donc son activation au niveau du C₁.

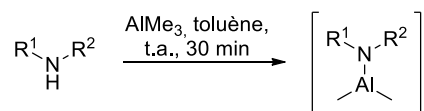


Schéma 212 formation de l'amidure d'aluminium

Par comparaison avec l'octanethiol, l'octylamine a été utilisée et mise en présence d'AlMe₃ dans le toluène. Après 30 minutes à température ambiante, l'amidure a été formé et le TINO a été ajouté à cette solution. Le composé attendu **414** a été obtenu à hauteur de 60% en présence de 10 équivalents d'amidure en 4h à température ambiante. Après une courte optimisation, cette quantité a pu être réduite à 3 équivalents sans perte de rendement (**Schéma 213**).

²¹⁹ a) Basha, A. ; Lipton, M. ; Weinreb, S.M. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 4171 – 4172 ; b) Li, J. ; Subramaniam, K. ; Smith, D. ; Qiao, J.X. ; Li, J.J. ; Qian-Cutrone, J. ; Kadow, J.F. ; Vite, G.D. ; Chen, B.-C. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 214 – 217.

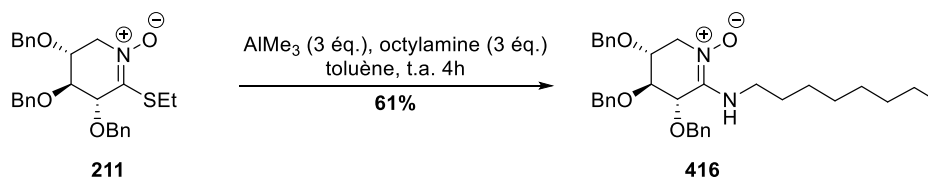


Schéma 213 formation du N-oxyde d'amidine

Une exemplification avec diverses amines primaires et secondaires a été effectuée (**Figure 45**). Les rendements peuvent être moyens, dans le cas de la benzylamine, mais également assez bons lorsque le TINO utilisé est de série D-glucose et l'amine est l'octylamine. Pour la formation du N-oxyde d'amidine **418**, l'utilisation d'un large excès d'amine a été nécessaire car la propylamine est très volatile.

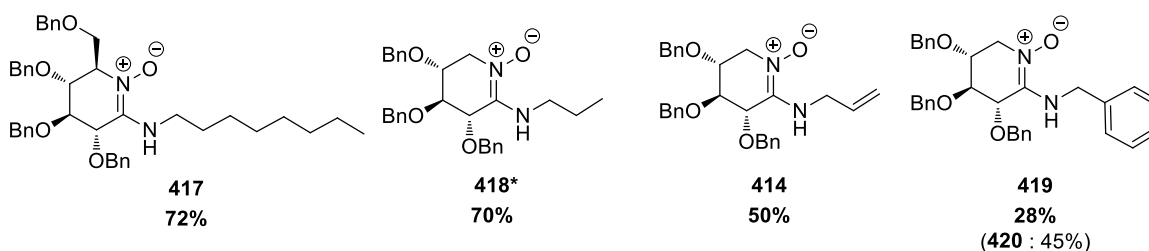


Figure 45 exemples d'addition d'amines

Dans le cas de la benzylamine et de la pipéridine, le TINO aromatisé **420** (**Figure 46**) a été observé à hauteur de 45 et 46% respectivement. En effectuant la réaction à 0°C, aucune amélioration du rendement n'est observée. Ce composé n'est pas observé dans le cas de l'addition de l'allylamine et de l'octylamine.

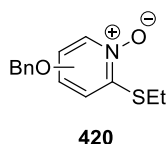


Figure 46 TINO aromatisé

La formation de N-oxyde d'amidine est intéressante car les amidines sont connus comme étant des inhibiteurs de glycosidases. Ainsi, en 1994, Blériot *et al.* ont préparé une benzylamidine **421** sur charpente D-mannose qui a montré une constante d'inhibition (K_i) de 6 μM vis-à-vis d'une β -mannosidase et de 25 μM sur une β -glucosidase (**Figure 47**).²²⁰

²²⁰ Blériot, Y. ; Genre-Grandpierre, A. ; Tellier, C. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 1867 – 1870.

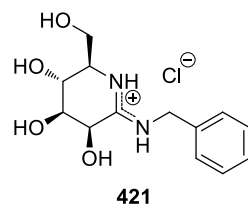


Figure 47 benzylamidine sur charpente D-mannose

Les réactions d'addition nucléophile effectuées sur le TINO n'ont été efficaces qu'en présence de thiols et d'amines activées par AlMe_3 . Une exemplification plus poussée permettra d'obtenir une petite bibliothèque de N-oxydes de thioimidates et N-oxydes d'amidine. Ces molécules pourront être testées après débenzylation comme inhibiteurs de glycosidases.

2.3. Déprotection des TINOs

L'objectif de la déprotection est d'obtenir un monosaccharide portant une fonction N-oxyde de thioimidate non réduite **422** (**Schéma 214**). Les molécules obtenues présentent une structure intéressante pour être directement testés comme inhibiteurs de glycosidases.

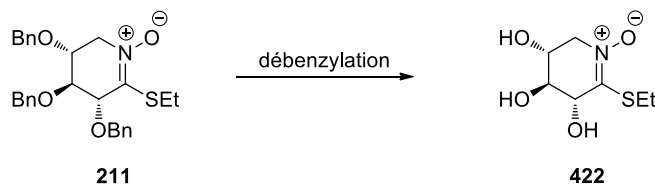


Schéma 214 composé attendu après débenzylation du TINO D-xylose

La méthode la plus courante pour effectuer une débenzylation est l'hydrogénolyse en présence de $\text{H}_2/\text{Pd-C}$. Il est également possible d'utiliser d'autres métaux tels que le platine. Cependant, dans ces conditions fortement réductrices, les nitrones ont également été réduites en hydroxylamines ou en amines.^{202,205} Il a donc été nécessaire de trouver une méthode alternative (non réductrice) de déprotection des groupements benzyle. En 2008, Desvergnès *et al.* ont proposé la débenzylation de nitrones sur charpente furanose en présence de BCl_3 (**Schéma 215**),²²¹ un acide de Lewis connu pour rompre sélectivement les éthers benzyles tout en maintenant intacts les groupements potentiellement réduits par hydrogénolyse. Six exemples sont exposés dans cet article, les rendements varient entre 57 et 97%.

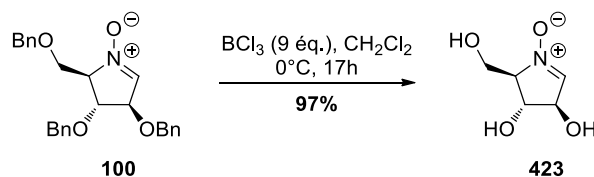


Schéma 215 exemple de débenzylation en présence de BCl_3

²²¹ Desvergnès, S. ; Vallée, Y. ; Py, S. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2967 – 2970.

Cet acide de Lewis avait été préalablement utilisé lors de débenzylation en présence de charpentes de sucres portant des groupements fonctionnels très variées : groupement azoture (**Schéma 216**),²²² isoxazolidine (**Schéma 217**),²²³ ou imine (**Schéma 218**).²²⁴

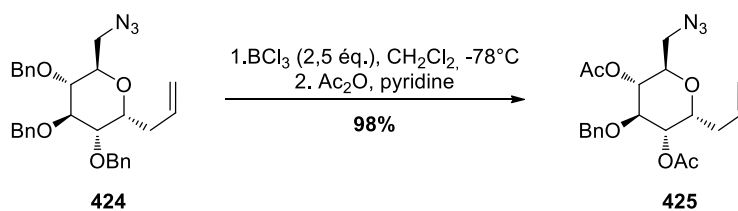


Schéma 216 débenzylation en présence d'un azoture

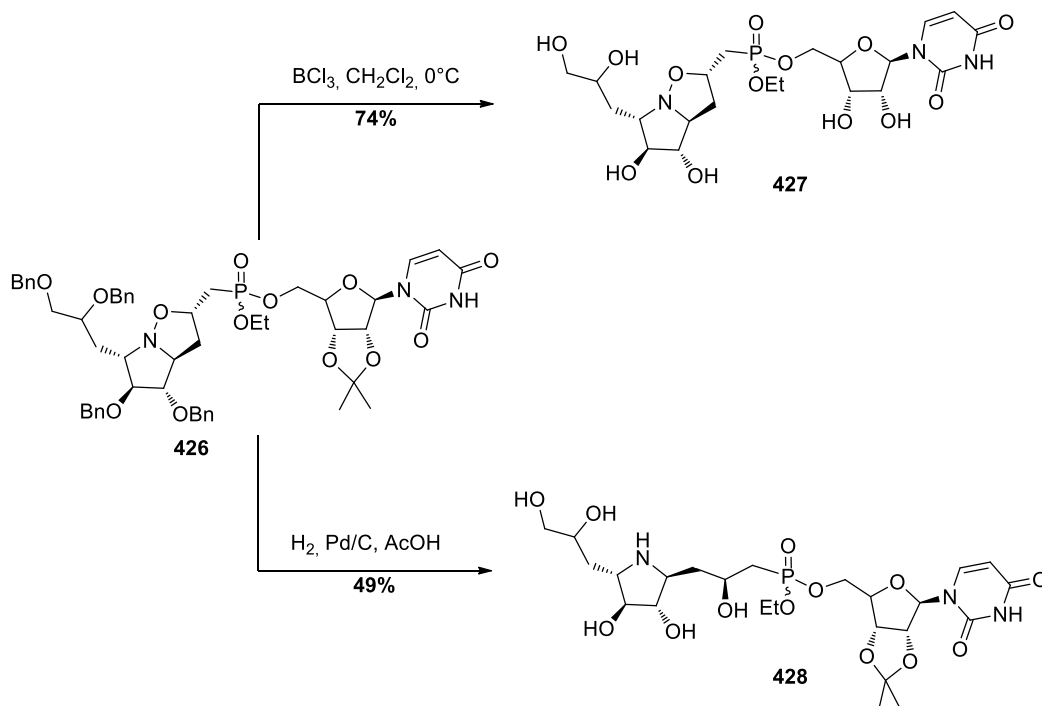


Schéma 217 débenzylation d'une isoxazolidine en présence de BCl₃ ou de dihydrogène

Dans cet exemple, il est intéressant de noter qu'une hydrogénation en présence de dihydrogène et Pd/C a permis de rompre la liaison N-O alors que celle-ci est restée intacte en présence de BCl₃.

²²² Xie, J. ; Ménand, M. ; Valéry, J.-M. *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 481 – 487.

²²³ Liautard, V. ; Christina, A.E. ; Desvergnès, V. ; Martin, O.R. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 7337 – 7345.

²²⁴ Behr, J.-B. ; Kalla, A. ; Harakat, D. ; Plantier – Royon, R. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 3612 – 3615.

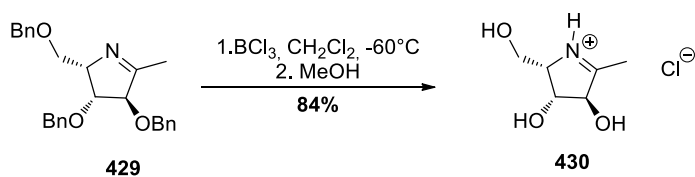


Schéma 218 débenzylation d'une imine

Différents essais de débenzylation ont été effectués en présence de BCl_3 . Les rendements obtenus vont de 13 à 52% (**Schéma 219**). Ces rendements faibles peuvent s'expliquer pour partie par une dégradation des TINOs de départ. Une des particularités du traitement est l'utilisation d'une résine et il est envisageable que les composés finaux ou des produits partiellement benzylés restent accrochés à cette résine.

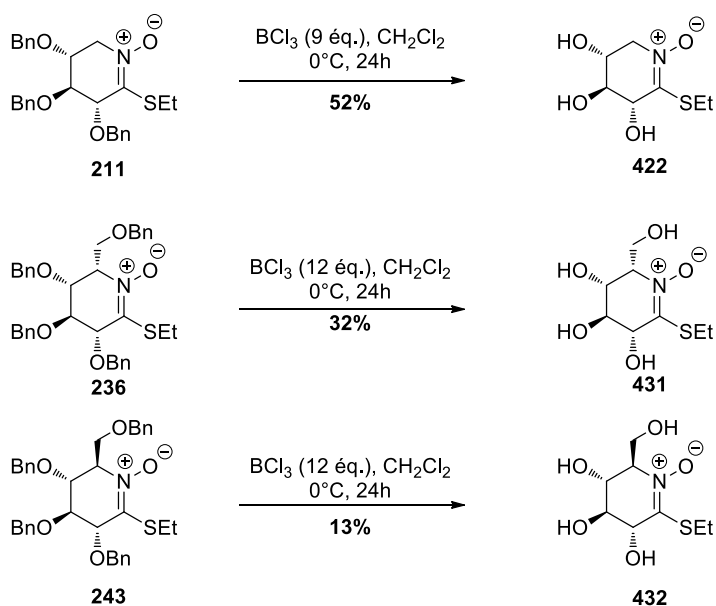
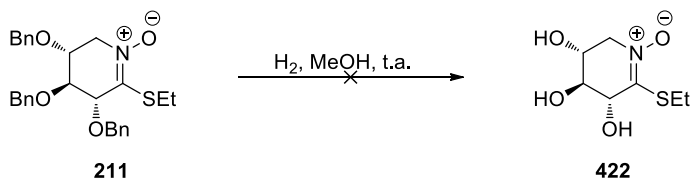


Schéma 219 débenzylation des TINOs en série D-xylose, L-idose et D-glucose

Par comparaison, nous avons appliqué quelques conditions d'hydrogénolyse sur le TINO en série D-xylose. Celles-ci, menées essentiellement à température ambiante, n'ont mené à aucune conversion (Tableau 33).

Tableau 33 essais d'hydrogénolyse



Entrée	H ₂	Conditions
1	1 atm.	Baudruche, Pd/C 5 mol%
2	1 atm.	H-cube cartouche Pd/C
3	60 atm.	H-cube cartouche Pd/C

Les TINOs déprotégés sont actuellement en cours de tests en tant qu'inhibiteurs de glycosidases en partenariat avec l'équipe du Pr. Richard Daniellou.

Conclusion générale

Ce projet de recherche avait pour objectif la synthèse d'acides thiohydroxamiques d'une part, ainsi que la mise au point d'une séquence réactionnelle visant à obtenir les TINOs sur charpente pyranose pour pouvoir étudier leur réactivité.

Les premiers résultats des tests enzymatiques sur la S-UGT ont pu être effectués dans l'équipe du Pr. Richard Daniellou et du Dr. Pierre Lafite.

1. Synthèses des acides thiohydroxamiques, substrats de la S-UGT

Lors de ces travaux, plusieurs voies de synthèse des acides thiohydroxamiques ont été étudiées. Les difficultés rencontrées sont principalement dûes à la forte instabilité des produits finaux. Une méthode biomimétique a été développée et a conduit à l'obtention des produits attendus. Cependant, les rendements restent modérés et la pureté n'est pas optimale (**Schéma 220**).

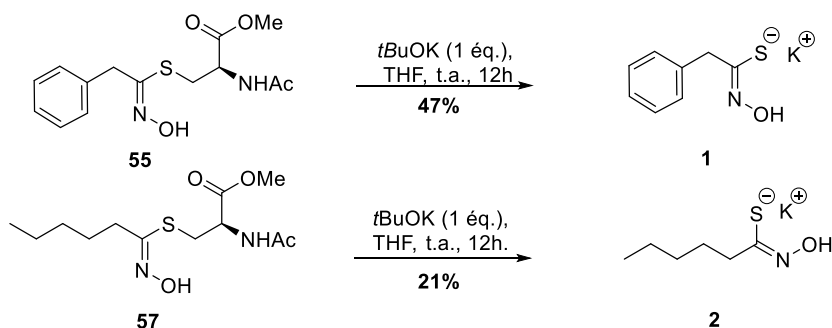


Schéma 220 approche biomimétique

Dans le même temps, l'équipe de Pierce a publié la synthèse d'acides thiohydroxamiques à partir des chlorures d'hydroximoyl correspondants. Cette méthode nous a permis d'obtenir les acides thiohydroxamiques souhaités, qui après une purification sur silice C-18 ont présenté une pureté satisfaisante (**Schéma 221**).

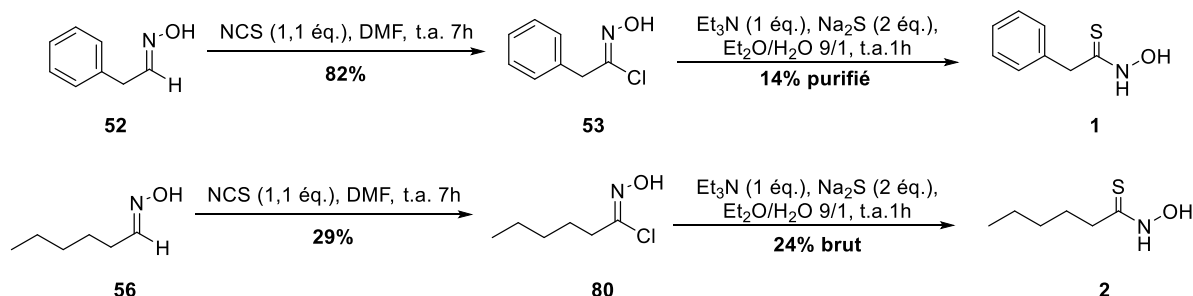


Schéma 221 approche de Pierce appliquée à nos cibles

Les constantes cinétiques de l'UGT74B1 ont été déterminées vis-à-vis de l'acide thiohydroxamique benzylique. Pour l'UGT74C1, plus affine de l'acide thiohydroxamique aliphatique, ces constantes

cinétiques sont actuellement en cours d'étude. Actuellement, l'acide thiohydroxamique benzylique est de nouveau en cours de synthèse afin de vérifier la reproductibilité des premiers résultats enzymatiques obtenus. Différents acides thiohydroxamiques portant un groupement aromatique éloigné au minimum d'un carbone de la fonction « acide thiohydroxamique » seront synthétisés afin de comparer les constantes cinétiques en fonction de la longueur de l'espaceur. Il est également envisagé de synthétiser l'acide thiohydroxamique présentant un groupement indole à la place du phényle, toujours dans le but de comparer les affinités.

2. Synthèse et étude de réactivité des *N*-oxydes de thioimidate sur charpente pyranose

Au départ de différents pyranoses, pentoses ou hexoses, nous avons mis au point une séquence robuste pour l'accès aux *N*-oxydes de thioimidate. Dans le cas du xylose et du glucose, une optimisation des étapes de protection/déprotection a permis d'améliorer le rendement global des synthèses.

L'étape clé de la synthèse des TINOs est l'étape de cyclisation. Celle-ci s'effectue par réaction de Mitsunobu intramoléculaire en série D-arabinose et D-xylose. Cette stratégie ne fonctionne pas dans le cas des hexoses. Une nouvelle méthode, inspirée de la synthèse des nitrones cycliques a été développée. C'est donc la désilylation cyclisante qui a permis d'obtenir les TINOs sur charpente L-ido et L-gulo. Une séquence d'oxydation/réduction diastéréosélective a permis l'épimérisation en C₅ qui, suivie de l'étape de désilylation cyclisante nous conduit à l'obtention des TINOs de série D-glu et D-manno (**Schéma 222**).

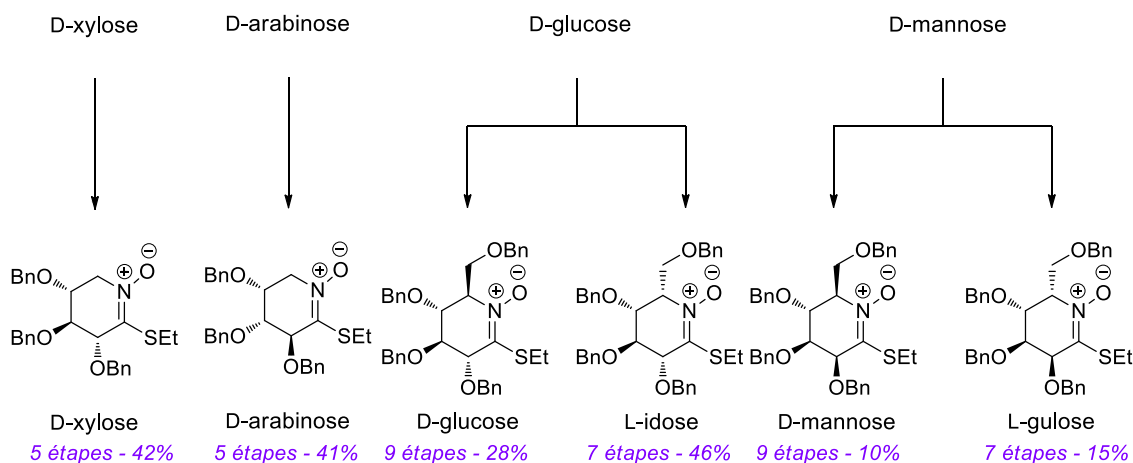


Schéma 222 résumé des TINOs synthétisés

Il serait envisageable, par la suite, de synthétiser le TINO sur d'autres charpentes pyranose, tel que le D-galactose. Nous envisageons également des approches alternatives en présence de groupements protecteurs différents des benzyles utilisés pour ces travaux, afin non-seulement de comparer les rendements, mais également de réaliser des étapes de déprotection plus aisées.

Une fois cette méthodologie développée, nous avons souhaité étudier la réactivité des TINOs synthétisés, d'une part, vis-à-vis des couplages de Liebeskind-Srogl, et d'autre part, vis-à-vis des additions nucléophiles. L'étude des couplages de Liebeskind nous a permis d'obtenir une petite

librairie de cétonitrones après optimisation des conditions réactionnelles. La conduite de la réaction à température ambiante, en présence de base et de CuTC comme source de Cu(I), nous a permis de nous affranchir de la présence des différents sous-produits rencontrés lors des premiers tests (**Schéma 223**).

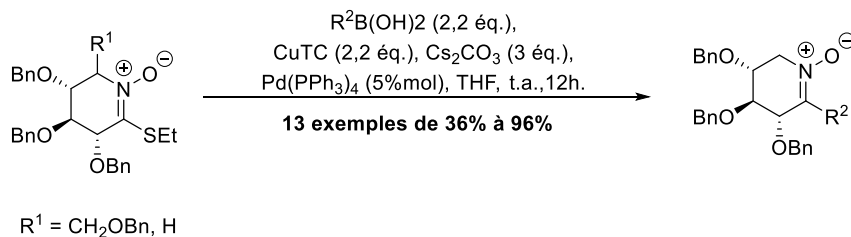


Schéma 223 résultats obtenus pour le couplage de Liebeskind

Il a tout de même été intéressant d'essayer de comprendre la formation de ces différents sous-produits indésirables. Il sera d'ailleurs intéressant de continuer l'étude de formation du composé issu du couplage sur l'oxygène catalysé au cuivre. Les intermédiaires de cette réaction de couplage pourront être identifiés. Il serait également envisageable d'améliorer les conditions réactionnelles afin d'obtenir ce produit avec un meilleur rendement et une quantité moindre de cuivre. Après optimisation, une exemplification pourra être effectuée.

Les essais de cycloaddition sur la nitronne vinylique se sont révélés infructueux, le produit n'étant obtenu qu'à l'état de trace. Il serait plus judicieux, par la suite, d'effectuer l'optimisation sur une nitronne plus stable. De nouveaux essais en demande inverse avec ou sans acide de Lewis sembleraient plus prometteurs.

L'accès aux cétonitrones a également été étudié par réaction d'addition nucléophile sur le TINO. Cependant, ce dernier s'est révélé très peu réactif vis-à-vis des nucléophiles testés, tels que les organomagnésiens. Ces réactions fonctionnaient cependant très bien sur les TINOs sur charpente furanose. Notre stratégie a dû être modifiée. L'addition de thiols et d'amines s'est révélée être effective et nous a conduit à l'obtention des TINOs et *N*-oxydes d'amidines correspondants (**Schéma 224**).

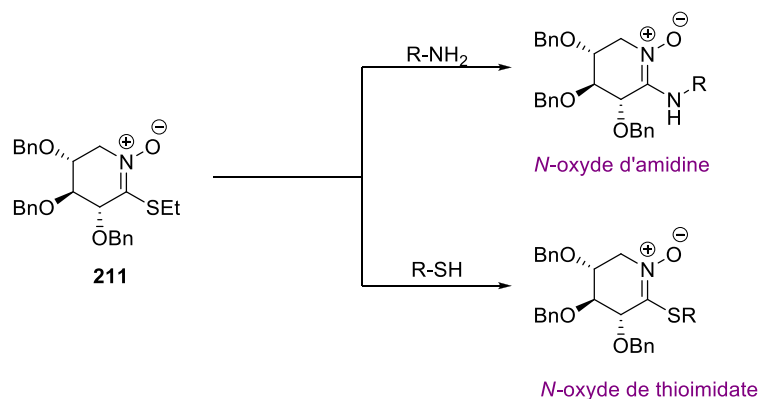


Schéma 224 additions nucléophiles de thiols et d'amines

Enfin, quelques essais de réduction des TINOs ont été effectués. Les premiers résultats semblent montrer que cette fonction est très stable en milieu réducteur, contrairement à ses analogues furanoses. La présence de DIBAL-H est nécessaire à l'addition d'un hydrure et l'élimination du SET et conduit à la formation de l'aldonitrone correspondante. Les TINOs semblent également insensibles à l'hydrogénolyse, la débenzylation doit avoir lieu en présence de BCl_3 , comme décrit sur les nitrones.

3. Perspectives

3.1. Synthèse des acides thiohydroxamiques

Nous avons atteint notre objectif en synthétisant les acides thiohydroxamiques nécessaire à l'étude cinétique de l'UGT74B1. La méthode choisie semble reproductible et pourra s'appliquer à de nombreux acides thiohydroxamiques. Quelques structures peuvent être envisagées afin de modifier le pKa de l'acide thiohydroxamique qui semble jouer un rôle important dans la reconnaissance enzymatique (**Figure 48**).

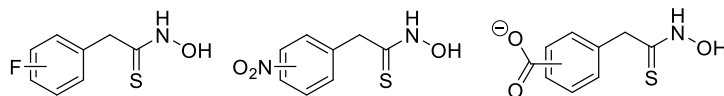


Figure 48 structures d'acides thiohydroxamiques envisagés

D'autre part, les acides hydroxamiques correspondants aux acides thiohydroxamiques synthétisés pourront être testés comme substrats afin de comprendre la spécificité de l'enzyme pour la formation de la liaison carbone-soufre. Dans le cas de l'UGT74C1, l'influence de la variation de la longueur de la chaîne sur les constantes cinétiques pourra être étudiée.

3.2. Synthèse et étude de réactivité des TINOs

La synthèse des TINOs sur diverses charpentes pyranoses a été effectuée et une étude de réactivité a permis d'établir que cette fonction est beaucoup moins réactive sur charpente pyranose que ses homologues sur charpente furanose, vis-à-vis de réductions et d'additions nucléophiles. Cette singularité peut être due à un arrangement différent dans l'espace mais également à l'effet des groupements protecteurs qui ne sont pas identiques en série pyranose (benzyle) et furanose (isopropyle). Afin d'activer sa réactivité, les réactions pourront être menées en présence d'acides de Lewis chélatant (aluminium), en présence de groupements protecteurs électroattracteurs (acétyles) sur le TINO aini qu'en effectuant des réactions intramoléculaires (cycloadditions).

Les TINOs ont été engagés dans les réactions de couplage de Liebeskind-Srogl pour former des nitrones, qui peuvent être elle-même, substrats des réactions de cycloaddition. Cependant, aucun produit de cycloaddition n'a pu être isolé et caractérisé. Une réaction supplémentaire, la réaction de Kinugasa, pourra également être envisagée. Il s'agit d'une réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire entre une nitronne et un acétylène de Cu(I) suivi d'un réarrangement pour donner un β -

lactame.²²⁵ En 2012, l'équipe de Furman présente une réaction de Kinugasa diastéréosélective sur des nitrones à six chaînons (**Schéma 225**).²²⁶

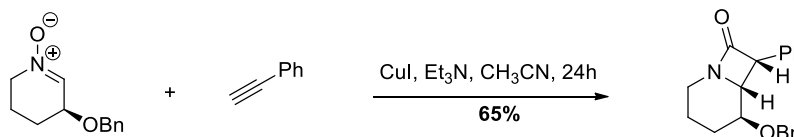
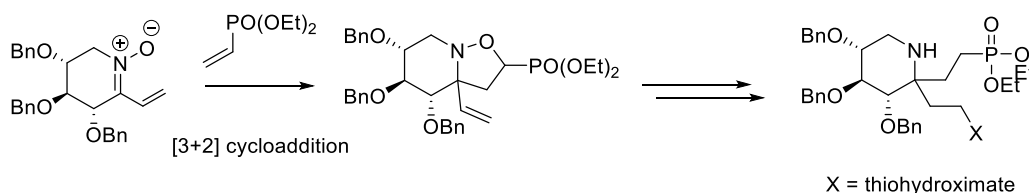


Schéma 225 exemple de réaction de Kinugasa sur une nitronne à six chaînons

Les essais de réaction de cycloaddition sur la phénylnitronne pourront être poursuivis en utilisant comme dipolarophile, le diéthylvinylphosphonate ainsi qu'en criblant différents acides de Lewis. Si le produit n'est observé qu'à l'état de traces, un changement des groupements protecteurs pourra être envisagé afin d'activer la réactivité.

D'autre part, l'exemplification des additions de thiols et d'amines pourra être poursuivie afin d'accéder à une petite librairie de *N*-oxydes d'amidine et de thioimide. Après débenzylation les composés pourront être testés comme inhibiteurs de glycosidases.



Le but final serait de former la fonction thiohydroximate *via* le groupement vinyle puis de rompre la liaison N-O afin d'accéder après débenzylation à des iminosucre α,α -disubstitués, inhibiteurs potentiels de la S-UGT. Une co-cristallisation de l'inhibiteur dans le site actif de l'enzyme permettrait de comprendre la position relative des différents éléments durant la formation de la liaison carbone – soufre et ainsi d'avoir une idée du mécanisme d'action de l'enzyme.

²²⁵ Kinugasa, M. ; Hashimoto, S. J. *Chem. Soc., Chem. Commun.* **1972**, 466 – 467.

²²⁶ Grzeszczyk, B. ; Polawska, K. ; Shaker, Y.M. ; Stecko, S. ; Mames, A. ; Woznica, M. ; Chmielewski, M. ; Furman, B. *Tetrahedron*, **2012**, 68, 10633 – 10639.

Experimental part

1. General methods

All reactions were carried out using oven-dried glassware under an atmosphere of dry argon. Solvent and reagents were bought from Sigma-Aldrich, Acros, Alfa-Aesar or Carbosynth. All reagent-grade chemicals were obtained from commercial suppliers and were used as received.

Solvents were distilled following the procedures described by D.D. Perrin, W. L. F. Armarego and D. R. Perrin, *Purification of Laboratory Chemicals*, Pergamon, Oxford, 1986. The quality of the used solvents is the subsequent:

- ✓ THF was dried using Glass Technology Dry Solvent Station GT S100.
- ✓ Toluene was distilled from CaH₂.
- ✓ CH₂Cl₂ was distilled from P₂O₅.
- ✓ CH₃CN was distilled from CaH₂.
- ✓ DMF (HPLC) and dioxane (HPLC) were dried using activated 4Å molecular sieves.
- ✓ MeOH (HPLC) was dried using activated 3Å molecular sieves.
- ✓ Pyridine and triethylamine were dried over KOH.
- ✓ Chloroform (HPLC) was used without further purification.

N-chlorosuccinimide was recrystallised prior to use in boiling acetic acid. Inorganic bases were oven-dried prior to use. Molecular sieves were activated at 500°C for 12h. Zinc dust was activated by stirring with 5N HCl during 15 minutes, and then washed several times with distilled H₂O, EtOH and Et₂O before drying. Analytical thin layer chromatography was performed using Silica Gel 60F254 precoated aluminium plates (Merck) with visualization by UV light and by charring with a 10% sulfuric acid solution in EtOH, phosphomolybdic acid or KMnO₄. Flash chromatography was performed on silica gel 60N (spherical neutral, 40 – 63 μM) or using Reveleris® flash chromatography system. Some compounds were commonly not isolated but were purified once in order to assess the structure of all the intermediates.

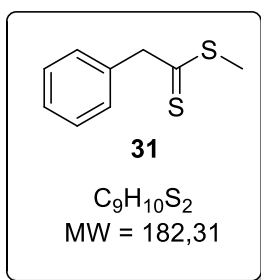
Melting points were determined in capillary tubes with a Büchi 510 capillary apparatus and are uncorrected. Optical rotations were measured at 20°C with Perkin-Elmer 341 with a path length of 1 dm, values are given in deg. dm⁻¹. g⁻¹. mL⁻¹. Concentrations are given in g/100 mL. ¹H and ¹³C NMR spectra were recorded on Bruker Avance DPX 250 or Bruker Avance II 400 spectrometers. Chemical shifts are referenced to the residual solvent signal or to TMS as internal standard. Carbon signals were assigned by DEPT experiments. ¹H and ¹³C NMR signals were attributed on the basis of H-H and H-C 2D correlations. Low-resolution mass spectra were recorded on a Perkin-Elmer Sciex API 300. High-resolution mass spectra were recorded on a Bruker Q-TOF MaXis spectrometer (precision 5 or 6 digits). The infrared spectra of compounds were recorded on a Thermo Scientific Nicolet iS10.

2. Compounds description

Methylphenyldithioacetate **31**²²⁷

Benzylmagnesium chloride 1.5 M in THF (1 mL, 1.5 mmol, 1 equiv.) was added dropwise at 0°C to a solution of CS₂ (140 µL, 2.33 mmol, 1.55 equiv.) in THF (1 mL). The reaction was stirred at r.t. overnight. Methyl iodide (93 µL, 1.5 mmol, 1 equiv.) was added at 0°C. The reaction was stirred at r.t. for 3h, diluted with EtOAc and quenched with water (1 mL). After that, the reaction mixture was extracted with EtOAc (3 x 20 mL) and the organic layers were washed with water, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The resulting crude compound was purified by column chromatography on silica gel (PE/EtOAc: 85/15) to afford the desired product **31** as a red oil (118 mg, **43%**).

CAS [2168-85-6]



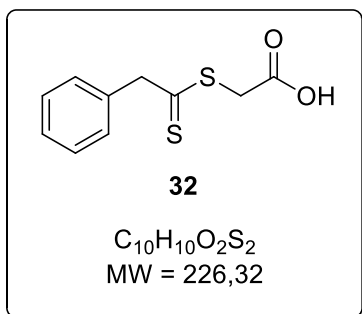
*R*_f = 0.25 (PE/EtOAc: 85/15); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.46 – 7.13 (m, 5H, H_{Ar}), 4.33 (s, 2H, CH₂), 2.58 (s, 3H, Me). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 141.9 (Cq, C=S), 137.1 (Cq Ar), 129.2 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 127.4 (CH Ar), 58.0 (CH₂), 20.4 (CH₃ Me); **MS** (ESI⁺) *m/z* ([M+Na]⁺): 205.

S-Carboxymethyl phenyldithioacetate **32**⁵⁷

Benzylmagnesium chloride 1.5 M in THF (5 mL, 7.5 mmol, 1 equiv.) was added dropwise at 0°C to a solution of CS₂ (0.7 mL, 11.6 mmol, 1.55 equiv.) in THF (5 mL). The reaction was stirred at r.t. overnight. Then the solution was poured onto 10 g of crushed ice and the aqueous layer was separated from the organic layer which contained a voluminous precipitate. A solution of chloroacetic acid (744 mg, 7.87 mmol, 1.05 equiv.) and sodium carbonate (262 mg, 2.47 mmol, 0.3 equiv.) in water (1 mL) was added to the aqueous phase. After standing 48h at 0°C, a solution of concentrated sulfuric acid (0.5 mL) and water (0.5 mL) was added dropwise to the crystal slurry in order to liberate the free dithioacid. The aqueous phase was extracted three times with diethylether and the organic layers were dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The resulting crude compound was recrystallised from petroleum ether to give the desired compound **32** as an orange solid (600 mg, **35%**) (lit.⁵⁷ : 64%)

²²⁷ Katsuyuki, O ; Yoko, I.; Tsuchihashi, G-I. *Synthesis* **1980**, 736 – 739.

CAS [52999-90-3]

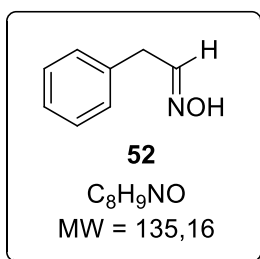


R_f = 0.25 (PE/EtOAc: 75/25); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 10.3 (bs, 1H, COOH), 7.35 – 7.19 (m, 5H, H_{Ar}), 4.33 (s, 2H, CH₂), 4.04 (s, 2H, CH₂COOH). $^{13}\text{C NMR}$ (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 233.1 (Cq, COOH), 173.2 (Cq, C=S), 136.3 (Cq Ar), 129.1 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 127.5 (CH Ar), 57.3 (CH₂), 38.5 (s, 2H, CH₂COOH); **MS** (ESI⁺) m/z ([M+H]⁺): 227.

