



**HAL**  
open science

## Synthèse d'analogues de la gougérotine à visée antifongique

Margaux Beretta

► **To cite this version:**

Margaux Beretta. Synthèse d'analogues de la gougérotine à visée antifongique. Chimie organique. Université Paris-Saclay, 2017. Français. NNT : 2017SACLS484 . tel-02427698

**HAL Id: tel-02427698**

**<https://theses.hal.science/tel-02427698>**

Submitted on 4 Jan 2020

**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.

# Synthèse d'analogues de la gougérotine à visée antifongique

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay  
préparée à l'institut de Chimie des Substances Naturelles

École doctorale n°571 Sciences chimiques : molécules, matériaux,  
instrumentations et biosystèmes (2MIB)  
Spécialité de doctorat: Chimie

Thèse présentée et soutenue à Gif sur Yvette le 12 décembre 2017 par

**Margaux Beretta**

Composition du Jury :

Dominique Guianvarc'h	Présidente
Professeur, Université Paris-Saclay	
Mélanie Ethève-Quelquejeu	Rapporteur
Professeur, Université Paris Descartes	
Philippe Compain	Rapporteur
Professeur, Université de Strasbourg	
Jean-Pierre Vors	Examineur
Ingénieur de recherche, BayerCropScience	
Lionel Nicolas	Examineur
Ingénieur de recherche, BayerCropScience	
Stéphanie Norsikian	Directeur de thèse
Chargée de recherche, ICSN	
Jean-Marie Beau	Co-Directeur de thèse
Professeur, Université Paris Saclay	



*« I don't know where I'm going from here, but I promise it won't be boring »*

*David Bowie*



# Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Madame Dominique Guianvarc'h, Professeur à l'Université Paris-Saclay, pour avoir accepté de présider mon jury de thèse. Je remercie également Madame Mélanie Etheve-Quellejeu, Professeur à l'Université Paris-Descartes, et Monsieur Philippe Compain, Professeur à l'Université de Strasbourg, pour avoir examiné cette thèse en qualité de rapporteurs.

Je remercie sincèrement le Professeur Jean-Marie Beau pour m'avoir accueilli au sein de son équipe à l'ICSN, d'abord en stage de Master puis en thèse. Je vous remercie pour cette opportunité ainsi que pour votre disponibilité et pour avoir partagé avec moi quelques bribes de votre immense savoir.

J'adresse également mes remerciements au Docteur Stéphanie Norsikian. Merci pour tes nombreux conseils scientifiques et pratiques et pour la confiance que tu m'as accordée, notamment lors de mon départ à Lyon. Je te remercie aussi pour ta réactivité à distance lors de la correction de mon manuscrit.

Je remercie ensuite les Docteurs Jean-Pierre Vors et Lionel Nicolas. Merci pour m'avoir suivie et accompagnée tout au long de cette thèse et pour nos discussions scientifiques. Merci à toi Lionel pour ton accueil au sein de ton laboratoire durant ces quelques mois à Lyon, ce fut une expérience des plus enrichissantes.

J'adresse mes remerciements à l'ensemble du département Sonde et Modulateurs pour Cibles biologiques ainsi qu'aux services RMN, HPLC-masse et au service informatique; merci David et Guillaume pour votre disponibilité.

Merci également à l'ensemble des personnes croisées au cours de ces trois années au sein de l'institut, dont je garderais un excellent souvenir. Je remercie également les personnes cotoyées lors de mon monitorat à l'IUT d'Orsay au sein du département Génie Chimique.

Je tiens à remercier plus particulièrement certaines personnes sans qui cette thèse n'aurait pas été une si belle aventure.

Tout d'abord l'équipe Beau !

Laura, la plus ancienne mais je me souviens toujours des nombreux fous rires que l'on a partagés durant mon stage et mes premiers mois de thèse. Tu apportais beaucoup de vie au labo et j'ai beaucoup aimé partager ces moments avec toi.

Amélie, ma partenaire de stage. Je te remercie pour nos nombreuses discussions pas très scientifiques mais qui m'ont permis de découvrir de supers films et séries. Tu es une personne super et je te souhaite bon courage pour la fin de ta thèse.

Vient ensuite Amandine. J'ai adoré travailler avec toi, ta bonne humeur et tes instant beubeus ont illuminés mes journées. Merci pour tout ce que l'on a partagés, les fous rires et les périodes plus compliquées. Tu as été d'un énorme soutien et je t'en remercie.

Lucette, ma petite poule.. J'ai trouvé une véritable amie lors de ton arrivée à l'ICSN. Tu as été là pour moi à chaque moment et je ne t'en remercierai jamais assez. Je suis arrivée au bout et c'est en grande partie grâce à toi. Tu es une personne merveilleuse et, ça va te faire plaisir, très solaire. Merci pour tout.

Roxane, ma deuxième poulette ! Tu n'es pas une Beau mais c'est tout comme. Ca a été un vrai plaisir de te rencontrer. Nous avons tout partagé, les bons et les mauvais moments mais je retiendrai surtout les nombreux fous rires et les chorégraphies enflammées. Je sais que je peux compter sur toi pour tout je t'en remercie. Garde ce brin de folie qui te rend si spéciale.

Je remercie également les différents post-doctorants et stagiaires que j'ai cotoyés au cours de ma thèse : Tuan, Marc, Pauline, Marie, Rubal, Mathieu, Chiara et Eleonora.

Merci également à l'équipe Vauzeilles et plus particulièrement à Aurélie. Tu as toujours été disponible pour m'écouter ou pour m'aider dans ces nombreuses procédures administratives et je t'en remercie. Merci également à Nathan, tu es quelqu'un de très prévenant, merci pour ta gentillesse et pour les bonnes soirées qu'on a passés tous ensemble.

Je tiens à remercier mon CEI : Valentin, Tiphaine, Charlotte, Tanya et Laurent. C'était un plaisir d'organiser les événements avec vous en première année et je regrette nos repas du lundi midi. Je vous souhaite à tous le meilleur pour la suite.

Je remercie également Coralie que j'ai appris à connaître en dernière année. Tu es toujours à l'écoute des autres et prête à proposer ton aide. Merci pour les moments qu'on a partagés, pour le congrès en Allemagne, et je te souhaite bon courage pour ta dernière année. Tu n'en as pas besoin, tu es déjà une grande chimiste. Merci également à Gwendal, pour ta gentillesse et ta bonne humeur.

Merci également à une personne parmi les plus drôles que j'ai pu rencontrer. Valerian, je te remercie pour les franches rigolades à l'école de catalyse et au cabinet. Ton humour et ton écoute m'ont beaucoup manqué après ton départ. Merci également à Maxime, c'était toujours un plaisir de discuter avec toi et d'admirer tes pulls improbables.

Un grand merci également à Matt et Filipe, l'un ne va pas sans l'autre. J'ai passé des soirées mémorables avec vous et des sacrés fous rires dans la grotte. Ne changez rien et plein de bonheur pour la suite.

Je remercie particulièrement mes amis de longue date : Marie, Gaëlle, Aline, Lauriane, François, Clément. Vous êtes toujours là après toutes ces années.

Merci à ma famille, à mes parents et ma sœur, pour vos sacrifices et votre soutien sans faille. Je n'y serais jamais arrivée sans vous. Grazie ai miei nonni, qui m'ont appris qu'il faut toujours croire en ses capacités et aller le plus loin possible. Merci à ma tata, ma meilleure copine, qui m'a suivi durant ces très longues études.

Et enfin merci à toi Paul, ma plus belle rencontre. Merci de faire de la vie un moment si joyeux. J'ai hâte de voir ce que la suite nous réserve, mais je sais qu'à tes côtés ce ne sera que du pur bonheur.



# Table des matières

<b>I) INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>15</b>
<b>II) INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>19</b>
II.1) LES FONGICIDES : GENERALITES .....	21
II.1.1) Définition .....	21
II.1.2) Historique .....	21
II.1.3) Classification des fongicides selon leur mode d'action .....	23
II.1.4) Les produits naturels : source de fongicides.....	25
II.1.5) Les fongicides inhibiteurs de la synthèse des protéines.....	28
II.1.5.a) Mécanisme de la biosynthèse des protéines .....	28
II.1.5.b) La blasticidine S .....	29
II.1.6) Conclusion .....	30
II.2) LA SYNTHÈSE DE NUCLEOSIDES ET LA N-GLYCOSYLATION .....	31
II.2.1) Généralités sur les nucléosides .....	31
II.2.2) La N-glycosylation au cœur de la synthèse de nucléosides.....	33
II.2.2.a) Les aspects mécanistiques de la N-glycosylation .....	33
II.2.2.b) La glycosylation de Vorbrüggen: historique .....	37
II.2.2.c) Les donneurs de glycosyle en N-glycosylation dans les conditions de Vorbrüggen .....	39
II.2.2.d) Les autres méthodes de N-glycosylation .....	46
II.2.3) Stratégies de synthèse de quelques peptidonucléosides.....	57
II.2.3.a) Rétrosynthèse de la blasticidine S .....	58
II.2.3.b) Rétrosynthèse de l'analogue pyranose de la nikkomycine B.....	60
II.2.4) Conclusion .....	61
II.3) LA GOUGEROTINE .....	62
II.3.1) Identité et activités biologiques.....	62
II.3.2) Mode d'action de la gougératine.....	63
II.3.3) Synthèses totales de la gougératine et d'analogues.....	65
II.4) PRESENTATION DU PROJET DE THESE.....	68
II.4.1) Les paramètres physico-chimiques d'un composé actif.....	69
II.4.2) Descriptions des analogues de la gougératine envisagés.....	73
II.4.2.a) Modification de la base nucléique.....	73
II.4.2.b) Modification du dipeptide .....	76
II.4.2.c) Modification du carboxamide en position 6 .....	77
II.4.3) Analyse rétrosynthétique.....	78
II.5) Conclusion du chapitre II.....	80
<b>III) SYNTHÈSES ET METHODOLOGIE DE GLYCOSYLATION : RESULTATS ET DISCUSSION ..</b>	<b>81</b>