Phenylacetaldehyde oxime 52⁶⁹

Hydroxylamine hydrochloride (3.74 g, 53.9 mmol, 1.2 equiv.) was added to a solution of the phenylacetaldehyde (5 mL, 45 mmol, 1 equiv.) in MeOH (50 mL) followed by pyridine (4.3 mL, 53.9 mmol, 1.2 equiv.). The reaction was stirred at r.t. overnight (lit: 2.5h). After the MeOH was removed *in vacuo*, the residue was suspended in CH₂Cl₂ (100 mL) and washed with 1M HCl solution (3 x 20 mL), H₂O (2 x 20 mL) and brine solution (20 mL). The organic phase was dried over MgSO₄ and then concentrated under reduced pressure. The resulting crude compound was purified by silica gel column chromatography on silica gel (PE/EtOAc: 60/40) to afford the desired product **52** as a colorless solid, as a mixture of *E/Z* diastereoisomers 35/65 (3.89 g, **64%**). (lit.⁶⁹ : 73%)

CAS [7028-48-0]

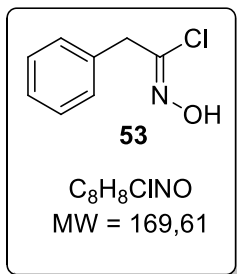


R_f = 0.20 (PE/EtOAc : 70/30); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.90 (bs, 1H, OH_{E+Z}), 7.55 (t, 0.4H, 3J = 6.3 Hz, H_{1E}), 7.38 – 7.20 (m, 7H, H_{Ar}), 6.90 (t, 1H, 3J = 5.4 Hz, H_{1Z}), 3.75 (d, 2H, 3J = 5.4 Hz, CH_{2Z}), 3.54 (d, 0.7H, 3J = 6.3 Hz, CH_{2E}). **MS** (ESI⁺) m/z ([M+H]⁺): 136.

(Z)-phenylacetohydroximoyl chloride 53⁶⁹

One-fifth of *N*-chlorosuccinimide (4.04 g, 3.02 mmol, 1.05 equiv) was added initially to a solution of oxime **52** in DMF (30 mL) in a darkened flask. The reaction was stirred at 0°C for 30 min to allow the reaction to proceed (as indicated by a slight increase in temperature). The reaction temperature was then kept under 35°C, while the addition of the NCS was repeated until all the rest of NCS. The reaction mixture was allowed to reach r.t. over 4h. After that, it was poured into ice-water and extracted with EtOAc (3 x 20 mL). The organic layers were washed with water, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The resulting crude compound was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 80/20) to afford the desired product **53** as a yellow oil (4.9 g, **99%**). (lit.⁶⁹ : 73%)

CAS [1312032-84-0]



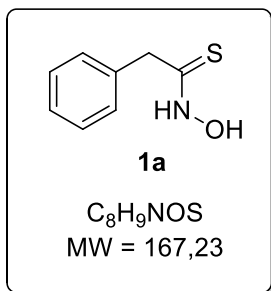
R_f = 0.20 (PE/EtOAc: 80/20); 1H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 8.21 (bs, 1H, OH), 7.35 – 7.22 (m, 5H, H_{Ar}), 3.86 (s, 2H, CH_2). MS (ESI⁺) m/z ($[M+H]^+$): 170.

Phenylacetothiohydroxamic acid **1a**⁶⁵

Procedure a: in a sealed tube, KH 30 wt % dispersion in mineral oil (29 mg, 0.73 mmol, 1.1 equiv.) was washed with pentane (3 x 5 mL). Pentane was removed to give KH as a white powder. 2-nitroethylbenzene **48** (101 mg, 0.66 mmol, 1 equiv.) and anhydrous THF (10 mL) were added. After stirring 30 min at 0°C and then 1h at r.t., hexamethyldisilathiane (215 μ L, 0.99 mmol, 1.5 equiv.) was added. The reaction mixture was stirred at reflux for 48h. The reaction mixture was quenched by addition of water at 0°C, neutralised with 10% aqueous HCl and extracted with CH_2Cl_2 (3 x 10 mL). The combined organic layers were washed with brine and dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure to give the thiohydroxamic **1** as a green oil (24 mg, **21%**). (lit ⁶⁵: 70%)

Procedure b: to a stirred solution of hydroximoyl chloride **53** (373 mg, 2.2 mmol, 1 equiv.) in diethyl ether (30 mL) was added an aqueous solution of Na_2S (1.6 g in 4 mL, 6.6 mmol, 3 equiv.) followed by Et_3N (310 μ L, 2.2 mmol, 1 equiv.). The reaction mixture was stirred for 1h at r.t. and poured into a separatory funnel. The diethyl ether was separated from the aqueous, which was acidified to pH = 2 with 5M HCl, extracted three times with EtOAc, dried over Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The resulting crude compound was purified by Reveleris[®] column chromatography on C18 silica gel (water 100% to CH_3CN 100%) to afford the desired product **1a** as a white solid (85 mg, **23%**).

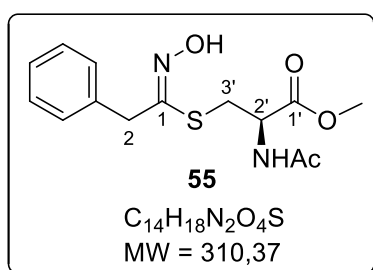
CAS [10593-79-0]



R_f = 0.20 (CH_3CN) C18-TLC; 1H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 7.40 – 7.23 (m, 5H, H_{Ar}), 3.92 (s, 2H, CH_2); ^{13}C NMR (62.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 134.0 (Cq Ar), 129.5 (CH Ar), 129.3 (CH Ar), 45.2 (CH_2). MS (ESI⁺) m/z ($[M+H]^+$): 168.

(Z)-S-(methyl(2S)-2-acetamidobutanoate phenylacetothiohydroximate 55

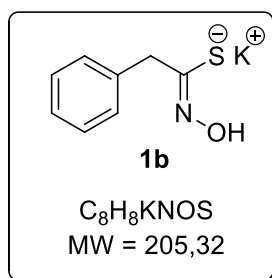
To a stirred solution of phenylacetaldehyde oxime **52** (320 mg, 2.4 mmol, 1 equiv.) in anhydrous DMF (15 mL) was added *N*-chlorosuccinimide (348 mg, 2.6 mmol, 1.1 equiv.) in a darkened flask at 0°C. The reaction mixture was stirred at r.t. for 7h. The reaction was then cooled at 0°C and *N*-acetyl-L-cysteine methyl ester (260 mg, 7.1 mmol, 3 equiv.) and triethylamine (1 mL, 7.1 mmol, 3 equiv.) were added. The reaction mixture was stirred at r.t. overnight. After that, it was poured into ice-water and extracted with EtOAc (3 x 10 mL). The organic layers were washed with water (4 x 10 mL) and brine (10 mL), dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The resulting crude compound was purified by silica gel column chromatography (CH₂Cl₂/MeOH: 90/10) to afford the desired product **55** as a yellow oil (454 mg, 61%).



$R_f = 0.25$ (CH₂Cl₂/MeOH: 90/10); $[\alpha]_D^{20} = -0.6$ ($c = 0.75$ in CHCl₃); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8.74 (s, 1H, OH), 7.42 – 7.19 (m, 5H, H_{Ar}), 6.26 (d, 1H, ³*J* = 8.2 Hz, NH), 4.80 – 4.68 (m, 1H, H_{2'}), 3.72 (s, 5H, COOMe, H₂), 3.36 (dd, 1H, ²*J*(3'a-3'b) = 13.7 Hz, ³*J*(3'a-2') = 4.5 Hz, H_{3'}), 3.20 (dd, 1H, ²*J*(3'b-3'a) = 13.7 Hz, ³*J*(3'b-2') = 5.0 Hz, H_{3'}), 1.98 (s, 3H, CH₃Ac); **¹³C NMR** (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 170.6 (C=O), 170.5 (C=O), 153.6 (C-1), 135.9 (Cq Ar), 128.9 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 127.3 (CH Ar), 53.0 (CH₃ CO₂Me), 52.4 (C-2'), 39.5 (C-2), 31.6 (C-3'), 23.1 (CH₃ Ac); **IR** (neat) 3328, 1739, 1723, 1645, 1537, 1435, 1371, 1254, 1216, 1107, 961, 907, 729, 712; **HRMS (ESI⁺)**: m/z calculated for C₁₄H₁₉N₂O₄S ([M+H]⁺): 311.106005, found: 311.105900.

Potassium phenylacetothiohydroximate 1b

*t*BuOK (66 mg, 0.6 mmol, 1 equiv.) was added to solution of **55** (183 mg, 0.6 mmol, 1 equiv.) in THF (3 mL). The reaction mixture was stirred at r.t. overnight, then diluted with EtOAc (5 mL) and quenched with water (5 mL). The organic layer was washed twice with water (10 mL). The combined aqueous layers were lyophilised to give the desired compound **1b** (57 mg, 47%) as a white solid.



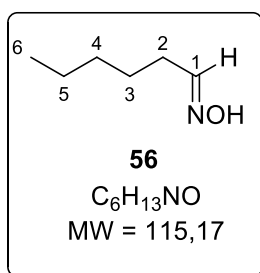
¹H NMR (250 MHz, D₂O) δ (ppm) = 7.51 – 7.28 (m, 5H, H_{Ar}), 3.76 (s, 2H, CH₂); **MS (ESI⁺)** m/z ([M+H]⁺): 168. An aliquot of potassium salt was acidified with HCl 2N, the resulting thiohydroxamic acid was extracted with dichloromethane, dried over Na₂SO₄ and concentrated in *vacuo*. **¹H** and **¹³C NMR** in CDCl₃ are in accordance with thiohydroxamic acid **1a**.

Hexanaldoxime 56²²⁸

²²⁸ Ferrer-Casal, M.; Barboza, A.P.; Szajnman, S.H.; Rodriguez, J. B. *Synthesis* **2013**, 45, 2397 – 2404.

Hydroxylamine hydrochloride (4.17 g, 0.06 mol, 1.2 equiv.) was added to a solution of hexanal (6.1 mL, 0.05 mol, 1 equiv.) in MeOH (50 mL) followed by pyridine (4.9 mL, 0.06 mmol, 1.2 equiv.). The reaction was stirred at r.t. overnight. After the MeOH was removed *in vacuo*, the residue was suspended in CH₂Cl₂ (100 mL) and washed with 1M HCl solution (3 x 20 mL), H₂O (2 x 20 mL) and brine solution (20 mL). The organic phase was dried over MgSO₄ and then concentrated under reduced pressure. The resulting crude compound was used without any purification in the next step.

CAS [6033-61-0]

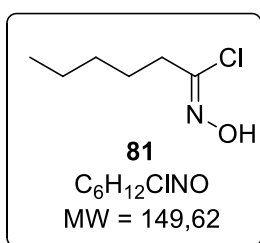


R_f = 0.15 (PE/EtOAc: 95/5); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.40 (bs, 1H, OH), 2.51 (t, 2H, 3J = 7.4 Hz, H₂), 1.72 – 1.58 (m, 2H, H₃), 1.41 – 1.25 (m, 4H, H₄, H₅), 0.94 – 0.86 (m, 3H, H₆); **MS** (ESI⁺) m/z ([M+H]⁺): 116.

Hexanohydroximoyl chloride **81**

One-fifth of *N*-chlorosuccinimide (0.905 g, 6.77 mmol, 1 equiv) was added initially to a solution of oxime **56** in anhydrous DMF (7 mL) in a darkened flask. The reaction was stirred 30 min at 0°C to allow the reaction to proceed (as indicated by a slight increase in temperature). The reaction temperature was then kept under 35°C, while the addition of the NCS was repeated until all the rest was added. The reaction mixture was allowed to reach r.t. overnight. After that, it was poured into ice-water and extracted with EtOAc (3 x 10 mL). The organic layers were washed with water, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The resulting crude compound was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 80/20) to afford the desired product **81** as a yellow oil (294 mg, 29%).

CAS [87488-23-1]



R_f = 0.45 (PE/EtOAc: 90/10); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.40 (bs, 1H, OH), 2.50 (t, 2H, 3J = 7.3 Hz, H₂), 1.75 – 1.56 (m, 2H, H₃), 1.43 – 1.24 (m, 4H, H_{4,5}), 0.90 (t, 3H, 3J = 6.9 Hz, H₆); **MS** (ESI⁺) m/z ([M+H]⁺): 150.

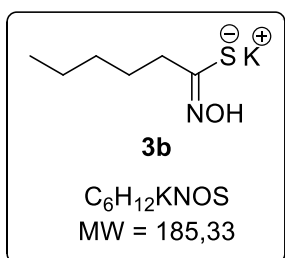
Hexanothiohydroxamic acid **3a**⁶⁵

Procedure a: in a sealed tube, KH 30 wt % dispersion in mineral oil (31 mg, 0.77 mmol, 1.1 equiv.) was washed with pentane (3 x 5 mL). Pentane was removed to give KH as a white powder.

14.0 (C-6); IR (neat) ν (cm⁻¹) = 3305, 2947, 2840, 1650, 1539, 1336, 1226, 128, 956, 707; HRMS (ESI⁺): m/z calculated for ([M+H]⁺): 291.137305, found: 291.137267.

Hexanothiohydroximate potassium 3b

*t*BuOK (81 mg, 0.7 mmol, 1 equiv.) was added to solution of mas03 (209 mg, 0.7 mmol, 1 equiv.) in THF (2 mL). The reaction mixture was stirred at r.t. overnight, then diluted with EtOAc (5 mL) and quenched with water (5 mL). The organic layer was washed twice with water (10 mL). The combined aqueous layers were lyophilised to give the desired compound **3b** (26 mg, 21%) as a white solid.

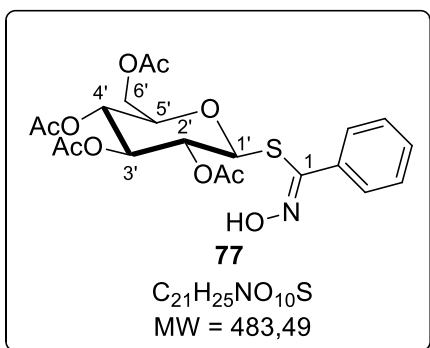


R_f = 0.45 (PE/EtOAc: 90/10); ¹H NMR (250 MHz, CD₃OD) δ (ppm) = 2.40 (t, 2H, ³J = 7.3 Hz, H₂), 1.64 (p, 2H, ³J = 7.5 Hz, H₂), 1.42 – 1.19 (m, 4H, H_{4,5}), 0.88 (t, 3H, ³J = 6.9 Hz, CH₃); MS (ESI) m/z ([M+H]⁺): 146. An aliquot of potassium salt was acidified with HCl 2N, the resulting thiohydroxamic acid was extracted with dichloromethane, dried over Na₂SO₄ and concentrated in *vacuo*. ¹H and ¹³C NMR in CDCl₃ are in accordance with thiohydroxamic acid **3a**.

2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl-(*Z*)-phenylthiohydroximate 77

Benzaldehyde oxime (100 mg, 1 mmol, 1 equiv.) was dissolved in CH₂Cl₂ (4 mL) and shaken with sodium hypochlorite (5% chlorine) (2 mL, 3 mmol, 3 equiv.) in a separating funnel. Once the solution had changed from colourless to blue to yellow, the organic layer was separated and added dropwise to a solution of 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-D-glucopyranose (223 mg, 0.6 mmol, 0.6 equiv.) in CH₂Cl₂ (3 mL). Et₃N (0.3 mL, 2mmol, 2 equiv.) was then added to the resulting solution which was stirred at r.t. for 3h. The solution was diluted with CH₂Cl₂ (5 mL) and washed with 0.5 M HCl (2 x 5 mL). The organic layer was separated, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The resulting crude compound was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 60/40) to afford the desired product **77** as a white solid (342 mg, 71%).

CAS [150852-16-7]

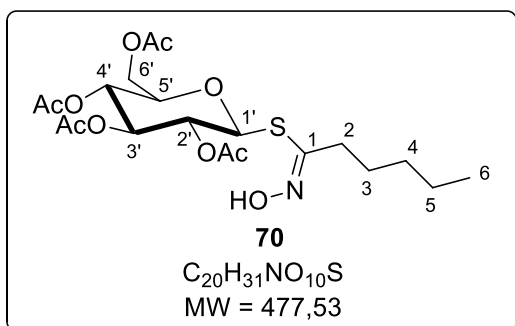


R_f = 0.20 (PE/EtOAc : 60/40); ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.76 (bs, 1H, OH), 7.60 – 7.45 (m, 5H, H_{Ar}), 5.12 – 5.01 (m, 3H, H_{2',H_{3',H_{4'}}), 4.49 (d, 1H, ³J(1'-2')= 9.8 Hz, H_{1'}), 4.12 (dd, 1H, ²J(6'a-6'b)= 12.4 Hz, ³J(6'a-5')= 5.1 Hz, H_{6'a}), 3.99 (dd, 1H, ²J(6'b-6'a)= 12.4 Hz, ³J(6'b-5')= 2.3 Hz, H_{6'b}), 3.13 – 3.01 (m, 1H, H_{5'}), 2.14, 2.10, 2.01, 1.99 (sx4, 12H, CH₃ OAc); MS (ESI) m/z ([M+H]⁺): 484.}

2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl-(*Z*)-

hexanethiohydroximate 70

Di-*tert*-butyl dicarbonate (315 mg, 1.44 mmol, 2 equiv.) was dissolved in MeCN (3 mL). 1-Nitrohexane (100 μ L, 0.72 mmol, 1 equiv.) and DMAP (9.1 mg, 0.074 mmol, 1.1 equiv.) in MeCN (0.6 mL) were added successively. The reaction was allowed to stir at rt, under argon, for 3h. 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-D-glucopyranose (87.4 mg, 0.24 mmol) was added. The reaction was stirred at rt, under argon, for 2 h. The mixture was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by SiO₂ flash column chromatography (eluent: 2/8-3/7 EA/PE gradient) to afford the desired compound **70** (22 mg, **18%**) as a white powder.



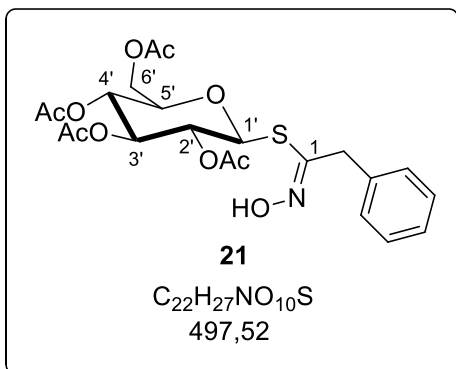
R_f = 0.38 (PE/EtOAc: 60/40); $[\alpha]_D^{20}$ = -15 (c = 1.0 in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8.63 (bs, 1H, OH), 5.27 (t, 1H, $^3J(3'-4'$ or $2')$ = 8.8 Hz, H_{3'}), 5.12 – 5.00 (m, 3H, H_{1'}, H_{2'}, H_{4'}), 4.20 (dd, 1H, $^2J(6'a-6'b)$ = 12.3 Hz, $^3J(6'a-5')$ = 5.5 Hz, H_{6'a}), 4.13 (d, 1H, $^2J(6'b-6'a)$ = 12.3 Hz, H_{6'b}), 3.78 – 3.72 (m, 1H, H_{5'}), 2.52 – 2.48 (m, 2H, H_{2'}), 2.01, 2.03, 2.04, 2.07 (sx4, 12H, CH₃ OAc), 1.68 – 1.62 (m, 2H, H₃), 1.38 – 1.32 (m, 4H, H_{4,5}), 0.91 (t, 3H, $^3J(6-5)$ = 6.0 Hz, H₆); **¹³C NMR** (100

MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 170.9 (C=O), 170.6 (C=O), 169.7 (C=O), 169.5 (C=O), 152.7 (C-1), 80.3 (C-1'), 76.3 (C-5'), 74.1 (C-3'), 70.5 (C-2'), 68.4 (C-4'), 62.6 (C-6'), 32.9 (C-2), 31.7 (C-4), 27.1 (C-3), 22.7 (C-5), 21.0 (CH₃ Ac), 20.94 (CH₃ Ac), 20.88 (CH₃ Ac), 20.87 (CH₃ Ac), 14.3 (C-6). **IR** (neat) ν (cm⁻¹) = 3319 (OH), 2936, 1744, 1707 (C=O), 1366, 1217, 1035, 916. **MS** (ESI) m/z ([M+H]⁺): 500.

(Z)-S-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-phenylethanethiohydroxamate **21**⁶⁹

Triethylsilane (250 μ L, 1.61 mmol, 2.2 equiv.) and titanium tetrachloride (180 μ L, 1.61 mmol, 2.2 equiv.) were added. to a solution of nitrostyrene (109 mg, 0.73 mmol, 1 equiv.) in dichloromethane (40 mL). After 18 h stirring at room temperature, the reaction mixture was hydrolysed by addition of water and the aqueous phase extracted with three times dichloromethane. The combined organic layers were dried with magnesium sulfate and the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved again in dichloromethane (40 mL) and then commercial 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (320 mg, 0.88 mmol, 1.2 equiv.) and triethylamine (300 μ L, 2.2 mmol, 3 equiv.) were successively added. After stirring for 1 h at room temperature, the solvent was evaporated in vacuo. Silica gel column chromatography (petroleum ether/EtOAc, 1:1) provide compound **21** as a white solid (197 mg, **54%**).

CAS [156258-43-4]

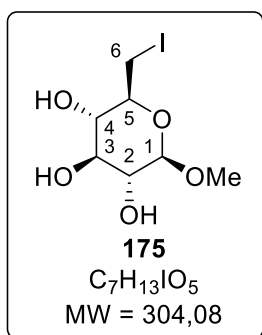


R_f = 0.43 (PE/EtOAc: 60/40); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8.16 (bs, 1H, OH), 7.38 – 7.28 (m, 5H, H_{Ar}), 5.05 – 5.01 (m, 2H, H_{3'}, H_{4'}), 4.99 – 4.94 (m, 1H, H_{2'}), 4.79 (d, 1H, $^3J(1'-2')$ = 10.0 Hz, H_{1'}), 4.14 (dd, 1H, $^2J(6'a-6'b)$ = 12.4 Hz, $^3J(6'a-5')$ = 5.6 Hz, H_{6'a}), 4.00 (dd, 1H, $^2J(6'b-6'a)$ = 12.4 Hz, $^3J(6'b-5')$ = 2.4 Hz, H_{6'b}), 3.96 (s, 1H, H_{2'}), 3.49 (ddd, $^3J(5'-4')$ = 9.6 Hz, $^3J(5'-6'a)$ 5.6 Hz, $^3J(5'-6'b)$ = 2.4 Hz, H_{5'}), 2.01,

2.03, 2.04, 2.07 (sx4, 12H, CH₃ OAc); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 170.5 (C=O), 170.1 (C=O), 169.3 (C=O), 169.1 (C=O), 151.4 (C-1), 135.7 (Cq Ar), 129.0 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.4 (CH Ar), 79.4 (C-1'), 75.6 (C-5'), 73.7 (C-3'), 70.0 (C-2'), 67.9 (C-4'), 62.1 (C-6'), 38.9 (C-2) 20.7 (CH₃ Ac), 20.5 (CH₃ Ac); MS (ESI) *m/z* ([M+H]⁺): 498.

Methyl 6-deoxy-6-iodo- β -D-glucopyranoside **175**¹²³

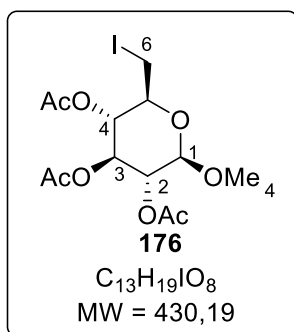
To a solution of methyl- β -D-glucopyranoside (2.02 g, 10.3 mmol, 1 equiv.) were added triphenylphosphine (4.06 g, 15.5 mmol, 1.5 equiv.) and imidazole (1.4 g, 20.6 mmol, 2 equiv.) in anhydrous THF (80 mL). The reaction mixture was heated at reflux and then a solution of I₂ (3.94 g, 15.5 mmol, 1.5 equiv.) in THF (20 mL) was added. The reaction mixture was heated at reflux for 2h. Imidazolium salts were filtered through celite and the filtrate was concentrated in *vacuo*. The resulting crude compound was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 20/80 to 10/90) to afford the desired product **175** as a white powder (2.4 g, **75%**). (lit¹²³ : 77%)

CAS [194029-99-7]

R_f = 0.30 (EtOAc/MeOH: 99/1); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm) = 4.68 (d, 1H, ³J(1-2) = 3.7 Hz, H₁), 3.65 (t, 1H, ³J(3-2) = ³J(3-4) = 9.6 Hz, H₃), 3.62 (dd, 1H, ²J(6a-6b) = 10.6 Hz, ³J(6a-5) = 2.3 Hz, H_{6a}), 3.46 (s, 3H, OMe), 3.43 (dd, 1H, ³J(2-3) = 9.6 Hz, ³J(2-1) = 3.7 Hz, H₂), 3.39 (ddd, 1H, ³J(5-4) = 9.6 Hz, ³J(5-6b) = 7.5 Hz, ³J(5-6a) = 2.3 Hz, H₅), 3.29 (dd, 1H, ²J(6b-6a) = 10.6 Hz, ³J(6b-5) = 7.5 Hz, H_{6b}), 3.16 (t, 1H, ³J(4-3) = ³J(4-5) = 9.6 Hz, H₄). ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm) = 101.3 (C-1), 75.6 (C-4), 74.5 (C-3), 73.5 (C-2), 72.4 (C-5), 55.8 (CH₃ OMe), 7.3 (C-6). **MS** (ESI⁺) m/z ([M+H]⁺): 279 (fragm.)

Methyl 6-deoxy-6-iodo-2,3,4-triacetyl- β -D-glucopyranoside **176**¹²⁴

Acetic anhydride (2 mL, 21 mmol, 30 equiv.) was added dropwise at 0°C to a solution of **175** (212 mg, 0.7 mmol, 1 equiv.) in pyridine (4 mL). The reaction mixture was stirred at r.t. overnight and then diluted with EtOAc (10 mL). The organic layer was washed with water (3 x 10 mL) and with brine (10 mL), dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The resulting crude compound was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 70/30) to afford the desired product **176** as a white solid (220 mg, **72%**). (lit¹²⁴ : 77%)

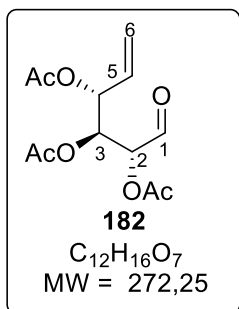
CAS [98523-69-4]

R_f = 0.3 (PE/EtOAc : 70/30); ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 5.48 (t, 1H, ³J(3-2) = ³J(3-4) = 9.6 Hz, H₃), 4.95 (d, 1H, ³J(1-2) = 3.5 Hz, H₁), 4.90 – 4.82 (m, 2H, H_{2,4}), 3.78 (ddd, 1H, ³J(5-4) = 10.3 Hz, ³J(5-6b) = 8.1 Hz, ³J(5-6a) = 2.1 Hz, H₅), 3.47 (s, 3H, OMe), 3.78 (dd, 1H, ²J(6a-6b) = 10.9 Hz, ²J(6a-5) = 2.1 Hz, H_{6a}), 3.13 (dd, 1H, ²J(6b-6a) = 10.9 Hz, ³J(6b-5) = 8.1 Hz, H_{6b}), 2.06 (s, 3H, CH₃ Ac), 2.04 (s, 3H, CH₃ Ac), 1.99 (s, 3H, CH₃ Ac); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 170.2 (C=O), 170.1 (C=O), 169.8 (C=O), 96.8 (C-1), 72.1 (C-2 or C-4), 71.1 (C-2 or C-4), 69.8 (C-3), 68.7 (C-5), 55.9 (OMe), 20.8 (CH₃ Ac), 20.78 (CH₃ Ac), 3.8 (C-6); **MS** (ESI⁺) m/z

([M+H]⁺): 463.

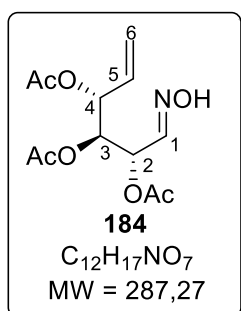
(E,Z)-2,3,4-triacetyl-5,6-dideoxy-D-xylo-hex-5-enoic oxime **184**

The activated zinc was added to a solution of **176** (500 mg, 1.16 mmol, 1 equiv.) in THF/H₂O: 10/1 (44 mL). The resulting mixture was sonicated for 2h at 60°C and then filtered through celite and washed several times with EtOAc. The filtrate was concentrated and the residue was directly used without purification. (The product is silica sensitive and highly volatile).



$R_f = 0.25$ (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5); ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 9.48 (s, 1H, H₁), 5.76 (ddd, 1H, ³J(5-6trans) = 16.9 Hz, ³J(5-6cis) = 10.4 Hz, ³J(5-4) = 6.2 Hz, H₅), 5.58 – 5.48 (m, 2H, H₆), 5.40 – 5.22 (m, 3H, H₂, H₃, H₄), 2.21 (s, 3H, CH₃ Ac), 2.10 (s, 3H, Ac), 2.06 (s, 3H, CH₃ Ac).

Hydroxylamine hydrochloride (242 mg, 3.5 mmol, 3 equiv.) was added to a solution of **182** (313 mg, 1.16 mmol, 1 equiv.) in pyridine (20 mL) at 0°C, followed by molecular sieves 4Å. The reaction mixture was stirred at r.t. overnight and then filtered through celite and washed with EtOAc. The filtrate was washed with water (5 x 50 mL) and then with brine (50 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, and co-evaporated with toluene (3 x 20 mL). The residue was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc : 70/30) to afford the desired **184** as a colourless oil (154 mg, 0.53 mmol, **46 % over 2 steps**) as a mixture of E/Z isomers (75/25).



$R_f = 0.10$ (PE/EtOAc : 70/30); $[\alpha]_D^{20}$ $[\alpha]_D^{20} = +20.1$ (c = 0.61 in CHCl₃) ; **For E isomer:** ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.83 (s, 1H, OH), 7.32 (d, 1H, ³J(1-2) = 5.5 Hz, H₁), 5.74 (ddd, 1H, ³J(5-6trans) = 16.7 Hz, ³J(5-6cis) = 10.4 Hz, ³J(5-4) = 6.0 Hz, H₅), 5.57 (t, 1H, ³J(2-1) = 5.5 Hz, H₂), 5.48 (t, 1H, ³J(4-3) = ³J(4-5) = 6.0 Hz, H₄), 5.40 – 5.32 (m, 2H, H_{6a,6b}), 5.28 (bs, 1H, H₃), 2.10 (s, 9H, Ac). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 170.0 (C=O), 169.9 (C=O), 169.6 (C=O), 145.9 (C-1), 131.5 (C-5), 120.0 (C-6), 72.4 (C-4), 72.1 (C-3), 69.4 (C-2), 21.0 (CH₃ Ac), 20.8 (CH₃ Ac), 20.8 (CH₃ Ac). **For Z isomer:** ¹H NMR (250 MHz,

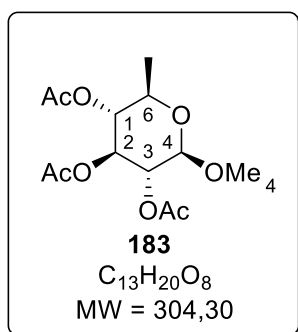
CDCl₃) δ (ppm) = 8.10 (s, 1H, OH), 6.58 (d, 1H, ³J(1-2) = 5.3 Hz, H₁), 6.05 (dd, 1H, ³J(2-1) = 5.4 Hz, ³J(2-3) = 4.1 Hz, H₂), 5.72 (ddd, 1H, ³J(5-6trans) = 17.1 Hz, ³J(5-6cis) = 10.5 Hz, ³J(5-4) = 6.8 Hz, H₅), 5.57 (dd, 1H, ³J(3-4) = 6.8 Hz, J(3-2) = 4.1 Hz, H₃), 5.44 (t, 1H, ³J(4-3) = ³J(4-5) = 6.8 Hz, H₄), 5.41 – 5.28 (m, 2H, H_{6a,6b}), 2.14 (s, 3H, CH₃ Ac), 2.09 (s, 3H, CH₃ Ac), 2.07 (s, 3H, CH₃ Ac); ¹³C NMR (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 170.1 (C=O), 169.9 (C=O), 169.7 (C=O), 146.2 (C-1), 131.5 (C-5), 120.3 (C-6), 72.7 (C-4), 71.2 (C-3), 66.0 (C-2), 20.8 (CH₃ Ac), 20.5 (CH₃ Ac), 20.5 (CH₃ Ac); IR (neat) (ν, cm⁻¹) = 3394 (OH), 1743 (C=O), 1429, 1372, 1209 (N-O), 1024 (C-O), 944, 860, 732; MS (ESI⁺) m/z ([M+H]⁺): 310

Methyl 2,3,4-tri-O-acetyl-6-deoxy-β-D-glucopyranoside **183**²²⁹

²²⁹ Koch, A. ; Giese, B. *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 1687 – 1701.

The activated zinc was added to a solution of **176** (31 mg, 0.07 mmol, 1 equiv.) in AcOH (1.5 mL). The resulting mixture was stirred at r.t. for 8h and then filtered through celite and washed several times with EtOAc. The filtrate was concentrated and the residue was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 70/30) to afford the desired product **183** as a colourless oil (21 mg, **98%**).

CAS [19940-17-1]

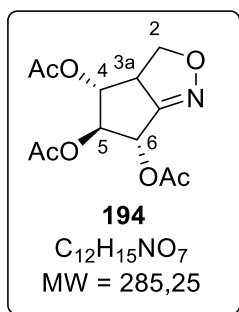


$R_f = 0.28$ (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 5.47 – 5.39 (m, 1H, H₄), 4.90 – 4.86 (m, 2H, H_{1,2}), 4.79 (t, 1H, ³J(3-2) = ³J(3-4) = 9.6 Hz, H₃), 3.97 – 3.82 (m, 1H, H₅), 3.39 (s, 3H, OMe), 2.07 (s, 3H, CH₃Ac), 2.04 (s, 3H, CH₃Ac), 2.00 (s, 3H, CH₃Ac), 1.20 (m, 3H, H₆); **MS** (ESI⁺) m/z ([M+H]⁺): 327

(3R,4R,5S,6S)-4,5,6-tri-*O*-acetyl-3a,4,5,6-tetrahydro-3H-cyclopent[*c*]isoxazole **194**¹³⁸

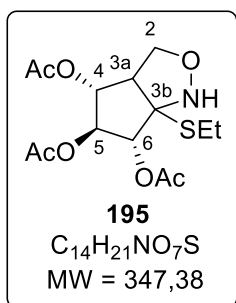
NCS (59 mg, 0.44 mmol, 1.5 equiv.) was added to a solution of **184** (84 mg, 0.29 mmol, 1 equiv.) in DMF (5 mL) at 0°C into darkness. The mixture was stirred at r.t. for 7h. Ethanethiol (108 μ L, 1.46 mmol, 5 equiv) and triethylamine (203 μ L, 1.46 mmol, 5 equiv.) were then added at 0°C. The reaction mixture was stirred at r.t. overnight. The mixture was quenched with H₂O (20 mL) and extracted with EtOAc (20 mL). The organic layer was washed with water (3 x 20 mL) and brine (20 mL), then dried over MgSO₄, and concentrated. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc: 70/30) to afford the product **194** as a single diastereoisomere as a colourless oil (46 mg, **55%**) and the product **195** as a colourless oil (18 mg, **17%**).

CAS [196208-07-8]



$R_f = 0.18$ (PE/EtOAc : 50/50); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 5.65 (dd, 1H, ³J(5-4) = 6.8 Hz, ³J(5-6) = 4.0 Hz, H₅), 5.53 (dd, 1H, ³J(6-5) = 4.0 Hz, ³J(6-3a) = 1.6 Hz, H₆), 4.72 (dd, 1H, ³J(2a-2b) = 10.4 Hz, ³J(2a-3a) = 9.2 Hz, H_{2a}), 4.67 (dd, 1H, ³J(3a-2) = 9.2 Hz, ³J(3a-4) = 6.8 Hz, H_{3a}), 4.33 (dd, 1H, ³J(2b-2a) = 11.6 Hz, ³J(2b-3a) = 9.2 Hz, H_{2b}), 3.95 – 3.85 (m, 1H, H₄), 2.12 (s, 3H, CH₃Ac), 2.11 (s, 3H, CH₃Ac), 2.09 (s, 3H, CH₃Ac); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 170.8 (C=O), 169.6 (C=O), 169.4 (C=O), 158.6 (C-3b), 83.6 (C-5), 77.9 (C-4), 75.9 (C-2), 69.3 (C-6), 55.8 (C-3a), 20.81 (CH₃Ac), 20.80 (CH₃Ac), 20.7 (CH₃Ac); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 1743 (C=O), 1430, 1371, 1208 (N-O), 1034 (C-O),

942, 861, 837, 781, 286; **MS** (ESI⁺) m/z ([M+H]⁺): 286.



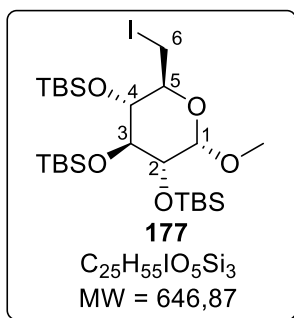
$R_f = 0.15$ (PE/EtOAc : 50/50); $[\alpha]_D^{20} = [\alpha]_D^{20} -29.2$ ($c = 1.21$ in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 5.77 (t, 1H, ³J(5-4) = ³J(5-4) = 5.4 Hz, H₅), 5.70 –

5.65 (m, 1H, H₆), 5.45 (dd, 1H, ³J(4-5) = 5.4 Hz, ³J(4-3a) = 3.9 Hz, H₄), 4.39 (dd, 1H, ³J(2a-2b) = 15.7 Hz, ³J(2a-3a) = 5.6 Hz, H_{2a}), 4.31-4.25 (m, 2H, H_{2b}, H_{3a}), 3.09 (q, ³J = 7.4 Hz, 2H, CH₂S), 2.17 – 2.08 (m, 9H, CH₃ Ac), 1.32 (t, 3H, ³J = 7.4 Hz, CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 169.9 (C=O), 169.8 (C=O), 169.6 (C=O), 160.1 (C-3b), 71.3 (C-6), 70.6 (C-5), 69.5 (C-4), 63.6 (C-2), 56.3 (C-3a), 26.0 (CH₂ SEt), 15.0 (CH₃ SEt); IR (neat) (ν, cm⁻¹) = 1747 (C=O), 1431, 1371, 1203 (N-O), 1035 (C-O), 965, 867, 786, 730; MS (ESI⁺) *m/z* ([M+H]⁺): 348.