III.1) SYNTHÈSE DES DONNEURS .....	83
<i>III.1.1) Synthèse du donneur 62</i> .....	83
III.1.1.a) Premières étapes de protection .....	84
III.1.1.b) Etude de cas : Ouverture réductrice de 4,6-O-benzylidène sur un motif galactose .....	85
III.1.1.c) Protections régiosélectives monotopes .....	88
III.1.1.d) Suite de la synthèse et obtention du donneur <b>13</b> .....	90
III.1.1.e) Accès à des donneurs 6-OBn ou 6-OMe .....	91
<i>III.1.2) Synthèse du donneur 63</i> .....	96
<i>III.1.3) Synthèse du donneur 64</i> .....	99
<i>III.1.4) Conclusion</i> .....	99
III.2) GLYCOSYLATION.....	100
<i>III.2.1) Présentation des différentes conditions de glycosylation testées sur une réaction modèle</i> .....	101
<i>III.2.2) Glycosylation de la cytosine par différents donneurs</i> .....	103
<i>III.2.3) Méthodologie de glycosylation appliquée à différentes bases</i> .....	105
III.2.3.a) Glycosylation de l'uracile.....	105
III.2.3.b) Glycosylation de la 5-méthylcytosine.....	107
III.2.3.c) Glycosylation de la thymine .....	108
III.2.3.d) Glycosylation de la 5-fluorocytosine.....	110
III.2.3.e) Glycosylation de la 5-fluorouracile .....	111
<i>III.2.4) Conclusion</i> .....	113
III. 3) SYNTHÈSE DU DIPEPTIDE.....	114
III.4) ACCES A L'ANALOGUE I.....	116
<i>III.4.1) Réduction de l'azoture</i> .....	116
III.4.1.a) Réaction de Staudinger .....	116
III.4.1.b) Hydrogénation .....	118
<i>III.4.2) Couplage peptidique</i> .....	120
<i>III.4.3) Déprotection</i> .....	122
III.5) ACCES AUX ANALOGUES II ET III .....	123
<i>III.5.1) Accès aux analogues II et III: Voie 1</i> .....	124
III.5.1.a) Généralités .....	125
III.5.1.b) Synthèse de composés triazolo-substitués .....	126
III.5.1.c) Couplage peptidique.....	128
III.5.1.d) Conclusion voie 1.....	131
<i>III.5.2) Accès aux analogues II et III: Voie 2</i> .....	132
III.5.2.a) Réduction de l'azoture.....	132
III.5.2.b) Couplage peptidique .....	136
III.5.2.c) Déprotections .....	137
III.5.2.d) Conclusion .....	139
III.6) ACCES A L'ANALOGUE VI.....	139

III.6.1) Substitution carbonyle-amine.....	140
III.6.2) Déprotections, hydrogénation et couplage peptidique.....	140
III.6.3) Déprotections finales .....	141
III.6.4) Conclusion.....	142
III.7) CONCLUSION DU CHAPITRE .....	143
<b>IV) RESULTATS BIOLOGIQUES.....</b>	<b>147</b>
IV.1) INTRODUCTION .....	149
IV.1.1) Le test sur champignon isolé.....	150
IV.1.2) Le test sur plante.....	151
IV.2) RESULTATS BIOLOGIQUES.....	152
IV.2.1) Evaluation de l'activité antifongique de la gougérotine .....	152
IV.2.2) Evaluation de l'activité antifongique des analogues <b>I-L</b> et <b>I-D</b> .....	154
IV.2.3) Evaluation de l'activité antifongique des composés <b>140</b> et <b>141</b> et de l'analogue <b>IV</b> ..	155
IV.2.4) Evaluation de l'activité antifongique de nucléosides 4-aminés et d'intermédiaires synthétiques .....	156
IV.2.6) Conclusion.....	159
<b>V) CONCLUSION GENERALE .....</b>	<b>161</b>
<b>VI) EXPERIMENTAL SECTION.....</b>	<b>169</b>
VI.1.) GENERAL INFORMATION.....	171
VI.2) GENERAL PROCEDURES FOR CHEMICAL REACTIONS .....	171
VI.3) CHARACTERISATIONS .....	173
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>229</b>

# Abréviations

ACN : Acétonitrile

AcOEt : Acétate d'éthyle

ADN : Acide déoxyribonucléique

AL : Acide de Lewis

Ara-C : Cytarabine

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ARNt : Acide ribonucléique de transfert

AZT : Zidovudine

Boc : *Tert*-butoxycarbonyle

BSA : *N,O*-Bis-(triméthylsilyl)acétamide

BSTFA : *N,O*-Bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide

Cat. : Catalyseur

CSA : Acide camphorsulfonique

DBMP : 2,6-Di-*tert*-butyl-4-méthylpyridine

DBU : 1,8-DiazaBicyclo[5.4.0]Undéc-7-ène

DCC : *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide

DCE : Dichloroéthane

DCM : Dichlorométhane

DE<sub>50</sub> = Dose efficace pour une inhibition de 50 %

DFT : Density functional theory

DIAD : Diisopropyl azodicarboxylate

DIPEA : *N,N*-Diisopropyléthylamine

DMAP : 4-Diméthylaminopyridine

DMF : *N,N*-Diméthylformamide

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DO : Densité optique

*E.coli* : *Escherichia Coli*

EDC : *N*-(3-Diméthylaminopropyl)-*N'*-éthylcarbodiimide

Eq. : Equivalents

FDUR : 5-Fluoro-2'-déoxyuridine

HATU : 1-[Bis(diméthylamino)méthylène]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridinium 3-oxyde hexafluorophosphate

HMDS : Hexaméthylidisilazane

HOBt : 1-Hydroxybenzotriazole

HPLC : High performance liquid chromatography

IR : Infrarouge

*m*-CPBA : Acide métachloroperbenzoïque

MeOH : Méthanol

NIS : *N*-iodosuccinimide

Nu : Nucléophile

PyBOP : Benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosponium hexafluorophosphate

RMN : Résonance magnétique nucléaire (NMR : Nuclear Magnetic Resonance)

Sar : Sarcosine

Ser : Sérine

Ta : Température ambiante

Tf : Triflate

TBDMS ou TBS : *tert*-Butyldiméthylsilyle

TEA : Triéthylamine

TEMPO : (2,2,6,6-Tétraméthylpipéridin-1-yl)oxyle

TFA : Acide trifluoroacétique

TfOH : Acide trifluorométhanesulfonique

THF : Tétrahydrofurane

TMS : Triméthylsilyle

TMSOTf : trifluorométhanesulfonate de triméthylsilyle

Tol : Toluyle

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine



## I) Introduction générale



A l'heure actuelle, nous sommes plus de 7,5 milliards d'individus sur la Terre. L'augmentation de la population mondiale s'est accélérée depuis ces cinquante dernières années et les prévisionnistes annoncent que nous serons plus de 10 milliards d'ici 2050.<sup>1</sup> Cette explosion démographique engendre de nombreux problèmes environnementaux et sociétaux. Nourrir l'ensemble des êtres humains devient un défi de plus en plus difficile à relever et on dénombre environ 800 millions de personnes en malnutrition. Il est donc nécessaire que les rendements des terres agricoles soient maximaux, d'autant que l'urbanisation croissante ne cesse de diminuer la surface des terrains cultivables. L'utilisation de pesticides efficaces et éco-compatibles est donc devenue indispensable pour la majorité des agriculteurs. Les pesticides sont des substances chimiques ou biologiques servant à lutter contre des espèces nuisibles comme les insectes, les parasites, les mauvaises herbes et les champignons. Les fongicides représentent une catégorie de pesticides servant à prévenir l'apparition d'un champignon au sein de la plante et/ou à combattre l'infection fongique provoquée par le pathogène.<sup>2</sup> Leur utilisation remonte au 19<sup>e</sup> siècle et elle est devenue primordiale au cours du temps pour éviter de nouvelles famines provoquées par les contaminations de récoltes entières. L'utilisation massive de pesticides a cependant provoqué le développement de résistances de la part des nuisibles vis à vis des substances actives rendant certains pesticides inefficaces. Les chercheurs sont donc toujours à la recherche de nouveaux composés et de nouveaux modes d'actions antifongiques pour combattre les pathogènes. Les produits naturels restent une source importante pour la découverte de nouvelles molécules actives. Parmi eux, la gougérotine **1** a retenu l'attention des chercheurs de BayerCropScience (Figure 1).<sup>3</sup> Il s'agit d'un peptidonucléoside découvert dans les années 60 et possédant un large spectre d'activités biologiques : antibactérienne, antivirale et antifongique.<sup>4</sup> Elle est active sur diverses variétés de plantes, que ce soit en tests préventifs ou curatifs. Cependant, sa phytotoxicité limite son utilisation directe sur les plantes.<sup>5</sup>

---

<sup>1</sup> <http://www.worldometers.info/fr/population-mondiale/>

<sup>2</sup> Oliver, R. P.; Hewitt, H. G., *Fungicides in Crop Protection, 2nd Edition*. CABI Publishing: 2014.

<sup>3</sup> Andersch, W.; Royalty Reed, N.; *Compositions comprising gougérotin and a biological control agent*, WO2014124375 : 2014.

<sup>4</sup> (a) Iwasaki, H. *Yakugaku Zasshi* **1962**, 82, 1358-1361. (b) Clark, J. M.; Gunther, J. K. *Biochim. Biophys. Acta* **1963**, 76, 636-638. (c) Thiry, L. *J. Gen. Virol.* **1968**, 2, 143-153. (d) Kitano, N.; Kaneko, S.; Kayamori, H.; Takiguchi, Y.; Arai, M.; Haneishi, T., *Antibiotic having parasitocidal activity*. US Patent 3849398 A : 1974.

<sup>5</sup> Burkett, A. R.; Schlender, K. K.; Sell, H. M. *Phytochemistry* **1970**, 9, 545-547.

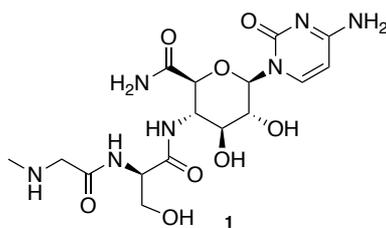


Figure 1

La modification des groupements fonctionnels sur la molécule est capable de moduler la biodisponibilité de celle-ci et peut donc supprimer la phytotoxicité et induire également une sélectivité de l'activité biologique vers les pathogènes fongiques, en limitant l'activité antibactérienne. Dans ce but, il a donc été envisagé de synthétiser différents analogues de la gougérotine, en modifiant notamment la base nucléique naturellement présente, la cytosine. Le motif carboxamide sur la position 6 de la gougérotine a également été remplacé par d'autres groupements et le dipeptide a aussi été modulé. Pour permettre l'accès à ces différents analogues, une voie de synthèse robuste et flexible à partir de monosaccharides commerciaux a été mise en place.

Après un premier chapitre d'introduction bibliographique concernant les fongicides, la présentation de la gougérotine et un état de l'art de la réaction de *N*-glycosylation, la voie synthétique utilisée pour l'accès aux analogues envisagés sera décrite. Au cours de cette synthèse, une étude méthodologique de la *N*-glycosylation sera présentée. Enfin, l'activité antifongique des composés obtenus sera évaluée et les résultats seront présentés dans une dernière partie.

## II) Introduction bibliographique



## II.1) Les fongicides : généralités

### II.1.1) Définition

Les plantes peuvent être attaquées par une large variété d'organismes tels que les bactéries, les virus, les nématodes ou encore les champignons. Les champignons, ou mycètes, sont des organismes eucaryotes qui possèdent des caractéristiques à la fois des végétaux et des animaux, ce qui les classe dans un règne à part. A ce jour, environ 100 000 espèces de champignons ont été décrites. Parmi les maladies fongiques les plus courantes, on peut citer la fusariose ou la septoriose du blé, la rouille du soja, la pourriture grise ou encore le mildiou de la pomme de terre.

Les fongicides sont des agents, naturels ou synthétiques, capables de protéger la plante contre une invasion par un champignon et/ou d'éradiquer l'infection provoquée par le micro-organisme.<sup>2</sup> En terme de vocabulaire, un fongicide va agir directement sur le champignon tandis qu'un composé antifongique peut stimuler les défenses de la plante afin qu'elle détruise elle-même le champignon.

### II.1.2) Historique

Les champignons ont été responsables de nombreuses famines au cours des âges. Entre 1845 et 1852, la Grande Famine en Irlande, qui a provoqué l'émigration massive des irlandais vers les Etats-Unis et la mort d'un million de leurs compatriotes, était due à un champignon : le mildiou de la pomme de terre. En France, l'industrie du vin était également touchée par les infections fongiques et cela marqua le début de l'utilisation des fongicides. En 1855, Becquerel produisit une forme fine de soufre destinée à protéger la plante. En 1885, Millardet inventa la bouillie bordelaise, un mélange de sulfate de cuivre et de chaux, pour traiter le mildiou de la vigne.<sup>6</sup> Différentes versions de cette bouillie ont été explorées depuis (comme la bouillie nantaise) et elle est encore aujourd'hui toujours utilisée dans le contrôle des maladies sur une large variété d'espèces végétales. Elle est d'ailleurs autorisée par l'agriculture biologique.

L'utilisation des fongicides soufrés et cuivrés dominèrent le marché jusqu'à l'apparition des composés organomercurés développés par l'industrie pharmaceutique, vers 1915. Ils se révélèrent particulièrement efficaces pour le traitement du blé et restèrent très populaires

---

<sup>6</sup> Smith, I. M.; British Crop Protection, C., *Fungicides for Crop Protection: 100 Years of Progress*. BCPC: 1985.

jusqu'à ce qu'ils soient bannis dans les années 1970 à cause de leur toxicité. Dès les années 1930, les dithiocarbamates et les phthalimides furent des familles de composés synthétiques largement utilisés comme fongicides (Figure 2).

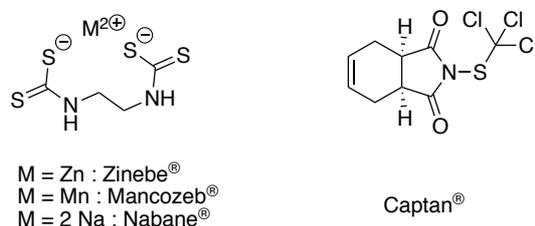


Figure 2

Avant les années 1960, tous les composés antifongiques ont un mode d'action dit « multisite » c'est-à-dire qu'ils inhibent simultanément de nombreuses enzymes et structures cellulaires à la surface de la plante.<sup>7</sup> En effet, ils sont non systémiques, ils ne pénètrent pas le végétal et vont protéger seulement les parties exposées à l'air. Ils contrôlent donc les champignons qui n'attaquent que la couche cellulaire supérieure, comme l'oïdium, ou en empêchant la germination de spores fongiques présents sur la feuille. Ils n'ont par contre aucun effet sur les pathogènes déjà établis au sein du tissu végétal. Les fongicides multisites ont un rôle essentiellement préventif. Leur mode d'action non spécifique a l'avantage de ne pas engendrer de résistance de la part des pathogènes. Malgré leur importante efficacité, ces fongicides ont pu se révéler dangereux pour l'environnement. En effet, ils demandent une application fréquente à cause du développement de nouveaux tissus végétaux et des intempéries et posent parfois de sérieux problèmes de phytotoxicité.

C'est pourquoi, dès les années 60, les chimistes ont développé des fongicides possédant un mode d'action spécifique. On trouve parmi eux des benzimidazoles, des carboxamides, des phénylamides et les inhibiteurs de la biosynthèse du stérol comme la triforine ou les premiers composés triazoles (Figure 3).<sup>7</sup> Ces fongicides sont dits systémiques et représentent une révolution dans le monde de l'agrochimie. Ils contrôlent les pathogènes de manière plus efficace en étant capables de pénétrer la plante et d'être redistribués à toutes les parties, jusqu'aux racines vers une cible enzymatique unique. Ils permettent une réduction des doses et du nombre d'applications et parfois un contrôle curatif de la maladie. Cependant, face à ces composés spécifiques et à leur utilisation intensive, les pathogènes finissent quelquefois par développer des résistances rendant le fongicide inutilisable. Notons que lorsqu'un

<sup>7</sup> Krämer, W.; Schirmer, U.; Jeschke, P.; Witschel, M., *Modern Crop Protection Compounds*. Wiley: 2012.

champignon développe une résistance face à un composé antifongique, il devient alors résistant à tous les fongicides qui partagent le même mode d'action.

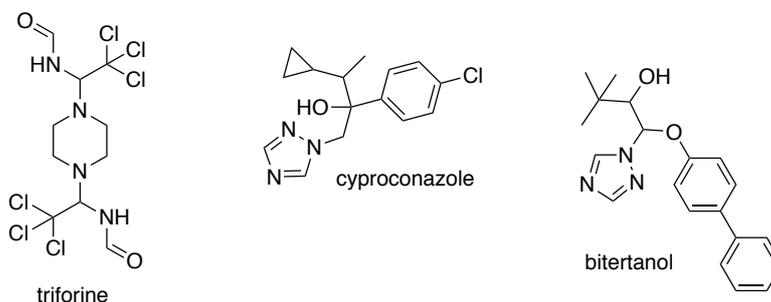


Figure 3

Les chercheurs sont donc toujours à la recherche de nouveaux composés et de nouveaux modes d'action pour proposer aux agriculteurs des solutions nouvelles plus efficaces et plus sûres pour l'environnement. Il est par exemple possible d'utiliser des agents biologiques de contrôle. Il s'agit de micro-organismes ou d'êtres vivants bénéfiques pour la plante capables de lutter contre les nuisibles comme les insectes ou les pathogènes. Ces agents de biocontrôle ne sont toutefois pas aussi efficaces que des composés de synthèse et ne fournissent pas une protection totale. Ils sont généralement utilisés en complément d'un produit actif.

Depuis leur découverte, de nombreux composés fongicides ont été commercialisés pour répondre aux besoins de plus en plus conséquents de l'agriculture actuelle. Ils agissent selon différents modes d'actions comme décrit dans la partie suivante.

### II.1.3) Classification des fongicides selon leur mode d'action

Les fongicides ont été répertoriés et classés dans différents groupes selon leur mode d'action biochimique sur les processus biosynthétiques des pathogènes. Cette classification a été réalisée par le FRAC : Fungicide Resistance Action Committee (Tableau 1).<sup>8</sup> Les composés antifongiques sont regroupés dans 13 catégories en fonction de la voie biochimique qu'ils inhibent chez le pathogène. Les inhibiteurs de la respiration (groupe C), de la biosynthèse du stérol (groupe G) et les composés multisites (groupe M) représentent à eux seuls près de 70 % du marché des fongicides.<sup>7</sup>

<sup>8</sup> Comité qui réunit plusieurs groupes de travail dont l'objectif est d'anticiper et de résoudre les problèmes de résistance actuels et potentiels apparus avec l'utilisation des fongicides. [www.frac.info](http://www.frac.info)

Un de ces groupes ne correspond pas à un mode d'action inhibiteur du pathogène. En effet, les composés du groupe P, les stimulateurs des défenses de la plante, n'agissent pas directement sur le champignon mais vont plutôt jouer le rôle de signal afin de déclencher les événements moléculaires, biochimiques et cytologiques menant à l'expression de la défense chez une plante vis à vis des pathogènes. Ces composés n'engendrent donc aucun problème de résistance des pathogènes et représentent un mode d'action alternatif intéressant, qui fait actuellement l'objet de nombreuses études au sein des laboratoires de recherche en agrochimie.

Code FRAC	Mode d'action	Nombre de composés répertoriés
A	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	13
B	Inhibition des protéines motrices sur le cytoquelette	12
C	Inhibiteur de la respiration	52
D	Inhibiteur de la synthèse des acides aminés et des protéines	7
E	Inhibition de la transduction de signal	9
F	Inhibition de la synthèse ou du transport des lipides et inhibition de la fonction membranaire	18
G	Inhibition de la biosynthèse du stérol dans les membranes	48
H	Inhibition de la biosynthèse de la paroi cellulaire	8
I	Inhibition de la synthèse de la mélanine dans la paroi cellulaire	7
P	Stimulation des défenses naturelles de la plante	9
M	Composés chimiques multisites	23
BM	Extraits biologiques avec plusieurs modes d'action	2
U	Mode d'action inconnu	17

Tableau 1

Des méthodes diversifiées sont utilisées pour la découverte de nouveaux produits actifs. Parmi elles, les produits naturels représentent une source importante menant à l'identification de ces nouveaux principes actifs, notamment en tant que composé-parent d'une série d'analogues pouvant se révéler plus ou moins efficaces.

### II.1.4) Les produits naturels : source de fongicides

Au sein de ces différentes catégories, les produits naturels sont à l'origine de plusieurs familles de composés à activité antifongique. On peut dans un premier temps citer les strobilurines dont les analogues constituent une des familles de fongicides les plus importantes du marché.<sup>9</sup> L'activité antifongique et la structure relativement simple de la strobilurine A, découverte dans les années 1970, en ont fait un composé parent pour de nombreux analogues synthétiques particulièrement actifs contre les pathogènes fongiques.<sup>10</sup> Un des représentants les plus importants de cette famille est l'azoxystrobine. Ce dernier représente la plus grosse part du marché des strobilurines grâce à son spectre d'action très large. On remarque que la chaîne polyène de la strobilurine A, trop flexible, a été remplacée par une pyrimidine qui permet de rigidifier la molécule tout en apportant plus de polarité qu'un benzène par exemple. La trifloxystrobine et la pyraclostrobine sont d'autres représentants majeurs de la famille des strobilurines (Figure 4).