Methyl-6-deoxy-2,3,4-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-iodo- α -D-glucopyranoside **177**¹²⁵

*Tert*butyldimethylsilyltriflate (1.8 mL, 8 mmol, 8 equiv.) and 2,6-lutidine (1 mL, 9 mmol, 9 equiv.) were added dropwise at 0°C to a solution of **175** (304 mg, 1 mmol, 1 equiv.) in CH₂Cl₂ (6 mL). The reaction mixture was stirred at r.t. overnight. The crude mixture was diluted with CH₂Cl₂ (5 mL) and washed with water (3 x 10 mL). The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3 x 10 mL) and the combined organic layers were washed with brine (10 mL), dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel flash chromatography (PE/EtOAc: 99/1) to afford **177** as a colourless oil (524 mg, **81%**).

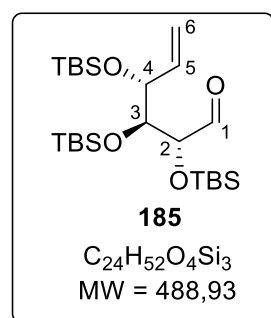
CAS [182195-53-5]



R_f = 0.20 (PE/EtOAc : 99/1); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 4.67 (d, 1H, ³J(1-2) = 2.9 Hz, H₁), 3.85 (dd, 1H, ³J(2-3) = 8.0 Hz, ³J(2-1) = 2.9 Hz, H₂), 3.82 – 3.78 (m, 2H, H_{3,5}), 3.56 (dd, 1H, ²J(6a-6b) = 10.2 Hz, ³J(6a-5) = 2.8 Hz, H_{6a}), 3.48 (s, 3H, CH₃ OMe), 3.47 – 3.42 (m, 1H, H₄), 3.16 (dd, ²J(6b-6a) = 10.2 Hz, ³J(6b-5) = 8.0 Hz, 1H, H_{6b}), 0.89 (bs, 15H, (CH₃)₃CSi), 0.88 (bs, 12H, (CH₃)₃CSi), 0.13 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.11 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.09 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.08 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.07 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.05 (s, 3H, (CH₃)₂Si); ¹³C NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 97.9 (C-1), 77.3 (C-4), 75.9 (C-2 or C-3 or C-5), 73.3 (C-2 or C-3 or C-5), 72.2 (C-2 or C-3 or C-5), 55.4 (CH₃ OMe), 26.24 ((CH₃)₃CSi), 26.15 ((CH₃)₃CSi), 26.1 ((CH₃)₃CSi), 18.6 ((CH₃)₃CSi), 18.2 ((CH₃)₃CSi), 18.1 ((CH₃)₃CSi), 9.3 (C-6), -2.9 ((CH₃)₂Si), -3.6 ((CH₃)₂Si), -3.8 ((CH₃)₂Si), -4.1 ((CH₃)₂Si), -4.3 ((CH₃)₂Si), -4.4 ((CH₃)₂Si); MS (ESI⁺) *m/z* ([M+H]⁺): 647.

2,3,4-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-5,6-dideoxy-D-xylo-hex-5-enose **185**

The activated zinc (50 mg, 0.77 mmol, 5 equiv.) was carefully added to a solution of **177** (100 mg, 0.15 mmol) in ethanol (2 mL). The corresponding mixture was stirred at reflux for 1h. The solid was filtered through celite pad and washed with EtOAc. The filtrate was concentrated and the residue was purified by flash chromatography on silica gel (PE/CH₂Cl₂: 90/10) to afford the product SMA 92 as a colorless oil (73 mg, **99%**).

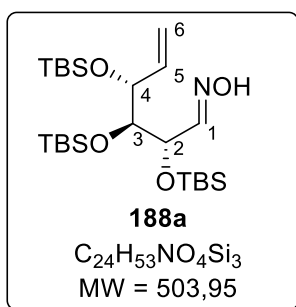


R_f = 0.22 (PE/CH₂Cl₂: 90/10); ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 9.73 (s, 1H, H₁), 5.98 (ddd, 1H, ³J(5-6_{trans}) = 17.2 Hz, ³J(5-6_{cis}) = 10.4 Hz, ³J(5-4) = 6.7 Hz, H₅), 5.16 (dt, ³J(6_{trans}-5) = 17.2 Hz, ³J(6_{trans}-6_{cis}) = ³J(6_{trans}-4) = 1.5 Hz, H_{6_{trans}}), 5.13 (dt, ³J(6_{cis}-5) = 10.4 Hz, ³J(6_{trans}-6_{cis}) = ³J(6_{trans}-4) =

1.5 Hz, H_{6cis}), 4.35 – 4.29 (m, 1H, H_4), 3.94 (d, 1H, $^3J(2-3) = 5.9$ Hz, H_2), 3.94 (dd, 1H, $^3J(3-2) = 5.9$ Hz, $^3J(3-4) = 2.7$ Hz, H_3), 0.92, 0.91, 0.87 (s x 3, 27H, $(CH_3)_3CSi$), 0.09, 0.07, 0.06, 0.04, -0.02, -0.01 (s x 6, 18H, $(CH_3)_2Si$); ^{13}C NMR (62.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 200.6 (C=O), 139.3 (C-5), 115.7 (C-6), 78.6 (C-2 or C-3 or C-4), 78.3 (C-2 or C-3 or C-4), 73.6 (C-2 or C-3 or C-4), 26.1 ($(CH_3)_3CSi$), 25.95 ($(CH_3)_3CSi$), 25.93 ($(CH_3)_3CSi$), 18.4 ($(CH_3)_3CSi$), 18.3 ($(CH_3)_3CSi$), 18.2 ($(CH_3)_3CSi$), -3.9 ($(CH_3)_2Si$), -4.3 ($(CH_3)_2Si$), -4.35 ($(CH_3)_2Si$), -4.44 ($(CH_3)_2Si$), -4.48 ($(CH_3)_2Si$), -5.1 ($(CH_3)_2Si$); MS (ESI⁺) m/z ([M+H]⁺): 489.

2,3,4-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-5,6-dideoxy-D-xylo-hex-5-enose oxime **186**

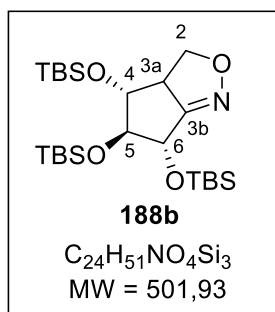
$NH_2OH.HCl$ (31 mg, 0.45 mmol, 3 equiv.) was added portionwise to a solution of **185** (73.3 mg, 0.15 mmol) in pyridine (2 mL) at 0°C, followed by 4Å molecular sieves. The reaction mixture was stirred overnight at room temperature and then filtered through celite and washed three times with EtOAc. The filtrate was washed with water (5 x 10 mL) then with 10 mL of brine. The organic layer was dried over $MgSO_4$, and co-evaporated three times with toluene. The residue was purified by silica gel column chromatography (PE/ CH_2Cl_2 : 70/30) to provide **186** as a colorless oil (77 mg, 99%) as a mixture of *E/Z* isomers (99/1).



$R_f = 0.22$ (PE/ CH_2Cl_2 : 70/30); 1H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 7.90 (s, 1H, OH), 7.38 (d, 1H, $^3J(1-2) = 7.7$ Hz, H_1), 6.01 (ddd, $^3J(5-6trans) = 16.8$ Hz, $^3J(5-6cis) = 10.5$ Hz, $^3J(5-4) = 5.8$ Hz, H_5), 5.21 – 5.06 (m, 2H, H_6), 4.31 – 4.22 (m, 2H, H_2, H_3), 3.61 (dd, 1H, $^3J(4-5) = 5.8$ Hz, $^3J(4-3) = 3.8$ Hz, H_4), 0.91, 0.90, 0.88 (s x 3, 27H, $(CH_3)_3CSi$), 0.04, 0.03, 0.02 (s x 3, 18H, $(CH_3)_2Si$); MS (ESI⁺) m/z ([M+H]⁺): 504.

(3*R*,4*R*,5*S*,6*S*)-4,5,6-tri-*O*-(*tert*butyldimethylsilyl)-3a,4,5,6-tetrahydro-3H-cyclopent[*c*]isoxazole **188b**

NCS (88 mg, 0.65 mmol, 4 equiv.) was added to a solution of **177** in DMF (2.5 mL), at 0°C in a darkened flask. The mixture was stirred at r.t. during 7h to reach complete conversion of **177**. Ethanethiol (250 μ L, 3.40 mmol, 22 equiv.) and triethylamine (104 μ L, 0.75 mmol, 5 equiv.) were then added at 0°C. The reaction mixture was stirred at r.t. overnight. The mixture was quenched with H_2O (5 mL) and extracted with EtOAc (50 mL). The organic layers were washed with water (3 x 10 mL) and brine (10 mL), then dried over $MgSO_4$, and concentrated. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (PE/EtOAc: 90/10) yielding the product **188b** as a colorless oil (41 mg, 54 %).



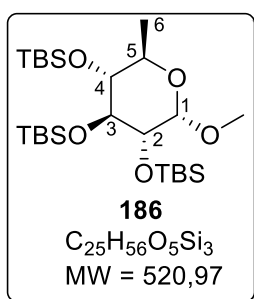
$R_f = 0.25$ (PE/EtOAc: 90/10); $[\alpha]_D^{20} = +187.2$ (c 3.2 mg / 1 mL). 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 4.47 – 4.44 (m, 1H, H_6), 4.35 (dd, 1H, $^3J(2a-2b) = 11.8$ Hz, $^3J(2a-3a) = 7.5$ Hz, H_{2a}), 4.17 (dd, 1H, $^3J(2b-2a) = 11.8$ Hz, $^3J(2b-3a) = 7.5$ Hz, H_{2b}), 4.13 (t, 1H, $^3J(5-4) = ^3J(5-6) = 1.8$ Hz, H_5), 4.05 – 3.97 (m, 1H, H_{3a}), 3.84 – 3.79 (m, 1H, H_4), 0.90, 0.89, 0.88 (s x 3, 27H,

(CH₃)₃CSi), 0.14, 0.13, 0.12, 0.10, 0.09, 0.03 (s x 6, 9H, (CH₃)₂Si); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 169.2 (C-3b), 90.2 (C-5), 74.6 (C-6), 73.6 (C-4), 68.7 (C-2), 57.2 (C-3a), 25.9 ((CH₃)₃CSi), 25.8 ((CH₃)₃CSi), 25.8 ((CH₃)₃CSi), 18.3 ((CH₃)₃CSi), 18.2 ((CH₃)₃CSi), 18.0 ((CH₃)₃CSi), - 4.35 ((CH₃)₂Si); **MS** (ESI⁺) m/z ([M+H]⁺): 502.

Methyl 6-deoxy-2,3,4-tri-*O*-tertbutyldimethylsilyl- α -D-glucopyranoside **186**

The activated zinc (50 mg, 0.75 mmol, 5 equiv.) was carefully added to a solution of **SMA 71** (100 mg, 0.15 mmol) in a mixture of ethanol/AcOH 7/3 (2.8 mL). The reaction was heated at 110°C for 30 min. The solid was filtered through celite and washed with EtOAc. The filtrate was concentrated and the residue was purified by silica gel flash chromatography (PE/CH₂Cl₂: 80/20) to afford the product **186** as a colorless oil (53 mg, **68%**).

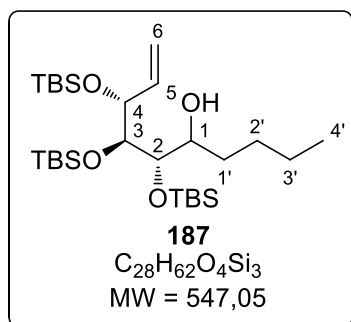
CAS [182195-61-5]



*R*_f = 0.25 (PE/EtOAc: 90/10); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 4.61 (d, 1H, ³J(1-2) = 3.3 Hz, H₁), 3.85 (dq, 1H, ³J(5-4) = 8.6 Hz, ³J(5-6) = 6.3 Hz, H₅), 3.79 (dd, 1H, ³J(3-2) = 6.2 Hz, ³J(3-4) = 4.0 Hz, H₃), 3.73 (dd, 1H, ³J(2-3) = 6.1 Hz, ³J(2-1) = 3.3 Hz, H₂), 3.37 (s, 3H, CH₃ OMe), 3.28 (dd, 1H, ³J(4-5) = 8.6 Hz, ³J(4-3) = 4.0 Hz, H₄), 1.22 (d, 3H, ³J(6-5) = 6.3 Hz, H₆), 0.902, 0.898, 0.89 (s x 3, 27H, (CH₃)₃CSi), 0.11, 0.10, 0.09, 0.07 (s x 4, 9H, (CH₃)₂Si); **MS** (ESI⁺) m/z ([M+H]⁺): 521.

1-butyl-2,3,4-tri-*O*-tert-butylidimethylsilyl-5,6-dideoxy-D-xylohex-5-enitol **187**

*n*BuLi (1.9 M in THF, 100 μL, 0.185 mmol, 1.5 equiv.) was added at -78°C to a solution of SMA 71 (80 mg, 0.12 mmol, 1 equiv.) in THF (2 mL). The reaction was stirred and slowly allowed to warm till r.t. for 2h. The mixture was quenched with H₂O (2 mL) and extracted with EtOAc (10 mL). The organic layer was washed with water (3 x 10 mL) and brine (10 mL), then dried over MgSO₄, and evaporated under reduce pressure. The residue was purified by silica gel flash chromatography (PE/CH₂Cl₂: 75/25) to afford the compound **187** as a colorless oil (29 mg, **48%**) as a mixture of diastereoisomers (maj/min: 60/40).



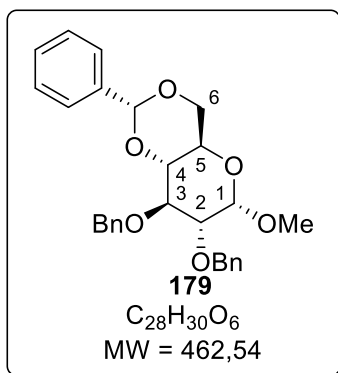
*R*_f = 0.25 (PE/EtOAc: 75/25); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 6.06 (ddd, 0.8H, ³J(5-6trans) = 16.9 Hz, ³J(5-6cis) = 10.4 Hz, ³J(5-4) = 6.2 Hz, H_{5min}), 5.74 (ddd, 1H, ³J(5-6trans) = 17.2 Hz, ³J(5-6cis) = 10.3 Hz, ³J(5-4) = 7.8 Hz, H_{5maj}), 5.25 – 5.11 (m, 3.4H, H_{6min+maj}), 4.15 – 4.10 (m, 0.8H, H_{4min}), 3.99 (t, ³J(4-5) = 7.8 Hz, H_{4maj}), 3.71 – 3.52 (m, 4.9H, H₁, H₂, H_{3(min+maj)}), 2.52 (d, 1H, ³J(OH-1) = 7.6 Hz, OH_{maj}), 2.33 (d, 0.8H, ³J(OH-1) = 7.3 Hz, OH_{min}), 1.72 – 1.07 (m, 16H,

H_1', H_2', H_3', H_4' , 0.93 – 0.86 (m, 50H, $(CH_3)_3CSi$), 0.13 – 0.012 (m, 30H, $(CH_3)_2Si$); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 139.3 (C-5maj), 138.1 (C-5min), 117.5 (C-6maj), 115.4 (C-6min), 76.8 (C-4maj), 75.7 (C-4min), 74.7 (CH maj), 73.9 (CH min), 73.6 (CH min), 72.2 (CH maj), 71.4 (CH maj), 71.0 (CH min), 33.8 (C-1'min), 31.3 (C-1'maj), 29.6 (C-2'maj), 26.2 (C-2'min), 26.13 (C-3'min), 26.07 ($(CH_3)_3CSi$), 26.06 ($(CH_3)_3CSi$), 26.03 ($(CH_3)_3CSi$), 23.2 (C-3'min), 23.0 (C-3'maj), 14.3 ($(CH_3)_3CSi$), 14.1 ($(CH_3)_3CSi$), -3.5 ($(CH_3)_2Si$), -3.6 ($(CH_3)_2Si$), -3.65 ($(CH_3)_2Si$), -3.68 ($(CH_3)_2Si$), -4.1 ($(CH_3)_2Si$), -4.2 ($(CH_3)_2Si$), -4.26 ($(CH_3)_2Si$), -4.27 ($(CH_3)_2Si$), -4.4 ($(CH_3)_2Si$), -4.5 ($(CH_3)_2Si$); **MS** (ESI) m/z ($[M+H]^+$): 547

Methyl 2,3-di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene- α -D-glucopyranoside **179**¹²⁶

NaH, 60 % in oil (1.70 g, 24.0 mmol, 1.7 equiv.) was added to a solution of commercial (4,6-*O*-benzylidene)methyl- α -D-glucopyranoside (4.00 g, 14.2 mmol, 1 equiv.) in DMF (20 mL). Benzyl bromide (4.05 mL, 34.0 mmol, 2.4 equiv.) was added dropwise at 0°C then the reaction mixture was stirred at r.t. for 2h. The reaction was quenched by addition of MeOH (10 mL). The reaction mixture was concentrated, ethyl acetate and water were then added and the organic phase was washed with water and brine, dried over anhydrous $MgSO_4$ filtered and the solvent removed *in vacuo*. The resulting crude mixture was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc : 80/20 to 60/40) to give the desired product **179** as a white powder (5.92 g, **81%**). (lit¹²⁶: 88%)

CAS [7177-79-9]



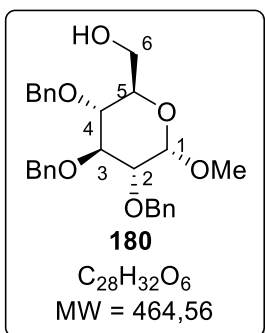
R_f = 0.40 (PE/EtOAc : 60/40); 1H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7.59 – 7.28 (m, 15H, H_{Ar}), 5.57 (s, 1H, CHBn), 4.95 (d, 1H, $^2J = 11.1$ Hz, CH_2Bn), 4.88 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2Bn), 4.86 (d, 1H, $^2J = 11.1$ Hz, CH_2Bn), 4.73 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2Bn), 4.63 (d, 1H, $^3J(1-2) = 3.8$ Hz, H_1), 4.30 (dd, 1H, $^2J(6a-6b) = 10.0$ Hz, $^3J(6a-5) = 4.5$ Hz, H_{6a}), 4.09 (t, 1H, $^3J(3-2) = ^3J(3-4) = 9.2$ Hz, H_3), 3.86 (ddd, 1H, $^3J(5-6b) = 10.0$ Hz, $^3J(5-4) = 9.1$ Hz, $^3J(5-6a) = 4.5$ Hz, H_5), 3.75 (t, 1H, $^3J(6b-6a) = ^3J(6b-5) = 10.0$ Hz, H_{6a}), 3.66 (t, 1H, $^3J(4-5) = ^3J(4-3) = 9.1$ Hz, H_4), 3.59 (dd, $^3J(2-3) = 9.2$ Hz, $^3J(2-1) = 3.8$ Hz, 1H, H_2), 3.46 (s, 3H, Me); ^{13}C NMR (62.5 MHz, $CDCl_3$) : δ (ppm) 138.8 (Cq Ar), 138.2 (Cq Ar), 137.5 (Cq Ar), 128.9 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 126.1 (CH Ar), 101.3 (CHPh), 99.3 (C-1), 82.2 (C-4), 79.3 (C-2), 78.7 (C-3), 75.4 (CH_2Bn), 73.9 (CH_2Bn), 69.2 (C-6), 62.4 (C-5), 55.4 (CH_3 OMe); **MS** (ESI⁺) m/z ($[M+H]^+$): 463.

Methyl 2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -D-glucopyranoside **180**²³⁰

DIBAL-H 1.2 M in cyclohexane (2.7 mL, 3.24 mmol, 3 equiv.) was added dropwise at -10°C to a solution of **179** (500 mg, 1.08 mmol, 1 equiv.) in toluene (5.4 mL). The reaction mixture was stirred at -10°C for 48h. The reaction was quenched by addition of MeOH (5 mL) at -10°C and then allowed to warm to r.t. before the addition of an aqueous solution of 10% KOH (5 mL). The aqueous layer was extracted with Et_2O (3 x 10 mL) and the combined organic layers were washed with water (3 x

²³⁰ Lipták, A. ; Jodál, I. ; Nánási, P. *Carbohydr. Res.* **1975**, *44*, 1 – 8.

10 mL) and with brine (10 mL), dried over anhydrous MgSO_4 filtered and the solvent removed *in vacuo* to afford the crude product **180** which was directly used without purification in the next step. (lit:²³¹ 91%)



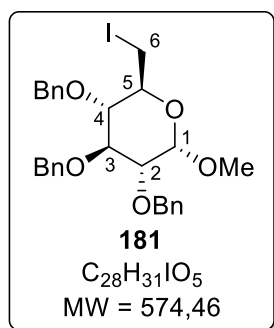
CAS [53008-65-4]

$R_f = 0.30$ (PE/EtOAc : 80/20); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.43 – 7.28 (m, 15H, H_{Ar}), 5.01 (d, 1H, $^2J = 10.9$ Hz, CH_2Bn), 4.90 (d, 1H, $^2J = 10.9$ Hz, CH_2Bn), 4.86 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, CH_2Bn), 4.81 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH_2Bn), 4.67 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2Bn), 4.66 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, CH_2Bn), 4.59 (d, 1H, $^3J(1-2) = 3.5$ Hz, H_1), 4.03 (t, 1H, $^3J(3-2) = ^3J(3-4) = 9.2$ Hz, H_3), 3.81 – 3.63 (m, 3H, H_5, H_6), 3.58 – 3.48 (m, 2H, H_2, H_4), 3.38 (s, 3H, CH_3 OMe), 1.71 (t, 1H, $^3J(\text{OH}-6a) = ^3J(\text{OH}-6b) = 6.1$ Hz, OH); **MS** (ESI⁺) m/z ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 465.

Methyl 2,3,4-tri-O-benzyl-6-deoxy-6-iodo- α -D-glucopyranoside **181**¹²³

Imidazole (63 mg, 0.92 mmol, 2 equiv.) and triphenylphosphine (182 mg, 0.70 mmol, 1.5 equiv.) were added to a solution of **180** (215 mg, 0.46 mmol, 1 equiv.) in THF (5 mL). Iodine (176 mg, 0.70 mmol, 1.5 equiv.) was then added to the reaction mixture which was heated at reflux during 2h. Imidazolium salts were filtered through celite and the filtrate was washed with a saturated aqueous solution of sodium thiosulfate (3 x 10 mL), with water (10 mL) and then with brine (10 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered and the solvent removed *in vacuo*. The resulting crude mixture was purified by silica gel column chromatography (PE/ CH_2Cl_2 : 50/50 to 0/100) to give the desired product **181** as a white powder (242 mg, **91** %). (lit¹²³: 77%)

CAS [85716-43-4]

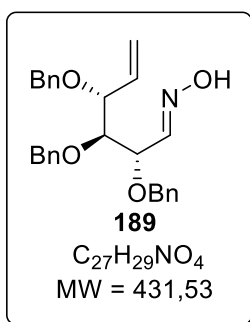


$R_f = 0.30$ (CH_2Cl_2); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.36 – 7.29 (m, 15H, H_{Ar}), 4.99 (d, 1H, $^2J = 10.8$ Hz, CH_2Bn), 4.94 (d, 1H, $^2J = 10.8$ Hz, CH_2Bn), 4.80 (d, 2H, $^2J = 11.5$ Hz, CH_2Bn), 4.68 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, CH_2Bn), 4.66 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2Bn), 4.61 (d, 1H, $^3J(1-2) = 3.6$ Hz, H_1), 4.02 (dd, 1H, $^3J(3-2) = 9.7$ Hz, $^3J(3-4) = 8.6$ Hz, H_3), 3.54 (dd, 1H, $^3J(2-3) = 9.7$ Hz, $^3J(2-1) = 3.6$ Hz, H_2), 3.50 – 3.45 (m, 2H, H_6), 3.42 (s, 3H, OMe), 3.39 – 3.24 (m, 2H, $\text{H}_{4,5}$). $^{13}\text{C NMR}$ (62.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 138.7 (Cq Ar), 138.2 (Cq Ar), 138.1 (Cq Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 98.3 (C-1), 81.7 (C-3 or C-4), 81.6 (C-3 or C-4), 80.2 (C-2), 76.0 (CH_2Bn), 75.5 (CH_2Bn), 73.6 (CH_2Bn), 69.4 (C-5), 55.7 (CH_3 OMe), 7.7 (C-6); **MS** (ESI⁺) m/z ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 575.

²³¹ Lipták, A. ; Jodál, I. ; Nánási, P. *Carbohydr. Res.* **1975**, *44*, 1 – 8.

2,3,4-tri-*O*-benzyl-5,6-dideoxy-D-xylo-5-enose oxime **189**

The activated zinc (261 mg, 4.0 mmol, 10 equiv.) was added to a solution of **181** (217 mg, 0.39 mmol, 1 equiv.) in a mixture of THF/H₂O: 10/1 (6mL). The resulting mixture was heated to reflux for 1h and then filtered through celite pad and washed several time with EtOAc. The filtrate was concentrated to give the desired aldehyde as a colourless oil which was dissolved in pyridine (2 mL). NH₂OH.HCl (81 mg, 1.2 mmol, 3 equiv.) was added at 0°C along with 4Å molecular sieve was then added. The reaction mixture was stirred at r.t. overnight, diluted with EtOAc and filtered through celite pad and washed several times with EtOAc. The filtrate was washed with water (5 x 10 mL) and with brine (10 mL), dried over anhydrous MgSO₄, filtered and the solvent removed *in vacuo*. The resulting crude mixture was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc : 90/10 to 80/20) to give the desired product as a colourless oil (57 mg, **34% over 2 steps**) as a mixture of *E/Z* isomers (85/15)

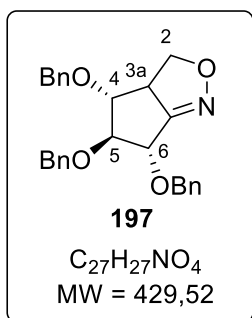
CAS [219586-93-3]

R_f = 0.30 (PE/EtOAc : 70/30); ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8.30 (bs, 1H, OH_E), 7.46 (d, 1H, ³J(1-2) = 7.8 Hz, H_{1E}), 7.38 – 7.17 (m, 18H, H_{ArE+Z}), 6.91 (d, 0.2H, ³J(1-2) = 6.0 Hz, H_{1Z}), 5.81 – 5.60 (m, 1.2H, H_{5E+Z}), 5.29 – 5.13 (m, 2.4H, H_{6aE+Z}, H_{6bE+Z}), 4.89 – 4.52 (m, 5H, CH₂Bn_{E+Z}, H_{2Z}), 4.47 – 4.30 (m, 2.4 H, CH₂Bn_{E+Z}), 4.19 (t, 0.2H, ³J(4-5) = ³J(4-3) = 7.5 Hz, H_{4Z}), 4.17 – 4.10 (m, 1.4H, H_{4E,2E}), 3.77 (dd, 0.2H, ³J(3-4) = 7.5 Hz, ³J(3-2) = 3.0 Hz, H_{3Z}), 3.63 (t, 1H, ³J(3-4) = ³J(3-2) = 8.0 Hz, H_{3E}); **MS** (ESI⁺) *m/z* ([M+H]⁺): 432

(3R,4R,5S,6S)-4,5,6-tri-*O*-benzyl-3a,4,5,6-tetrahydro-3H-cyclopent[*c*]isoxazole **197**¹³⁷

NCS (50 mg, 0.37 mmol, 2.8 equiv.) was added to a solution of **189** (57mg, 0.13 mmol) in DMF (2 mL) at 0°C in a darkened flask. The mixture was stirred at r.t. for 7h. Ethanethiol (48 μL, 0.65 mmol, 5 equiv) and triethylamine (90 μL, 0.65 mmol, 5 equiv.) were then added at 0°C. The reaction mixture was stirred at r.t. overnight. The mixture was quenched with H₂O (10 mL) and extracted with EtOAc (10 mL). The organic layers were washed with water (3 x 10 mL) and brine (10 mL), then dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel chromatography (PE/EtOAc: 70/30) to afford **197** as a single diastereoisomer as a colourless oil (30 mg, **54%**)

CAS [260415-86-9]



$R_f = 0.30$ (PE/EtOAc : 70/30); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 7.41 – 7.23 (m, 15H, H_{Ar}), 4.73 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH_2Bn), 4.63 (bs, 2H, CH_2Bn), 4.61 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2Bn), 4.50 (d, 2H, $^2J = 11.7$ Hz, CH_2Bn), 4.47 – 4.43 (m, 1H, H_{2a}), 4.39 – 4.34 (m, 2H, $H_{4,5}$), 3.92 – 3.83 (m, 2H, $H_{2b,6}$), 3.69 (m, 1H, H_{3a}); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 160.6 (C-5b), 137.6 (Cq Ar), 137.6 (Cq Ar), 137.1 (Cq Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 93.4 (C-2 or C-3), 84.9 (C-4), 75.2 (C-2 or C-3), 74.4 (C-1), 72.8 (CH_2Bn), 72.6 (CH_2Bn), 71.6 (CH_2Bn), 56.1 (C-5a). **HRMS (ESI⁺):** m/z

calculated for $C_{27}H_{28}NO_4$: 430.201285 found: 430.201375.

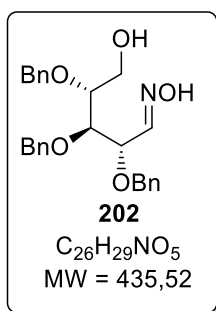
General procedure 1: preparation of aldoximes

To a solution of pyranose (1 equiv.) in pyridine (0.3 M) was added hydroxylamine hydrochloride (3 equiv.) and 4 Å molecular sieves. After stirring 12h at r.t., the resulting mixture was filtered through celite and washed with ethyl acetate (twice). The organic phase was washed with water, brine, dried over anhydrous MgSO₄ filtered and the solvent removed *in vacuo*. The resulting crude mixture was purified by silica gel chromatography (petroleum ether/ethyl acetate) or used without further purification.

2,3,4-tri-*O*-benzyl-D-xylopyranose oxime **202**²³²

General procedure **1** was followed, using tetrabenzylxylopyranose (14.5 g, 34.6 mmol, 1 equiv.). Purification by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 80/20) gave the product **202** as a mixture of *E/Z* isomers in a 75/25 ratio (11.6 g, **77%**) a colourless oil. The product is a mixture of 75:25 isomers.

CAS [1487423-59-5]



R_f (PE/EtOAc : 80/20) = 0.32; For *E* isomer: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.50 (d, 1H, ³J(1-2) = 7.7 Hz, H₁), 7.33 – 7.28 (m, 15H, H_{Ar}), 4.68 – 4.62 (m, 6H, CH₂Bn), 4.27 (dd, 1H, ³J(2-1) = 7.7 Hz, ³J(2-3) = 4.7 Hz, H₂), 3.78 – 3.73 (m, 1H, H₃), 3.74 – 3.69 (m, 1H, H_{5a}), 3.70 – 3.65 (m, 1H, H₄), 3.55 – 3.51 (m, 1H, H_{5b}); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 149.8 (C-1), 138.2 (Cq Ar), 137.9 (Cq Ar), 137.5 (Cq Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 80.2 (C-3), 79.1 (C-4), 76.4 (C-2), 74.3 (CH₂Bn), 73.1 (CH₂Bn), 71.4 (CH₂Bn), 61.4 (C-5); IR (neat) (ν, cm⁻¹) 3301, 3033, 1592, 1496, 1452, 1151, 1131 (C-O), 997, 921, 815, 730 (CH Ar), 696 (CH Ar), 674 (CH Ar), 650;

HRMS (ESI⁺): *m/z* calculated for C₂₆H₃₀NO₅ ([M+H]⁺): 436.211849, found 436.211946.

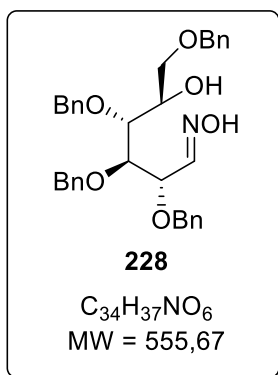
2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-D-glucopyranose oxime **228**²³³

General procedure **1** was followed, employing of glucopyranose **202** (20 g, 37 mmol, 1 equiv.) and the crude mixture was used without any further purification.

²³² Malik, M. ; Witkowski, G. ; Ceborska, M. ; Jarosz, S. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 6214 – 6217.

²³³ Aebischer, B. M. ; Hanssen, H. W. ; Vasella, A.T. ; Schweizer, W. B. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1* **1982**, *9*, 2139 – 2148.

CAS [86496-30-2]

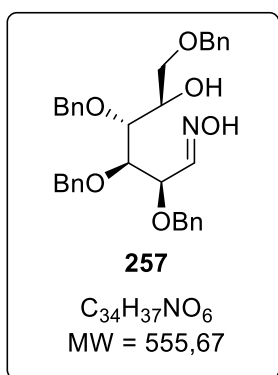


R_f (PE/EtOAc : 80/20) = 0.31; For *E* isomer: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.70 (s, 1H, OH), 7.47 (d, 1H, $^3J(1-2) = 8.0$ Hz, H₁), 7.35 – 7.20 (m, 20H, H_{Ar}), 4.73 (d, 1H, $^2J = 11.6$ Hz, CH₂Bn), 4.65 (d, 2H, $^2J = 11.2$ Hz, CH₂Bn), 4.60 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz), 4.32 (dd, 1H, $^3J(2-1) = 8.0$ Hz, $^3J(2-3) = 6.4$ Hz, H₂), 3.92 (m, 1H, H₅), 3.91 (dd, 1H, $^3J(3-2) = 6.4$ Hz, $^3J(3-4) = 3.6$ Hz, H₃), 3.75 (dd, 1H, $^3J(4-5) = 7.2$ Hz, $^3J(4-3) = 3.6$ Hz, H₄), 3.60 (dd, 1H, $^2J(6a-6b) = 9.6$ Hz, $^2J(6a-5) = 3.6$ Hz, H_{6a}), 3.55 (dd, 1H, $^2J(6b-6a) = 9.6$ Hz, $^3J(6b-5) = 5.2$ Hz, H_{6b}), 2.78 (d, 1H, $^3J(\text{OH}-5) = 5.6$ Hz, OH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 150.1 (Cq, C₁), 138.2 (Cq Ar), 138.0 (Cq Ar), 137.9 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 128.6 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 79.6 (C-3), 77.7 (C-4), 76.8 (C-2), 74.6 (CH₂Bn), 73.6 (CH₂Bn), 73.5 (CH₂Bn), 71.6 (CH₂Bn), 71.2 (C-6), 70.5 (C-5). **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) 3368 (OH), 3029, 2865, 1496 (C=N), 1453 (N-O), 1360, 1208, 1066, 910, 733 (arom.), 695 (arom.); **HRMS (ESI⁺)**: m/z calculated for C₃₄H₃₈NO₆ ([M+H]⁺): 556.269364, found 556.269180.

2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-D-mannopyranose oxime 257²³³

General procedure **1** was followed using mannose **256** (10 g, 18 mmol, 1 equiv.) and purification by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate : 80/20) gave the product as a mixture of *E/Z* isomers in a 85/15 ratio (2,7 g, **27%** yield in 3 steps).

CAS [86496-29-9]

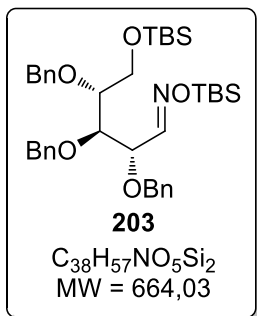


R_f (PE/EtOAc : 80/20) = 0.28; $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.45 (d, 1H, $^3J(1-2) = 8.0$ Hz, H_{1E}), 7.19 – 7.15 (m, 2H, H_{Ar}), 7.24 – 7.36 (m, 18H, H_{Ar}), 6.91 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz, H_{1Z}), 4.64 (d, 2H, $J = 11.5$ Hz, H_{Bn}), 4.54 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, H_{Bn}), 4.52 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, H_{Bn}), 4.48 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, H_{Bn}), 4.47 (d, 1H, $J = 10.7$ Hz, H_{Bn}), 4.42 (d, 1H, $J = 11.3$ Hz, H_{Bn}), 4.28 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, H_{Bn}), 4.25 (dd, 1H, $J = 6.5$ Hz, $J = 1.4$ Hz, H), 3.97 – 4.07 (m, 2H, H), 3.78 (dd, 1H, $J = 7.9$ Hz, $J = 3.1$ Hz, H), 3.64 (dd, 1H, $J = 9.6$ Hz, $J = 3.5$ Hz, H), 3.58 (dd, 1H, $J = 9.7$ Hz, $J = 5.1$ Hz, H).

(*E,Z*) 2,3,4-tri-*O*-benzyl-5-*O*-tertbutyldimethylsilyl-D-xylose *O*-(tertbutyldimethylsilyl) oxime 203

Imidazole (2.5-4 equiv.) and TBDMSCl (2.2-4 equiv.) were added to a solution of unprotected oxime (1 equiv.) in anhydrous dichloromethane (0.13-0.25M) at 0°C. The reaction was stirred overnight at r.t. and then quenched by addition of water. The aqueous layer was extracted three times with dichloromethane. The combined organic layers were washed three times with water and once with

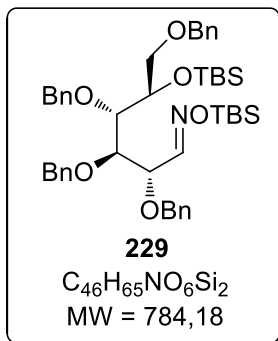
brine, dried over anhydrous MgSO_4 , filtered and the solvent removed *in vacuo* to provide a mixture of *E/Z* diastereoisomers (*E/Z* = 75/25) as a colourless oil.