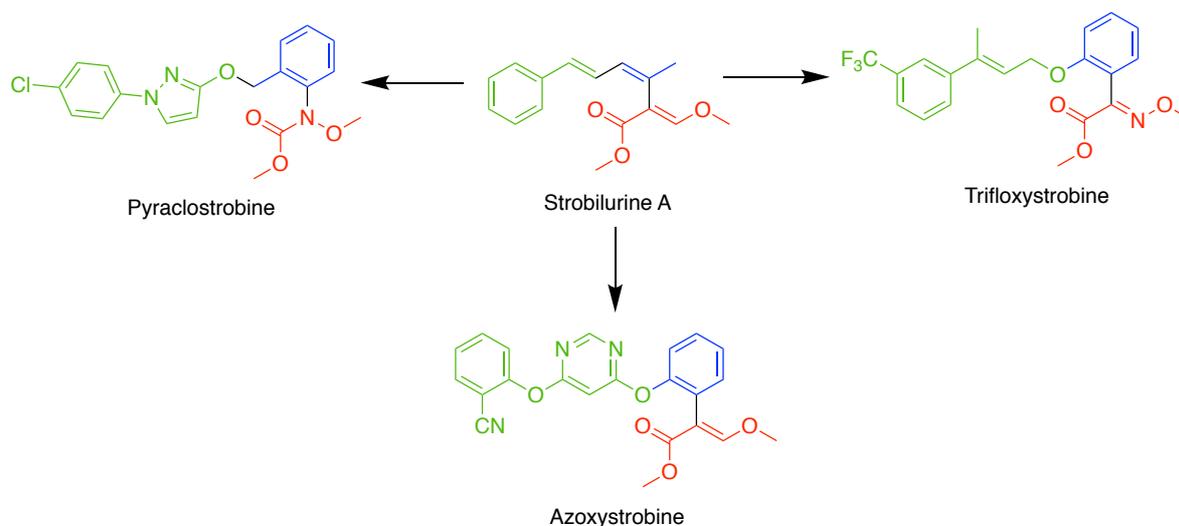


Figure 4

Les strobilurines sont des inhibiteurs de la respiration mitochondriale (groupe C) et plus précisément du complexe III. Ils possèdent un spectre d'action très étendu et sont capables de contrôler les classes majeures des champignons phytopathogènes (Ascomycètes, Basidiomycètes et Oomycètes). Cependant, leur utilisation intensive au cours des dernières décennies a provoqué le développement de résistances parmi certains pathogènes. Ils se sont

<sup>9</sup> Bartlett, D. W.; Clough, J. M.; Godwin, J. R.; Hall, A. A.; Hamer, M.; Parr-Dobrzanski, B. *Pest Manag. Sci.* **2002**, *58*, 649-662.

<sup>10</sup> Anke, T.; Oberwinkler, F.; Steglich, W.; Schramm, G. *J. Antibiot.* **1977**, *30*, 806.

toutefois révélés efficaces face à une nouvelle maladie fongique qui fait des ravages en Amérique du Sud : la rouille du soja.

Très peu de composés naturels sont directement utilisés en tant que composés actifs dans l'industrie agrochimique. En effet, il faut que ceux-ci soient suffisamment stables pour résister aux conditions de culture (humidité et lumière solaire) mais il faut aussi qu'ils soient biologiquement sélectifs et actifs sur une variété de plantes, et peu coûteux à la production. Néanmoins, il existe quelques exemples de composés antifongiques naturels.

Par exemple, la polyoxine B est un fongicide d'origine bactérienne. Il s'agit d'un peptidonucléoside portant une base pyrimidique (Figure 5). C'est un inhibiteur de la biosynthèse de la paroi cellulaire et plus précisément d'un enzyme nommée la chitine synthase, spécifique du champignon.<sup>11</sup>

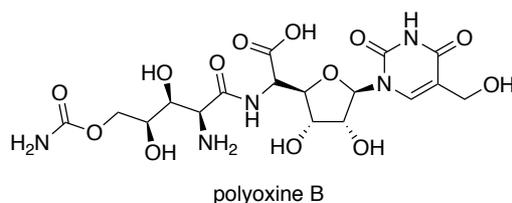
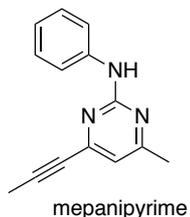
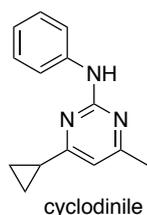


Figure 5

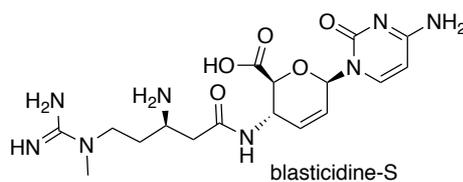
La plupart des composés antifongiques appartenant aux inhibiteurs de la synthèse des protéines (groupe D), excepté les anilino-pyrimidines, sont des produits naturels. Il s'agit de la blasticidine S, de la kasugamycine, de la streptomycine et de l'oxytétracycline (Figure 6).

<sup>11</sup> Reuveni, M.; Cohen, H.; Zahavi, T.; Venezian, A. *Crop Protection* **2000**, *19*, 393-399.

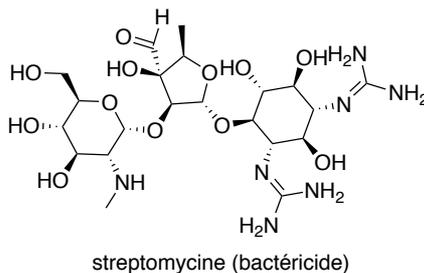
D1 : biosynthèse de la methionine  
(Anilino-pyrimidines)



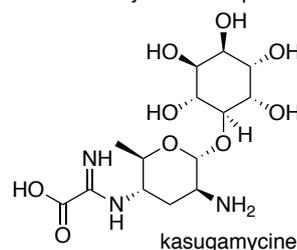
D2 : Synthèse de protéines



D4 : Synthèse de protéines



D3 : Synthèse de protéines



D5 : Synthèse de protéines

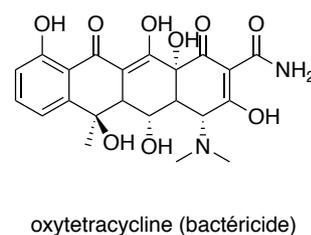


Figure 6

Pour rappel, et comme il sera précisé dans le paragraphe II.4, l'objectif de ce travail est d'évaluer la potentielle activité antifongique d'analogues de la gougérotine **1**, une molécule naturelle d'intérêt antifongique, représentée Figure 7. Des études ont montré qu'elle agissait au niveau de la synthèse des protéines chez les bactéries (voir paragraphe II.3).<sup>4b</sup> Le mécanisme général de cette synthèse étant sensiblement le même chez les molécules procaryotes et chez les molécules eucaryotes, on peut raisonnablement supposer que la gougérotine appartient à la catégorie des fongicides inhibiteurs de la synthèse des protéines. De plus, son analogie structurale avec un des composés de ce groupe, la blasticidine S, nous conforte dans cette hypothèse.

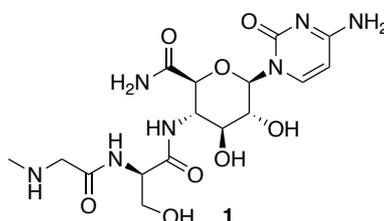


Figure 7

Nous nous sommes donc intéressés de plus près à cette catégorie de fongicides et tout d'abord au mécanisme de la biosynthèse des protéines.

## II.1.5) Les fongicides inhibiteurs de la synthèse des protéines

### II.1.5.a) Mécanisme de la biosynthèse des protéines

La synthèse des protéines au sein d'une cellule, qu'elle soit eucaryote ou procaryote, est réalisée en deux étapes : la transcription qui permet de copier un brin d'ADN en ARNm (ARNm) puis la traduction qui correspond au décodage de l'information génétique de l'ARNm en acides aminés correspondants, assemblés en protéine.<sup>12</sup>

Au cours de cette deuxième étape de traduction qui a lieu dans le cytoplasme de la cellule, un ribosome parcourt le brin d'ARNm et ajoute des acides aminés à la chaîne peptidique en formation par l'intermédiaire des ARN dit de transfert (ARNt). Ces derniers sont capables de reconnaître un codon spécifique sur l'ARNm grâce à un triplet complémentaire appelé anticodon. A son extrémité, l'ARNt porte un acide aminé spécifique de chaque codon de l'ARNm lu par le ribosome. Ce ribosome est un organite constitué en partie d'ARN ribosomique. Chez les eucaryotes, il est organisé en deux sous-unités : la 60S et la 40S, tandis que chez les procaryotes, il s'agit de la 50S et de la 30S. Il possède trois sites :

- le site A (accepteur) sur lequel l'ARNt vient se lier au complexe ribosome/ARNm.
- le site P (peptidyl) où la liaison peptidique entre le nouvel acide aminé et la chaîne peptidique en croissance a lieu.
- le site E (exit) qui correspond à la libération de l'ARNt débarrassé de son acide aminé.

La synthèse débute lorsque le ribosome rencontre un codon d'initiation AUG qui correspond à l'acide aminé méthionine. Dans un premier temps, l'ARNt correspondant vient se fixer sur le site P. Le site A accueille alors un autre ARNt et l'acide aminé porté par ce dernier effectue une attaque nucléophile sur le carboxyle du peptidyl-ARNt présent dans le site P. Cette réaction est catalysée par une enzyme, la peptidyltransférase, qui est une composante de la sous-unité 60S du ribosome. Après la formation de la liaison peptidique, l'ARNt du site P est débarrassé de la chaîne peptidique et passe dans le site E pour être libéré du complexe (Figure 8). La chaîne peptidique est stoppée lorsque le ribosome rencontre un codon non sens.

---

<sup>12</sup> Murray, R.K.; Bender, D.A.; Kennelly, P.J.; Rodwell, V.W.; Weil, A.; Domenjoud, L., *Biochimie de Harper*. De Boeck Supérieur: 2013.

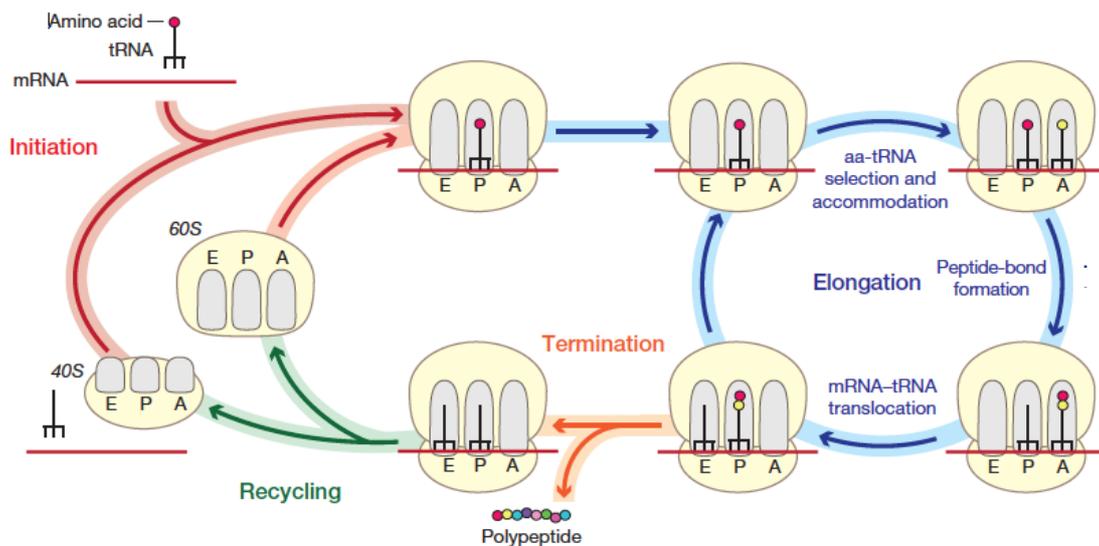


Figure 8<sup>13</sup>

Ainsi, une molécule possédant une analogie structurale avec l'ARN peut facilement venir s'intercaler dans un des organites considérés et perturber la synthèse des protéines.