$R_{f1} = 0.67$, $R_{f2} = 0.52$ (PE/EtOAc : 90/10); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.59 (d, 1H, $^3J(1-2) = 7.9$ Hz, H_{1E}), 7.38-7.27 (m, 18H, $\text{H}_{\text{ArE+Z}}$), 7.13 (d, 0.3H, $^3J(1-2) = 6.5$ Hz, H_{1Z}), 5.1 (dd, 0.3H, $^3J(2-1) = 6.5$ Hz, $^3J(2-3) = 4.1$ Hz, H_{2Z}), 4.77 (d, 1H, $^2J = 11.4$ Hz, CH_2Bn_E), 4.74-4.62 (m, 5.5H, $\text{CH}_2\text{Bn}_{E+Z}$), 4.48 (d, 0.3H, $^2J = 11.7$ Hz, CH_2Bn_Z), 4.47 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH_2Bn_E), 4.35 (dd, 1H, $^3J(2-1) = 7.9$ Hz, $^3J(2-3) = 5.7$ Hz, H_{2E}), 3.87 (dd, 1H, $^3J(3-4) = 5.3$ Hz, $^3J(3-2) = 4.1$ Hz, H_{3Z}), 3.83 (dd, 1H, $^3J(3-2) = 5.7$ Hz, $^3J(3-4) = 4.1$ Hz, H_{3E}), 3.81-3.77 (m, 0.6H, $\text{H}_{4,5aZ}$), 3.76-3.71 (m, 2H, $\text{H}_{4,5aE}$), 3.65 (dd, 0.3H, $^2J = 11.9$ Hz, $^3J(5-4) = 7.3$ Hz, H_{5bZ}), 3.56 (dd, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, $^3J(5-4) = 7.0$ Hz, H_{5bE}), 1.00 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}_E$), 0.96 (s, 2.5H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}_Z$), 0.91, 0.90 (sx2, 11.5H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}_{E+Z}$), 0.224, 0.216, 0.212, 0.197 (sx4, 7.6 H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}_{E+Z}$), 0.051, 0.035, 0.022, 0.007 (sx4, 7.8 H, $(\text{CH}_3)_2\text{Si}_{E+Z}$); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 155.2 (C-1 $_Z$), 153.5 (C-1 $_E$), 139.0 (Cq Ar $_Z$), 138.9 (Cq Ar $_E$), 138.5 (Cq Ar $_E$), 138.3 (Cq Ar $_Z$), 137.9 (Cq Ar $_E$), 137.6 (Cq Ar $_Z$), 128.48 (CH Ar $_E$), 128.46 (CH Ar $_E$), 128.4 (CH Ar $_E$), 128.35 (CH Ar $_E$), 128.33 (CH Ar $_E$), 128.31 (CH Ar $_E$), 128.0 (CH Ar $_E$), 127.95 (CH Ar $_Z$), 127.89 (CH Ar $_Z$), 127.85 (CH Ar $_Z$), 127.78 (CH Ar $_Z$), 127.70 (CH Ar $_Z$), 127.6 (CH Ar $_Z$), 127.5 (CH Ar $_Z$), 80.4 (C-4 $_Z$), 80.1 (C-4 $_E$), 79.6 (C-3 $_E$), 78.9 (C-3 $_Z$), 76.6 (C-2 $_E$), 74.8 (CH_2Bn_E), 74.7 (CH_2Bn_Z), 73.4 (CH_2Bn_Z), 73.3 (CH_2Bn_E), 72.2 (C-2 $_Z$), 71.1 (CH_2Bn_E), 70.9 (CH_2Bn_Z), 63.4 (C-5 $_Z$), 62.4 (C-5 $_E$), 26.3 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSi}_E$), 26.2 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSi}_Z$), 26.1 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSi}_Z$), 26.0 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSi}_E$), 18.4 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSi}_Z$), 18.3 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSi}_E$), 18.27 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSi}_E$), 18.2 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSi}_Z$), -5.0 ($(\text{CH}_3)_2\text{Si}$), -5.1 ($(\text{CH}_3)_2\text{Si}_Z$), -5.22 ($(\text{CH}_3)_2\text{Si}_Z$), -5.25 ($(\text{CH}_3)_2\text{Si}_Z$), -5.33 ($(\text{CH}_3)_2\text{Si}_E$), -5.35 ($(\text{CH}_3)_2\text{Si}_E$); IR (neat) (ν , cm^{-1}) = 2930 (CH), 2856, 2817, 1753 (C=N), 1512, 1496, 1452, 1240 (Si-C), 1151, 1131 (C-O), 997, 921, 815, 730 (CH Ar), 696 (CH Ar), 674 (CH Ar), 650; HRMS (ESI $^+$): m/z calculated for $\text{C}_{38}\text{H}_{58}\text{NO}_5\text{Si}_2$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 664.384803, found: 664.384108.

(E,Z) 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-5-*O*-tertbutyldimethylsilyl-D-glucose *O*-(tertbutyldimethylsilyl) oxime **229**

Imidazole (575 mg, 8.5 mmol, 9 equiv.) and TBDMSCl (1.134 g, 7.5 mmol, 8 equiv.) were added to a solution of unprotected oxime **228** (521 mg, 0.94 mmol, 1 equiv.) in anhydrous dichloromethane (3 mL) at 0°C. The reaction was stirred overnight at r.t. and then quenched by addition of water. The aqueous layer was extracted three times with dichloromethane. The combined organic layers were washed three times with water (3 x 10 mL) and once with brine (10 mL), dried over anhydrous MgSO_4 , filtered and the solvent removed *in vacuo*. The crude silylated oxime was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 95/5) to provide a mixture of *E/Z* diastereoisomers (*E/Z* = 85/15) as colourless oil (553 mg, 0.70 mmol, **75%**).



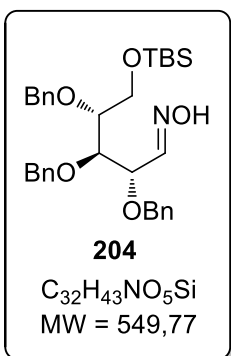
$R_f = 0.20$ (PE/EtOAc : 95/5); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 7.56 (d, $^3J(1-2) = 7,7$ Hz, 1H, H_{1E}), 7.32 – 7.22 (m, 23H, H_{Ar}), 7.09 (d, 0.15H, $^3J(1-2) = 6,4$ Hz, H_{1Z}), 4.91 (dd, 0.15H, $^3J(2-1) = 6.4$ Hz, $^3J(2-3) = 3.6$ Hz, H_{2Z}), 4.82 (d, 0.2H, $^2J = 11.2$ Hz, CH_2Bn_Z), 4.75 – 4.52 (m, 5H, CH_2Bn_{E+Z}), 4.38 – 4.47 (m, 3H, CH_2Bn_{E+Z}), 4.31 (dd, 1H, $^3J(2-1) = 7.7$ Hz, $^3J(2-3) = 5.0$ Hz, H_{2E}), 4.07 – 4.01 (m, 1H, H_{5E}), 3.97 – 3.94 (m, 0.2H, H_{5Z}), 3.91 – 3.80 (m, 2.3H, $H_{3E+Z,4E+Z}$), 3.68 (dd, 1H, $^2J(6a-6b) = 10.0$ Hz, $^3J(6a-5) = 4.1$ Hz, H_{6aE}), 3.64 – 3.53 (m, 0.3H, $H_{6aZ,6bZ}$), 3.51 (dd, 1H, $^2J(6b-6a) = 10.0$ Hz, $^3J(6b-5) = 5.4$ Hz, H_{6bE}), 0.94, 0.85 (bs x 2, 21H, $(CH_3)_3CSi_{E+Z}$), 0.15, 0.14, 0.01, - 0.01 (bs x 4,

$13H, (CH_3)_2Si_{E+Z}$); Data for the *E* isomer (only traces of the *Z* isomer could be detected by ^{13}C NMR):

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 153.9 (C-1), 139.1 (Cq Ar), 138.6 (Cq Ar), 138.5 (Cq Ar), 137.9 (Cq Ar), 128.42 (CH Ar), 128.40 (CH Ar), 128.33 (CH Ar), 128.29 (CH Ar), 128.25 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.83 (CH Ar), 127.76 (CH Ar), 127.6 (CH Ar), 127.4 (CH Ar), 81.7 (C-3 or C-4), 80.6 (C-3 or C-4), 77.1 (C-2), 74.9 (CH_2Bn), 74.7 (CH_2Bn), 73.3 (CH_2Bn), 73.3 (C-5), 72.0 (CH_2Bn), 71.2 (C-6), 26.2 ($(CH_3)_3CSi$), 26.1 ($(CH_3)_3CSi$), -4.2 ($(CH_3)_2Si$), -4.6 ($(CH_3)_2Si$); IR (neat) (ν, cm^{-1}) = 2929 (CH), 2850, 1750 (C=N), 1512, 1496, 1452, 1238 (Si-C), 1152, 1129 (C-O), 920, 815, 732 (CH Ar), 695 (CH Ar); HRMS (ESI $^+$): m/z calculated for $C_{46}H_{66}NO_6Si_2$ ($[M+H]^+$): 784.442318, found: 784.441351.

(*E, Z*) 2,3,4-tri-*O*-benzyl-5-*O*-tertbutyldimethylsilyl-D-xylose oxime 204

The crude bis-silylated oxime **203** (0.76 mmol, 1 equiv.) was dissolved in dry pyridine (10 mL) and $NH_2OH.HCl$ (528 mg, 7.6 mmol, 10 equiv.) was added. The reaction mixture was heated at reflux overnight. It was then diluted by addition of water and EtOAc, the aqueous layer was extracted three times with EtOAc. The combined organic layers were then washed with a saturated aqueous solution of $NaHCO_3$, with water and brine, dried over anhydrous $MgSO_4$, filtered and the solvent removed *in vacuo*. The crude 5-*O*-silylated oxime was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 80/20) to afford the product **204** as a mixture of *E/Z* diastereoisomers 80/20 as a colourless oil (217 mg, **52%** over two steps).



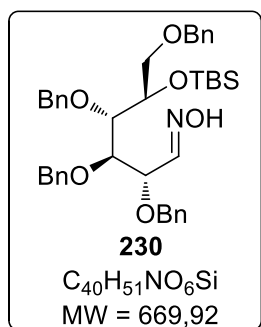
$R_f = 0.62$ (PE/EtOAc : 60/40); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 7.96 (s, 0.25 H, OH_Z), 7.67 (s, 1H, OH_E), 7.47 (d, 1H, $^3J(1-2) = 7.7$ Hz, H_{1E}), 7.34-7.27 (m, 18H, H_{ArE+Z}), 6.94 (d, 0.25H, $^3J(1-2) = 6.6$ Hz, H_{1Z}), 5.03 (dd, 0.25H, $^3J(2-1) = 6.6$ Hz, $^3J(2-3) = 4.3$ Hz, H_{2Z}), 4.73 (d, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, CH_2Bn_E), 4.68-4.57 (m, 5.3H, CH_2Bn_{E+Z}), 4.60 (d, 1H, $^2J = 11.6$ Hz, CH_2Bn_E), 4.44 (d, 1.3H, $^2J = 11.9$ Hz, CH_2Bn_E), 4.28 (dd, 1H, $^3J(2-1) = 7.7$ Hz, $^3J(2-3) = 5.9$ Hz, H_{2E}), 3.92-3.88 (m, 0.25H, H_{3Z}), 3.80 (dd, 1H, $^3J(3-2) = 5.9$ Hz, $^3J(3-4) = 3.6$ Hz, H_{3E}), 3.77-3.67 (m, 2.6H, $H_{4,5aE+Z}$), 3.61-3.55 (m, 1.25H, H_{5bE+Z}), 0.87 (s, 11.3H, $(CH_3)_3CSi$), -0.016 (s, 0.75H, $(CH_3)_2Si_Z$), -0.023, -0.03 (sx2, 6.3H, $(CH_3)_2Si_{E+Z}$); ^{13}C NMR (100 MHz,

$CDCl_3$) δ (ppm) = 152.1 (C-1 $_Z$), 150.3 (C-1 $_E$), 139.0 (Cq Ar $_Z$), 138.7 (Cq Ar $_E$), 138.4 (Cq Ar $_{E+Z}$), 137.8 (Cq Ar $_E$), 137.6 (Cq Ar $_Z$), 128.53 (CH Ar $_Z$), 128.51 (CH Ar $_E$), 128.50 (CH Ar $_E$), 128.48 (CH Ar $_Z$), 128.44 (CH Ar $_Z$), 128.39 (CH Ar $_E$), 128.37 (CH Ar $_E$), 128.34 (CH Ar $_E$), 128.26 (CH Ar $_E$), 128.2 (CH Ar $_E$), 128.1 (CH Ar $_Z$), 128.0 (CH Ar $_Z$), 127.9 (CH Ar $_Z$), 127.80 (CH Ar $_Z$), 127.76 (CH Ar $_Z$), 127.7 (CH Ar $_Z$), 127.5 (CH Ar $_Z$), 80.5 (C-4 $_Z$), 79.7 (C-4 $_E$), 79.4 (C-3 $_E$), 78.8 (C-3 $_Z$), 76.8 (C-2 $_E$), 75.0 (CH_2Bn_Z), 74.9 (CH_2Bn_E), 73.4

(CH₂Bn_E), 73.3 (CH₂Bn_Z), 72.3 (CH₂Bn_Z), 71.5 (CH₂Bn_E), 71.1 (C-2_Z), 62.8 (C-5_Z), 62.5 (C-5_E), 26.0 ((CH₃)₃CSi_{E+Z}), 18.4 ((CH₃)₃CSi_Z), 18.3 ((CH₃)₃CSi_E), -5.29 ((CH₃)₂Si_Z), -5.30 ((CH₃)₂Si_E); IR (neat) (ν, cm⁻¹) = 3301 (OH), 3029 (C_{sp2}-H Ar), 2956, 2856, 1691 (C=N), 1856, 1512, 1496, 1454, 1407, 1258 (C-Si), 1207, 1069 (C-O), 1026 (C-O), 937, 829 (CH Ar), 776 (CH Ar), 732 (CH Ar), 696 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for C₃₂H₄₄NO₅Si ([M+H]⁺): 550.298326, found 550.298030.

(E, Z)-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-5-O-tertbutyldimethylsilyl-D-glucose oxime 230

Bis-silylated oxime **229** (517 mg, 0.66 mmol, 1 equiv.) was dissolved in dry pyridine (5 mL) and NH₂OH.HCl (458 mg, 6.66 mmol, 10 equiv.) was added. The reaction mixture was heated at 115°C overnight. It was then diluted by addition of water and EtOAc, the aqueous layer was extracted three times with EtOAc. The combined organic layers were then washed with a saturated aqueous solution of NaHCO₃, with water and brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered and the solvent removed *in vacuo* to afford the product as a mixture of *E/Z* diastereoisomers 80/20 as a colourless oil.



*R*_f = 0.20 (PE/EtOAc : 90/10); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.47 (d, ³J(1-2) = 7.6 Hz, 1H, H_{1E}), 7.34 – 7.21 (m, 20H, H_{Ar}), 6.92 (d, 0.3H, ³J(1-2) = 6.4 Hz, H_{1Z}), 4.92 (dd, 0.3H, ³J(2-1) = 6.4 Hz, ³J(2-3) = 3.6 Hz, H_{2Z}), 4.84 (d, 0.3H, ²J = 11.1 Hz, CH₂Bn_Z), 4.77 – 4.59 (m, 4.3H, CH₂Bn_{E+Z}), 4.59 (d, 0.3H, ²J = 11.6 Hz, CH₂Bn_Z), 4.57 (d, 0.3H, ²J = 11.1 Hz, CH₂Bn_Z), 4.48 – 4.40 (m, 4.1H, CH₂Bn_{E+Z}), 4.27 (dd, 1H, ³J(2-1) = 7.6 Hz, ³J(2-3) = 4.8 Hz, H_{2E}), 4.07 – 4.04 (m, 1H, H_{5E+Z}), 3.98 (dd, 0.3H, ³J(2-1) = 7.0 Hz, ³J(2-1) = 2.7 Hz, H), 3.95 (dd, 0.3H, ³J(2-1) = 7.0, ³J(2-1) = 3.3 Hz), 3.90 (dd, 1H, ³J(4-5) = 5.6 Hz, ³J(4-3) = 3.9 Hz, H₄), 3.85 – 3.82 (m, 1H, H₃), 3.74 (dd, 1H, ²J(6a-6b) = 9.8, ³J(6a-5) = 4.2 Hz, H_{6aE}), 3.72 (dd, 1H, ²J(6a-6b) = 9.8 Hz, ³J(6a-5) = 4.9 Hz, H_{6aZ}), 3.55 – 3.46 (m, 1.3H, H_{6bE+Z}), 0.86 (bs, 9H, (CH₃)₃CSi_{E+Z}), 0.3 – 0.0 (m, 6H, (CH₃)₂Si_{E+Z}). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 150.7 (C-1_E), 139.1 (C_q Ar), 138.9 (C_q Ar), 138.4 (C_q Ar), 137.4 (C_q Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 127.6 (CH Ar), 127.5 (CH Ar), 81.9 (C-3), 80.4 (C-4), 76.9 (C-2), 74.9 (CH₂Bn), 74.8 (CH₂Bn), 73.4 (CH₂Bn), 73.2 (C-5), 72.0 (CH₂Bn), 71.4 (C-6), 26.1 ((CH₃)₃CSi), 18.2 ((CH₃)₃CSi), -4.2 ((CH₃)₂Si), -4.6 ((CH₃)₂Si); IR (neat) (ν, cm⁻¹) = 3301 (OH), 3031 (C_{sp2}-H Ar), 2856, 1689 (C=N), 1725, 1599, 1471, 1453, 1389, 1248 (C-Si), 1208, 1096 (C-O), 1069 (C-O), 1026 (C-O), 941, 852 (CH Ar), 779 (CH Ar), 732 (CH Ar), 695 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for C₄₀H₅₂NO₆Si ([M+H]⁺): 670.355841, found: 670.355628.

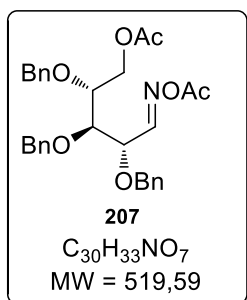
General procedure 2: bis-acetylation/deacetylation of the aldoximes

To a solution of the oxime (1 equiv.) in anhydrous CH₂Cl₂ (0.2-0.3 M) was added dry pyridine (5-10 equiv.) and acetic anhydride (4.4-5 equiv.) at 0°C. After stirring 12h at r.t., the reaction was quenched by addition of water. The organic phase was washed with water, brine, dried over anhydrous MgSO₄ filtered and the solvent removed *in vacuo*. The resulting bis-acetylated oxime (1 equiv.) was dissolved in anhydrous MeOH (0.15-0.3 M) and benzylamine (1.1-2.2 equiv.) was added at 0°C. After stirring 12h at r.t., the solvent was evaporated under vacuum. Ethyl acetate and water

were added and the organic phase was washed with water and brine, dried over anhydrous MgSO_4 filtered and the solvent removed *in vacuo*. The resulting crude mixture was purified by silica gel column chromatography.

(E, Z) 5-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl-D-xylose oxime 208

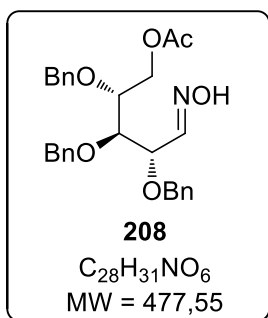
General procedure **2** was followed, using 2,3,4-tri-O-benzyl-D-xylose oxime **202** (8.07 g, 18.6 mmol). Purification by silica gel column chromatography (PE/EtOAc : 70/30) gave the product as a mixture of E/Z isomers in a 80/20 ratio (7.09 g, **80%** over two steps) as a pale yellow oil.



E isomer only (only traces of the Z isomer could be detected by ^1H NMR):

R_f = 0.30 (PE/ EtOAc : 80/20); $[\alpha]_D^{20} = +16.5$ ($c = 0.54$ in CHCl_3); ^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.72 (d, 1H, $^3J(1-2) = 7.8$ Hz, H_1), 7.42-7.26 (m, 15H, H_{Ar}), 4.66 (d, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, CH_2Bn), 4.65 (bs, 2H, CH_2Bn), 4.65 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH_2Bn), 4.59 (d, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, CH_2Bn), 4.48 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH_2Bn), 4.44 (dd, 1H, $^3J(2-1) = 7.8$ Hz, $^3J(2-3) = 5.1$ Hz, H_2), 4.30 (dd, 1H, $^2J(5a-5b) = 11.7$ Hz, $^3J(5a-4) = 4.6$ Hz, H_{5a}), 4.10 (dd, 1H, $^2J(5b-5a) = 11.7$ Hz, $^3J(5b-4) = 5.8$ Hz, H_{5b}), 4.02-3.90 (m, 1H, H_4), 3.76 (t, $^3J(3-2) = ^3J(3-4) = 4.9$ Hz,

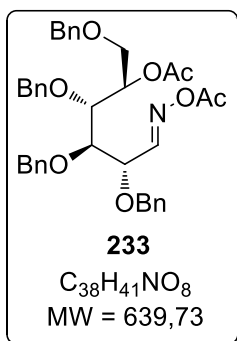
H_3), 2.12 (s, 3H, CH_3 Ac), 1.98 (s, 3H, CH_3 Ac); ^{13}C NMR (62.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 170.7 (C=O), 168.4 (C=O), 157.1 (C-1), 137.8 (Cq Ar), 137.4 (Cq Ar), 137.1 (Cq Ar), 128.7 (CH Ar), 128.59 (CH Ar), 128.55 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.14 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 78.6 (C-3), 76.4 (C-4), 75.5 (C-2), 74.1 (CH_2Bn), 73.2 (CH_2Bn), 72.0 (CH_2Bn), 63.3 (C-5), 21.0 (CH_3 Ac), 19.5 (CH_3 Ac); IR (neat) (ν , cm^{-1}) = 3029 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$ Ar), 2869, 1768 (C=O), 1738 (C=O), 1496, 1454, 1365, 1202, 1087 (C-O), 1040 (C-O), 910, 735 (CH Ar) 696 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{NO}_7$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 520.232979, found: 520.232827.



R_f = 0.24 (PE/ EtOAc : 80/20); ^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.60 (s, 0.8H, OH_E), 7.47 (d, 1H, $^3J(1-2) = 7.8$ Hz, H_{1E}), 7.37-7.27 (m, 17H, $\text{H}_{\text{Ar}E+Z}$), 6.95 (d, 0.3H, $^3J(1-2) = 6.0$ Hz, H_{1-Z}), 5.00 - 4.94 (m, 0.3 H, H_{2Z}), 4.72 (d, 1H, $^2J = 11.6$ Hz, CH_2Bn_E), 4.68-4.59 (m, 5H, $\text{CH}_2\text{Bn}_{E+Z}$), 4.44 (d, 0.3H, $^2J = 11.6$ Hz, CH_2Bn_Z), 4.43 (d, 1H, $^2J = 11.8$ Hz, CH_2Bn_E), 4.30-4.20 (m, 2.1H, $\text{H}_{2E,5aE+Z}$), 4.15-4.02 (m, 1.2H, H_{5bE+Z}), 3.92-3.81 (m, 1.5 H, H_{4E+Z} , H_{3Z}), 3.74-3.66 (m, 1H, H_{3E}), 1.98 (bs, 0.9H, CH_3 AC_Z), 1.96 (bs, 3H, CH_3 AC_E); ^{13}C NMR (62.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 170.9 (C=O_Z), 170.8 (C=O_E), 152.2 (C-1_Z), 150.1 (C-1_E), 138.2 (Cq Ar_Z), 138.1 (Cq Ar_E), 137.96 (Cq Ar_Z), 137.8 (Cq Ar_E), 137.7 (Cq Ar_E), 137.3 (Cq Ar_Z), 128.59, 128.55, 128.5, 128.47, 128.44, 128.3, 128.2 (CH Ar_{E+Z}), 128.15 (CH Ar_Z), 128.11 (CH Ar_Z), 128.0 (CH Ar_{E+Z}), 127.95 (CH Ar_Z), 127.89 (CH Ar_Z), 127.83 (CH Ar_Z), 79.2 (C-3_E), 78.4 (C-3_Z), 77.5 (C-4_Z), 76.8 (C-4_E), 76.4 (C-2_E), 74.8 (CH_2Bn_Z), 74.6 (CH_2Bn_E), 73.4 (CH_2Bn_Z), 73.3 (CH_2Bn_E), 72.4 (CH_2Bn_Z), 71.5 (CH_2Bn_E), 70.9 (C-2_Z), 64.0 (C-5_Z), 63.6 (C-5_E), 21.0 (CH_3 Ac); IR (neat) (ν , cm^{-1}) = 3350 (OH), 3030 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$), 2871, 1738 (C=O), 1496, 1454, 1367, 1232, 1088 (C-O), 1043 (C-O), 912, 750 (CH Ar), 696 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{NO}_6$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 478.222414, found: 478.222106.

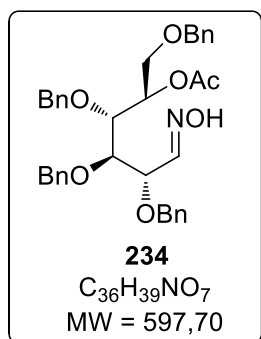
(E, Z) 5-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl-D-glucose oxime 234

General procedure **2** was followed, using 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-glucose oxime **228** (20.5 g, 37 mmol). Purification by silica gel column chromatography (PE/EtOAc : 70/30) gave the product **234** as a mixture of *E/Z* isomers in a 85/15 ratio (19.1 g, **81%**) as a pale yellow oil.



Data for the *E* isomer (only traces of the *Z* isomer could be detected by ¹H NMR): *R*_f = 0.57 (PE/ EtOAc: 70/30); [α]_D²⁰ = + 27.1 (c = 0.92 in CHCl₃); ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.76 (d, 1H, ³J(1-2) = 7.6 Hz, H₁), 7.40-7.20 (m, 20H, H_{Ar}), 5.30-5.20 (m, 1H, H₅), 4.67 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, CH₂Bn), 4.73-4.62 (m, 2H, CH₂Bn), 4.57 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.53 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂Bn), 4.52-4.43 (m, 4H, CH₂Bn, H₂), 4.11 (t, 1H, ³J(4-3) = ³J(4-5) = 4.8 Hz, H₄), 3.87-3.79 (m, 2H, H₃, H_{6a}), 3.73 (dd, 1H, ²J(6b-6a) = 10.9 Hz, ³J(6b-5) = 5.6 Hz, H_{6b}), 2.08 (s, 3H, CH₃ Ac), 2.00 (s, 3H, CH₃ Ac); ¹³C NMR (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 170.3 (C=O), 168.4 (C=O), 157.1 (C-1), 138.11 (Cq Ar), 138.08 (Cq Ar), 137.4 (Cq Ar), 137.3 (Cq Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.54 (CH Ar), 128.51 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.11 (CH Ar), 128.06 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.79 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 79.0 (C-3), 77.8 (C-4), 75.6 (C-2), 74.4 (CH₂Bn), 74.1 (CH₂Bn), 73.3 (CH₂Bn), 73.0 (C-5), 72.4 (CH₂Bn), 68.3 (C-6), 21.3 (CH₃ Ac), 19.6 (CH₃ Ac); IR (neat) (ν, cm⁻¹) = 3032 (C_{sp2}-H), 2917, 1724 (C=O), 1601, 1496, 1452, 1371, 1265, 1177, 1093, 1068 (C-O), 737 (CH Ar), 710 (CH Ar), 698 (CH Ar);

HRMS (ESI⁺): m/z = calculated for C₃₈H₄₂NO₈ ([M+H]⁺): 640.290494, found: 640.290403.

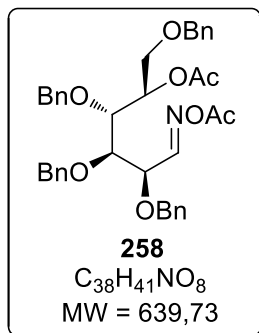


*R*_f = 0.26 (PE/EtOAc : 70/30); ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.50 (d, 1H, ³J(1-2) = 7.7 Hz, H_{1E}), 7.34-7.19 (m, 21H, H_{ArE+Z}), 6.95 (d, 0.15H, ³J(1-2) = 6.4 Hz, H_{1Z}), 5.30-5.19 (m, 1.15H, H_{5E}, H_{5Z}), 4.98 (dd, 0.15H, ³J(2-1) = 6.4 Hz, ³J(2-3) = 4.1 Hz, H_{2Z}), 4.75-4.51 (m, 5.3H, CH₂Bn_{E+Z}), 4.48-4.37 (m, 3.15H, CH₂Bn_{E+Z}), 4.32 (dd, 1H, ³J(2-1) = 7.7 Hz, ³J(2-3) = 6.1 Hz, H_{2E}), 4.08-4.02 (m, 0.15H, H_{4Z}), 3.98 (t, 1H, ³J(4-3) = 4.9 Hz, H_{4E}), 3.89-3.85 (m, 0.15H, H_{3Z}), 3.85-3.75 (m, 2.2H H_{3E}, H_{6aE+Z}, H_{6bZ}), 3.70 (dd, 1H, ²J(6b-6a) = 10.9 Hz, ³J(6-5) = 5.6 Hz, H_{6bE}), 1.98, 1.97 (sx2, 3H, CH_{3Ac}); ¹³C NMR (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

(only shifts for the main *E* isomer could be detected) = 170.3 (C=O), 149.9 (C-1), 138.3 (Cq Ar), 138.1 (Cq Ar), 137.9 (Cq Ar), 137.6 (Cq Ar), 128.54 (CH Ar), 128.51 (CH Ar), 128.48 (CH Ar), 128.43 (CH Ar), 128.39 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 127.91 (CH Ar), 127.87 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.75 (CH Ar), 127.72 (CH Ar), 79.7 (C-3), 78.1 (C-4), 76.7 (C-2), 74.6 (CH₂Bn), 74.5 (CH₂Bn), 73.2 (CH₂Bn), 73.0 (C-5), 71.7 (CH₂Bn), 68.2 (C-6), 21.3 (CH₃ Ac); IR (neat) (ν, cm⁻¹): 3368 (OH), 3030 (C_{sp2}-H), 2869, 1735 (C=O), 1496, 1453, 1371, 1236, 1045 (C-O), 939, 734 (CH Ar), 695 (CH Ar); **HRMS (ESI⁺):** m/z calculated for C₃₆H₄₀NO₇ ([M+H]⁺): 598.279929, found 598.279986.

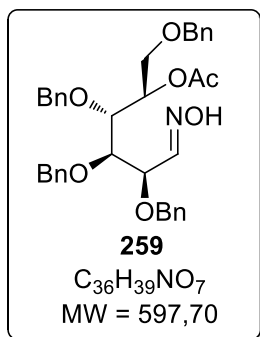
(E) 5-O-acetyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-mannose oxime 259

To a solution of 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-mannose oxime **257** (398 mg, 0.72 mmol, 1 equiv.) in anhydrous CH₂Cl₂ (3 mL) was added dry pyridine (289 μL, 3.58 mmol, 5 equiv.) and acetic anhydride (289 μL, 3.15 mmol, 4.4 equiv.) at 0°C. After stirring 12h at r.t., the reaction was quenched by addition of water. The organic phase was washed with water, brine, dried over anhydrous MgSO₄ filtered and the solvent removed *in vacuo*. The resulting crude mixture was purified by silica gel column chromatography (PE/ EtOAc : 90/10) to give the product **258** as a pale yellow oil (320 mg, **69%**) as the *E* isomer predominantly (only traces of the *Z* isomer could be detected by ¹H NMR).



$R_f = 0.52$ (PE/ EtOAc : 80/20); $[\alpha]_D^{20} = -5.4$ ($c = 0.51$ in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.70 (d, 1H, ³*J*(1-2) = 8.3 Hz, H₁), 7.37-7.14 (m, 20H, H_{Ar}), 5.25 (ddd, ³*J*(5-4) = 6.5 Hz, ³*J*(5-6b) = 4.7 Hz, ³*J*(5-6a) = 3.1 Hz, H₅), 4.75 (d, 1H, ²*J* = 11.0 Hz, CH₂Bn), 4.62 (d, 1H, ²*J* = 11.6 Hz, CH₂Bn), 4.60 (d, 1H, ²*J* = 11.0 Hz, CH₂Bn), 4.59 (d, 1H, ²*J* = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.50 (d, 1H, ²*J* = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.48 (d, 1H, ²*J* = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.42 (d, 1H, ²*J* = 11.6 Hz, CH₂Bn), 4.41 (d, 1H, ²*J* = 11.6 Hz, CH₂Bn), 4.40-4.36 (m, 1H, H₂), 4.01 (dd, 1H, ³*J*(3-2) = 4.4 Hz, ³*J*(3-4) = 3.3 Hz, H₃), 3.95 (dd, 1H, ³*J*(4-5) = 6.5 Hz, ³*J*(4-3) = 3.3 Hz, H₄), 3.83 (dd, 1H, ²*J*(6a-6b) = 11.0 Hz, ³*J*(6a-5) = 3.1 Hz, H_{6a}), 3.73 (dd, 1H, ²*J*(6b-6a) = 11.0 Hz, ³*J*(6b-5) = 4.7 Hz, H_{6b}), 2.01 (s, 3H, CH₃ Ac), 2.00 (s, 3H, CH₃ Ac); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 170.1 (C=O), 168.4 (C=O), 155.7 (C-1), 137.94 (Cq Ar), 137.90 (Cq Ar), 137.5 (Cq Ar), 128.54 (CH Ar), 128.49 (CH Ar), 128.45 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.82 (CH Ar), 127.79 (CH Ar), 127.6 (CH Ar), 79.9 (C-3), 78.0 (C-4), 77.6 (C-2), 74.6 (CH₂Bn), 74.1 (CH₂Bn), 73.3 (CH₂Bn), 72.6 (C-5), 71.3 (CH₂Bn), 68.1 (C-6), 21.3 (CH₃ Ac), 19.4 (CH₃ Ac); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3032 (C_{sp}²-H Ar), 2873, 1724 (C=O), 1601 (C=N), 1584, 1496, 1452, 1370, 1228, 1091, 1068 (C-O), 1025 (C-O), 910, 736 (CH Ar), 696 (CH Ar), 648 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₃₈H₄₂NO₈ ([M+H]⁺): 640.290494, found: 640.2898131.

Bisacetyloxime **258** was then dissolved in anhydrous MeOH (5 mL) and benzylamine (60 μL, 0.55 mmol) was added at 0°C. After stirring 12h at r.t., the solvent was evaporated under vacuum. Ethyl acetate and water were added and the organic phase was washed with water and brine, dried over anhydrous MgSO₄ filtered and the solvent removed *in vacuo*. The resulting crude mixture was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc : 90/10) to give the desired product **259** as a pale yellow oil (250 mg, **84%**) as the *E* isomer predominantly (only traces of the *Z* isomer could be detected by ¹H NMR).



$R_f = 0.42$ (PE/ EtOAc : 80/20); $[\alpha]_D^{20} = -2.2$ ($c = 0.91$ in CHCl₃); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8.28 (s, 1H, OH), 7.55 (d, 1H, ³*J*(1-2) = 8.0 Hz, H₁), 7.28-7.21 (m, 20H, H_{Ar}), 5.35-5.26 (m, 1H, H₅), 4.72 (d, 1H, ²*J* = 10.9 Hz, CH₂Bn), 4.66-4.54 (m, 4H, CH₂Bn), 4.60 (d, 1H, ²*J* = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.52 (d, 1H, ²*J* = 12.0 Hz, CH₂Bn), 4.44 (d, 1H, ²*J* = 12.0 Hz, CH₂Bn), 4.32 (d, 1H, ²*J* = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.34-4.27 (m, 1H, H₂), 4.01 (dd, 1H, ³*J*(4-5) = 5.7 Hz, ³*J*(4-3) = 4.4 Hz, H₄), 3.93 (dd, 2H, ³*J*(3-2) = 5.7 Hz, ³*J*(3-4) = 4.3 Hz, H₃), 3.85 (dd, 1H, ²*J*(6a-6b) = 10.9 Hz, ³*J*(6a-5) = 3.4 Hz, H_{6a}), 3.76 (dd, 1H, ²*J*(6b-6a) = 10.9 Hz,

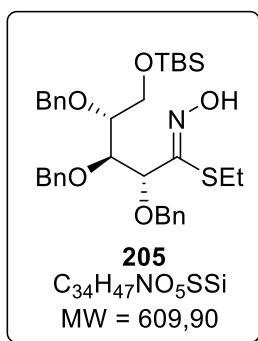
$^3J(6b-5) = 5.2$ Hz, H_{6b}), 2.03 (s, 3H, CH_3 Ac); ^{13}C NMR (62.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 170.5 (C=O), 149.7 (C-1), 138.3 (Cq Ar), 138.1 (Cq Ar), 138.0 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 128.47 (CH Ar), 128.46 (CH Ar), 128.43 (CH Ar), 128.38 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.82 (CH Ar), 127.79 (CH Ar), 127.76 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 80.1 (C-3), 78.3 (C-4), 77.1 (C-2), 74.68 (CH_2 Bn), 74.65 (CH_2 Bn), 73.2 (CH_2 Bn), 72.7 (C-5), 70.8 (CH_2 Bn), 68.2 (C-6), 21.3 (CH_3 Ac); IR (neat) (ν , cm^{-1}) = 3367 (OH), 3064, 3030 (C_{sp^2} -H), 2865, 2358, 1734 (C=O), 1670 (C=N), 1496, 1453, 1366, 1236, 1068 (C-O), 1026 (C-O), 910, 749 (CH Ar), 695 (CH Ar), 666 (CH Ar); HRMS (ESI $^+$): m/z calculated for $C_{36}H_{40}NO_7$ ([M+H] $^+$): 598.279929, found 598.280187.

General procedure 3: formation of the thiohydroximate function

N-chlorosuccinimide (1.1-1.5 equiv.) was added to a solution of the 5-*O*-protected oxime (1 equiv.) in anhydrous DMF in a darkened flask (0.2M) at 0°C and the mixture was stirred at r.t. until full consumption of the starting material (5-8h). Ethanethiol (3 equiv.) and triethylamine (3 equiv.) were added simultaneously and dropwise at 0°C. The reaction mixture was allowed to warm to r.t. and stirred overnight. The reaction was quenched with water at 0°C and diluted with EtOAc. The aqueous layer was extracted three times with EtOAc. The combined organic layers were washed three times with water, twice with brine and dried over anhydrous $MgSO_4$. After filtration, the solvent was removed *in vacuo* and the resulting crude mixture was purified by silica gel column chromatography.

(Z)-S-ethyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-5-*O*-tertbutyldimethylsilyl-D-xylonimidothioate 205

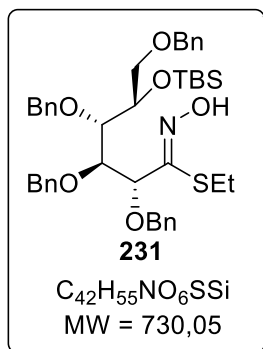
General procedure 3 was followed, using 5-*O*-silylated oxime 204 (345 mg, 0.63 mmol). Purification by column chromatography on silica gel (petroleum ether/ethyl acetate: 80/20) gave the desired compound 205 as a colourless oil (342 mg, 89%).



$R_f = 0.52$ (PE/ EtOAc : 60/40); $[\alpha]_D^{20} = + 22.9$ ($c = 1.01$ in $CHCl_3$); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 8.30 (s, 1H, OH), 7.38 - 7.27 (m, 15H, H_{Ar}), 4.93 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, CH_2 Bn), 4.73 (d, 1H, $^3J(2-3) = 8.2$ Hz, H_2), 4.71 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, CH_2 Bn), 4.69 (d, 1H, $^2J = 11.3$ Hz, CH_2 Bn), 4.58 - 4.50 (m, 3H, CH_2 Bn), 4.13 (dd, 1H, $^3J(3-2) = 8.1$ Hz, $^3J(3-4) = 2.1$ Hz, H_3), 3.71 - 3.66 (m, 1H, H_{5a}), 3.60 - 3.54 (m, 2H, $H_{5b,4}$), 3.21 (dq, 1H, $^2J = 11.8$ Hz, $^3J = 7.4$ Hz, CH_2S), 3.07 (dq, 1H, $^2J = 11.8$ Hz, $^3J = 7.4$ Hz, CH_2S), 1.24 (t, 3H, $^3J = 7.4$ Hz, CH_3_{SEt}), 0.87 (bs, 9H, $(CH_3)_3CSi$), -0.01 (s, 3H, $(CH_3)_2Si$), -0.02 (s, 3H, $(CH_3)_2Si$); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 152.7 (C-1), 138.9 (Cq Ar), 138.8 (Cq Ar), 137.9 (Cq Ar), 128.51 (CH Ar), 128.47 (CH Ar), 128.30 (CH Ar), 128.27 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.61 (CH Ar), 127.59 (CH Ar), 83.1 (C-2), 79.6 (C-4), 79.4 (C-3), 75.7 (CH_2 Bn), 73.6 (CH_2 Bn), 71.9 (CH_2 Bn), 61.8 (C-5), 26.0 ($(CH_3)_3CSi$), 25.6 (CH_2S), 18.2 ($(CH_3)_3CSi$), 15.0 (CH_3_{SEt}), -5.3 ($(CH_3)_2Si$), -5.4($(CH_3)_2Si$); IR (neat) (ν , cm^{-1}) = 3278 (OH), 3027 (C_{sp^2} -H Ar), 2926, 2854, 1692 (C=N), 1607, 1523, 1496, 1472, 1208, 1092 (C-O), 1065 (C-O), 954 (N-O), 865, 836 (CH Ar), 776, 732, 695 (CH Ar). HRMS (ESI $^+$): m/z calculated for $C_{34}H_{48}NO_5SSi$ ([M+H] $^+$): 610.301698, found 610.301212.

(Z)-S-ethyl-5-O-acetyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-gluconimidothioate 231

General procedure **3** was followed, using 5-O-acetyloxime **230** (115 mg, 0.19 mmol). Purification by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 70/30) gave the desired compound **231** as a colourless oil (113 mg, **90%**).



R_f = 0.29 (PE/ EtOAc : 70/30); $[\alpha]_D^{20}$ = +72.4 (c = 0.8 CHCl₃); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8.83 (s, 1H, OH), 7.39-7.23 (m, 20H, H_{Ar}), 5.33-5.24 (m, 1H, H₅), 4.96 (d, 1H, 2J = 10.8 Hz, CH₂Bn), 4.74-4.70 (m, 1H, H₂), 4.71 (d, 1H, 2J = 12.0 Hz, CH₂Bn), 4.68 (d, 1H, 2J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.64-4.57 (m, 2H, CH₂Bn), 4.54 (d, 1H, 2J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.50 (d, 1H, 2J = 12.0 Hz, CH₂Bn), 4.42 (d, 1H, 2J = 12.0 Hz, CH₂Bn), 4.21-4.08 (m, 1H, H₃), 3.96-3.85 (m, 2H, H_{6a}, H₄), 3.72 (dd, 1H, $^2J(6b-6a)$ = 11.0 Hz, $^3J(6b-5)$ = 5.6 Hz, H_{6b}), 3.32-3.00 (m, 2H, CH₂S), 2.04 (s, 3H, CH₃ Ac), 1.26 (t, 3H, 3J = 7.4 Hz, CH₃ SEt); $^{13}\text{C NMR}$ (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 170.4 (C=O), 151.7 (C-1), 138.3 (Cq Ar), 138.2 (Cq Ar), 138.0 (Cq Ar), 137.6 (Cq Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.75 (CH Ar), 127.68 (CH Ar), 127.6 (CH Ar), 127.5 (CH Ar), 82.9 (C-3), 80.0 (C-4), 78.0 (C-2), 75.6 (CH₂Bn), 74.3 (CH₂Bn), 73.3 (C-5), 73.1 (CH₂Bn), 71.7 (CH₂Bn), 68.4 (C-6), 26.0 (CH₂S), 21.3 (CH₃ Ac), 15.2 (CH₃ SEt); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3323 (OH), 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2869, 2358, 1737 (C=O), 1586 (C=N), 1496, 1453, 1368, 1230, 1069 (C-O), 1042 (C-O), 1026, 953, 912, 734 (CH Ar), 696 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₄₂H₅₆NO₆SSi ([M+H]⁺): 730.359212, found 730.358518.

General procedure 4: deacetylation

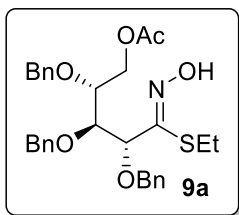
To a solution of thiohydroximate (1 equiv.) in anhydrous MeOH (0.2 M) was added dropwise at 0°C, a solution of sodium methoxide (0.5 equiv. or 1 equiv.) in anhydrous MeOH (0.1 M). After stirring at r.t. until TLC showed complete consumption of the starting material (2-15h), the crude mixture was neutralised by addition of Amberlite® IR 120 (H⁺ form). After filtration and evaporation of the solvent, the resulting crude mixture was purified by silica gel column chromatography.

(Z)-S-ethyl-2,3,4-tri-O-benzyl-D-xylonimidothioate 206

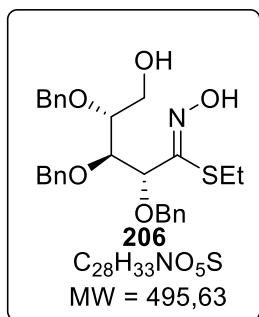
From 205: TBAF (1M in THF, 460 μL , 0.46 mmol, 1.2 equiv.) was added dropwise to a solution of O-silylated thiohydroximate **205** (235 mg, 0.38 mmol, 1 equiv.) in anhydrous THF (3 mL). The reaction mixture was stirred at r.t. overnight, then quenched by addition of a saturated aqueous solution of NH₄Cl (5 mL) and then diluted with EtOAc. The aqueous layer was extracted three times with EtOAc and the organic layer was washed three times with water and once with brine, dried over anhydrous MgSO₄ filtered and the solvent removed *in vacuo*. The resulting crude mixture was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 50/50) to give the desired compound **205** as a colourless oil (160 mg, **84%**).

From 209: general procedure **3** was used from 5-O-acetyloxime **209** (1.76 g, 3.3 mmol) to give the 5-O-acetylthiohydroximate which was immediately used following general procedure **4** in the

presence of 0.5 equiv. of sodium methoxide. After 2h, the reaction was complete and purification by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 70/30 to 50/50) gave the desired compound **206** as a colourless oil (1.13 g, **69%** over two steps).



R_f = 0.44 (PE/EtOAc : 60/40); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +26.4$ ($c = 1.01$ in CHCl_3); **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) = 8.89 (s, 1H, OH), 7.39-7.23 (m, 15H, H_{Ar}), 4.91 (d, 1H, ² $J = 11.3$ Hz, CH₂Bn), 4.75-4.67 (m, 3H, CH₂Bn, H₂), 4.57-4.51 (m, 3H, CH₂Bn), 4.21 (dd, 1H, ² $J(5a-5b) = 11.3$ Hz, ³ $J(5a-4) = 5.9$ Hz, H_{5a}), 4.14 (dd, 1H, ² $J(5b-5a) = 11.3$ Hz, ³ $J(5b-4) = 5.9$ Hz, H_{5b}), 3.99 (dd, 1H, ³ $J(3-2) = 7.4$ Hz, ³ $J(3-4) = 3.1$ Hz, H₃), 3.75 (td, ³ $J(4-5a) = ^3J(4-5b) = 5.9$ Hz, ³ $J(4-3) = 3.1$ Hz, H₄), 3.19-3.02 (m, 2H, CH₂S), 1.94 (s, 3H, CH₃ Ac), 1.21 (t, 3H, ³ $J = 7.4$ Hz, CH₃ SEt); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) = 170.7 (C=O), 151.9 (C-1), 138.1 (Cq Ar), 137.5 (Cq Ar), 128.7 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 82.0 (C-2), 78.8 (C-3), 76.7 (C-4), 75.2 (CH₂Bn), 73.3 (CH₂Bn), 71.7 (CH₂Bn), 63.3 (C-5), 25.7 (CH₂S), 20.8 (CH₃ Ac), 15.1 (CH₃ SEt); **IR (neat)** (ν , cm⁻¹) = 3326 (OH), 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2869, 2358, 1739 (C=O), 1496, 1453, 1368, 1230, 1069 (C-O), 1042 (C-O), 1026, 953, 912, 734 (CH Ar), 696 (CH Ar); **HRMS (ESI⁺)**: m/z calculated for C₃₀H₃₆NO₆S ([M+H]⁺): 538.225785, found: 538.225978.

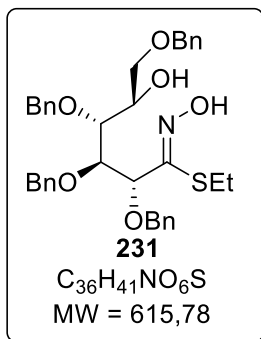


R_f = 0.24 (PE/ EtOAc : 60/40); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +28.3$ ($c = 0.6$ in CHCl_3); **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) = 8.75 (bs, 1H, NOH), 7.38-7.25 (m, 15H, H_{Ar}), 4.86 (d, 1H, ² $J = 11.2$ Hz, CH₂Bn), 4.71 (d, 1H, ² $J = 11.4$ Hz, CH₂Bn), 4.70 (d, 1H, ² $J = 11.2$ Hz, CH₂Bn), 4.65 (d, 1H, ³ $J(2-3) = 6.8$ Hz, H₂), 4.55 (bs, 2H, CH₂Bn), 4.50 (d, 1H, ² $J = 11.4$ Hz, CH₂Bn), 4.04-4.01 (m, 1H, H₃), 3.72 (dd, 1H, ² $J(5a-5b) = 10.8$ Hz, ³ $J(5a-4) = 4.4$ Hz, H_{5a}), 3.66-3.53 (m, 2H, H₄, H_{5b}), 3.13-2.98 (m, 2H, CH₂S), 2.21 (bs, 1H, OH), 1.18 (t, 3H, ³ $J = 7.4$ Hz, CH₃ SEt); **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ (ppm) = 151.8 (C-1), 138.3 (Cq Ar), 138.1 (Cq Ar), 137.6 (Cq Ar), 128.8 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.48 (CH Ar), 128.45 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 81.3 (C-2), 80.1 (C-3), 78.9 (C-4), 75.3 (CH₂Bn), 72.9 (CH₂Bn), 71.7 (CH₂Bn), 61.5 (C-5), 25.6 (CH₂ SEt), 15.0 (CH₃ SEt); **IR (neat)** (ν , cm⁻¹) = 3268 (OH), 3029 (C_{sp2}-H Ar), 2869, 1586, 1496, 1453, 1396, 1347, 1209, 1087, 1066 (C-O), 1043 (C-O), 912, 750 (CH Ar), 696 (CH Ar); **HRMS (ESI⁺)**: m/z calculated for C₂₈H₃₃NO₅S ([M+H]⁺): 496.215221, found 496.215194.

(Z)-S-ethyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-gluconimidothioate **231**

From 231: TBAF (1M in THF, 450 μL , 0.45 mmol, 1.2 equiv.) was added dropwise to a solution of crude O-silylated thiohydroximate **231** (274 mg, 0.38 mmol, 1 equiv.) in anhydrous THF (3 mL). The reaction mixture was stirred at r.t. overnight, then quenched by addition of a saturated aqueous solution of NH₄Cl (5 mL) and then diluted with EtOAc. The aqueous layer was extracted three times with EtOAc and the organic layer was washed three times with water and once with brine, dried over anhydrous MgSO₄ filtered and the solvent removed *in vacuo*. The resulting crude mixture was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 50/50) to give the desired compound **231** as a colourless oil (127 mg, **54%**).

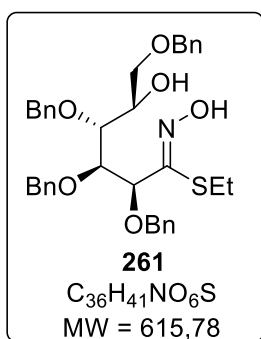
From 235: General procedure **4** was followed, using thiohydroximate (100 mg, 0.15 mmol) and 1 equiv. of sodium methoxide (3 mg of Na in MeOH (0.5 mL), 0.15 mmol) for 12h. Purification by silica gel column chromatography (PE/EtOAc : 70/30) gave the desired compound **232** as a colourless oil (81 mg, **87%**).



$R_f = 0.22$ (PE/ EtOAc : 80/20); $[\alpha]_D^{20} = +76.8$ ($c = 0.5$ in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, acetone-d₆) δ (ppm) = 10.78 (s, 1H, NOH), 7.39-7.26 (m, 20H, H_{Ar}), 5.00 (d, 1H, ²J = 10.8 Hz, CH₂Bn), 4.77 (d, 1H, ³J = 9.1 Hz, H₂), 4.74 (d, 1H, ²J = 10.9 Hz, CH₂Bn), 4.69 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, CH₂Bn), 4.63 (d, 1H, ²J = 10.8 Hz, CH₂Bn), 4.59 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂Bn), 4.53 (dd, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.51 (d, 1H, ²J = 10.6 Hz, CH₂Bn), 4.53 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, CH₂Bn), 4.46 (d, 1H, ³J(3-2) = 9.1 Hz, ³J(3-4) = 1.8 Hz, H₃), 4.14-4.07 (m, 1H, H₅), 3.98 (bs, 1H, OH), 3.78 (dd, 1H, ²J(6a-6b) = 9.9 Hz, ³J(6a-5) = 2.8 Hz, H_{6a}), 3.73-3.66 (m, 2H, H_{4,6b}), 3.35 (dq, 1H, ²J = 12.0 Hz, ³J = 7.5 Hz, CH₂S), 3.19 (dq, 1H, ²J = 12.0 Hz, ³J = 7.4 Hz, CH₂S), 1.26 (t, ³J = 7.4 Hz, CH₃ SET); **¹³C NMR** (100 MHz, acetone-d₆) δ (ppm) = 150.7 (C-1), 140.3 (Cq Ar), 140.0 (Cq Ar), 139.6 (Cq Ar), 139.3 (Cq Ar), 129.1 (CH Ar), 129.0 (CH Ar), 128.9 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 128.68 (CH Ar), 128.66 (CH Ar), 128.58 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.02 (CH Ar), 128.00 (CH Ar), 84.7 (C-2), 81.1 (C-3), 79.7 (C-4), 76.1 (CH₂Bn), 74.1 (CH₂Bn), 73.8 (CH₂Bn), 72.7 (CH₂Bn), 71.7 (C-6), 70.9 (C-5), 26.0 (CH₂S), 15.7 (CH₃ SET); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3377 (OH), 3062, 3025 (C_{sp2}-H Ar), 2922, 2861, 1666 (C=N), 1496, 1451, 1366, 1345, 1283, 1209, 1100, 1064 (C-O), 1026 (C-O), 915, 855, 729 (CH Ar), 693 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₃₆H₄₁NO₆S ([M+H]⁺): 616.272735, found 616.272171.

(Z)-S-ethyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-mannonimidothioate 261

General procedure **3** was used from 5-O-acetyloxime **259** (3.12 g, 5.22 mmol), immediately followed by general procedure **4** using 1 equiv. of sodium methoxide for 12h. Purification by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 70/30) gave the desired compound **261** as a colourless oil (2.02 g, **63%**).

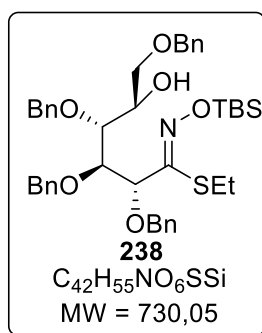


$R_f = 0.19$ (PE/ EtOAc : 80/20); $[\alpha]_D^{20} = -11.3$ ($c = 1.01$ in CHCl₃); **¹H NMR** (250 MHz, acetone-d₆) δ (ppm) = 10.66 (s, 1H, OH), 7.42-7.19 (m, 20H, H_{Ar}), 4.73 (bs, 2H, CH₂Bn), 4.64 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.63 (d, 1H, ³J(2-3) = 9.8 Hz, H₂), 4.59-4.49 (m, 3H, CH₂Bn), 4.50 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.39 (dd, 1H, ³J(3-2) = 9.7 Hz, ³J(3-4) = 1.3 Hz, H₃), 4.37 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.05-3.99 (m, 2H, H₄, H₅), 3.79 (dd, 1H, ²J(6a-6b) = 9.7 Hz, ³J(6a-5) = 2.0 Hz, H_{6a}), 3.72 (dd, 1H, ²J(6b-6a) = 9.7 Hz, ³J(6b-5) = 3.8 Hz, H_{6b}), 3.19 (q, 2H, ³J = 7.3 Hz, CH₂S), 1.23 (t, 3H, ³J = 7.3 Hz, CH₃ SET); **¹³C NMR** (62.5 MHz, acetone-d₆) δ (ppm) = 151.5 (C-1), 140.1 (Cq Ar), 140.0 (Cq Ar), 139.7 (Cq Ar), 138.9 (Cq Ar), 129.2 (CH Ar), 129.1 (CH Ar), 128.99 (CH Ar), 128.96 (CH Ar), 128.86 (CH Ar), 128.82 (CH Ar), 128.53 (CH Ar), 128.48 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 80.2 (C-2), 79.80 (C-3 or C-4), 79.76 (C-4 or C-3), 75.1 (CH₂Bn), 74.8 (CH₂Bn), 73.8 (CH₂Bn), 73.0 (C-6), 70.7 (CH₂Bn), 70.6 (C-5), 25.4

(CH₂S), 15.6 (CH₃ SEt); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3305 (OH), 3029 (C_{sp2}-H Ar), 2867, 2359, 1772, 1652 (C=N), 1496, 1453, 1393, 1209, 1088 (C-O), 1068 (C-O), 1027 (C-O), 967, 909, 733 (CH Ar), 695 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₃₆H₄₁NO₆S ([M+H]⁺): 616.272735, found 616.272155.

(Z)-S-ethyl-O-tertbutyldimethylsilyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-gluconimidothioate 238

To a solution of thiohydroximate **232** (1.56 g, 2.5 mmol, 1 equiv.) in anhydrous CH₂Cl₂ (25 mL) at 0°C, imidazole (340 mg, 5 mmol, 2 equiv.) and *tert*butyldimethylsilyl chloride (565 mg, 3.75 mmol, 1.5 equiv.) were added. After stirring at r.t. overnight, the reaction mixture was quenched by addition of water, the aqueous layer was extracted three times with dichloromethane and the combined organic layers were washed twice with water and once with brine, dried over MgSO₄ and the solvent evaporated under reduced pressure. Purification by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 95/5) gave the desired compound **238** as a colourless oil (1.65 g, 90%).



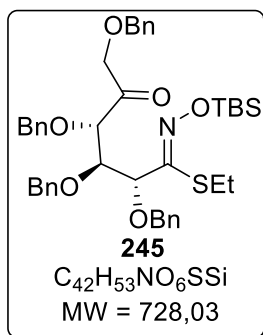
R_f = 0.37 (PE/ EtOAc: 80/20); [α]_D²⁰ = + 23.0 (*c* = 1.59 in CHCl₃); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.23-7.44 (m, 20H, H_{Ar}), 5.00 (d, 1H, ²*J* = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.86 (d, 1H, ³*J*(2-3) = 8.8 Hz, H₂), 4.76 (d, 1H, ²*J* = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.73 (d, 1H, ²*J* = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.64 (d, 1H, ²*J* = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.57 (d, 1H, ²*J* = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.55 (d, 1H, ²*J* = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.48 (d, 1H, ²*J* = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.47 (d, 1H, ²*J* = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.37 (dd, 1H, ³*J*(3-2) = 8.8 Hz, ³*J*(3-4) = 1.9 Hz, H₃), 4.11-3.96 (m, 1H, H₅), 3.69-3.56 (m, 3H, H₄, H₆), 3.26 (dq, 1H, ²*J* = 11.9 Hz, ³*J* = 7.5 Hz, CH₂S), 3.09 (dq, 1H, ²*J* = 11.9 Hz, ³*J* = 7.4 Hz, CH₂S), 2.66 (d, 1H, ³*J*(OH-5) = 6.2 Hz, OH), 1.23 (t, 3H, ³*J* = 7.5 Hz, CH₃ SEt), 1.00 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 0.20 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.18 (s, 3H, (CH₃)₂Si); **¹³C NMR** (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 156.1 (C-1), 138.6 (Cq Ar), 138.5 (Cq Ar), 138.1 (Cq Ar), 137.9 (Cq Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.31 (CH Ar), 128.25 (CH Ar), 128.17 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.73 (CH Ar), 127.67 (CH Ar), 127.5 (CH Ar), 82.6 (C-2), 79.3 (C-3), 78.2 (C-4), 75.2 (CH₂Bn), 73.7 (CH₂Bn), 73.5 (CH₂Bn), 71.3 (C-6), 71.2 (CH₂Bn), 70.1 (C-5), 26.2 ((CH₃)₃CSi), 25.5 (CH₂S), 18.3 ((CH₃)₃CSi), 15.1 (CH₃ SEt), -4.9 ((CH₃)₂Si), -5.0 ((CH₃)₂Si); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3500 (OH), 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2928, 2856, 1548 (C=N), 1496, 1470, 1250, 1089 (C-O), 1067 (C-O), 931, 835 (C-Si), 781 (CH Ar), 731 (CH Ar), 695 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₄₂H₅₆NO₆SSi ([M+H]⁺): 730.359212, found 730.358563.

General procedure 5: oxidation

To a solution of oxalyl chloride (6.5 equiv.) in anhydrous CH₂Cl₂ (0.9 M) at -78 °C, dimethylsulfoxide (13 equiv.) was added dropwise. After 15 min at -78°C, a solution of the alcohol (1 equiv.) in anhydrous CH₂Cl₂ (0.15 M) was slowly added. After 45 min, triethylamine (26 equiv.) was carefully added. The reaction was stirred 15 min at -78 °C then allowed to warm till 0°C. The reaction was quenched by addition of an aqueous saturated solution of NH₄Cl and the aqueous layer was extracted three times with dichloromethane. The combined organic layers were washed twice with water and once with brine, dried over MgSO₄. The solvent was evaporated and the crude residue was purified by silica gel column chromatography.

(Z)-S-ethyl-O-tertbutyldimethylsilyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-xylohexos-5-uloimidothioate 245

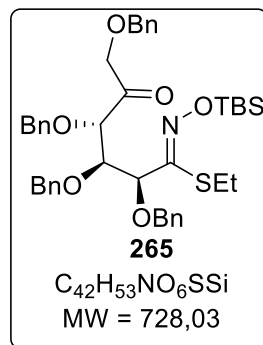
General procedure **5** was followed, using *O*-silylated thiohydroximate **238** (1.24 g, 1.7 mmol). Purification by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 90/10) gave the desired ketone **245** as a colourless oil (1.20 g, **97%**).



R_f = 0.30 (PE/ EtOAc : 80/20); $[\alpha]_D^{20}$ = +41.7 (c = 0.12 in CHCl₃); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.33-7.19 (m, 20H, H_{Ar}), 4.86 (d, 1H, 2J = 10.8 Hz, CH₂Bn), 4.79 (d, 1H, $^3J(2-3)$ = 8.6 Hz, H₂), 4.65 (d, 1H, 2J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.52 (d, 1H, 2J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.51 (d, 1H, 2J = 11.1 Hz, CH₂Bn), 4.55-4.46 (m, 1H, CH₂Bn), 4.44-4.40 (m, 1H, H₃), 4.40-4.35 (m, 4H, CH₂Bn, H_{6a}), 4.15 (d, 1H, $^2J(6b-6a)$ = 10.5 Hz, H_{6b}), 4.09 (d, 1H, $^3J(4-3)$ = 5.15 Hz, H₄), 3.19 (dq, 1H, 2J = 11.4 Hz, 3J = 7.5 Hz, CH₂S), 3.02 (dq, 1H, 2J = 11.8 Hz, 3J = 7.4 Hz, CH₂S), 1.22 (t, 3H, 3J = 7.4 Hz, CH₃_{SEt}), 0.96 (bs, 9H, (CH₃)₃CSi), 0.16 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.15 (s, 3H, (CH₃)₂Si); $^{13}\text{C NMR}$ (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 208.1 (C-5), 156.0 (C-1), 138.0 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 137.5 (Cq Ar), 137.0 (Cq Ar), 128.6 (CH Ar), 128.56 (CH Ar), 128.53 (CH Ar), 128.49 (CH Ar), 128.46 (CH Ar), 128.22 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 127.96 (CH Ar), 127.88 (CH Ar), 127.84 (CH Ar), 83.9 (C-4), 81.6 (C-2), 81.1 (C-3), 75.6 (CH₂Bn), 74.71 (CH₂Bn), 74.65 (C-6), 73.3 (CH₂Bn), 71.4 (CH₂Bn), 26.2 ((CH₃)₃CSi), 25.2 (CH₂S), 18.3 ((CH₃)₃CSi), 15.0 (CH₃ SEt), -4.94 ((CH₃)₂Si), -4.95 ((CH₃)₂Si); IR (neat) (ν , cm⁻¹) = 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2928, 2856, 1754 (C=O), 1496, 1454, 1361, 1252, 1208, 1071 (C-O), 1027 (C-O), 936, 836 (C-Si), 733 (CH Ar), 695 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for C₄₂H₅₄NO₆SSi ([M+H]⁺): 728.343562, found 728.343217.

(Z)-S-ethyl-O-tertbutyldimethylsilyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-lyxohexos-5-uloimidothioate 265

To a solution of thiohydroximate **261** (1.431 g, 2.32 mmol, 1 equiv.) in anhydrous CH₂Cl₂ (30 mL, 0.1 M) at 0°C, imidazole (313 mg, 4.60 mmol, 2 equiv.) and *tert*butyldimethylsilyl chloride (525 mg, 3.48 mmol, 1.5 equiv.) were added. After stirring at r.t. overnight, the reaction mixture was quenched by addition of water, the aqueous layer was extracted three times with dichloromethane and the combined organic layers were washed twice with water and brine, dried over MgSO₄ and the solvent evaporated under reduced pressure. The resulting crude *O*-silylated thiohydroximate **262** was oxidised following general procedure **5**. Purification by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 90/10) gave the desired compound **265** as a colourless oil (1.49 g, 89%, 2 steps).



R_f = 0.22 (PE/ EtOAc : 80/20); $[\alpha]_D^{20}$ = -22.8 (c = 1.6 in CHCl₃); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.36-7.15 (m, 20H, H_{Ar}), 4.66-4.58 (m, 3H, CH₂Bn, H₂), 4.44 (d, 1H, 2J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.42-4.28 (m, 7H, CH₂Bn, H₃, H₄), 4.28 (d, 1H, $^2J(6a-6b)$ = 18.3 Hz, H_{6a}), 4.17 (d, 1H, $^2J(6b-6a)$ = 18.4 Hz, H_{6b}), 3.18-3.03 (m, 2H, CH₂S), 1.24 (t, 3H, 3J = 7.5 Hz, CH₃_{SEt}), 1.00 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 0.23 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.22 (s, 3H, (CH₃)₂Si); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl₃) δ

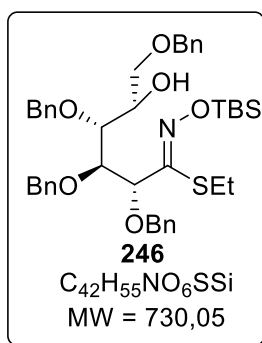
(ppm): 208.8 (C-5), 155.7 (C-1), 137.6 (Cq Ar), 137.4 (Cq Ar), 137.3 (Cq Ar), 137.1 (Cq Ar), 128.56 (CH Ar), 128.55 (CH Ar), 128.48 (CH Ar), 128.46 (CH Ar), 128.34 (CH Ar), 128.28 (CH Ar), 128.22 (CH Ar), 128.20 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.94 (CH Ar), 127.89 (CH Ar), 127.83 (CH Ar), 84.5 (C-3 or C-4), 80.9 (C-3 or C-4), 78.6 (C-2), 75.0 (CH₂Bn), 74.8 (C-6), 74.5 (CH₂Bn), 73.3 (CH₂Bn), 70.4 (CH₂Bn), 26.2 ((CH₃)₃CSi), 25.0 (CH₂S), 18.3 ((CH₃)₃CSi), 15.1 (CH₃ SEt), -5.0 ((CH₃)₂Si); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2928, 2857, 1730 (C=O), 1496, 1454, 1391, 1250, 1216, 1073 (C-O), 936, 836 (C-Si), 749 (CH Ar), 695 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₄₂H₅₄NO₆SSi ([M+H]⁺): 728.343562, found 728.342386.

General procedure 6: reduction

To a suspension of zinc chloride (4 equiv.) in anhydrous THF (0.15 M) was added sodium borohydride (8 equiv.) at 0°C and the reaction mixture was stirred at r.t. overnight. To it, at 0°C, a solution of the ketone (1 equiv.) in dry THF (0.15 M) was added dropwise and the mixture was kept stirring during 1h at 0°C. The reaction was quenched by addition of a saturated aqueous solution of NH₄Cl, which was then extracted three times with CH₂Cl₂. The combined organic layers were washed twice with water and once with brine, dried over MgSO₄, filtered and the solvent evaporated under reduced pressure. The crude compound was purified by silica gel column chromatography.

(Z)-S-ethyl-O-tertbutyldimethylsilyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-idonimidothioate 246

General procedure 6 was followed, using ketone **245** (120 mg, 0.16 mmol). Purification by silica gel column chromatography (PE/Et₂O: 1/1) gave the desired compound **246** as a colourless oil (87 mg, **74%**) along with the D-gluco diastereoisomer **238** (24 mg, **21%**).



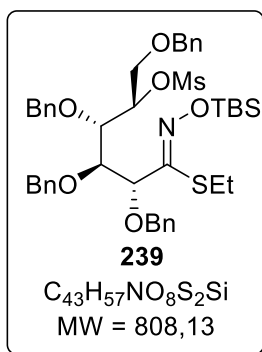
$R_f = 0.22$ (PE/Et₂O : 80/20); $[\alpha]_D^{20} = +26.1$ ($c = 0.96$ in CHCl₃); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.38-7.19 (m, 20H, H_{Ar}), 4.86 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂Bn), 4.72 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂Bn), 4.71 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.69 (d, 1H, ³J(2-3) = 6.6 Hz, H₂), 4.65 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂Bn), 4.52 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.46 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.45 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.40 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.09 (dd, 1H, ³J(3-2) = 6.4 Hz, ³J(3-4) = 4.7 Hz, H₃), 3.95-3.83 (m, 1H, H₅), 3.77 (t, 1H, ³J(4-3) = ³J(4-5) = 4.2 Hz, H₄), 3.40-3.36 (m, 2H, H_{6a}, H_{6b}), 3.18-2.99 (m, 2H, CH₂S), 2.67 (d, 1H, ³J(OH-5) = 5.0 Hz, OH), 1.15 (t, 3H, ³J = 7.4 Hz, CH₃ SEt), 0.97 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 0.18 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.16 (s, 3H, (CH₃)₂Si); **¹³C NMR** (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 156.0 (C-1), 138.5 (Cq Ar), 138.4 (Cq Ar), 138.1 (Cq Ar), 137.5 (Cq Ar), 128.42 (CH Ar), 128.37 (CH Ar), 128.31 (CH Ar), 128.26 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 127.6 (CH Ar), 81.1 (C-2), 80.5 (C-3), 78.6 (C-4), 77.2 (CH₂Bn), 74.8 (CH₂Bn), 73.3 (CH₂Bn), 71.4 (CH₂Bn), 71.3 (C-6), 70.5 (C-5), 26.2 ((CH₃)₃CSi), 25.4 (CH₂S), 18.2 ((CH₃)₃CSi), 14.9 (CH₃ SEt), -5.0 ((CH₃)₂Si); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3430 (OH), 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2927, 2856, 2361, 1754 (C=N), 1496, 1471, 1453, 1361, 1250, 1208, 1088 (C-O), 1068 (C-O), 933, 835 (C-Si), 730 (CH Ar), 695 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₄₂H₅₆NO₆SSi ([M+H]⁺): 730.359212, found 730.359297.

General procedure 7: mesylation

Triethylamine (1.1 equiv.) and methanesulfonylchloride (1.1 equiv.) were added at 0°C to a solution of alcohol (1 equiv.) in CH₂Cl₂ (0.15 M). The mixture was stirred 1h at r.t., the organic layer was washed with water and brine, dried over MgSO₄, filtered and the solvent evaporated under reduced pressure. The crude compound was purified by silica gel column chromatography.

(Z)-S-ethyl-O-tertbutyldimethylsilyl-5-O-methanesulfonyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-gluconimidothioate 239

General procedure 7 was followed, using thiohydroximate **238** (515 mg, 0.70 mmol). Purification by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 95/5) gave the desired compound **239** as a colourless oil (553 mg, **97%**).

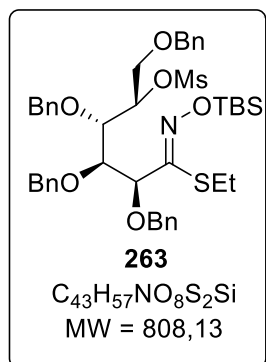


$R_f = 0.21$ (PE/ EtOAc : 80/20); $[\alpha]_D^{20} = +34.7$ ($c = 0.72$ in CHCl₃); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.34-7.24 (m, 20H, H_{Ar}), 4.97 (d, 1H, ²J = 10.8 Hz, CH₂Bn), 4.93-4.86 (m, 1H, H₅), 4.78 (d, 1H, ³J(2-3) = 8.8 Hz, H₂), 4.71 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.69 (d, 1H, ²J = 10.7 Hz, CH₂Bn), 4.64-4.51 (m, 3H, CH₂Bn), 4.44 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.38 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂Bn), 4.22 (dd, 1H, ³J(3-2) = 8.6 Hz, ³J(3-4) = 2.4 Hz, H₃), 3.99-3.90 (m, 2H, H₄, H_{6a}), 3.69 (dd, 1H, ²J(6b-6a) = 11.0 Hz, ³J(6b-5) = 7.4 Hz, H_{6b}), 3.23 (dq, 1H, ²J = 11.0 Hz, ³J = 7.4 Hz, CH₂S), 3.07 (dq, 1H, ²J = 11.0 Hz, ³J = 7.5 Hz, CH₂S), 2.89 (s, 3H, CH₃ Ms), 1.21 (t, ³J = 7.4 Hz, CH₃ SET), 0.96 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 0.15 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.13 (s, 3H, (CH₃)₂Si); **¹³C NMR** (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 155.8 (C-1), 138.4 (Cq Ar), 137.9 (Cq Ar), 137.75 (Cq Ar), 137.73 (Cq Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 127.92 (CH Ar), 127.86 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 83.2 (C-5), 82.5 (C-2), 79.6 (C-3 or C-4), 79.3 (C-4 or C-3), 75.4 (CH₂Bn), 74.6 (CH₂Bn), 73.5 (CH₂Bn), 71.3 (CH₂Bn), 69.4 (C-6), 38.7 (CH₃ Ms), 26.1 ((CH₃)₃CSi), 25.7 (CH₂S), 18.3 ((CH₃)₃CSi), 15.1 (CH₃ SET), -5.0 ((CH₃)₂Si), -5.0 ((CH₃)₂Si); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2868, 1753, 1674, 1496, 1453, 1355 (O-SO₂), 1208, 1173, 1071 (C-O), 1029 (C-O), 911, 835 (C-Si), 734 (CH Ar), 695 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₄₃H₅₈NO₈S₂Si ([M+H]⁺): 808.336763, found 808.336929.