A noter que le mécanisme d'action procède sensiblement de la même façon pour les cellules eucaryotes et procaryotes. La principale différence vient de l'étape de transcription qui a lieu au sein du noyau dans les cellules eucaryotes. L'ARN formé traverse ensuite les pores nucléaires pour aller dans le cytoplasme, d'où sa dénomination de « messenger ».

### II.1.5.b) La blasticidine S

Parmi les composés antifongiques inhibant la synthèse des protéines, on peut notamment trouver la blasticidine S, qui possède une structure très proche de la gougérotine (Figure 6). Comme cette dernière, la blasticidine S est un peptidonucléoside constituée d'un cycle pyranose portant une cytosine en position anomérique. Il s'agit du premier antibactérien développé au Japon.<sup>14</sup> Elle possède un large spectre d'action et est utilisée en particulier pour le contrôle de la pyriculariose, une maladie fongique du riz, causée par le champignon *Pyricularia oryzae*.<sup>15</sup>

Des études ont montré que l'activité antibiotique et antifongique de la blasticidine S provenait de sa liaison au site P du ribosome du micro-organisme. Les études ont été réalisées sur la

<sup>13</sup> Image extraite de la publication : Garreau de Loubresse, N.; Prokhorova, I.; Holtkamp, W.; Rodnina, M. V.; Yusupova, G.; Yusupov, M. *Nature* **2014**, *513*, 517-522.

<sup>14</sup> Yamaguchi, H.; Tanaka, N. *J. Biochem.* **1966**, *60*, 632-642.

<sup>15</sup> Misato, T.; Ishi, I.; Asakawa, M.; Okomoto, Y.; Fukunaga, K. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* **1959**, *24*, 302-306.

bactérie *Escherichia Coli*<sup>16</sup> et sur le champignon *Saccharomyces cerevisiae*.<sup>17</sup> Cette liaison provoque une distorsion de l'ARNt occupant le site P de la grande sous-unité du ribosome, ce qui va d'une part gêner l'attaque nucléophile de l'acide-aminé de l'ARNt du site A sur le peptide et d'autre part, empêcher la libération de ce même peptide. Un cliché de rayons X entre la blastidicine S et le ribosome du champignon montre le complexe ainsi formé (Figure 9).

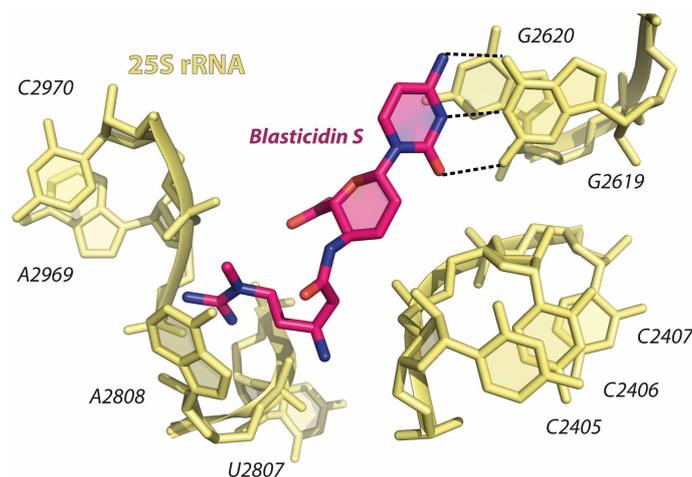


Figure 9<sup>13</sup>

Compte tenu de l'analogie structurale entre la gougératine et la blastidicine S, il est légitime de supposer que leur mode d'action est sensiblement le même. Toutefois, une étude structurale et l'obtention de clichés de rayons X entre la gougératine et le ribosome d'un pathogène permettrait de préciser son mode d'action vis à vis des champignons avec certitude. Néanmoins, dès la découverte de la gougératine dans les années 1960, de nombreuses études se sont attachées à déterminer d'où provenait son activité biologique (voir paragraphe II.3).

### II.1.6) Conclusion

Face à la croissance de plus en plus importante de la population mondiale, l'utilisation de pesticides en agriculture est devenue primordiale. La recherche autour des fongicides n'a cessé de progresser depuis leur découverte au 19<sup>e</sup> siècle. L'apparition de composés systémiques, des fongicides possédant un mode d'action spécifique, a été synonyme de meilleure efficacité et sécurité mais a aussi provoqué des phénomènes de résistance des pathogènes. La recherche actuelle se concentre donc autour de la découverte de nouveaux

<sup>16</sup> Svidritskiy, E.; Ling, C.; Ermolenko, D. N.; Korostelev, A. A. *Proc. Natl Acad Sci.* **2013**, *110*, 12283-12288.

<sup>17</sup> Garreau de Loubresse, N.; Prokhorova, I.; Holtkamp, W.; Rodnina, M. V.; Yusupova, G.; Yusupov, M. *Nature* **2014**, *513*, 517-522.

modes d'action. Les produits naturels sont toujours une source intéressante de nouveauté et parmi eux, les peptidonucléosides ont fourni quelques composés d'intérêt mais restent peu exploités, notamment en raison d'une synthèse trop complexe et trop coûteuse. Avant de détailler les différentes études effectuées sur la gougérotine, nous nous intéresserons donc aux voies synthétiques permettant l'accès aux peptidonucléosides et nous nous attarderons sur la réaction de *N*-glycosylation.

## II.2) La synthèse de nucléosides et la *N*-glycosylation

### II.2.1) Généralités sur les nucléosides

Dans notre organisme, les nucléosides jouent un rôle capital au sein de nombreux processus biologiques. En effet, ce sont des précurseurs de nucléotides, les composants moléculaires constitutifs de l'ADN et de l'ARN. Les nucléosides sont des *N*-glycosides constitués d'une base nucléique liée à un ribose ou à un déoxyribose en position anomérique. Parmi eux, on peut trouver l'adénosine, l'uridine, la cytidine, la guanosine ou encore la thymidine. Les bases nucléiques peuvent être de type purine (adénine, guanine) ou pyrimidine (cytosine, thymine, uracile) (Figure 10). Au sein des cellules, les nucléosides peuvent être phosphorylés en position 3' et 5' par des kinases spécifiques pour former les nucléotides.

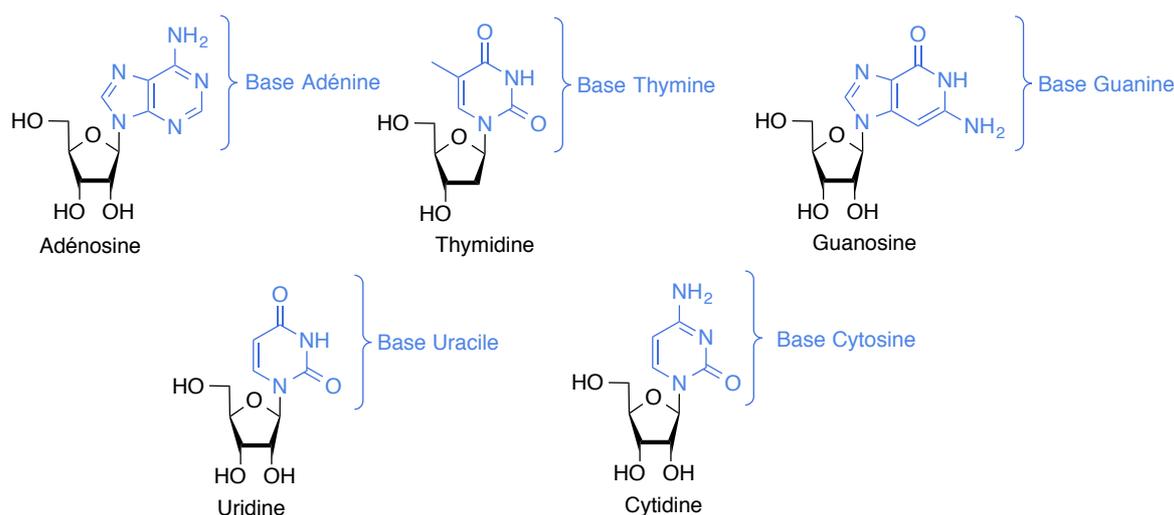


Figure 10

Au cours des dernières décennies, les analogues de nucléosides ont suscité un fort intérêt, notamment au sein de l'industrie pharmaceutique. Ils ont permis de mettre au point des composés intéressants pour la chimiothérapie anticancéreuse comme la cytarabine (ara-C) ou

la 5-fluoro-2'-déoxyuridine (FDUR),<sup>18</sup> pour le traitement antitumoral, comme la toyocamicine,<sup>19</sup> et pour la lutte contre les pathologies virales. L'AZT a par exemple été le premier médicament approuvé pour le traitement du VIH (Figure 11).<sup>20</sup>

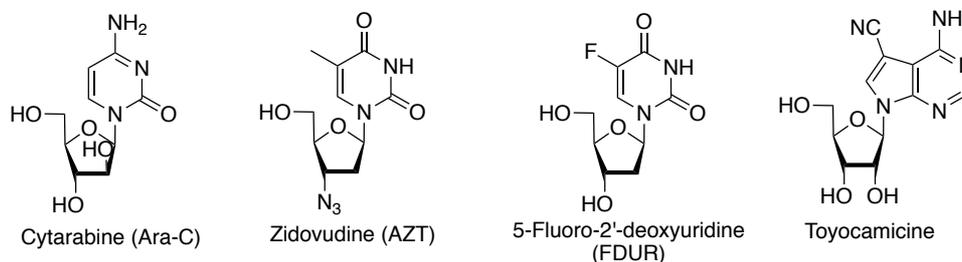


Figure 11

Cependant l'utilisation des nucléosides peut faire face à certaines limitations comme une sélectivité moindre, une toxicité importante et l'émergence de la résistance des pathogènes aux molécules bioactives. C'est pourquoi les recherches autour de la synthèse d'analogues de nucléosides sont encore et toujours un sujet d'actualité. Afin de créer de nouveaux composés biologiquement actifs, en plus de modifier les groupements de la molécule (et leur stéréochimie), il est possible de jouer sur la taille du motif saccharidique en remplaçant un furanoside par un pyranoside. Ces modifications structurales ont pour but de renforcer l'activité biologique de la molécule tout en diminuant sa toxicité.

Parmi eux, une famille particulière d'analogues nucléosidiques, ayant des propriétés intéressantes dans le domaine des antibiotiques mais aussi des fongicides, a été identifiée : il s'agit des peptidonucléosides,<sup>21</sup> parmi lesquels se trouvent des composés déjà cités précédemment comme la blasticidine S, la polyoxine B et évidemment la molécule d'intérêt au cœur de ce travail, la gougérotine (Figure 5, Figure 6, Figure 7).

Les paragraphes suivants se concentrent sur les voies de synthèse permettant l'accès aux peptidonucléosides et notamment sur la réaction de *N*-glycosylation entre la nucléobase et le motif saccharidique.

<sup>18</sup> Matsuda, A.; Azuma, A.; Nakajima, Y.; Takenuki, K.; Dan, A.; Iino, T.; Yoshimura, Y.; Minakawa, N.; Tanaka, M.; Sasaki, T. *Nucleosides and Nucleotides as Antitumor and Antiviral Agents*, Chu, C. K.; Baker, D. C., Eds. Springer US: Boston, MA, **1993**; 1-22.