(Z)-S-ethyl-O-tertbutyldimethylsilyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-5-O-methanesulfonyl-D-mannonimidothioate 263

To a solution of thiohydroximate **261** (530 mg, 0.86 mmol, 1 equiv.) in anhydrous CH₂Cl₂ (9 mL, 0.1 M) at 0°C, imidazole (117 mg, 1.72 mmol, 2 equiv.) and *tert*butyldimethylsilyl chloride (194 mg, 1.29 mmol, 1.5 equiv.) were added. After stirring at r.t. overnight, the reaction mixture was quenched by addition of water, the aqueous layer was extracted three times with dichloromethane and the combined organic layers were washed twice with water and brine, dried over MgSO₄, the solvent evaporated under reduced pressure. The resulting crude *O*-silylated thiohydroximate was mesylated using general procedure 7 to give, after purification by silica gel column chromatography

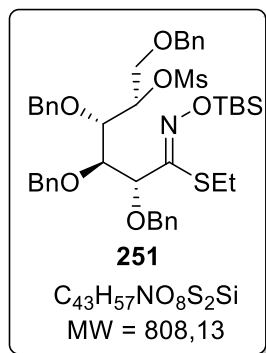
(PE/EtOAc: 95/5), the desired compound **263** as a colourless oil (347 mg, **50%** over two steps) along with the desilylated compound (126 mg, **20%**).



$R_f = 0.22$ (EP/ EtOAc: 80/20); $[\alpha]_D^{20} = -15.4$ ($c = 1.27$ in CHCl₃); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.37-7.18 (m, 20H, H_{Ar}), 5.13-5.05 (m, 1H, H₅), 4.71 (d, 1H, $^2J = 10.3$ Hz, CH₂Bn), 4.68 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, CH₂Bn), 4.62 (d, 1H, $^2J = 10.4$ Hz, CH₂Bn), 4.61 (d, 1H, $^2J = 11.6$ Hz, CH₂Bn), 4.60-4.53 (m, 1H, H₂), 4.52-4.44 (m, 2H, CH₂Bn), 4.40 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH₂Bn), 4.28 (d, 1H, $^2J = 11.1$ Hz, CH₂Bn), 4.20 (t, 1H, $^3J(4-3) = ^3J(4-2) = 3.7$ Hz, H₄), 4.08 (dd, 1H, $^3J(3-2) = 9.1$ Hz, $^3J(3-4) = 3.6$ Hz, H₃), 3.93 (dd, 1H, $^2J(6a-6b) = 11.3$ Hz, $^3J(6a-5) = 2.6$ Hz, H_{6a}), 3.78 (dd, 1H, $^2J(6b-6a) = 11.3$ Hz, $^3J(6b-5) = 7.2$ Hz, H_{6b}), 3.16-2.94 (m, 2H, CH₂S), 2.91 (s, 3H, CH₃ Ms), 1.23 (t, 3H, $^3J = 7.5$ Hz, CH₃ SEt), 1.00 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 0.24 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.23 (s, 3H, (CH₃)₂Si); $^{13}\text{C NMR}$ (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 156.1 (C-1), 138.1 (Cq Ar), 138.0 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 137.3 (Cq Ar), 128.6 (CH Ar), 128.54 (CH Ar), 128.52 (CH Ar), 128.45 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.81 (CH Ar), 127.77 (CH Ar), 83.0 (C-5), 80.3 (C-4), 79.34 (C-2 or C-3), 79.27 (C-3 or C-2), 74.9 (CH₂Bn), 74.5 (CH₂Bn), 73.4 (CH₂Bn), 70.6 (CH₂Bn), 69.3 (C-6), 38.7 (CH₃ Ms), 26.2 ((CH₃)₃CSi), 25.1 (CH₂S), 18.3 ((CH₃)₃CSi), 15.1 (CH₃ SEt), -5.0 ((CH₃)₂Si); IR (neat) (ν , cm⁻¹) = 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2930, 2869, 2358, 1670 (C=N), 1496, 1453, 1353 (O-SO₂), 1213, 1173, 1072 (C-O), 968, 911, 837 (C-Si), 737 (CH Ar), 695 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for C₄₃H₅₈NO₈S₂Si ([M+H]⁺): 808.336763, found 808.336127.

(Z)-S-ethyl-O-tertbutyldimethylsilyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-5-O-methanesulfonyl-L-tyrosinimidothioate **251**

General procedure **7** was followed, using alcohol **246** (883 mg, 1.21 mmol). Purification by silica gel column chromatography (PE/Et₂O: 95/5) gave the desired compound as a colourless oil (878 mg, **90%**).

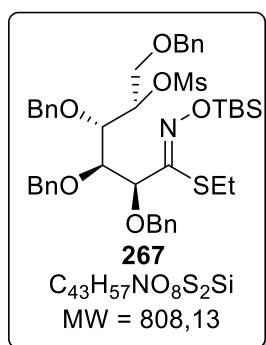


$R_f = 0.32$ (PE/ Et₂O : 80/20); $[\alpha]_D^{20} = +9.5$ ($c = 0.81$ in CHCl₃); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.40-7.22 (m, 20H, H_{Ar}), 4.96 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, CH₂Bn), 4.91-4.79 (m, 1H, H₅), 4.83 (d, 1H, $^3J(2-3) = 7.8$ Hz, H₂), 4.75-4.65 (m, 2H, CH₂Bn), 4.61 (d, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, CH₂Bn), 4.59 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, CH₂Bn), 4.50 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, CH₂Bn), 4.40 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂Bn), 4.33 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂Bn), 4.15 (dd, 1H, $^3J(3-2) = 7.8$ Hz, $^3J(3-4) = 2.6$ Hz, H₃), 3.91 (dd, 1H, $^3J(4-5) = 7.1$ Hz, $^3J(4-3) = 2.6$ Hz, H₄), 3.71 (dd, 1H, $^2J(6a-6b) = 11.5$ Hz, $^3J(6a-5) = 2.5$ Hz, H_{6a}), 3.50 (dd, 1H, $^2J(6b-6a) = 11.5$ Hz, $^3J(6b-5) = 6.3$ Hz, H_{6b}), 3.30-3.03 (m, 2H, CH₂S), 2.88 (s, 3H, CH₃ Ms), 1.22 (t, 3H, $^3J = 7.5$ Hz, CH₃ SEt), 0.99 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 0.19 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.17 (s, 3H, (CH₃)₂Si); $^{13}\text{C NMR}$ (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 155.8 (C-1), 138.3 (Cq Ar), 138.0 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 137.6 (Cq Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 82.6 (C-2 or C-5), 82.2 (C-5 or C-2), 78.5 (C-3), 77.7 (C-4), 74.9 (CH₂ Bn), 74.7 (CH₂ Bn), 73.4 (CH₂ Bn), 71.4 (CH₂ Bn), 69.4 (C-6), 38.3 (CH₃ Ms), 26.2 ((CH₃)₃CSi), 25.9 (CH₂S), 18.3 ((CH₃)₃CSi), 15.1 (CH₃ SEt), -5.0 ((CH₃)₂Si). IR (neat) (ν , cm⁻¹) = 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2930, 2865, 2361,

1734 (C=N), 1496, 1453, 1354 (O-SO₂), 1249, 1208, 1173, 1089 (C-O), 1028 (C-O), 967, 912, 835 (C-Si), 734 (CH Ar), 696 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₄₃H₅₈NO₈S₂Si ([M+H]⁺): 808.336763, found 808.336597.

(Z)-S-ethyl-O-tertbutyldimethylsilyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-5-O-methanesulfonyl-L-gulonimidothioate **267**

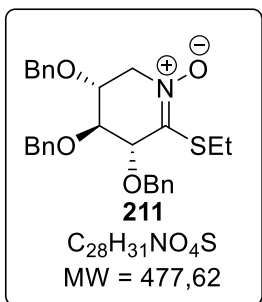
General procedure **6** was followed using ketone **265** (400 mg, 0.55 mmol) to give the desired compound **266** contaminated by 10% of the diastereoisomer (ratio determined by ¹H NMR of the crude reaction mixture). The crude product was immediately used following general procedure **7**. Purification by silica gel column chromatography (PE/ Et₂O: 95/5) gave the desired compound **267** as a colourless oil (231 mg, **52%**) along with diastereoisomer **263** (21 mg, **5%**).



$R_f = 0.32$ (EP/ Et₂O : 80/20); $[\alpha]_D^{20} = -1.9$ ($c = 0.94$ in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.39-7.21 (m, 20H, H_{Ar}), 4.94-4.89 (m, 1H, H₅), 4.69 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂Bn), 4.63 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.59 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂Bn), 4.56 (d, 1H, ³J(2-3) = 8.6 Hz, H₂), 4.48 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, CH₂Bn), 4.46-4.43 (m, 1H, CH₂Bn), 4.44 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂Bn), 4.36 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.24 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.09 (dd, 1H, ³J(4-5) = 6.9 Hz, ³J(4-3) = 2.8 Hz, H₄), 4.01 (dd, 1H, ³J(3-2) = 8.6 Hz, ³J(4-3) = 2.8 Hz, H₃), 3.71 (dd, 1H, ²J(6a-6b) = 11.5 Hz, ³J(6a-5) = 2.7 Hz, H_{6a}), 3.55 (dd, 1H, ²J(6b-6a) = 11.5 Hz, ³J(6b-5) = 6.0 Hz, H_{6b}), 3.05-3.20 (m, 2H, CH₂S), 2.93 (s, 3H, CH₃ Ms), 1.23 (t, 3H, ³J = 7.5 Hz, CH₃ SEt), 0.91, 0.87 (sx2, 9H, (CH₃)₃CSi), 0.13 (s, 3H, (CH₃)₂Si), 0.06 (s, 3H, (CH₃)₂Si); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 154.3 (C-1), 137.9 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 137.6 (Cq Ar), 137.0 (Cq Ar), 128.59 (CH Ar), 128.56 (CH Ar), 128.50 (CH Ar), 128.48 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.95 (CH Ar), 127.92 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 82.1 (C-5), 79.2 (C-2), 78.1 (C-3), 77.6 (C-4), 75.0 (CH₂Bn), 73.9 (CH₂Bn), 73.4 (CH₂Bn), 70.9 (CH₂Bn), 69.3 (C-6), 38.4 (CH₃ Ms), 25.82 ((CH₃)₃CSi), 25.77 ((CH₃)₃CSi), 25.4 (CH₂S), 18.3 ((CH₃)₃CSi), 15.0 (CH₃ SEt), -2.8 ((CH₃)₂Si), -3.5 ((CH₃)₂Si); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2928, 2856, 1556 (C=N), 1496, 1454, 1358 (Ms), 1250, 1174, 1071 (C-O), 925, 835 (C-Si), 783 (CH Ar), 734 (CH Ar), 695 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₄₃H₅₈NO₈S₂Si ([M+H]⁺): 808.336763, found 808.336716.

S-ethyl-2,3,4-tri-O-benzyl-5-deoxy-D-xylono-1,5-imidothioate N-oxide **211**

To a solution of thiohydroximate **206** (2.27 g, 4.56 mmol, 1 equiv.) and tricyclohexylphosphine (1.92 g, 6.84 mmol, 1.5 equiv.) in anhydrous THF (30 mL, 0.05M) was slowly added DIAD (2.7 mL, 13.67 mmol, 3 equiv.) using a syringe pump within 30 min. After stirring at r.t. for 3h, silica was directly added into the reaction mixture, the solvent was evaporated under reduced pressure and the crude residue was purified by column chromatography on silica gel (PE/EtOAc: 50/50). The desired compound **211** was obtained as a white solid (1.68 g, **77%**)



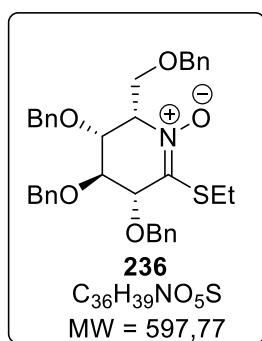
$R_f = 0.50$ (EtOAc); **m.p.** 91.1-91.5°C; $[\alpha]_D^{20} = +5.0$ ($c = 0.96$ in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.38-7.25 (m, 15H, H_{Ar}), 4.70 (d, 1H, $^2J = 11.8$ Hz, CH₂Bn), 4.63 (d, 1H, $^2J = 11.8$ Hz, CH₂Bn), 4.62 (d, 1H, $^2J = 11.8$ Hz, CH₂Bn), 4.58 (d, 1H, $^2J = 11.8$ Hz, CH₂Bn), 4.55-4.49 (m, 2H, CH₂Bn), 4.42 (d, 1H, $^3J(2-3) = 3.0$ Hz, H₂), 4.14 (dd, 1H, $^2J = 14.6$ Hz, $^3J(5a-4) = 4.9$ Hz, H_{5a}), 4.09-4.01 (m, 2H, H_{5b}, H₃), 3.97-3.92 (m, 1H, H₄), 2.95 (dq, 1H, $^2J = 11.9$ Hz, $^3J = 7.5$ Hz, CH₂S), 2.82 (dq, 1H, $^2J = 11.9$ Hz, $^3J = 7.4$ Hz, CH₂S), 1.25 (t, 3H, $^3J = 7.5$ Hz, CH₃ SEt); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 143.2 (C-1), 137.2 (Cq Ar), 137.3 (Cq Ar), 137.1 (Cq Ar), 128.8 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.22 (CH Ar), 128.20 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 76.7 (C-2), 76.3 (C-4), 74.2 (C-3), 73.1 (CH₂Bn), 72.3 (CH₂Bn), 70.9 (CH₂Bn), 60.0 (C-5), 24.0 (CH₂S), 14.5 (CH₃ SEt); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3029 (C_{sp2}-H Ar), 2928, 2358 (N⁺-O), 1729, 1559 (C=N), 1496, 1452, 1371, 1225, 1206 (N-O), 1147, 1101, 1056 (C-O), 1026 (C-O), 903, 732 (CH Ar), 695 (CH Ar), 633 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₂₈H₃₂NO₄S ([M+H]⁺): 478.204656, found 478.204761.

General procedure 8: desilylative intramolecular cyclisation

To a boiling suspension of the mesylated compound and molecular sieves in anhydrous solvent (acetonitrile or dioxane, 0.1 M) was added tetrabutylammonium difluorotriphenylsilicate (1.1 equiv.). After stirring at reflux until TLC showed complete consumption of the starting material, silica was added to the reaction mixture, the solvent was evaporated under pressure and the compound was purified by silica gel column chromatography.

S-ethyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-5-deoxy-L-idono-1,5-imidothioate N-oxide 236

General procedure **8** was followed, using 5-O-mesylated thiohydroximate **239** (98 mg, 0.12 mmol) in acetonitrile. After 4h, the reaction was complete and purification by silica gel column chromatography (PE/EtOAc : 30/70) gave the desired compound as a waxy white solid (67 mg, **93%**).

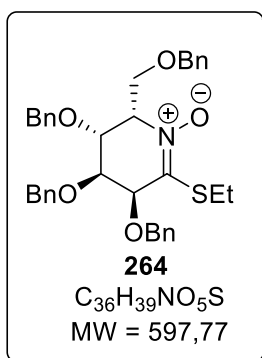


$R_f = 0.33$ (EtOAc); $[\alpha]_D^{20} = -26.1$ ($c = 1.38$ in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.38-7.02 (m, 20H, H_{Ar}), 4.86 (d, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, CH₂Bn), 4.76 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH₂Bn), 4.75 (d, 1H, $^2J = 11.4$ Hz, CH₂Bn), 4.65 (d, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, CH₂Bn), 4.66-4.52 (m, 2H, H₅, H₂), 4.60 (d, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, CH₂Bn), 4.49 (d, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, CH₂Bn), 4.35 (d, 1H, $^2J = 11.1$ Hz, CH₂Bn), 4.22 (d, 1H, $^2J = 11.1$ Hz, CH₂Bn), 4.20 (dd, 1H, $^2J(6a-6b) = 9.6$ Hz, $^3J(6a-5) = 3.6$ Hz, H_{6a}), 4.15-4.06 (m, 2H, H₃, H_{6b}), 3.99 (dd, 1H, $^3J(4-5) = 9.3$ Hz, $^3J(4-3) = 5.8$ Hz, H₄), 3.09 (dq, 1H, $^2J = 12.2$ Hz, $^3J = 7.6$ Hz, CH₂S), 2.97 (dq, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, $^3J = 7.5$ Hz, CH₂S), 1.23 (t, 3H, $^3J = 7.5$ Hz, CH₃ SEt); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 146.7 (C-1), 138.0 (Cq Ar), 137.5 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 137.4 (Cq Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.15 (CH Ar), 128.14 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.96 (CH Ar), 127.91 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 78.8 (C-2), 75.4 (C-5), 74.9 (C-4), 74.1 (CH₂Bn), 73.7 (CH₂Bn), 73.6 (CH₂Bn), 69.6 (C-3), 68.6 (CH₂Bn), 66.4 (C-6), 24.1 (CH₂S), 14.3 (CH₃ SEt); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3029 (C_{sp2}-H Ar), 2868, 1538 (C=N), 1496, 1453, 4356, 1208 (N-O), 1173, 1090 (C-O), 1026 (C-

O), 909, 788 (CH Ar), 733 (CH Ar), 695 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₃₆H₄₀NO₅S ([M+H]⁺): 598.262171, found 598.262003.

S-ethyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-5-deoxy-L-gulono-1,5-imidothioate N-oxide **264**

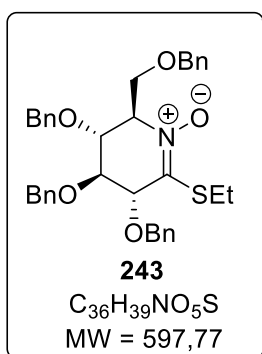
General procedure **8** was followed, using 5-O-mesylated thiohydroximate **263** (144 mg, 0.18 mmol) in acetonitrile. After stirring 1h at reflux, the reaction was complete and silica gel column chromatography (PE/EtOAc : 70/30) gave the desired compound **264** as a colourless oil (92 mg, **85%**).



R_f = 0.33 (PE/EtOAc : 70/30); **[α]_D²⁰** = - 36.6 (*c* = 1.9 in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.35-7.25 (m, 20H, H_{Ar}), 4.98 (d, 1H, ²*J* = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.82 (d, 1H, ²*J* = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.79 (d, 1H, ²*J* = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.67 (d, 1H, ²*J* = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.65 (d, 1H, ²*J* = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.62 (d, 1H, ²*J* = 11.5 Hz, CH₂Bn), 4.53 (d, 1H, ²*J* = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.48 (d, 1H, ²*J* = 11.5 Hz, CH₂Bn), 4.49-4.44 (m, 1H, H₃), 4.44-4.38 (m, 1H, H₄), 4.32 (d, 1H, ³*J*(2-3) = 3.7 Hz, H₂), 4.23-4.09 (m, 3H, H_{6a}, H_{6b}, H₅), 2.87 (dq, 1H, ²*J* = 11.9 Hz, ³*J* = 7.5 Hz, CH₂S), 2.73 (dq, 1H, ²*J* = 11.9 Hz, ³*J* = 7.5 Hz, CH₂S), 1.17 (t, 3H, ³*J* = 7.5 Hz, CH₃ SEt); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 145.3 (C-1), 138.3 (C_q Ar), 138.26 (C_q Ar), 138.1 (C_q Ar), 138.0 (C_q Ar), 128.62 (CH Ar), 128.59 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.03 (CH Ar), 128.00 (CH Ar), 127.97 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 76.5 (C-3), 74.2 (CH₂Bn), 73.9 (CH₂Bn), 73.8 (CH₂Bn), 73.7 (CH₂Bn), 73.5 (C-4), 73.0 (C-2), 70.5 (C-5), 66.3 (C-6), 24.0 (CH₂S), 14.5 (CH₃ SEt); **IR** (neat) (ν, cm⁻¹) = 3029 (C_{sp2}-H Ar), 2928, 2870, 1548 (C=N), 1496, 1453, 1364, 1321, 1209 (N-O), 1106 (C-O), 1025 (C-O), 908, 790 (CH Ar), 733 (CH Ar), 695 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₃₆H₄₀NO₅S ([M+H]⁺): 598.262171, found 598.262112.

S-ethyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-5-deoxy-D-glucono-1,5-imidothioate N-oxide **243**

General procedure **8** was followed, using 5-O-mesylated thiohydroximate **251** (157 mg, 0.194 mmol) in dioxane. After stirring 1h at reflux, the reaction was complete and purification by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 70/30) gave the desired compound **243** as a waxy white solid (98 mg, **84%**).

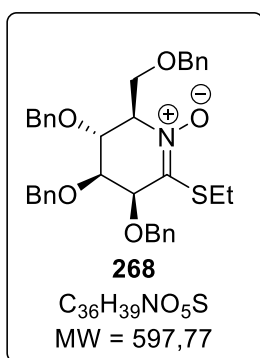


R_f = 0.16 (PE/EtOAc: 70/30); **[α]_D²⁰** = +62.1 (*c* = 1.04 in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.45-7.12 (m, 20H, H_{Ar}), 4.79-4.74 (m, 1H, CH₂Bn), 4.75 (d, 1H, ²*J* = 11.5 Hz, CH₂Bn), 4.71 (d, 1H, ²*J* = 12.0 Hz, CH₂Bn), 4.69 (d, 1H, ²*J* = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.68-4.63 (m, 1H, CH₂Bn), 4.63 (d, 1H, ²*J* = 10.8 Hz, CH₂Bn), 4.58 (d, 1H, ²*J* = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.57 (d, 1H, ²*J* = 12.0 Hz, CH₂Bn), 4.44 (d, 1H, ²*J* = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.48-4.44 (m, 1H, H₂), 4.33 (dd, 1H, ²*J*(6a-6b) = 9.8 Hz, ³*J*(6a-5) = 4.2 Hz, H_{6a}), 4.20 (t, 1H, ³*J*(4-3) = ³*J*(4-5) = 7.5 Hz, H₄), 4.08-3.94 (m, 2H, H₃, H₅), 3.86 (dd, 1H, ²*J*(6b-6a) = 9.8 Hz, ³*J*(6b-5) = 2.9 Hz,

H_{6b}), 3.27-3.16 (m, 1H, CH₂S), 2.83 (dq, 1H, ²J = 12.2 Hz, ³J = 7.4 Hz, CH₂S), 1.21 (t, 3H, ³J = 7.4 Hz, CH₃_{SEt}); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 144.0 (C-1), 138.1 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 137.3 (Cq Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.20 (CH Ar), 128.15 (CH Ar), 128.11 (CH Ar), 128.09 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 79.0 (C-5), 77.8 (C-2), 74.3 (CH₂Bn), 74.0 (CH₂Bn), 73.6 (C-4), 73.4 (CH₂Bn), 72.2 (CH₂Bn), 71.8 (C-3), 65.8 (C-6), 24.3 (CH₂S), 14.9 (CH₃ SEt); IR (neat) (ν, cm⁻¹) = 3029 (C_{sp2}-H Ar), 2930, 2868, 2359, 1678 (C=N), 1496, 1452, 1361, 1207 (N-O), 1173, 1095 (C-O), 1058 (C-O), 1026, 905, 787 (CH Ar), 733 (CH Ar), 694 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for C₃₆H₄₀NO₅S ([M+H]⁺): 598.262171, found 598.262241.

S-ethyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-5-deoxy-D-mannono-1,5-imidothioate N-oxide 268

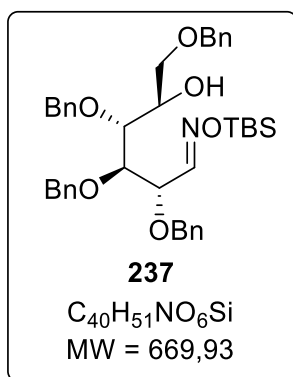
General procedure **8** was followed, using 5-O-mesylated thiohydroximate **267** (139 mg, 0.17 mmol) in dioxane. After stirring 30 min at reflux, the reaction was complete and silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 70/30 to 0/100) gave the desired compound **268** as a waxy white solid (65 mg, 63%).



*R*_f = 0.43 (EtOAc); [α]_D²⁰ = -10.8 (c = 0.78 in CHCl₃); ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.38-7.17 (m, 20H, H_{Ar}), 4.96 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.84 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.83 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂Bn), 4.72 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.70 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.68-4.49 (m, 3H, CH₂Bn, H₄), 4.54 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂Bn), 4.40-4.30 (m, 3H, CH₂Bn, H₂, H_{6a}), 3.88-3.82 (m, 2H, H₃, H₅), 3.74 (dd, 1H, ²J(6b-6a) = 10.2 Hz, ³J(6b-5) = 2.5 Hz, H_{6b}), 2.85-2.60 (m, 2H, CH₂S), 1.16 (t, 3H, ³J = 7.4 Hz, CH₃ SEt); ¹³C NMR (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 143.9 (C-1), 138.2 (Cq Ar), 138.0 (Cq Ar), 138.97 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 128.6 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 127.5 (CH Ar), 127.4 (CH Ar), 80.1 (C-5), 74.8 (CH₂Bn), 74.3 (C-3), 73.4 (CH₂Bn), 73.2 (C-4), 73.1 (CH₂Bn), 73.0 (CH₂Bn), 71.7 (C-2), 66.4 (C-6), 24.3 (CH₂S), 14.6 (CH₃ SEt); IR (neat) (ν, cm⁻¹) = 3029 (C_{sp2}-H Ar), 2928, 2868, 1545 (C=N), 1496, 1453, 1361, 1307, 1210 (N-O), 1099 (C-O), 1025 (C-O), 907, 794 (CH Ar), 732 (CH Ar), 694 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for C₃₆H₄₀NO₅S ([M+H]⁺): 598.262171, found 598.261992.

(E,Z) 2,3,4-tri-O-benzyl-D-glucose O-(tertbutyldimethylsilyl) oxime 237

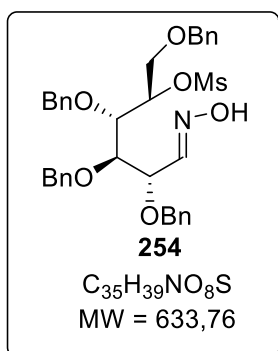
Imidazole (5.04 g, 74 mmol, 2 equiv.) and TBDMSCl (8.4 g, 55 mmol, 1.5 equiv.) were added to a solution of unprotected oxime (20 g, 37 mmol, 1 equiv.) in anhydrous dichloromethane (300 mL) at 0°C. The reaction was stirred overnight at r.t. and then quenched by addition of water. The aqueous layer was extracted three times with dichloromethane. The combined organic layers were washed three times with water (3 x 100 mL) and once with brine (100 mL), dried over anhydrous MgSO₄, filtered and the solvent removed *in vacuo*. The crude silylated oxime was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 95/5) to provide a mixture of *E/Z* diastereoisomers (*E/Z* = 85/15) as colourless oil (18.6 g, 75%).



$R_f = 0.20$ (PE/EtOAc : 95/5); $[\alpha]_D^{20} = +26.8$ ($c = 1.1$ in $CHCl_3$); 1H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 7.59 (d, $^3J(1-2) = 8.0$ Hz, 1H, H_{1E}), 7.40 – 7.19 (m, 23H, H_{Ar}), 7.15 (d, 0.15H, $^3J(1-2) = 6.5$ Hz, H_{1Z}), 5.17 (dd, 0.15H, $^3J(2-1) = 6.6$ Hz, $^3J(2-3) = 4.7$ Hz, H_{2Z}), 4.92 – 4.43 (m, 10.6H, CH_2Bn_{E+Z}), 4.06 – 3.99 (m, 1H, H_{5E+Z}), 3.96 (dd, 1H, $^3J(3-2) = 7.0$ Hz, $^3J(3-4) = 3.2$ Hz, H_{3E}), 3.87 (dd, 0.15H, $^3J(3-4) = 6.6$ Hz, $^3J(3-2) = 4.7$ Hz, H_{3Z}), 3.77 (dd, 1H, $^3J(4-5) = 7.5$ Hz, $^3J(4-3) = 3.2$ Hz, H_{4E}), 3.66 – 3.55 (m, 2H, $H_{6a6bZ+E}$), 2.82 (d, 0.15H, $^2J(OH-5) = 4.6$ Hz, OH_Z), 2.73 (d, 1H, $^2J(OH-5) = 5.6$ Hz, OH_E), 1.00, 0.94 (bs x 2, 10.4H, $(CH_3)_3CSi_{E+Z}$), 0.21 – 0.15 (m, 7H, $(CH_3)_2Si_{E+Z}$); ^{13}C NMR (62.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 154.8 (C-1 $_Z$), 153.3 (C-1 $_E$), 138.2 (Cq Ar $_E$), 138.11 (Cq Ar $_E$), 138.06 (Cq Ar $_E$), 137.8 (Cq Ar $_E$), 128.5 (CH Ar $_E$), 128.43 (CH Ar $_E$), 128.37 (CH Ar $_E$), 128.3 (CH Ar $_E$), 128.1 (CH Ar $_E$), 128.0 (CH Ar $_E$), 127.9 (CH Ar $_E$), 127.8 (CH Ar $_E$), 127.6 (CH Ar $_E$), 79.5 (C-3 $_E$), 77.8 (C-4 $_E$), 76.9 (C-2 $_E$), 74.5 (CH $_2Bn_E$), 73.6 (CH $_2Bn_E$), 73.4 (CH $_2Bn_E$), 71.4 (CH $_2Bn_E$), 71.1 (C-6 $_E$), 70.4 (C-5 $_E$), 26.1 ($(CH_3)_3CSi_E$), 18.2 ($(CH_3)_3CSi_E$), -5.1 ($(CH_3)_2Si_E$); IR (neat) (ν , cm^{-1}) = 3324 (OH), 3031 (C_{sp^2} -H Ar), 2927, 2855, 1725, 1599, 1471, 1389, 1096 (C-O), 1069 (C-O), 1026 (C-O), 928, 852, 779 (CH Ar), 732 (CH Ar), 695 (CH Ar); HRMS (ESI $^+$): m/z calculated for $C_{40}H_{52}NO_6Si$ ($[M+H]^+$): 670.355841, found: 670.355732.

(E) S-ethyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-5-O-methanesulfonyl-L-idonimidothioate 254

Triethylamine (2mL, 14.9 mmol, 1.1 equiv.) and methanesulfonylchloride (1.1 mL, 14.9 mmol, 1.1 equiv.) were added at 0°C to a solution of alcohol **237** (9 g, 13.5 mmol, 1 equiv.) in CH_2Cl_2 (200 mL). The mixture was stirred at r.t. overnight. The organic layer was washed with water and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent evaporated under reduced pressure. The crude was taken up in MeOH (140 mL) and a solution of iodine (3.4 g, 13.5 mmol, 1 equiv.) in MeOH (200 mL) was added dropwise at r.t. The mixture was stirred at r.t. overnight. The reaction was quenched with a saturated aqueous solution of sodium thiosulfate (50 mL). The organic layer was washed with water and brine, dried over $MgSO_4$, filtrated and evaporated under reduced pressure. The crude compound was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 100/0 to 5/5) to give the desired compound **254** as a colourless oil (6.04 g, 70% over 2 steps).

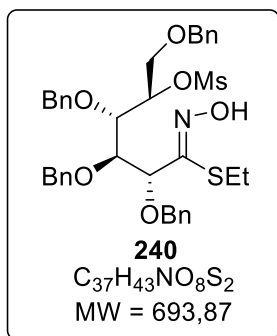


$R_f = 0.18$ (PE/EtOAc : 50/50); 1H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 7.52 (d, $^3J(1-2) = 7.7$ Hz, 1H, H_1), 7.37 – 7.23 (m, 20H, H_{Ar}), 5.01 (dt, 1H, $^3J(5-6b) = 7.4$ Hz, $^3J(5-6a) = ^3J(5-4) = 3.1$ Hz, H_5), 4.71 – 4.54 (m, 5H, CH_2Bn), 4.51 – 4.37 (m, 3H, CH_2Bn), 4.31 (dd, 1H, $^3J(2-1) = 7.7$ Hz, $^3J(2-3) = 5.9$ Hz, H_2), 4.08 (dd, 1H, $^3J(4-3) = 4.9$ Hz, $^3J(4-5) = 3.1$ Hz, H_4), 3.89 (dd, 1H, $^2J(6a-6b) = 11.2$ Hz, $^3J(6a-5) = 3.1$ Hz, H_{6a}), 3.82 (dd, 1H, $^3J(3-2) = 5.9$ Hz, $^3J(3-4) = 4.9$ Hz, H_3), 3.74 (dd, 1H, $^2J(6b-6a) = 11.2$ Hz, $^3J(6b-5) = 7.4$ Hz, H_{6b}), 2.90 (s, 3H, CH_3 Ms); ^{13}C NMR (62.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 149.7 (C-1), 137.8 (Cq Ar), 137.73 (Cq Ar), 137.68 (Cq Ar), 137.5 (Cq Ar), 128.61 (CH Ar), 128.58 (CH Ar), 128.52 (CH Ar), 128.47 (CH Ar), 128.30 (CH Ar), 128.25 (CH Ar), 128.02 (CH Ar), 127.98 (CH Ar), 127.96 (CH Ar), 127.92 (CH Ar), 127.88 (CH Ar), 82.85 (C-5), 79.7 (C-4 or C-3), 79.6 (C-4 or C-3), 76.4 (C-2), 74.9 (CH $_2Bn$), 74.5 (CH $_2Bn$), 73.5 (CH $_2Bn$), 71.7 (CH $_2Bn$), 69.1 (C-6) 38.6 (CH $_3$ Ms); IR

(neat) (ν , cm^{-1}) = 3032 ($\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H Ar}$), 1496, 1454, 1356, 1265, 1173, 1092 (C-O), 1027 (C-O), 914, 731 (CH Ar), 697 (CH Ar); **MS** (ESI^+) m/z = 634.

(E) S-ethyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-5-O-methanesulfonyl-L-idonimidothioate 240

N-chlorosuccinimide (20 mg, 0.15 mmol, 1.1 equiv.) was added to a solution of the 5-*O*-mesylated oxime **254** (85 mg, 0.13 mmol, 1 equiv.) in anhydrous DMF in a darkened flask (2 mL) at 0°C and the mixture was stirred at r.t. until full consumption of the starting material (7h). Ethanethiol (30 μL , 0.4 mmol, 3 equiv.) and triethylamine (60 μL , 0.4 mmol, 3 equiv.) were added simultaneously and dropwise at 0°C and the reaction mixture was stirred at r.t. overnight. The reaction was quenched with water at 0°C and then diluted with EtOAc. The aqueous layer was extracted three times with EtOAc and the combined organic layers were washed three times with water, twice with brine, dried over anhydrous MgSO_4 , filtered and the solvent removed *in vacuo*. The resulting crude mixture was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 5/5) to give the desired compound **240** as a colourless oil (68 mg, **73%**).



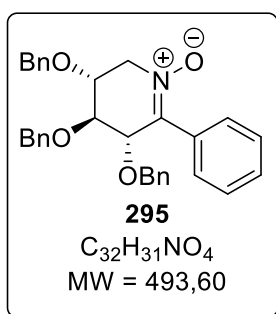
R_f = 0.28 (PE/EtOAc : 50/50); $[\alpha]_D^{20}$ = +30.9 (c = 1.45 in CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.42 – 7.18 (m, 20H, H_{Ar}), 4.99 – 4.91 (m, 1H, H_5), 4.93 (d, 1H, 2J = 10.9 Hz, CH_2Bn), 4.73 – 4.55 (m, 5H, CH_2Bn , H_2), 4.51 (d, 1H, 2J = 11.1 Hz, CH_2Bn), 4.46 (d, 1H, 2J = 11.1 Hz, CH_2Bn), 4.39 (d, 1H, 2J = 11.7 Hz, CH_2Bn), 4.15 (dd, 1H, $^3J(3-2)$ = 7.7 Hz, $^3J(3-4)$ = 5.9 Hz, H_3), 4.00 – 3.92 (3, 2H, $\text{H}_4, \text{H}_{6a}$), 3.72 (dd, 1H, $^2J(6b-6a)$ = 11.3 Hz, $^3J(6b-5)$ = 7.7 Hz, H_{6b}), 3.25 – 3.02 (m, 2H, CH_2S), 2.90 (s, 3H, CH_3_{Ms}), 1.24 (t, 3H, 3J = 7.4 Hz, CH_3_{SEt}); $^{13}\text{C NMR}$ (62.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 152.1 (C-1), 139.2 (Cq Ar), 137.9 (Cq Ar), 137.8 (Cq Ar), 137.6 (Cq Ar), 128.8 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.44 (CH Ar), 128.41 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.91 (CH Ar), 127.87 (CH Ar), 127.87 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 83.6 (C-5), 82.6 (C-4 or C-3), 80.1 (C-4 or C-3), 79.8 (C-2), 75.5 (CH_2Bn), 74.6 (CH_2Bn), 73.5 (CH_2Bn), 71.8 (CH_2Bn), 69.4 (C-6) 38.6 (CH_3_{Ms}), 26.2 (CH_2S), 15.2 (CH_3_{SEt}); **IR** (neat) (ν , cm^{-1}) = 3029, 2870 ($\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H Ar}$), 1496, 1454, 1356, 1216, 1173, 1089 (C-O), 914, 746 (CH Ar), 696 (CH Ar); **HRMS** (ESI^+): m/z calculated for $\text{C}_{37}\text{H}_{44}\text{NO}_8\text{S}_2$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 694.250570, found: 694.250286.

General procedure 9: Liebeskind-Srogl reaction

TINO (1 equiv.), boronic acid (2.2 equiv.), CuTC (2.2 equiv.), and CsCO₃ (3 equiv.) were added in a dried microwave vial. Degassed THF (1 mL) was introduced and then, Pd(PPh₃)₄ (5 mol%) was added. After stirring 12h at r.t., the resulting crude mixture was evaporated with silica, purified by silica gel chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 6/4) to give the desired compound.

1,5-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-1-phenyl-D-xylitol *N*-oxide **295**

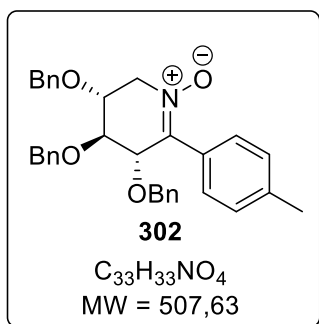
General procedure **9** was followed using D-xylose TINO **211** (55 mg, 0.11 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 70/30) to give the desired compound as a colourless oil (50 mg, **88%**).