<sup>19</sup> Tavitian, S. C. *et al. Biochim. Biophys. Acta* **1968**, *157*, 33-36.

<sup>20</sup> Horwitz, J. P.; Chua, J.; Noel, M. *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 2076-2078.

<sup>21</sup> Niu, G.; Tan, H. *Trends Microbiol.* **2015**, *23*, 110-119.

## II.2.2) La *N*-glycosylation au cœur de la synthèse de nucléosides

La synthèse des nucléosides s'articule principalement autour de la réaction de *N*-glycosylation permettant de lier une base pyrimidine ou purine à la position anomérique d'un sucre furanose ou pyranose protégé de façon adéquate. Dans le cas des peptidonucléosides comme la gougérotine, une autre étape primordiale est le couplage peptidique entre le motif saccharidique et le peptide considéré. Il existe une multitude de conditions possibles pour créer cette liaison amide, utilisant le plus souvent les agents de couplage tels que EDC, HOBt, PyBOP, HATU, *N*-hydroxysuccinimide, etc. Cette étape de couplage est souvent réalisée après l'étape de glycosylation.

Les nucléosides peuvent également être obtenus par voie enzymatique. Deux enzymes sont principalement employées : la nucléoside phosphorylase et la *N*-déoxyribosyltransférase. Les synthèses enzymatiques peuvent être plus simples et plus rapides que les voies synthétiques. La présence de groupements protecteurs n'est pas nécessaire compte tenu de la spécificité de l'enzyme à réagir sur un centre donné et les réactions sont régio- et stéréospécifiques avec l'obtention d'anomères  $\beta$  uniquement. Cependant, cette spécificité des enzymes vis à vis de leurs substrats limite la diversité des analogues pouvant être obtenus par voie enzymatique, les enzymes ne reconnaissant généralement que les nucléobases naturelles et cette voie reste donc marginale dans la synthèse de nucléosides. Seule la synthèse par voie chimique sera décrite ici.

La réaction de *N*-glycosylation étant l'étape indispensable de toute synthèse de nucléosides, les aspects mécanistiques, les principales conditions mises en œuvre et les dernières avancées concernant cette réaction sont présentés.

### II.2.2.a) Les aspects mécanistiques de la *N*-glycosylation

La synthèse de nucléosides fait intervenir une base hétérocyclique nucléophile et un sucre électrophile, liés l'un à l'autre à l'aide d'une réaction de *N*-glycosylation. C'est une réaction de substitution nucléophile d'une fonction amine sur un motif saccharidique, appelé donneur de glycosyle, possédant un groupement partant (ou activable) en position anomérique. Cette espèce électrophile est appelée ainsi car elle transfère le motif glycosyle à l'espèce nucléophile appelée accepteur de glycosyle. La fonction amine peut provenir d'acides aminés ou, dans le cas présent, de bases nucléiques de type pyrimidine ou purine (Schéma 1).

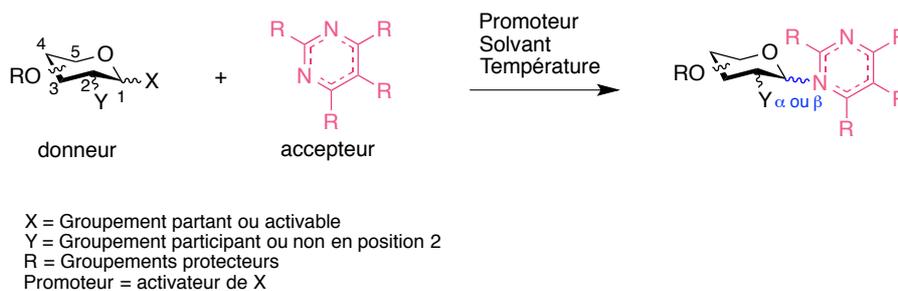


Schéma 1

La réaction prévoit la formation d'une liaison carbone-azote au niveau du centre anomérique en présence d'un promoteur, généralement un acide de Lewis, qui permet d'activer le groupement partant. Les rendements de la réaction sont donc fortement dépendants de la nature de ce groupement X mais aussi des groupements protecteurs, du promoteur, de la température, du solvant, de la concentration et de l'ajout d'additifs. La liaison formée peut être axiale ou équatoriale.

Concernant le mécanisme de la glycosylation, il est fréquemment admis qu'un mécanisme de type  $S_N1$ , avec formation d'un intermédiaire ionique clé, est favorisé par rapport à une pure  $S_N2$ .<sup>22</sup> Ainsi, le départ du groupe partant présent sur la position anomérique du donneur de glycosyle **A** lors de son activation par un promoteur conduit à un ion oxacarbénium **B** – ou cation glycosyle. Selon la stabilité de **B** et la nature du contre-ion, les espèces **C**, avec une paire d'ions séparés par le solvant et **D**, avec une liaison covalente, peuvent aussi être générées. L'intermédiaire ionique subit ensuite l'attaque d'un nucléophile pour conduire au produit **E**.

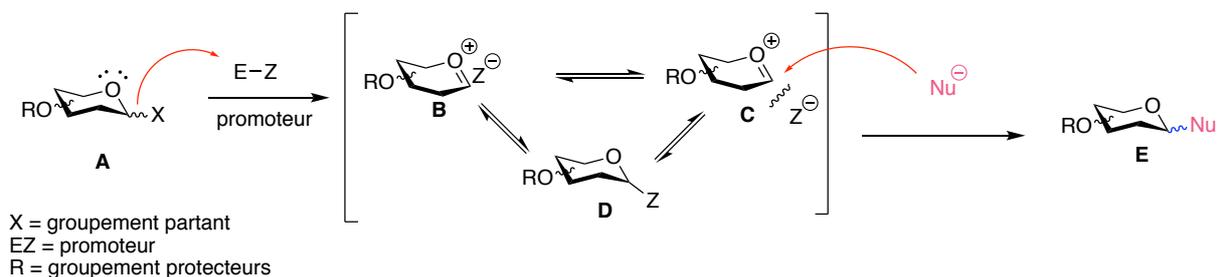


Schéma 2

Jusqu'à il y a peu, ce cation glycosyle, n'avait jamais été isolé en milieu condensé. En 2016, l'équipe de Blériot a décrit la caractérisation RMN de cet ion oxacarbénium en utilisant un

<sup>22</sup> (a) Mydock, L. K.; Demchenko, A. V. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 497-510. (b) Bohé, L.; Crich, D. *Carbohydr. Res.* **2015**, *403*, 48-59.

milieu superacide.<sup>23</sup> Les superacides sont plus forts que l'acide sulfurique 100 % anhydre et peuvent protoner des bases très faibles tels que des groupements carbonyles, des aromatiques, des alcènes, etc. Parmi les superacides les plus courants se trouvent l'acide triflique TfOH, l'acide trifluoroantimonique HF/SbF<sub>5</sub>, l'acide fluorosulfurique HFSO<sub>3</sub> ou encore l'acide perchlorique HClO<sub>4</sub>. Ces composés ont notamment déjà été utilisés afin d'étudier les carbocations (et notamment les ions oxacarbénium) dans des études de RMN basse température.<sup>24</sup> L'équipe de Blériot a donc mis en solution le 2-déoxy-tétraacétate-β-D-glucopyranoside **2** dans un mélange 4:1 HF/SbF<sub>5</sub> à -40 °C (Schéma 3). Ces conditions provoquent le départ spontané de l'acétate anomérique et les spectres <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C de l'ion oxacarbénium correspondant **3**, totalement protoné, ont pu être obtenus, avec les déplacements chimiques caractéristiques du proton anomérique à 8,89 ppm et 229,1 ppm. Les calculs DFT et les constantes de couplages montrent que l'oxacarbénium adopte une conformation <sup>4</sup>E où les substituants sont en position pseudo-équatoriales. En réalisant plusieurs RMN successives, à des températures allant de -50 °C à 20 °C, les auteurs ont pu constater que cet intermédiaire était stable dans le temps et jusqu'à 0 °C en milieu superacide. De même, l'ion oxacarbénium **5** du tri-*O*-acétyl-2-bromo-2-deoxy-β-D-glucopyranoside **4** a également pu être caractérisé. Cette fois, la molécule adopte une conformation demi-chaise <sup>4</sup>H<sub>5</sub> avec un ion bromonium dont la présence est révélée par les déplacements chimiques du proton anomérique à 8,36 ppm et 198,1 ppm (Schéma 3).

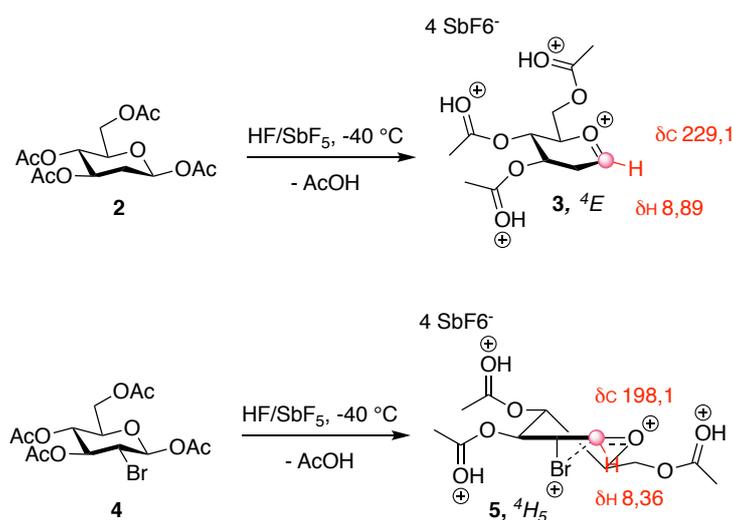


Schéma 3

<sup>23</sup> Martin, A.; Arda, A.; Désiré, J.; Martin Mingot, A.; Probst, N.; Sinaÿ P.; Jiménez Barbero, J.; Thibaudeau S.; Blériot Y. *Nat Chem* **2016**, 8, 186-191.

<sup>24</sup> Olah, G. A.; Baker, E. B.; Evans, J. C.; Tolgyesi, W. S.; McIntyre, J. S.; Bastien, I. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 1360-1373.

La même méthode appliquée au peracétyl-2-azido-2-déoxy- $\beta$ -D-glucopyranoside, avec un groupement électroattracteur en C2 connu pour déstabiliser les ions oxacarbénium, n'as pas fourni les mêmes résultats : l'acétate anomérique n'a pas été expulsé. Cette démonstration d'isolement et de caractérisation de l'ion oxacarbénium en milieu superacide a donc ses limites et ne peut pour l'instant pas être étendue au milieu organique neutre. En effet, en milieu neutre, l'ion oxacarbénium glycosyle adopte normalement la configuration qui maximise le nombre de liaisons C-O pseudo-axiales pour une meilleure stabilisation de la charge positive sur le centre anomérique à travers l'espace.<sup>25</sup> Les intermédiaires observés ici totalement protonés empêchent ce type de stabilisation et il en résulte des conformations qui favorisent les substituants pseudo-équatoriaux. De plus, le cation est ici libéré du contre ion du promoteur par le milieu superacide. L'expérience exclut donc l'influence possible de ce contre-ion sur les conformations de l'intermédiaire.

La régiosélectivité de la glycosylation, quant à elle, est contrôlée par les groupements protecteurs. En effet, le plus souvent, un donneur totalement protégé est utilisé avec un accepteur où seule une fonction amine est capable de réagir.

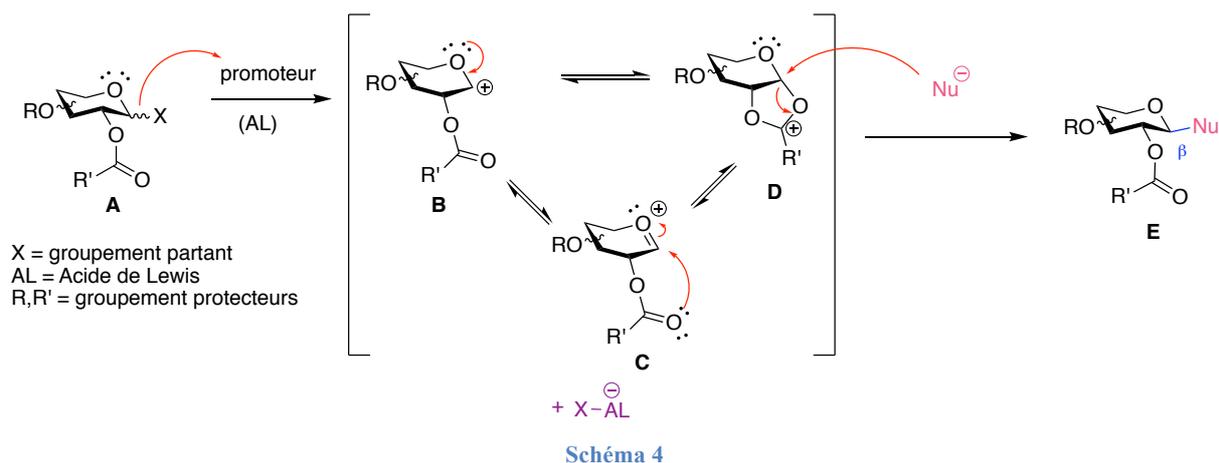
La liaison glycosidique C-N formée peut être  $\alpha$  ou  $\beta$  (respectivement axiale ou équatoriale sur un cycle pyrano en série *gluco*, *manno* ou *galacto*). La stéréosélectivité de cette liaison est contrôlée en grande partie par la nature du groupement protecteur en position 2. S'il est non participant et peu encombrant (comme par exemple un groupement azoture), le produit est généralement obtenu sous la forme d'un mélange  $\alpha/\beta$  avec une majorité de produit  $\alpha$ , stabilisé par effet anomère (c'est-à-dire une stabilisation par délocalisation d'un doublet non liant de l'oxygène du cycle dans l'orbitale  $\sigma^*$  associée à la liaison glycosidique).<sup>26</sup>

Si ce groupement est participant (par exemple un ester), il intervient dans la formation sélective d'une liaison glycosidique  $\beta$ . Dans ce cas, comme décrit sur le Schéma 4, le cation intermédiaire **B** sera piégé de manière intramoléculaire, aboutissant à la formation de l'intermédiaire acyloxonium **D**. On parle alors d'« assistance anchimérique ». La face de l'acyloxonium conduisant au produit  $\alpha$  n'est pas accessible, d'où la sélectivité  $\beta$  observée. Pour les nucléosides naturels, la liaison entre la base et le sucre est toujours équatoriale ( $\beta$ ). Il est donc judicieux d'insérer un groupement participant en position 2 du donneur.

---

<sup>25</sup> (a) Bohe, L.; Crich, D. *Nat Chem* **2016**, *8*, 99-100. (b) Walvoort, M. T. C.; Dinkelaar, J.; van den Bos, L. J.; Lodder, G.; Overkleef, H. S.; Codée, J. D. C.; van der Marel, G. A. *Carbohydr. Res.* **2010**, *345*, 1252-1263. (c) Smith, D. M.; Woerpel, K. A. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1195-1201.

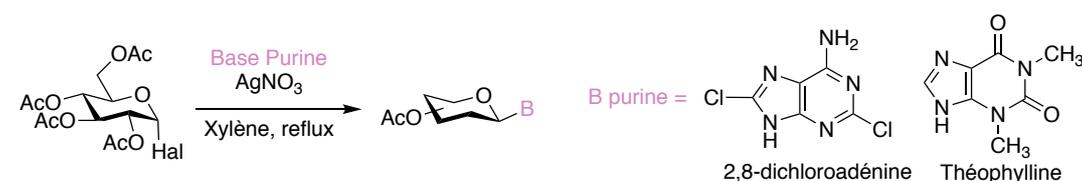
<sup>26</sup> R. U. Lemieux, in *Pure Appl. Chem.*, Vol. 25, **1971**, 527-548.



Dans le cadre de la synthèse de nucléosides, la méthode de *N*-glycosylation la plus populaire utilise les conditions de Vorbrüggen. Ces dernières requièrent l'emploi d'un sucre totalement protégé, d'une base silylée et d'un acide de Lewis en quantité stœchiométrique, généralement le tétrachlorure d'étain (SnCl<sub>4</sub>) ou le trifluorométhanesulfonate de triméthylsilyle (TMSOTf).

### II.2.2.b) La glycosylation de Vorbrüggen: historique

Les premières synthèses de nucléosides ont été réalisées par Fischer et Helferich en 1914.<sup>27</sup> Ils ont synthétisé la glucosyladénine à l'aide du sel d'argent de la 2,8-dichloroadénine avec le bromure de tétra-*O*-acétyl-D-glucopyranosyle dans le xylène à reflux (Schéma 5). La théophylline a également été testée. La réaction a bien fonctionné avec des purines mais s'est révélée inefficace lors de l'application aux pyrimidines.<sup>28</sup>



**Schéma 5**

<sup>27</sup> Fischer, E.; Helferich, B. *Chem. Ber.* **1914**, *47*, 210-235.

<sup>28</sup> Fischer, E. *Chem. Ber.* **1914**, *47*, 1377-1393.

A noter qu'il s'agit là d'une glycosylation de type Koenigs-Knorr avec formation sélective du nucléoside  $\beta$ -glucopyranosyle.<sup>29</sup>

C'est à Hilbert et Johnson qu'est revenu l'honneur de synthétiser le premier nucléoside à base pyrimidique en 1930. La réaction a procédé par la substitution d'un halogénure en position anomérique d'un poly-*O*-acylglycosyle par une 2,4-dialkoxyrimidine (Schéma 6).<sup>30</sup> Cette méthode devint alors universelle pour la préparation de ces composés. L'équipe de Fox utilisa ensuite des dérivés pyrimidiques de mercure pour améliorer la réaction.<sup>31</sup> Cette technique a ensuite été elle-même légèrement modifiée par Helferich avec l'introduction de cyanure de mercure en association avec le nitrométhane comme promoteur.<sup>32</sup>

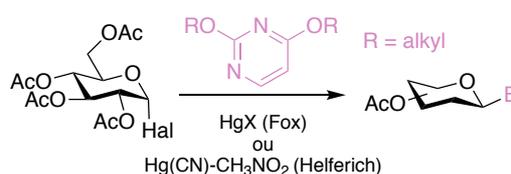


Schéma 6

Vorbrüggen apporta ensuite quelques améliorations primordiales à la réaction d'Hilbert-Johnson et c'est pourquoi la méthode de choix actuellement utilisée pour la synthèse de nucléosides utilise les « conditions de Vorbrüggen ». Dans un premier temps, les groupements alkoxy sur les pyrimidines ont été remplacés par des groupements *O*-silylés.<sup>33</sup> En réalité, cette méthode avait déjà été décrite par Wittenburg.<sup>34</sup> Il introduisit ensuite de nouveaux promoteurs moins toxiques que les dérivés au mercure tels que le tétrachlorure d'étain,<sup>35</sup> le perchlorate de triméthylsilyle ou encore le trifluorométhanesulfonate de triméthylsilyle,<sup>36</sup> des acides de Lewis encore largement utilisés de nos jours.<sup>37,38</sup>

Pour résumer, les conditions expérimentales de Vorbrüggen prévoient l'utilisation d'un donneur électrophile **A** avec une base de type pyrimidine ou purine silylée en présence d'un acide de Lewis fort, de type SnCl<sub>4</sub> ou TMSOTf, généralement en quantité stœchiométrique, pour conduire au nucléoside **E** (Schéma 7).

<sup>29</sup> (a) Koenigs, W., Knorr, E. *Chem. Ber.* **1901**, *34*, 957 (b) Igarashi, K. The Koenigs-Knorr Reaction in *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, Stuart Tipson, R.; Horton, D., Eds. Academic Press: 1977; Vol. 34, p 243-283.

<sup>30</sup> Hilbert, G. E.; Johnson, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, *52*, 4489-4494.

<sup>31</sup> Fox, J. J.; Yung, N.; Davoll, J.; Brown, G. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 2117-2122.

<sup>32</sup> Helferich, B.; Weis, K. *Chem. Ber.* **1956**, *89*, 314-321.

<sup>33</sup> Vorbrüggen, H.; Strehlke, P.; Schulz, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1969**, *8*, 976-977.

<sup>34</sup> Wittenburg, E. *Zeitschrift für Chemie* **1964**, *4*, 303-304.

<sup>35</sup> Niedballa, U.; Vorbrüggen, H. *Angew. Chem.* **1970**, *82*, 449-450.

<sup>36</sup> Vorbrüggen, H.; Krolikiewicz, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1975**, *14*, 421-422.

<sup>37</sup> Vorbrüggen, H.; Höfle, G. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1256-1268.

<sup>38</sup> Vorbrüggen, H.; Krolikiewicz, K.; Bennua, B. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1234-1255.