$R_f = 0.22$ (PE/EtOAc : 70/30); $[\alpha]_D^{20} = -25.3$ ($c = 1.2$ in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.80 – 7.76 (m, 2H, H_{Ar}), 7.43 – 7.23 (m, 16H, H_{Ar}), 7.05-7.02 (m, 2H, H_{Ar}), 4.71 (d, 1H, ² $J = 11.7$ Hz, CH₂Bn), 4.71 (m, 1H, H₂), 4.70 (d, 1H, ² $J = 11.4$ Hz, CH₂Bn), 4.66 (d, 1H, ² $J = 11.8$ Hz, CH₂Bn), 4.65 (d, 1H, ² $J = 11.8$ Hz, CH₂Bn), 4.42 (d, 1H, ² $J = 11.4$ Hz, CH₂Bn), 4.40 – 4.32 (m, 2H, CH₂Bn, H_{5a}), 4.26 – 4.19 (m, 1H, H_{5b}), 4.10 – 4.05 (m, 2H, H₃, H₄); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 137.6 (C-1), 137.4 (Cq Ar), 137.0 (Cq Ar), 132.2 (C-1), 129.5 (CH Ar), 128.70 (CH Ar), 128.69 (CH Ar), 128.52 (CH Ar), 128.49 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.13 (CH Ar), 128.10 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 79.1 (C-3 or C-4), 77.1 (C-1), 75.7 (C-3 or C-4), 72.9 (CH₂Bn), 72.3 (CH₂Bn), 72.1 (CH₂Bn), 62.1 (C-5); **IR** (neat) ν (cm⁻¹) = 3029, 2866 (C_{sp2}-H Ar), 1733, 1597 (C=N), 1496, 1452, 1245, 1072 (C-O), 1025 (C-O), 910, 733 (CH Ar), 695 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₃₂H₃₂NO₄ ([M+H]⁺): 494.232585, found 494.232575.

1,5-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-1-tolyl-D-xylitol *N*-oxide **302**

General procedure **9** was followed using D-xylose TINO **211** (32 mg, 0.067 mmol). Column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 60/40) give the desired compound as a colourless oil (28 mg, **82%**).

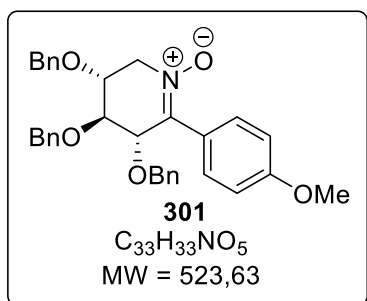


$R_f = 0.32$ (PE/EtOAc : 60/40); $[\alpha]_D^{20} = -20.5$ ($c = 1.6$ in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.75 (d, 2H, ³ $J = 8.3$ Hz, H_{Ar}), 7.43-7.27 (m, 13 H, H_{Ar}), 7.23 (d, 2H, ³ $J = 8.1$ Hz, H_{Ar}), 7.09 (dd, 2H, ³ $J = 6.4$ Hz, ³ $J = 3.0$ Hz, H_{Ar}), 4.75 - 4.73 (m, 1H, H₂), 4.71 (d, 1H, ² $J = 12.0$ Hz, CH₂Bn), 4.69 – 4.66 (m, 2H, CH₂Bn), 4.66 (d, 1H, ² $J = 11.9$ Hz, CH₂Bn), 4.44 (d, 1H, ² $J = 11.5$ Hz, CH₂Bn), 4.40 (d, 1H, ² $J = 11.4$ Hz, CH₂Bn), 4.42 – 4.35 (m, 1H, H_{5a}), 4.24 (dd, 1H, ² $J(5a-5b) = 13.9$, ³ $J(5a-4) = 4.4$ Hz, H_{5b}), 4.07 – 4.01 (m, 2H, H_{3,4}), 2.36 (s, 3H, Me); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 140.8 (Cq Ar), 139.8 (Cq Ar), 137.6 (Cq Ar), 137.5 (Cq Ar), 137.2 (Cq Ar), 129.3 (CH Ar), 129.0 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 79.4 (C-3 or C-4), 77.0 (C-2), 75.9 (C-3 or C-4), 72.8

(CH₂Bn), 72.2 (CH₂Bn), 71.9 (CH₂Bn), 62.1 (C-5), 21.6 (Me); **IR** (neat) ν (cm⁻¹) = 3030, 2917 (C_{sp2}-H Ar), 1598, 1517 (C=N), 1495, 1454, 1342, 1205, 1070 (C-O), 852, 746 (CH Ar), 694 (CH Ar), 665 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₃₃H₃₄NO₄ ([M+H]⁺): 508.248235, found 508.248125.

1,5-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-1-(4-methoxyphenyl)-D-xylitol *N*-oxide **301**

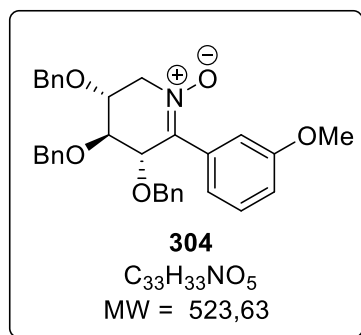
General procedure **9** was followed using D-xylose TINO **211** (48 mg, 0.10 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 70/30) to give the desired compound as a colourless oil (45 mg, **86%**).



R_f = 0.24 (PE/EtOAc : 70/30); $[\alpha]_D^{20}$ = - 12.9 (c = 1.4 in CHCl₃); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.88 – 7.84 (m, 2H, H_{Ar}), 7.39 – 7.24 (m, 13H, H_{Ar}), 7.11 – 7.04 (m, 2H, H_{Ar}), 6.94 – 6.85 (m, 2H, H_{Ar}), 4.75 – 4.71 (m, 1H, H₂), 4.70 – 4.60 (m, 4H, CH₂Bn), 4.43 (d, 1H, ² J = 11.5 Hz, CH₂Bn), 4.36 (d, 1H, ² J = 11.5 Hz, CH₂Bn), 4.36 – 4.30 (m, 1H, H_{5a}), 4.25 – 4.15 (m, 1H, H_{5b}), 4.10 – 4.03 (m, 2H, H₃, H₄), 3.84 (s, 3H, OMe) ; **¹³C NMR** (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 160.4 (Cq-OMe), 137.7 (Cq Ar or C-1), 137.5 (Cq Ar or C-1), 137.2 (Cq Ar), 132.3 (Cq Ar), 132.2 (Cq Ar), 128.72 (CH Ar), 128.69 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.12 (CH Ar), 128.09 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 113.7 (CH Ar), 79.5 (C-3), 77.4 (C-2), 76.1 (C-4), 72.8 (CH₂Bn), 72.3 (CH₂Bn), 71.6 (CH₂Bn), 55.5 (OMe); **IR** (neat) ν (cm⁻¹) = 2932 (C_{sp2}-H Ar), 1732, 1603, 1509 (C=N), 1496, 1454, 1252, 1180, 1070 (C-O), 1027 (C-O), 831, 745 (CH Ar), 721 (CH Ar), 695 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₃₃H₃₄NO₄ ([M+H]⁺): 524.243150, found 524.243378.

1,5-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-1-(3-methoxyphenyl)-D-xylitol *N*-oxide **304**

General procedure **9** was followed using D-xylose TINO **211** (44 mg, 0.09 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 70/30) to give the desired compound **304** as a colourless oil (32 mg, **66%**).

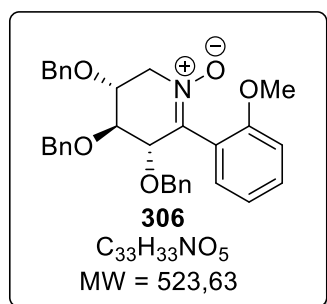


R_f = 0.18 (PE/EtOAc : 70/30); $[\alpha]_D^{20}$ = - 14.6 (c = 1.6 in CHCl₃); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.50 – 7.48 (m, 1H, H_{Ar}), 7.37 – 7.19 (m, 15H, H_{Ar}), 7.07 – 7.03 (m, 2H, H_{Ar}), 6.93 (ddd, 1H, ³ J = 8.1 Hz, ³ J = 2.6 Hz, ³ J = 1.1 Hz, H_{Ar}), 4.71 – 4.59 (m, 4H, CH₂Bn, H₂), 4.62 (d, 1H, ² J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.42 (d, 1H, ² J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.37 – 4.31 (m, 1H, H_{5a}), 4.24 – 4.14 (m, 1H, H_{5b}), 4.10 – 4.01 (m, 2H, H₃, H₄), 3.77 (s, 3H, OMe); **¹³C NMR** (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 159.5 (Cq-OMe), 137.6 (Cq Ar or C-1), 137.5 (Cq Ar or C-1), 137.1 (Cq Ar), 133.5 (Cq Ar), 132.2 (Cq Ar), 129.4 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.14 (CH Ar), 128.11 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 120.7 (CH Ar), 116.1 (CH Ar), 113.6 (CH Ar), 79.1 (C-3), 77.2 (C-2), 75.7 (C-4), 72.9 (CH₂Bn), 72.3 (CH₂Bn), 72.2

(CH₂Bn), 61.1 (C-5), 55.4 (OMe); **IR** (neat) ν (cm⁻¹) = 2917, 2849 (C_{sp2}-H Ar), 1729, 1580 (C=N), 1488, 1454, 1365, 1239, 1215, 1049 (C-O), 1027 (C-O), 746 (CH Ar), 695 (CH Ar), 665 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₃₃H₃₄NO₄ ([M+H]⁺): 524.243150, found 524.243434.

1,5-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-1-(2-methoxyphenyl)-D-xylitol *N*-oxide **306**

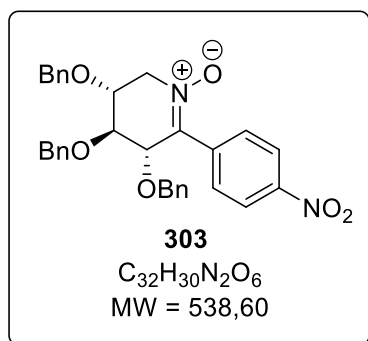
General procedure **9** was followed using D-xylose TINO **211** (40 mg, 0.08 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 30/70) to give the desired compound **306** as a colourless oil (30 mg, **68%**).



R_f = 0.30 (EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ = - 16.0 (c = 1.0 in CHCl₃); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.75 (dd, 1H, ³ J = 7.6 Hz, ⁴ J = 1.6 Hz, H_{Ar}), 7.43 – 7.27 (m, 11H, H_{Ar}), 7.24 – 7.14 (m, 3H, H_{Ar}), 7.05 (td, 1H, ³ J = 7.6 Hz, ⁴ J = 0.9 Hz, H_{Ar}), 6.95 – 6.84 (m, 3H, H_{Ar}), 4.77 (d, 1H, ² J = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.76 – 4.64 (m, 4H, CH₂Bn, H₂), 4.40 (d, 1H, ² J = 11.1 Hz, CH₂Bn), 4.25 (d, 1H, ² J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.22 – 4.18 (m, 2H, H_{5a,5b}), 4.12 – 3.98 (m, 2H, H₃, H₄), 3.73 (s, 3H, OMe); **¹³C NMR** (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 156.9 (Cq-OMe), 141.5 (Cq Ar or C-1), 139.7 (Cq Ar or C-1), 137.9 (Cq Ar), 137.6 (Cq Ar), 137.4 (Cq Ar), 130.9 (CH Ar), 130.8 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 121.1 (Cq Ar), 120.9 (CH Ar), 111.4 (CH Ar), 80.0 (C-3 or C-4), 77.4 (C-2), 74.5 (C-3 or C-4), 73.7 (CH₂Bn), 73.5 (CH₂Bn), 72.5 (CH₂Bn), 61.6 (C-5), 55.7 (OMe); **IR** (neat) ν (cm⁻¹) = 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2917, 1598, 1517 (C=N), 1495, 1454, 1342, 1205, 1070 (C-O), 852, 746 (CH Ar), 694 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₃₃H₃₄NO₄ ([M+H]⁺): 524.243150, found 524.243325.

1,5-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-1-(4-nitrophenyl)-D-xylitol *N*-oxide **303**

General procedure **9** was followed using D-xylose TINO **211** (48 mg, 0.10 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 70/30) to give the desired compound **303** as a colourless oil (42 mg, **78%**).

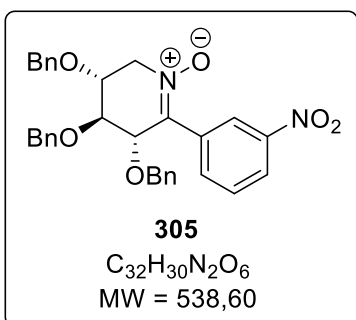


R_f = 0.35 (PE/EtOAc : 70/30); $[\alpha]_D^{20}$ = - 3.8 (c = 0.7 in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8.21 – 8.15 (m, 2H, H_{Ar}), 7.90 – 7.86 (m, 2H, H_{Ar}), 7.43 – 7.22 (m, 13H, H_{Ar}), 7.10 – 7.05 (m, 2H, H_{Ar}), 4.74 (d, 1H, ² J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.68 – 4.59 (m, 4H, CH₂Bn, H₂), 4.48 (d, 1H, ² J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.40 (d, 1H, ² J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.42 – 4.35 (m, 1H, H_{5a}), 4.27 (dd, 1H, ² J (5b-5a) = 14.5 Hz, ³ J (5b-4) = 4.6 Hz, H_{5b}), 4.12 (dd, 1H, ³ J (4-5b) = 4.6 Hz, ³ J (4-3) = 2.5 Hz, H₄), 4.12 – 4.07 (m, 1H, H₃); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 147.5 (C-1) 138.9 (Cq Ar), 138.34 (Cq Ar), 137.27 (Cq Ar), 137.2 (Cq Ar), 136.5 (Cq Ar), 129.5 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 123.3 (CH Ar), 77.0 (C-3), 76.2 (C-2),

74.7 (C-4), 72.9 (CH₂Bn), 72.2 (CH₂Bn), 72.1 (CH₂Bn), 62.3 (C-5); IR (neat) ν (cm⁻¹) = 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2865, 1732, 1526 (C=N), 1496, 1454, 1345 (C-NO₂), 1204, 1071 (C-O), 910, 734 (CH Ar), 695 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for C₃₂H₃₁N₂O₆ ([M+H]⁺): 539.217663, found 539.217527.

1,5-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-1-(3-nitrophenyl)-D-xylitol *N*-oxide
305

General procedure **9** was followed using D-xylose TINO **211** (43 mg, 0.09 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 70/30) to give the desired compound **305** as a colourless oil (25 mg, **52%**).

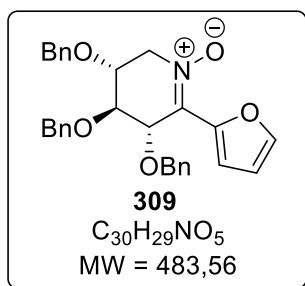


R_f = 0.22 (PE/EtOAc : 70/30); $[\alpha]_D^{20}$ = - 63.9 (c = 1.0 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8.51 (t, 1H, ³ J = 1.9 Hz, H_{Ar}), 8.21 – 8.16 (m, 2H, H_{Ar}), 7.53 (t, 1H, ³ J = 8.1 Hz, H_{Ar}), 7.42 – 7.22 (m, 14H, H_{Ar}), 7.06 – 7.03 (m, 2H, H_{Ar}), 4.73 (d, 1H, ² J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.68 – 4.62 (m, 4H, CH₂Bn, H₂), 4.49 (d, 1H, ² J = 11.6 Hz, CH₂Bn), 4.39 (d, 1H, ² J = 11.6 Hz, CH₂Bn), 4.36 (dd, 1H, ² J (5a-5b) = 14.4 Hz, ³ J (5a-4) = 6.4 Hz, H_{5a}), 4.26 (dd, 1H, ² J (5b-5a) = 14.4 Hz, ³ J (5b-4) = 4.7 Hz, H_{5b}), 4.13 – 4.05 (m, 2H, H₃, H₄); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 148.1 (C-1), 138.6 (Cq Ar), 137.29 (Cq Ar), 137.25 (Cq Ar), 136.5 (Cq

Ar), 134.9 (CH Ar), 133.7 (Cq Ar), 129.2 (CH Ar), 128.9 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.34 (CH Ar), 128.25 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 124.0 (CH Ar), 123.4 (CH Ar), 76.7 (C-3), 76.3 (C-2), 74.5 (C-4), 73.0 (CH₂Bn), 72.4 (CH₂Bn), 72.2 (CH₂Bn), 62.1 (C-5); IR (neat) ν (cm⁻¹) = 3030 (C_{sp2}-H Ar), 2865, 1732, 1526 (C=N), 1496, 1454, 1345 (C-NO₂), 1204, 1071 (C-O), 1027 (C-O), 910, 734 (CH Ar), 695 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for C₃₂H₃₁N₂O₆ ([M+H]⁺): 539.217663, found 539.217946.

1,5-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1-(2-furanyl)-1-imino-D-xylitol *N*-oxide
309

General procedure **9** was followed using D-xylose TINO **211** (46 mg, 0.10 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 70/30) to give the desired compound **309** as a colourless oil (32 mg, **69%**).



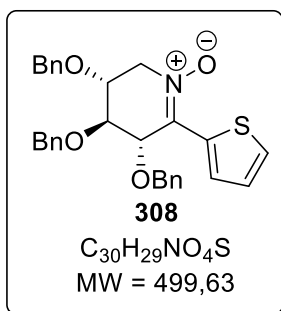
R_f = 0.19 (PE/EtOAc : 70/30); $[\alpha]_D^{20}$ = - 35.2 (c = 1.3 in CHCl₃); ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.92 (d, 1H, ³ J = 3.5 Hz, H_{Ar}), 7.48 (d, 1H, ³ J = 1.4 Hz, H_{Ar}), 7.38 – 7.23 (m, 15H, H_{Ar}), 6.59 (dd, 1H, ³ J = 3.5, ³ J = 1.8 Hz, H_{Ar}), 5.09 (bs, 1H, H₂), 4.64 (d, 1H, ² J = 11.5 Hz, CH₂Bn), 4.64 – 4.60 (m, 3H, CH₂Bn), 4.56 (d, 1H, ² J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.55 (d, 1H, ² J = 11.5 Hz, CH₂Bn), 4.31 (dd, 1H, ² J (5a-5b) = 13.8 Hz, ³ J (5a-4) = 8.0 Hz, H_{5a}), 4.26 (dd, 1H, ² J (5b-5a) = 13.8 Hz, ³ J (5b-4) = 4.9 Hz, H_{5b}), 4.06 (dd, 1H, ³ J (3-4) = 4.8 Hz, ³ J (3-2) = 2.0 Hz, H₃), 4.03 – 3.95 (m, 1H, H₄); ¹³C NMR

(62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 147.2 (C-1), 143.3 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 137.49 (Cq Ar), 137.45 (Cq Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.11 (CH Ar), 128.06 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 116.5 (CH Ar), 112.8 (CH Ar), 78.7 (C-3), 76.4 (C-2), 73.4 (C-4), 72.4 (CH₂Bn), 72.2 (CH₂Bn), 72.1 (CH₂Bn), 61.1

(C-5); **IR** (neat) ν (cm^{-1}) = 3029, 2867 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H Ar}$), 1624, 1521 (C=N), 1496, 1369, 1282, 1203, 1116 (C-O), 906, 854, 731 (CH Ar), 693 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{NO}_5$ ([M+H]⁺): 484.211875, found 484.211849.

1,5-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-1-(2-thiophen)-D-xylitol *N*-oxide **308**

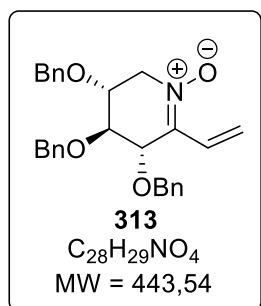
General procedure **9** was followed using D-xylose TINO **211** (46 mg, 0.10 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 70/30) to give the desired compound **308** as a colourless oil (46 mg, **96 %**).



R_f = 0.25 (PE/EtOAc : 70/30); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = - 27.3 (c = 1.1 in CHCl_3); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.47 (dd, 1H, 3J = 5.1 Hz, 4J = 0.9 Hz, H_{Ar}), 7.38 – 7.19 (m, 16H, H_{Ar}), 7.10 (dd, 1H, 3J = 5.1, 3J = 4.1 Hz, H_{Ar}), 5.00 (d, 1H, 3J = 2.3 Hz, H_2), 4.71 (d, 1H, 2J = 11.9 Hz, CH_2Bn), 4.64 (d, 1H, 2J = 11.8 Hz, CH_2Bn), 4.69 – 4.59 (m, 2H, CH_2Bn), 4.56 (d, 1H, 2J = 11.6 Hz, CH_2Bn), 4.46 (d, 1H, 2J = 11.6 Hz, CH_2Bn), 4.40 – 4.23 (m, 2H, $\text{H}_{5a,5b}$), 4.06 (dd, 1H, $^3J(3-4)$ = 5.2 Hz, $^3J(3-2)$ = 2.4 Hz, H_3), 4.03 (dd, 1H, $^3J(4-5)$ = 8.2 Hz, $^3J(4-3)$ = 5.2 Hz, H_4); **¹³C NMR** (62.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 137.5 (Cq Ar), 137.4 (Cq Ar), 137.1 (C-1), 136.8 (Cq Ar), 133.4 (Cq Ar), 129.6 (CH Ar), 128.72 (CH Ar), 128.68 (CH Ar), 128.63 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 127.99 (CH Ar), 127.96 (CH Ar), 126.3 (CH Ar), 78.5 (C-3), 76.2 (C-2), 76.0 (C-4), 72.8 (CH_2Bn), 72.3 (CH_2Bn), 70.9 (CH_2Bn), 60.1 (C-5); **IR** (neat) ν (cm^{-1}) = 3029, 2865 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H Ar}$), 1619, 1496, 1453, 1423, 1397, 1203, 1090 (C-O), 1001, 908, 731 (CH Ar), 694 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for $\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{NO}_4\text{S}$ ([M+H]⁺): 500.189006, found 500.189685.

1,5-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-1-vinyl-D-xylitol *N*-oxide **313**

General procedure **9** was followed using D-xylose TINO **211** (45 mg, 0.94 mmol) and vinylboronic anhydride pyridine complex (17 mg, 2.2 equiv.) instead of the boronic acid. The crude compound was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 70/30) to give the desired compound **313** as a colourless oil (20 mg, **48 %**).

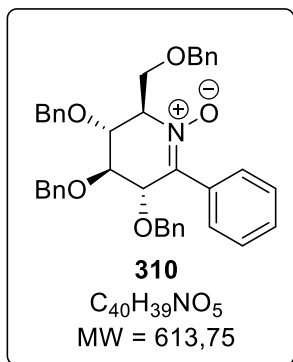


R_f = 0.25 (PE/EtOAc : 70/30); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = - 12.3 (c = 0.9 in CHCl_3); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.40 – 7.23 (d, 15H, H_{Ar}), 7.09 (dd, 1H, $^3J(1'-2'\text{trans})$ = 18.1 Hz, $^3J(1'-2'\text{cis})$ = 11.7 Hz, $\text{H}_{1'}$), 5.83 (d, 1H, $^3J(2'\text{trans}-1')$ = 18.1 Hz, $\text{H}_{2'\text{trans}}$), 5.55 (d, 1H, $^3J(2'\text{cis}-1')$ = 11.7 Hz, $\text{H}_{2'\text{cis}}$), 4.67 (d, 1H, 2J = 11.9 Hz, CH_2Bn), 4.60 (d, 1H, 2J = 11.9 Hz, CH_2Bn), 4.61 – 4.49 (m, 4H, CH_2Bn , H_2), 4.46 (d, 1H, 2J = 11.5 Hz, CH_2Bn), 4.26 – 4.09 (m, 2H, $\text{H}_{5a,5b}$), 4.08 – 4.02 (m, 1H, H_3), 3.98 – 3.90 (m, 1H, H_4); **¹³C NMR** (62.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 141.0 (C-1), 137.4 (Cq Ar), 137.2 (Cq Ar), 137.1 (Cq Ar), 128.6 (CH Ar), 128.54 (CH Ar), 128.50 (CH Ar), 128.10 (CH Ar), 128.06 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.4 (CH Ar), 121.6 (C-2'), 78.4 (C-3), 75.6 (C-4), 73.7 (C-2), 72.6 (CH_2Bn), 72.1 (CH_2Bn), 71.1 (CH_2Bn), 60.9 (C-5); **IR** (neat) ν (cm^{-1}) = 3029, 2863 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H Ar}$), 1522 (C=N), 1496, 1453, 1423, 1282, 1200, 1086 (C-O),

1064 (C-O), 908, 818, 733 (CH Ar), 694 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₂₈H₃₀NO₄ ([M+H]⁺): 444.216935, found 444.217147.

1,5-anhydro-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-1-phenyl-D-glucitol N-oxide 310

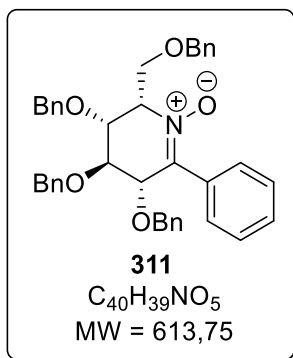
General procedure **9** was followed using D-glucose TINO **243** (45 mg, 0.07 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 80/20) to give the desired compound **310** as a colourless oil (17 mg, **37 %**) and unreacted TINO **243** (21 mg, **46%**).



R_f = 0.22 (PE/EtOAc : 80/20); [α]_D²⁰ = - 12.6 (c = 1.2 in CHCl₃); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.64 – 7.60 (m, 2H, H_{Ar}), 7.42 – 7.10 (m, 21H, H_{Ar}), 6.84 – 6.80 (m, 2H, H_{Ar}), 4.80 – 4.71 (m, 3H, CH₂Bn), 4.68 – 4.62 (m, 1H, H₂), 4.60 – 4.52 (m, 2H, CH₂Bn), 4.46 – 4.36 (m, 3H, CH₂Bn, H_{6a}), 4.28 – 4.21 (m, 2H, CH₂Bn, H₄), 4.20 – 4.11 (m, 1H, H₅), 4.02 (dd, 1H, ³J(3-2) = 7.3 Hz, ³J(3-4) = 5.3 Hz, H₃), 3.85 (dd, 1H, ²J(6b-6a) = 10.0 Hz, ³J(6b-5) = 2.8 Hz, H_{6b}); **¹³C NMR** (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 142.7 (C-1), 138.3 (Cq Ar), 137.9 (Cq Ar), 137.8 (Cq Ar), 137.1 (Cq Ar), 132.5 (Cq Ar), 129.2 (CH Ar), 128.9 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.21 (CH Ar), 128.15 (CH Ar), 128.09 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 80.5 (C-3), 77.6 (C-2), 74.7 (C-4), 74.3 (CH₂Bn), 74.0 (CH₂Bn), 73.5 (CH₂Bn), 73.1 (CH₂Bn), 72.5 (C-5), 65.6 (C-6); **IR** (neat) ν (cm⁻¹) = 3030, 2864 (C_{sp2}-H Ar), 1721, 1520 (C=N), 1496, 1452, 1277, 1205, 1091 (C-O), 1025 (C-O), 734 (CH Ar), 694 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₄₀H₄₀NO₅ ([M+H]⁺): 614.290100, found 614.290000.

1,5-anhydro-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-1-phenyl-L-iditol N-oxide 311

General procedure **9** was followed using L-idose TINO **236** (50 mg, 0.08 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 70/30) to give the desired compound as a colourless oil (40 mg, **77%**) and unreacted TINO **236** (9 mg, **18%**).

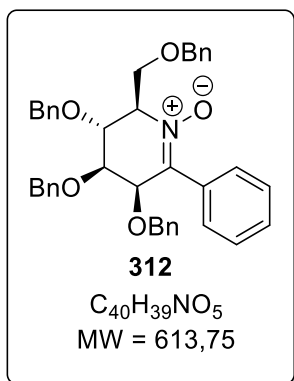


R_f = 0.20 (PE/EtOAc : 70/30); [α]_D²⁰ = - 22.4 (c = 1.7 in CHCl₃); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.73 – 7.69 (m, 2H, H_{Ar}), 7.44 – 7.09 (m, 21H, H_{Ar}), 6.64 – 6.60 (m, 2H, H_{Ar}), 4.89 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂Bn), 4.80 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂Bn), 4.85 – 4.76 (m, 1H, H₂), 4.78 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂Bn), 4.71 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.66 – 4.58 (m, 1H, H₃), 4.61 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.32 – 4.21 (m, 3H, H₅, H_{6a}, H_{6b}), 4.18 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂Bn), 4.15 – 4.09 (m, 1H, H₄), 4.05 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂Bn); **¹³C NMR** (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 144.2 (C-1), 138.3 (Cq Ar), 137.8 (Cq Ar), 137.6 (Cq Ar), 137.4 (Cq Ar), 131.6 (Cq Ar), 129.5 (CH Ar), 129.2 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.14 (CH Ar), 128.05 (CH Ar), 127.94 (CH Ar), 127.90 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 78.7 (C-2), 75.2 (C-3), 74.3 (C-4), 73.9 (CH₂Bn), 73.6 (CH₂Bn), 71.3 (CH₂Bn), 70.7 (C-5), 66.2 (C-6). **IR** (neat) ν

(cm^{-1}) = 3029, 2865 ($\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H Ar}$), 1719, 1496, 1452, 1277, 1092 (C-O), 1025 (C-O), 910, 734 (CH Ar), 694 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for $\text{C}_{40}\text{H}_{40}\text{NO}_5$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 614.290100, found 614.289768.

1,5-anhydro-2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-1-phenyl-D-mannitol *N*-oxide **312**

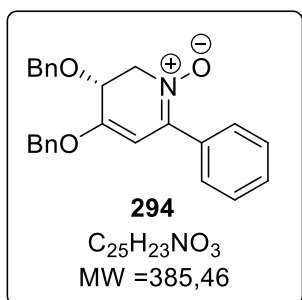
General procedure **9** was followed using D-mannose TINO **268** (60 mg, 0.10 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 80/20) to give the desired compound **312** as a colourless oil (22 mg, **36%**) and unreacted TINO **268** (25 mg, **42%**).



R_f = 0.18 (PE/EtOAc : 80/20); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = - 60.2 (c = 1.3 in CHCl_3); **$^1\text{H NMR}$** (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.71 – 7.68 (m, 2H, H_{Ar}), 7.37 – 7.19 (m, 21H, H_{Ar}), 7.12 – 7.09 (m, 2H, H_{Ar}), 4.86 (d, 1H, 2J = 11.2 Hz, CH_2Bn), 4.80 (d, 1H, 2J = 11.8 Hz, CH_2Bn), 4.74 (d, 1H, 2J = 11.8 Hz, CH_2Bn), 4.70 – 4.64 (m, 2H, H_2, H_4), 4.67 (d, 1H, 2J = 11.9 Hz, CH_2Bn), 4.66 (d, 1H, 2J = 11.9 Hz, CH_2Bn), 4.62 (d, 1H, 2J = 11.9 Hz, CH_2Bn), 4.57 (d, 1H, 2J = 11.9 Hz, CH_2Bn), 4.46 (d, 1H, 2J = 11.9 Hz, CH_2Bn), 4.42 (dd, 1H, $^2J(6a-6b)$ = 9.9 Hz, $^3J(6a-5)$ = 4.9 Hz, H_{6a}), 4.08 – 4.03 (m, 1H, H_5), 3.94 (dd, 1H, $^3J(3-4)$ = 9.5 Hz, $^3J(3-5)$ = 2.9 Hz, H_3), 3.90 (dd, 1H, $^2J(6b-6a)$ = 9.9 Hz, $^3J(6b-5)$ = 2.8 Hz, H_{6b}); **$^{13}\text{C NMR}$** (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 141.5 (C-1), 138.33 (Cq Ar), 138.26 (Cq Ar), 138.0 (Cq Ar), 137.8 (Cq Ar), 132.9 (Cq Ar), 129.7 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.50 (CH Ar), 128.46 (CH Ar), 128.39 (CH Ar), 128.37 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 127.6 (CH Ar), 79.8 (C-4), 76.3 (C-5), 74.4 (CH_2Bn), 74.2 (C-2 or C-3), 73.3 (CH_2Bn), 73.2 (C-2 or C-3), 73.14 (CH_2Bn), 73.05 (CH_2Bn), 68.0 (C-6); **IR** (neat) ν (cm^{-1}) = 3029, 2865 ($\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H Ar}$), 1718, 1496, 1452, 1276, 1091 (C-O), 1025 (C-O), 909, 852, 734 (CH Ar), 695 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for $\text{C}_{40}\text{H}_{40}\text{NO}_5$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 614.290100, found 614.290072.

(5*R*)-4,5-bis(benzyloxy)-2-phenyl-2,3-dihydropyridin-1-ium-1-olate **294**

D-xylose TINO **211** (100 mg, 0.21 mmol, 1 equiv.), phenylboronic acid (56 mg, 0.46 mmol, 2.2 equiv.), CuMeSal (99 mg, 0.46 mmol, 2.2 equiv.) were added in a dried microwave vial. Degassed THF (1 mL) was introduced and then, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (5 mol%) was added. After stirring for 12h at reflux, the resulting crude mixture was evaporated with silica, purified by silica gel chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 90/10) to give the desired compound **294** as a colourless oil (59 mg, **72%**).

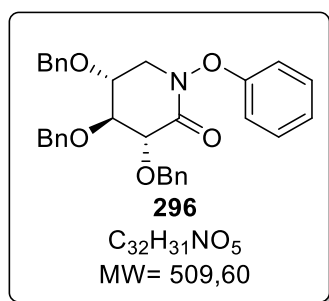


R_f = 0.32 (PE/EtOAc : 90/10); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = - 6.2 (c = 1.3 in CHCl_3); **$^1\text{H NMR}$** (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 8.20 – 8.15 (m, 2H, H_{Ar}), 7.63 – 7.57 (m, 1H, H_{Ar}), 7.51 – 7.44 (m, 2H, H_{Ar}), 7.39 – 7.27 (m, 10H, H_{Ar}), 5.15 (bs, 1H, H_3), 4.74 (d, 1H, 2J = 11.5 Hz, CH_2Bn), 4.68 (d, 1H, 2J = 11.5 Hz, CH_2Bn), 4.51 – 4.43 (m, 3H, CH_2Bn , H_{6a}), 4.22 – 4.17 (m, 2H, $\text{H}_{5,6b}$); **$^{13}\text{C NMR}$** (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 190.7 (C-3), 172.2 (C-1), 137.6 (Cq Ar), 137.5 (Cq Ar), 135.7 (Cq Ar), 133.8 (CH Ar), 130.6 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6

(CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 87.8 (C-2), 82.3 (C-4), 73.7 (CH₂Bn), 71.8 (CH₂Bn), 67.1 (C-5); **IR** (neat) ν (cm⁻¹) = 3238, 3030, 2929 (C_{sp2}-H Ar), 1715, 1588, 1536, 1498, 1437, 1291, 1222, 1100 (C-O), 1006, 882, 746 (CH Ar), 693 (CH Ar), 605 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₂₅H₂₄NO₃ ([M+H]⁺): 385.175070, found 385.175228.

2,3,4-tri-*O*-benzyl-xylo lactame *N*-phenoxy **296**

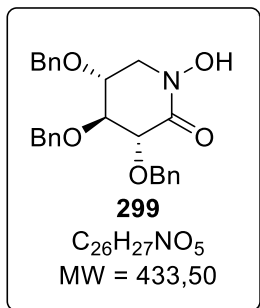
D-xylose TINO **211** (51mg, 0.11 mmol, 1 equiv.), phenylboronic acid (30 mg, 0.23 mmol, 2.2 equiv.) and CuMeSal (50 mg, 0.23 mmol, 2.2 equiv.) were added in a dried microwave vial. Degassed THF (1 mL) was introduced. After stirring 12h at r.t., the resulting crude mixture was evaporated with silica, purified by silica gel chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 90/10) to give the desired compound as a colourless oil (37 mg, **66%**).



R_f = 0.32 (PE/EtOAc: 90/10); $[\alpha]_D^{20}$ = -20.5 (c = 0.7 in CHCl₃); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.45 – 7.20 (m, 16H, H_{Ar}), 7.09 – 6.99 (m, 3H, H_{Ar}), 6.83 (d, 1H, ³ J = 7.7 Hz, H_{Ar}), 5.15 (d, 1H, ² J = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.79 (d, 1H, ² J = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.75 (d, 1H, ² J = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.70 (d, 1H, ² J = 11.6 Hz, CH₂Bn), 4.67 (d, 1H, ² J = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.61 (d, 1H, ² J = 11.6 Hz, CH₂Bn), 4.16 (d, 1H, ³ J (2-3) = 6.5 Hz, H₂), 3.96 – 3.91 (m, 2H, H_{3,4}), 3.88 (dd, 1H, ² J (5a-5b) = 11.6 Hz, ³ J (5a-4) = 4.2 Hz, H_{5a}), 3.69 (dd, 1H, ² J (5b-5a) = 11.6 Hz, ³ J (5b-4) = 6.4 Hz, H_{5b}); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 166.8 (C-1), 157.6 (Cq Ar), 137.8 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 137.5 (Cq Ar), 129.8 (CH Ar), 129.7 (CH Ar), 128.63 (CH Ar), 128.62 (CH Ar), 128.59 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.12 (CH Ar), 128.06 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 123.4 (CH Ar), 115.5 (CH Ar), 113.6 (CH Ar), 80.4 (C-3 or C-4), 78.3 (C-2), 74.6 (CH₂Bn), 74.3 (C-3 or C-4), 74.1 (CH₂Bn), 72.5 (CH₂Bn), 50.9 (C-5); **IR** (neat) ν (cm⁻¹) = 3063, 3030, 2863 (C_{sp2}-H Ar), 1694 (C=O), 1589, 1488, 1453, 1287, 1194, 1101 (C-O), 1089 (C-O), 1072 (C-O), 1024 (C-O), 749 (CH Ar), 731 (CH Ar), 692 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₃₂H₃₂NO₅ ([M+H]⁺): 510.227500, found 510.227248.

2,3,4-tri-*O*-benzyl-xylo lactame *N*-hydroxyle **299**

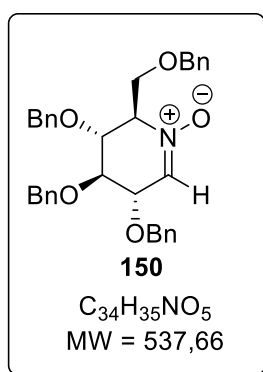
A solution of HCl 2M Et₂O (60 μ L, 0.12 mmol, 1.1 equiv.) was added dropwise to a solution of D-xylose TINO **211** (52mg, 0.11 mmol, 1 equiv.) in THF (1 mL) at 0°C. After stirring overnight at r.t., the organic layer was washed twice with water, once with brine and then dried over anhydrous MgSO₄, filtered and the solvent evaporated under reduced pressure. The resulting crude compound was purified by column chromatography on silica gel (PE/EtOAc: 50/50) to afford the desired product **299** as a colourless oil (20 mg, **43%**).



$R_f = 0.26$ (PE/EtOAc: 50/50); $[\alpha]_D^{20} = -19.7$ ($c = 1.1$ in $CHCl_3$); 1H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 7.42 – 7.11 (m, 15H, H_{Ar}), 5.15 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, CH_2Bn), 4.78 (d, 1H, $^2J = 11.4$ Hz, CH_2Bn), 4.75 – 4.68 (m, 4H, CH_2Bn), 4.07 (d, 1H, $^3J(2-3) = 5.8$ Hz, H_2), 3.87 – 3.74 (m, 3H, H_3, H_4, H_{5a}), 3.65 – 3.47 (m, 1H, H_{5b}); **MS** (ESI⁺) $m/z = 434$.

1,5-anhydro-2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1-imino-D-glucitol *N*-oxide **150**¹¹⁷

DIBAL-H 1M solution in toluene (196 μ L, 0.196 mmol, 1 equiv.) was added dropwise at -78°C to a solution of TINO **243** (117 mg, 0.196 mmol, 1 equiv.) in anhydrous THF (2 mL). The reaction was slowly allowed to warm to 0°C within 4h. The reaction was quenched by addition of water. The organic layer was washed with water and brine, dried over MgSO_4 , filtrated and evaporated under reduced pressure. The crude compound was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 60/40) to give the desired compound as a white solid (45 mg, **42%**).



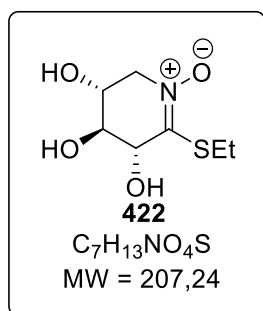
$R_f = 0.45$ (PE/ EtOAc : 50/50); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.38-7.22 (m, 18H, H_{Ar}), 7.19-7.14 (m, 2H, H_{Ar}), 7.09-7.03 (m, 1H, H_1), 4.89 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, CH_2Bn), 4.85-4.78 (m, 2H, CH_2Bn), 4.73-4.61 (m, 2H, CH_2Bn), 4.56 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2Bn), 4.48 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, CH_2Bn), 4.40-4.32 (m, 1H, H_{6a}), 4.36 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH_2Bn), 4.26 (dt, $^3J(2-3) = 7.7$ Hz, $^3J(2-1) = ^5J(2-5) = 2.3$ Hz, H_2), 4.13 (dd, 1H, $^3J(4-3) = 9.5$ Hz, $^3J(4-5) = 8.4$ Hz, H_4), 3.85 (dd, 1H, $^3J(3-4) = 9.5$ Hz, $^3J(3-2) = 7.7$ Hz, H_3), 3.80-3.72 (m, 1H, H_5), 3.63 (dd, 1H, $^2J(6b-6a) = 10.0$ Hz, $J(6b-5) = 2.0$ Hz, H_{6b}); $^{13}\text{C NMR}$ (62.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 138.0 (Cq Ar), 137.9 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 137.1 (Cq Ar), 135.4 (C-1), 128.8 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 81.1 (C-3), 76.2 (C-2), 75.20 (CH_2Bn), 75.17 (CH_2Bn), 74.0 (C-4), 73.4 (CH_2Bn), 73.3 (CH_2Bn), 72.5 (C-5), 64.7 (C-6); **HRMS (ESI⁺)**: m/z calculated for $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{NO}_5$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 538.258800, found: 538.258644.

General procedure 10: removal of benzyl protecting group

To a stirred solution of TINO (1 equiv.) in anhydrous CH_2Cl_2 (0.1 M) under argon, a solution of BCl_3 (1M in hexanes, 3 equivalents per alkoxy group) was added at 0°C . After 15 h at 0°C , ethanol was added and the reaction mixture was concentrated under vacuum. The residue was dissolved in a minimum of water and neutralised by addition of Amberlite IRA 400 (OH^- form). After filtration, the filtrate was lyophilised to afford the deprotected product, which was characterised without any further purification.

S-ethyl-5-deoxy-D-xylo-1,5-imidothioate *N*-oxide **422**

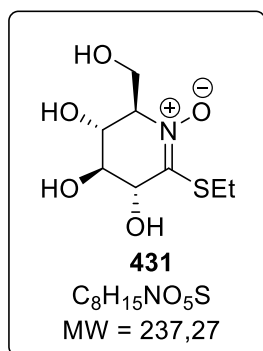
General procedure **10** was followed, using D-xylose TINO **411** (90 mg, 0.19 mmol). After lyophilisation, the desired compound **422** was characterized (20 mg, **52%**).



$R_f = 0.36$ (EtOAc/MeOH : 80/20); $[\alpha]_D^{20} = -18.5$ ($c = 0.52$ in EtOH); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CD_3OD) δ (ppm) = 4.45 (d, 1H, $^3J(2-3) = 1.8$ Hz, H_2), 4.26-4.18 (m, 1H, H_4), 4.13 - 4.00 (m, 2H, H_3 , H_{5a}), 3.79 (dd, 1H, $^2J(5b-5a) = 15.3$ Hz, $^3J(5b-4) = 2.3$ Hz, H_{5b}), 3.29-3.02 (m, 2H, CH_2S), 1.36 (t, 3H, $^3J = 7.5$ Hz, CH_3_{SEt}); $^{13}\text{C NMR}$ (62.5 MHz, CD_3OD) δ (ppm) = 154.6 (C-1), 70.9 (C-2), 69.6 (C-3), 68.5 (C-4), 61.9 (C-5), 24.1 (CH_2S), 14.6 (CH_3_{SEt}); **IR** (neat) (ν , cm^{-1}) = 3281 (OH), 2930, 2854, 1628 (C=N), 1587, 1447, 1345, 1255 (N-O), 1190, 1072 (C-O), 976, 861, 702; **HRMS (ESI⁺)**: m/z calculated for $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{NO}_4\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 208.063805, found 208.063918.

S-ethyl-5-deoxy-D-glucono-1,5-imidothioate N-oxide 431

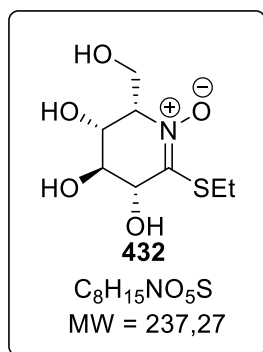
General procedure **10** was followed, using D-glucose TINO **243** (267 mg, 0.44 mmol). After lyophilisation, the desired compound **431** was characterized (13 mg, **13%**).



$R_f = 0.26$ (EtOAc/MeOH : 80/20); $[\alpha]_D^{20} = +11.3$ ($c = 0.8$ in MeOH); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CD₃OD) δ (ppm) = 4.38 (d, 1H, $^3J(2-3) = 4.7$ Hz, H₂), 4.20 (dd, 1H, $^2J(6a-6b) = 11.4$ Hz, $^3J(6a-5) = 4.4$ Hz, H_{6a}), 4.05 (dd, 1H, $^3J(4-3) = 6.7$ Hz, $^3J(4-5) = 5.4$ Hz, H₄), 3.91 – 3.80 (m, 2H, H₃, H_{6b}), 3.79 – 3.71 (m, 1H, H₅), 3.25-2.99 (m, 2H, CH₂S), 1.31 (t, 3H, $^3J = 7.5$ Hz, CH₃ SEt); $^{13}\text{C NMR}$ (62.5 MHz, CD₃OD) δ (ppm) = 156.0 (C-1), 75.5 (C-3 or C-5), 73.2 (C-3 or C-5), 71.6 (C-2), 68.7 (C-4), 60.3 (C-6), 24.9 (CH₂S), 14.8 (CH₃ SEt); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3278 (OH), 2930, 2853, 1626 (C=N), 1586, 1446, 1255 (N-O), 1188, 1070 (C-O), 974, 851, 699; **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₈H₁₆NO₅S ([M+H]⁺): 238.074370, found 238.074214.

S-ethyl-5-deoxy-L-idono-1,5-imidothioate N-oxide 432

General procedure **10** was followed, using L-idose TINO **236** (257 mg, 0.43 mmol). After lyophilisation, the desired compound **432** was characterized (32 mg, **32%**).



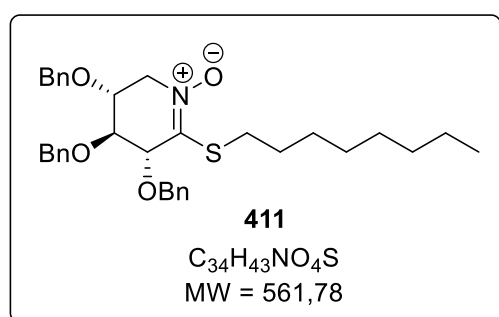
$R_f = 0.30$ (EtOAc/MeOH : 80/20); $[\alpha]_D^{20} = +56.4$ ($c = 1.65$ in MeOH); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CD₃OD) δ (ppm) = 4.42 (d, 1H, $^3J(2-3) = 2.4$ Hz, H₂), 4.30 – 4.19 (m, 2H, H₄, H_{6a}), 4.12 (dd, 1H, $^3J(3-4) = 5.6$ Hz, $^3J(3-2) = 2.4$ Hz, H₄), 4.08 – 3.93 (m, 2H, H₅, H_{6b}), 3.27-2.99 (m, 2H, CH₂S), 1.36 (t, 3H, $^3J = 7.5$ Hz, CH₃ SEt); $^{13}\text{C NMR}$ (62.5 MHz, CD₃OD) δ (ppm) = 155.6 (C-1), 71.2 (C-2), 70.2 (C-3 or C-4), 69.9 (C-3 or C-4), 69.0 (C-5), 60.7 (C-6), 24.3 (CH₂S), 14.5 (CH₃ SEt); **IR** (neat) (ν , cm⁻¹) = 3279 (OH), 2930, 2854, 1626 (C=N), 1587, 1446, 1344, 1257 (N-O), 1188, 1074 (C-O), 975, 860, 699; **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₈H₁₆NO₅S ([M+H]⁺): 238.074370, found 238.074370.

General procedure 11

The thiol reagent (3 equiv.) was added to a solution of D-xylose TINO **211** (1 equiv.) in dioxane (0.1 M). After stirring 12h at 50°C, the reaction was quenched by addition of water. The organic phase was washed with water, brine, dried over anhydrous MgSO₄ filtered and the solvent removed *in vacuo*. The resulting crude compound was purified by column chromatography on silica gel to afford the desired product.

S-octyl-2,3,4-tri-O-benzyl-5-deoxy-D-xylo-1,5-imidothioate N-oxide **411**

General procedure **11** was followed using D-xylose TINO **211** (50 mg, 0.1 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (PE/EtOAc: 50/50) to give the desired compound as a white solid (35 mg, **62%**).

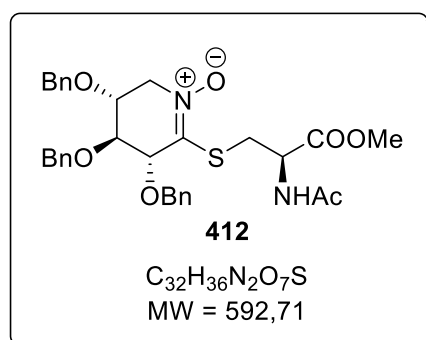


R_f = 0.19 (EtOAc/MeOH: 50/50); **m.p.** 111.0-111.4°C; $[\alpha]_D^{20}$ = + 10.0 (c = 1.3 in CHCl₃); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.39 – 7.24 (m, 15H, H_{Ar}), 4.69 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂Bn), 4.64 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂Bn), 4.63 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.57 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.54 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂Bn), 4.50 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂Bn), 4.42 (d, 1H, ³J(2-3) = 2.9 Hz, H₂), 4.14 (dd, 1H, ²J(5a-

5b) = 14.5 Hz, ³J(5a-4) = 5.0 Hz, H_{5a}), 4.09 – 4.01 (m, 2H, H₃, H_{5b}), 3.99 – 3.89 (m, 1H, H₄), 2.96 – 2.71 (m, 2H, CH₂S), 1.63 – 1.50 (m, 2H, CH₂CH₂S), 1.38 – 1.20 (m, 10H, (CH₂)₅CH₃), 0.92 – 0.82 (m, 3H, CH₃); **¹³C NMR** (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 143.4 (C-1), 137.5 (Cq Ar), 137.3 (Cq Ar), 137.1 (Cq Ar), 128.8 (CH Ar), 128.69 (CH Ar), 128.67 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.23 (CH Ar), 128.22 (CH Ar), 128.04 (CH Ar), 127.97 (CH Ar), 127.95 (CH Ar), 77.0 (C-3), 76.3 (CH₂Bn), 74.4 (CH₂Bn), 73.0 (CH₂Bn), 72.4 (C-2), 70.9 (C-4), 60.0 (C-5), 31.9 (CH₂S), 29.7 (CH₂CH₂S), 29.4 (CH₂(CH₂)₂S), 29.3 (CH₂(CH₂)₃S), 29.2 (CH₂(CH₂)₄S), 28.8 (CH₂(CH₂)₅S), 22.8 (CH₂(CH₂)₆S), 14.2 (CH₃); **IR** (neat) ν (cm⁻¹) = 2923, 2853 (C_{sp2}-H Ar), 1563, 1454, 1373, 1234, 1208, 1102 (C-O), 1049 (C-O), 1026 (C-O), 749 (CH Ar), 694 (CH Ar); **HRMS** (ESI⁺): m/z calculated for C₃₄H₄₄NO₄S ([M+H]⁺): 562.298556, found 562.298561.

((2R)-2-methoxycarbonyl-2-acetamidoethyl-2,3,4-tri-O-benzyl-5-deoxy-D-xylo-1,5-imidothioate N-oxide **412**

General procedure **11** was followed using D-xylose TINO **211** (50 mg, 0.1 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/MeOH: 90/10) to give the desired compound as a yellow oil (30 mg, **51%**).

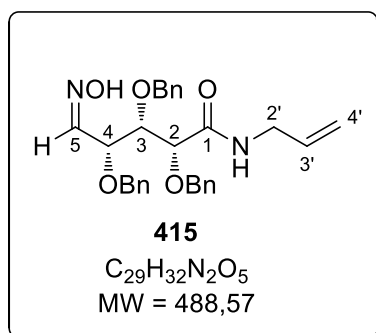


R_f = 0.25 (EtOAc/MeOH: 90/10; $[\alpha]_D^{20}$ = -12.6 (c = 1.7 in MeOH); **¹H NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.41 – 7.19 (m, 15H, H_{Ar}), 7.15 (d, 1H, ³J = 7.9 Hz, NH), 4.91 – 4.82 (m, 1H, H₂), 4.72 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂Bn), 4.58 – 4.47 (m, 5H, CH₂Bn), 4.25 – 4.19 (d, 1H, ³J(2-3) = 1.9 Hz, H₂), 4.12 – 4.03 (m, 2H, H_{5a,5b}), 4.09 – 4.01 (m, 2H, H_{3,4}), 3.71 (s, 3H,

COOMe), 3.66 (dd, 1H, $^2J(\text{H}1'\text{a}-\text{H}1'\text{b}) = 14.2$ Hz, $^3J(\text{H}1'\text{a}-\text{H}2') = 4.1$ Hz, $\text{H}_{1'\text{a}}$), 3.48 (dd, 1H, $^2J(\text{H}1'\text{b}-\text{H}1'\text{a}) = 14.2$ Hz, $^3J(\text{H}1'\text{b}-\text{H}2') = 5.2$ Hz, $\text{H}_{1'\text{b}}$), 1.72 (s, 3H, CH_3 Ac); $^{13}\text{C NMR}$ (62.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 170.8 (C=O), 170.4 (C=O), 140.0 (C-1), 137.0 (Cq Ar), 136.5 (Cq Ar), 137.3 (Cq Ar), 128.8 (CH Ar), 128.73 (CH Ar), 128.69 (CH Ar), 128.53 (CH Ar), 128.46 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 77.7(C-3), 73.9 (C-4), 73.3 (CH_2Bn), 72.7 (CH_2Bn), 72.6 (C-2), 71.8 (CH_2Bn), 61.0 (C-5), 52.7 (C-2' or COOMe), 52.3 (C-2' or COOMe), 31.7 (CH_2S), 29.7 (C-1'), 22.6 (CH_3 Ac); **IR** (neat) ν (cm^{-1}) = 3256, 3030, 2950 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H Ar}$), 1743, 1660, 1539, 1454, 1371, 1207, 1073 (C-O), 1026 (C-O), 737 (CH Ar), 697 (CH Ar); **HRMS** (ESI^+): m/z calculated for $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 593.231599, found 593.231461.

(2R,3S,4R)-N-allyl-2,3,4-tri-O-benzyl-5-(hydroxyimino)pentanamide 415

Allylamine (280 μL , 3.72 mmol, 20 equiv.) was added to a solution of D-xylose TINO **211** (89 mg, 0.19 mmol, 1 equiv.) in dioxane (1 mL). After stirring for 48h at 50°C, an excess of allylamine (280 μL , 3.72 mmol, 20 equiv.) was added. After 48h, the reaction was quenched by addition of water at 0°C. The organic layer was washed twice with water, once with brine and then dried over anhydrous MgSO_4 , filtered and the solvent evaporated under reduced pressure. The resulting crude compound was purified by column chromatography on silica gel (PE/EtOAc: 70/30 to PE/EtOAc: 30/70) to afford the unexpected product **415** as a colourless oil (17 mg, **18%**).



$R_f = 0.26$ (PE/EtOAc: 70/30); $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.74 (bs, 1H, OH or NH), 7.52 (d, 1H, $^3J(5-4) = 7.7$ Hz, H_5), 7.40 – 7.17 (m, 15H, H_{Ar}), 5.78 – 5.59 (m, 1H, $\text{H}_{2'}$), 5.15 – 5.01 (m, 2H, $\text{H}_{3'}$), 4.72 (d, 1H, $^2J = 11.1$ Hz, CH_2Bn), 4.65 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH_2Bn), 4.59 – 4.41 (m, 4H, CH_2Bn), 4.40 – 4.31 (m, 1H, H_4), 4.22 – 4.11 (m, 2H, $\text{H}_{2,3}$), 3.91 – 3.64 (m, 2H, $\text{H}_{4'}$). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 170.6 (C-1), 149.8 (C-5), 137.9 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 136.7 (Cq Ar), 133.7 (C-3'), 128.83 (CH Ar), 128.75 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.53 (CH Ar), 128.48 (CH Ar), 128.43 (CH Ar), 128.40 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.90 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 116.9 (C-4'), 80.5 (C-2 or C-3), 80.1 (C-2 or C-3), 77.0 (C-4), 75.4 (CH_2Bn), 74.5 (CH_2Bn), 71.9 (CH_2Bn), 41.7 (C-2'); **HRMS** (ESI^+): m/z calculated for $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_5$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 489.238399, found 489.238640.

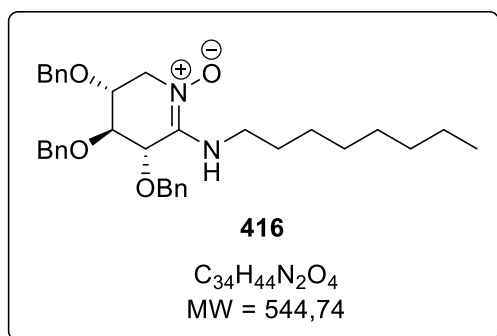
General procedure 12

AlMe_3 (3 equiv., 2M in toluene) was added to a solution of amine reagent (3 equiv.) in toluene (0.1 M) at 0°C. After 30 min at r.t. TINO (1 equiv.) was added at 0°C and allowed to warm to r.t. for 12h. Then the resulting reaction media was diluted with EtOAc and quenched with water. The aqueous layer was extracted three times with EtOAc. The combined organic layers were washed three times with water (3 x 5 mL) and once with brine (5 mL), dried over anhydrous MgSO_4 , filtered and the solvent removed in *vacuo*. The crude was purified by silica gel column chromatography to give the amidine-N-oxide.

1-N-octyl-2,3,4-tri-O-benzyl-5-deoxy-D-xylo-1,5-amidine N-oxide 416

General procedure **12** was followed using D-xylose TINO **211** (40 mg, 0.084 mmol). The crude

compound was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate/methanol: 90/10) to give the desired compound **416** as a colourless oil (27 mg, **59%**).

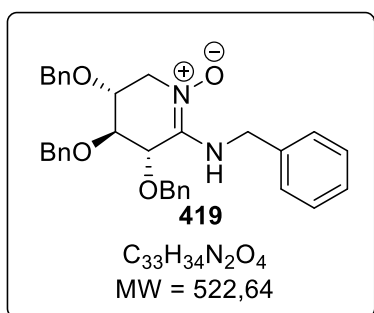


R_f = 0.19 (EtOAc/MeOH: 90/10); $[\alpha]_D^{20}$ = - 3.0 (c = 1.3 in CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.41 – 7.22 (m, 15H, H_{Ar}), 6.63 (bs, 1H, NH), 4.79 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.67 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.66 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.59 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.55 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.47 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂Bn), 4.46 (d, 1H, ³J(2-3) = 3.7 Hz, H₂), 4.09 – 3.97 (m, 2H, H₃, H_{6a}), 3.92 – 3.83 (m, 2H, H₅, H_{6b}), 3.23 – 3.03 (m, 2H,

CH₂NH), 1.57 – 1.44 (m, 2H, CH₂CH₂NH), 1.33 – 1.14 (m, 10H, (CH₂)₅CH₃), 0.90 – 0.84 (m, 3H, CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 144.3 (C-1), 137.1 (Cq Ar), 137.0 (Cq Ar), 136.4 (Cq Ar), 128.3 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.64 (CH Ar), 127.58 (CH Ar), 127.4 (CH Ar), 74.6 (C-3), 72.8 (CH₂Bn), 72.49 (C-2 or C-4), 72.45 (C-2 or C-4), 71.6 (CH₂Bn), 70.6 (CH₂Bn), 54.0 (C-5), 41.8 (CH₂NH), 31.4 (CH₂CH₂NH), 30.2 (CH₂(CH₂)₂NH), 28.9 (CH₂(CH₂)₃NH), 28.8 (CH₂(CH₂)₄NH), 26.4 (CH₂(CH₂)₅NH), 22.3 (CH₂(CH₂)₆NH), 13.8 (CH₃); IR (neat) ν (cm⁻¹) = 3031, 2925, 2855 (C_{sp2}-H Ar), 1646, 1496, 1454, 1215, 1072 (C-O), 1027 (C-O), 745 (CH Ar), 695 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for C₃₄H₄₅N₂O₄ ([M+H]⁺): 545.337384, found 545.337493.

N-benzyl-2,3,4-tri-O-benzyl-5-deoxy-D-xylono-1,5-amidine N-oxide **419**

General procedure **12** was followed using D-xylose TINO **211** (40 mg, 0.084 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate/methanol: 90/10) to give the desired compound **419** as a colourless oil (12 mg, **28%**).



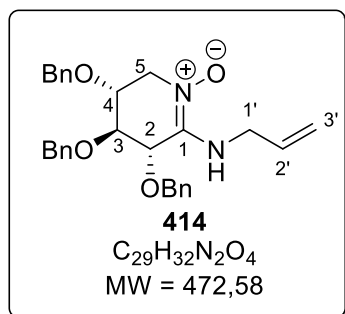
R_f = 0.22 (EtOAc/MeOH: 90/10); $[\alpha]_D^{20}$ = + 7.0 (c = 0.3 in CHCl₃); ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.38 – 7.08 (m, 20H, H_{Ar}), 4.65 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.63 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.53 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.51 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.45 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.44 – 4.31 (m, 4H, CH₂Bn, CH₂NH, H₂), 4.15 – 4.00 (m, 1H, H_{5a}), 3.99 – 3.82 (m, 3H, H₃, H₄, H_{5b}). ¹³C NMR (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 145.0 (C-1), 137.9 (Cq Ar), 137.4 (Cq Ar), 137.3 (Cq Ar), 136.8 (Cq Ar), 128.9 (CH Ar), 128.72 (CH Ar), 128.68 (CH Ar), 128.65

(CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.11 (CH Ar), 128.09 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.2 (CH Ar), 75.4 (C-2 or C-3 or C-4), 73.24 (CH₂Bn), 73.16 (C-2 or C-3 or C-4), 72.9 (C-2 or C-3 or C-4), 72.2 (CH₂Bn), 71.1 (CH₂Bn), 54.8 (C-5), 46.0 (CH₂NH); IR (neat) ν (cm⁻¹) = 3029, 2925, 2856 (C_{sp2}-H Ar), 1646, 1496, 1454, 1217, 1069 (C-O), 1030 (C-O), 742 (CH Ar), 690 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for C₃₃H₃₅N₂O₄ ([M+H]⁺): 523.259134, found 523.258923.

N-allyl-2,3,4-tri-O-benzyl-5-deoxy-D-xylono-1,5-amidine N-oxide **414**

General procedure **12** was followed using D-xylose TINO **211** (40 mg, 0.084 mmol). The crude

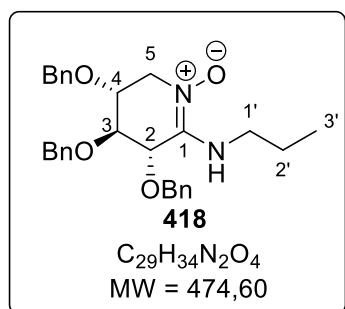
compound was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate/methanol: 90/10) to give the desired compound **414** as a colourless oil (20 mg, 50%).



$R_f = 0.20$ (EtOAc/MeOH: 90/10); $[\alpha]_D^{20} = -3.3$ ($c = 1.2$ in CHCl₃); ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.43 – 7.12 (m, 20H, H_{Ar}), 5.96 – 5.70 (m, 1H, H_{2'}), 5.23 – 5.00 (m, 2H, H_{3'}), 4.75 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, CH₂Bn), 4.71 – 4.64 (m, 1H, CH₂Bn), 4.54 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.52 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.44 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂Bn), 4.46 – 4.40 (m, 1H, H₂), 4.14 – 3.63 (m, 6H, H₃, H₄, H_{5a}, H_{5b}, H_{1'a}, H_{1'b}). ¹³C NMR (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 145.0 (C-1), 137.42 (Cq Ar), 137.39 (Cq Ar), 136.8 (Cq Ar), 134.6 (C-2'), 128.71 (CH Ar), 128.66 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.30 (CH Ar), 128.26 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 116.7 (C-3'), 75.5 (C-3), 73.2 (CH₂Bn), 73.0 (C-2 or C-4), 72.9 (C-2 or C-4), 72.1 (CH₂Bn), 70.7 (CH₂Bn), 54.6 (C-5), 44.4 (C-1'); IR (neat) ν (cm⁻¹) = 3030, 2925, 2860 (C_{sp2}-H Ar), 1644, 1496, 1454, 1216, 1077 (C-O), 1029 (C-O), 745 (CH Ar), 697 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for C₂₉H₃₃N₂O₄ ([M+H]⁺): 473.243484, found 473.243314.

N-propyl-2,3,4-tri-O-benzyl-5-deoxy-D-xylo-1,5-amidine N-oxide **418**

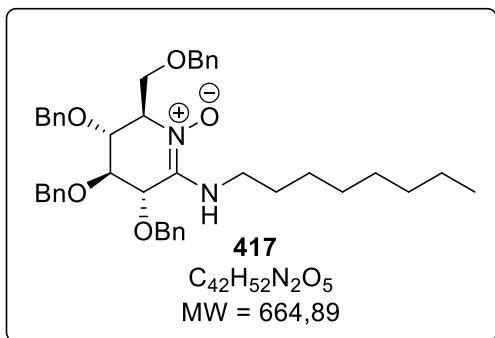
General procedure **12** was followed using D-xylose TINO **211** (40 mg, 0.084 mmol) and 10 equiv. of propylamine. The crude compound was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate/methanol: 90/10) to give the desired compound **418** as a colourless oil (28 mg, 70%).



$R_f = 0.22$ (EtOAc/MeOH: 90/10); $[\alpha]_D^{20} = -2.6$ ($c = 1.1$ in CHCl₃); ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.38 – 7.15 (m, 20H, H_{Ar}), 6.65 (bs, 1H, NH), 4.79 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂Bn), 4.66 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂Bn), 4.65 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂Bn), 4.58 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂Bn), 4.55 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂Bn), 4.46 (d, 1H, ²J(2-3) = 3.7 Hz, H₂), 4.45 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂Bn), 4.09 – 3.95 (m, 2H, H₃, H_{5a}), 3.95 – 3.81 (m, 2H, H₄, H_{5b}), 3.26 – 2.99 (m, 2H, H_{1'}), 1.53 (h, 1H, ³J = 7.3 Hz, H_{2'}), 1.53 (h, 1H, ³J = 7.3 Hz, H_{2'}), 0.88 (t, 1H, ³J = 7.3 Hz, H_{3'}). ¹³C NMR (62.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 144.4 (C-1), 137.5 (Cq Ar), 137.4 (Cq Ar), 136.9 (Cq Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.22 (CH Ar), 128.17 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.89 (CH Ar), 127.87 (CH Ar), 76.5 (C-3), 73.5 (CH₂Bn), 73.4 (C-2 or C-4), 73.3 (C-2 or C-4), 72.2 (CH₂Bn), 70.6 (CH₂Bn), 54.7 (C-5), 44.0 (C-1'), 23.9 (C-2'), 11.4 (C-3'); IR (neat) ν (cm⁻¹) = 3030, 2920, 2855 (C_{sp2}-H Ar), 1640, 1496, 1457, 1215, 1076 (C-O), 1027 (C-O), 747 (CH Ar), 696 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for C₂₉H₃₃N₂O₄ ([M+H]⁺): 475.259134, found 475.258457.

N-octyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-5-deoxy-D-gluco-1,5-amidine N-oxide **417**

General procedure **12** was followed using D-glucose TINO **243** (50 mg, 0.084 mmol). The crude compound was purified by silica gel column chromatography (ethyl acetate/methanol: 95/5) to give the desired compound as a colourless oil (40mg, 72%).



$R_f = 0.15$ (EtOAc/MeOH: 95/5); $[\alpha]_D^{20} = +21.2$ ($c = 1.0$ in $CHCl_3$); 1H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 7.37 – 7.16 (m, 15H, H_{Ar}), 6.91 (bs, 1H, NH), 4.69 (d, 1H, $^2J = 11.6$ Hz, CH_2Bn), 4.66 (d, 1H, $^2J = 11.4$ Hz, CH_2Bn), 4.60 (d, 3H, $^2J = 11.3$ Hz, CH_2Bn), 4.53 (d, 1H, $^2J = 11.9$ Hz, CH_2Bn), 4.55 – 4.51 (m, 1H, CH_2Bn), 4.49 – 4.42 (m, 2H, CH_2Bn , H_2), 4.23 (dd, 1H, $^2J(6a-6b) = 10.2$ Hz, $^3J(6a-5) = 6.9$ Hz, H_{6a}), 4.17 (dd, 1H, $^3J(4-5) = 6.4$ Hz, $^3J(4-3) = 4.7$ Hz, H_4), 4.08 – 4.00 (m, 2H, H_5 , H_{6a}), 3.99 (dd, 1H, $^3J(3-2) = 6.7$ Hz,

$^3J(3-4) = 4.7$ Hz, H_3), 3.27 (dt, 1H, $^2J = 13.6$ Hz, $^3J = 7.1$ Hz, CH_2NH), 3.11 (dt, 1H, $^2J = 13.6$ Hz, $^3J = 7.1$ Hz, CH_2NH), 1.61 – 1.41 (m, 2H, CH_2CH_2NH), 1.34 – 1.12 (m, 10H, $(CH_2)_5CH_3$), 0.91 – 0.81 (m, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (62.5 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 145.0 (C-1), 138.4 (Cq Ar), 137.8 (Cq Ar), 137.5 (Cq Ar), 137.1 (Cq Ar), 128.7 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.94 (CH Ar), 127.89 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 76.47 (C-3), 73.54 (CH_2Bn), 73.4 (CH_2Bn), 73.34 (CH_2Bn), 73.33 (C-2), 72.4 (C-4), 70.6 (CH_2Bn), 66.4 (C-6), 65.6 (C-5), 42.5 (CH_2NH), 31.9 (CH_2CH_2NH), 30.7 ($CH_2(CH_2)_2NH$), 29.4 ($CH_2(CH_2)_3NH$), 29.3 ($CH_2(CH_2)_4NH$), 26.9 ($CH_2(CH_2)_5NH$), 22.8 ($CH_2(CH_2)_6NH$), 14.2 (CH_3); IR (neat) ν (cm^{-1}) = 3031, 2929, 2858 ($C_{sp^2}-H$ Ar), 1644, 1496, 1454, 1217, 1073 (C-O), 1028 (C-O), 746 (CH Ar), 698 (CH Ar); HRMS (ESI⁺): m/z calculated for $C_{42}H_{53}N_2O_5$ ($[M+H]^+$): 665.394899, found: 665.394640.

Stéphanie MARQUÈS

**SYNTHESE D'ACIDES THIOHYDROXAMIQUES ET
DE N-OXYDES DE THIOIMIDATE SUR CHARPENTES SACCHARIDIQUES POUR L'ETUDE DE
LA S-GLUCOSYLTRANSFERASE**

Résumé :

Ces travaux centrés essentiellement sur la fonction thiohydroximate s'articulent selon trois thèmes : (1) les acides thiohydroxamiques, (2) la synthèse et (3) l'étude de réactivité des *N*-oxydes de thioimide (TINOs), avec pour objectif l'étude d'une enzyme : la *S*-glucosyltransférase (*S*-UGT).

La *S*-UGT est une enzyme clé dans la formation des glucosinolates. Les travaux menés ont tout d'abord été axés sur la synthèse d'acides thiohydroxamiques, substrats de la *S*-UGT, pour l'étude cinétique de l'enzyme. Dans ce but, nous avons envisagé différentes méthodes et avons pu obtenir les molécules ciblées, permettant ainsi d'obtenir des résultats préliminaires quant à la cinétique de l'enzyme.

D'autre part, la synthèse d'iminosucres, inhibiteurs potentiels de l'enzyme, a été envisagée par une double fonctionnalisation d'un *N*-oxyde de thioimide (TINO) sur charpente pyranose. Nous avons donc développé une méthode robuste d'accès aux TINOs à partir de différents pyranoses. Le couplage de Liebeskind-Srogl a permis d'accéder aux nitrones. Des additions-éliminations sur les TINOs nous ont donné accès à des *N*-oxydes d'amidine et à de nouveaux TINOs.

Les réactions de réduction et de débenzylation des TINOs ont également été explorées. Des tentatives de cycloaddition 1,3-dipolaire sur une nitrone ont été effectués en vue d'obtenir à des isoxazolidines, précurseurs d'iminosucres α,α -disubstitués. Les résultats concernant la synthèse d'inhibiteurs de la *S*-UGT restent préliminaires. Toutefois, après déprotection, les différentes molécules synthétisées durant cette thèse pourront être envisagées comme inhibiteurs de glycosidases.

Mots clés : *N*-oxyde de thioimide, *S*-glucosyltransférase, couplage de Liebeskind

**SYNTHESIS OF THIOHYDROXAMIC ACIDS AND THIOIMIDE *N*-OXIDES ON
CARBOHYDRATE BACKBONES FOR THE STUDY OF THE ENZYME
S-GLUCOSYLTRANSFERASE**

Abstract :

This thesis is articulating into three topics: (1) synthesis of thiohydroxamic acids, (2) the synthesis and (3) the study of the reactivity of thioimide *N*-oxides (TINOs). The purpose of these works is the study of the enzyme: *S*-glycosyltransferase (*S*-UGT).

The enzyme *S*-UGT is an essential enzyme for the glucosinolate formation. The starting point of these works was focused on the synthesis of thiohydroxamic acids. These products are the substrates of the enzyme *S*-UGT and could be used for the study of the enzyme kinetic.

The second point is to use TINOs anchored on pyranose backbones as precursors of iminosugars which are potential inhibitors of the enzyme *S*-UGT. An efficient methodology was developed to access a large panel of TINOs from different pyranoses. Liebeskind Srogl coupling allowed us to obtain nitrones. Addition-elimination on TINOs gave us amidine *N*-oxides and new TINOs.

Reduction and debenzoylation reactions on TINOs were also explored. 1,3-Dipolar cycloaddition attempts on a nitrone were performed to obtain isoxazolidines which are precursors α,α -disubstituted iminosugars.

The results recording the synthesis of *S*-UGT inhibitors remain preliminary. However, after deprotection, the different molecules, synthesised during this thesis, will be tested as glycosidase inhibitors.

Keywords : thioimide *N*-oxides, thiohydroximate, *S*-glycosyltransferase, Liebeskind-coupling



**ICOA – Institut de Chimie Organique et Analytique
UMR 7311 – Université d'Orléans
Rue de Chartres – BP6759
45067 Orléans Cedex 2 – France**