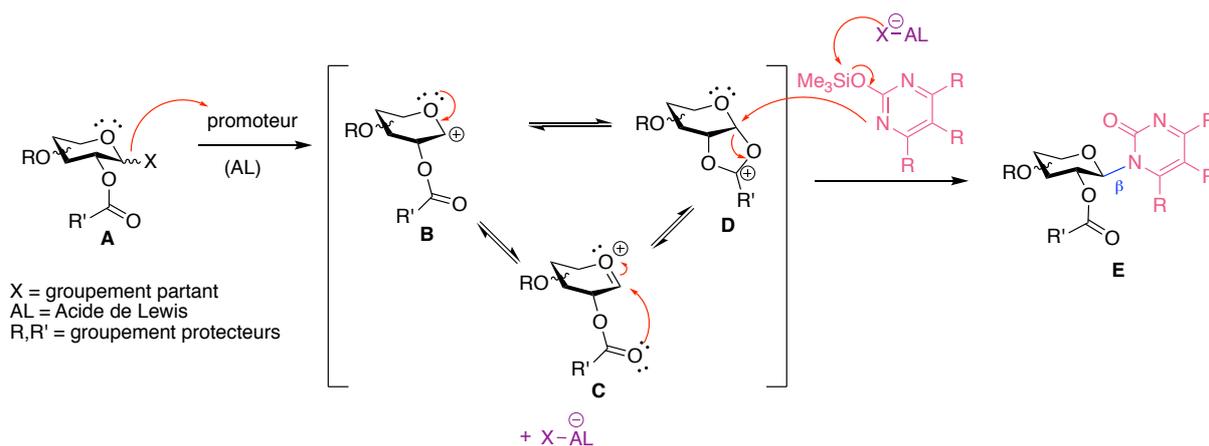


Schéma 7

La silylation, des fonctions hydroxyles notamment, intervient généralement lorsque l'on souhaite analyser des produits peu volatiles, en chromatographie de phase gazeuse ou en spectrométrie de masse. La dérivation des alcools permet d'augmenter la volatilité des produits. Dans le cas présent, les bases nucléiques étant des espèces peu nucléophiles et peu solubles, une compétition peut avoir lieu au sein du milieu réactionnel avec d'autres espèces nucléophiles comme les groupes partants. La silylation de la base a pour but d'augmenter sa nucléophilie et sa solubilité dans le milieu et ainsi sa réactivité. Elle se fait à l'aide d'agents silylants tels que l'hexaméthylidisilazane (HMDS) ou le bistriméthylsilylacétamide (BSA).

Les donneurs de glycosyle peuvent être classés en différentes familles suivant le groupement partant (ou activable) présent sur le carbone anomérique. Le donneur le plus communément employé dans la réaction de *N*-glycosylation utilisant les conditions de Vorbrüggen est le donneur acétate mais l'utilisation d'autres donneurs a également été décrite dans la littérature.

### II.2.2.c) Les donneurs de glycosyle en *N*-glycosylation dans les conditions de Vorbrüggen

#### – Donneurs acétates

Une des familles de donneurs de glycosyle les plus faciles à synthétiser et les plus souvent utilisés dans les processus de glycosylation sont ceux portant un groupement acétate en position anomérique. Ainsi, les premières glycosylations de Vorbrüggen pour la synthèse de nucléosides en 1981 faisaient intervenir un donneur ribofuranoside de type acétate. Ce groupement peut en effet être facilement activé par un acide de Lewis, un acide de Brønsted

ou encore des triflates de métaux. De plus c'est un groupement relativement stable, aisé à manipuler et qui ne se décompose pas avant l'étape de glycosylation. L'utilisation de donneurs acétates furanoses et pyranoses avec les conditions de Vorbrüggen a été largement décrite dans la synthèse de nucléosides, à partir de monosaccharides acétylés,<sup>39</sup> mais aussi sur des donneurs plus complexes comme lors de la synthèse de la tunicamycine V de Danishefsky, sur des disaccharides. (Schéma 8).<sup>40</sup>

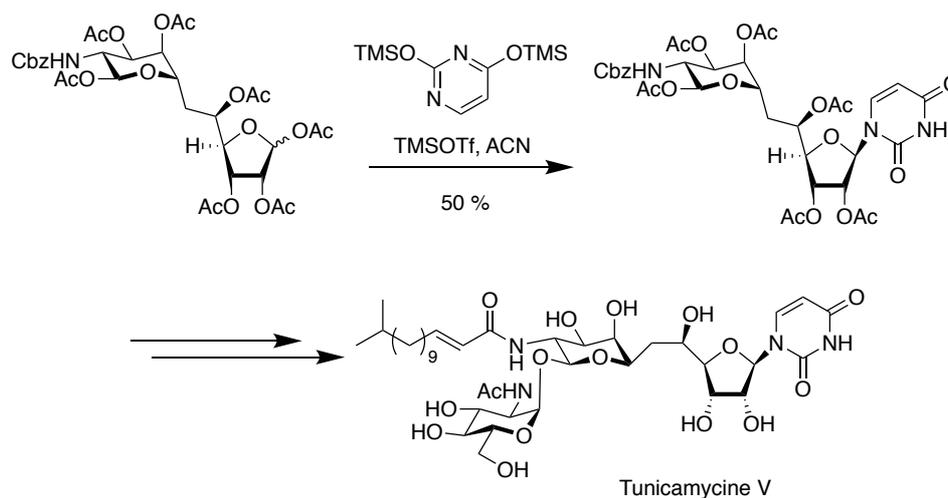


Schéma 8

Récemment, un intérêt grandissant pour les réactions effectuées sous irradiation micro-onde s'est développé.<sup>41</sup> Le principal avantage de cette technique est la diminution du temps de réaction et ainsi la limitation des sous-produits potentiellement formés. Quelques exemples de *N*-glycosylation sous irradiation micro-onde dans les conditions de Vorbrüggen ont été décrits, principalement à partir de donneurs acétylés.<sup>42</sup> Le micro-onde permet d'atteindre rapidement des températures élevées (jusqu'à 150 °C) qui solubilise même les bases les plus polaires, et cela dans des conditions de sécurité optimale et avec un chauffage homogène du milieu réactionnel. Par exemple, des glycosylations qui procédaient en 24 h dans l'acétonitrile à reflux (82 °C) ont fourni des résultats satisfaisants en 5 min sous irradiation micro-onde à 130 °C (Schéma 9).<sup>42a</sup>

<sup>39</sup> (a) Maguire, M. P.; Feldman, P. L.; Rapoport, H. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 948-955. (b) Danishefsky, S. J.; Hungate, R.; Schulte, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7434-7440.

<sup>40</sup> Danishefsky, S. J.; Barbachyn, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 7761-7762.

<sup>41</sup> Kappe, C. O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6250-6284.

<sup>42</sup> (a) Bookser, B. C.; Raffaele, N. B. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 173-179. (b) Andrzejewska, M.; Kamiński, J.; Kazimierzczuk, Z. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2002**, *21*, 73-78. (c) Xavier, N. M.; Schwarz, S.; Vaz, P. D.; Csuk, R.; Rauter, A. P. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 2770-2779.

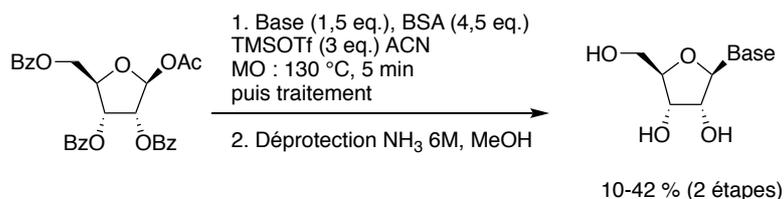


Schéma 9

Les conditions de Vorbrüggen ont également été appliqués à des donneurs moins couramment employés : les thioglycosides.

### – Les thioglycosides et donneurs sulfoxydes

Les thioglycosides sont des intermédiaires de synthèse couramment utilisés en glycochimie. Contrairement à d'autres activateurs de la position anomérique, tels que les trichloroacétimidates par exemple, les thioglycosides sont stables et peuvent être introduits en début de synthèse. Leur mise en place est simple et ils peuvent être activés par un grand nombre de promoteurs.<sup>43</sup> L'activation des thioglycosides est le plus couramment réalisée en présence de *N*-iodo-succinimide (NIS) associé à l'acide triflique, une méthode particulièrement efficace reportée pour la première fois en *O*-glycosylation en 1990 par Van Boom.<sup>44</sup> En effet, l'iodonium est thiophile de par son caractère mou et va venir activer le soufre. L'acide triflique permet notamment d'empêcher l'attaque nucléophile de l'anion succinimide sur l'oxacarbénium (Schéma 10).

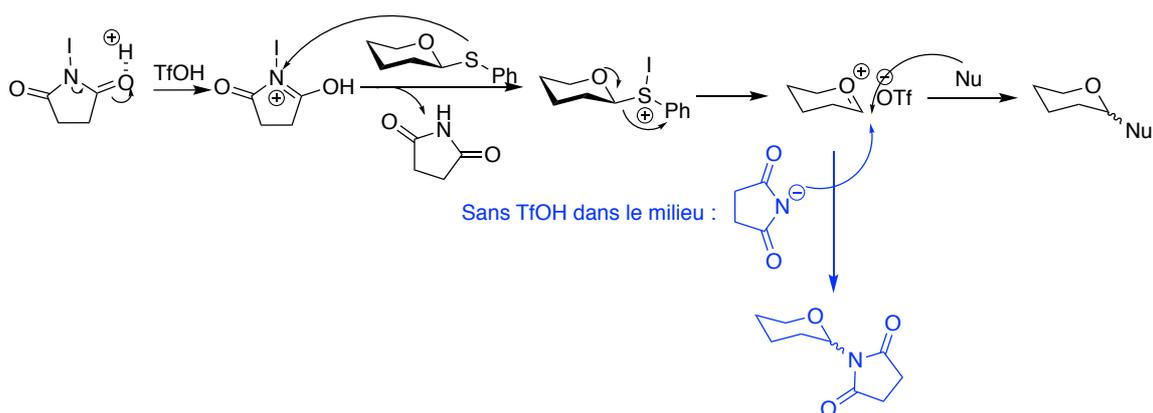


Schéma 10

Les nombreux hétéroatomes basiques présents sur les sucres peuvent parfois entrer en compétition avec le groupement partant en position anomérique vis à vis de l'électrophile

<sup>43</sup> Garegg, P. J., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, Derek, H., Ed. Academic Press: **1997**, 52, 179-205.

<sup>44</sup> Veeneman, G. H.; van Leeuwen, S. H.; van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 1331-1334.

utilisé comme promoteur, comme par exemple TMSOTf. L'utilisation d'un promoteur thiophile comme NIS permet de s'affranchir de ce type de problèmes.

Alors qu'ils sont très largement utilisés en *O*-glycosylation, il existe assez peu d'exemples de synthèse de nucléosides à partir de donneurs thioglycosides.<sup>45</sup> Leur utilisation remonte à 1991. Knapp et son équipe ont glycosylé avec succès différentes bases silylées, à la fois pyrimidines et purines, par des thioglycosides pyranoses et furanoses, en série glucose et galactose en utilisant le promoteur NIS/TfOH en quantité stœchiométrique. Les nucléosides ont été obtenus avec des rendements allant de 56 à 90 %.<sup>46</sup> Plus récemment, l'acide triflique a été remplacé par le perchlorate supporté sur silice, plus stable et plus facile à manipuler, dans des réactions de *O*-glycosylation.<sup>47</sup> La *N*-glycosylation de nucléobases par des thioglycosides à l'aide d'un nouveau système promoteur a été publiée en 2015.<sup>48</sup> Elle prévoit la préactivation des donneurs à l'aide du système (*p*Tol)<sub>2</sub>SO/Tf<sub>2</sub>O, dans un mélange DCM/ACN à - 60 °C. La méthode a été appliquée à différents donneurs peracétylés et perbenzylés, pyranoses et furanose, avec des nucléobases pyrimidines et purines (Schéma 11). Les nucléosides correspondants ont été obtenus avec des rendements allant de 69 à 99 %.

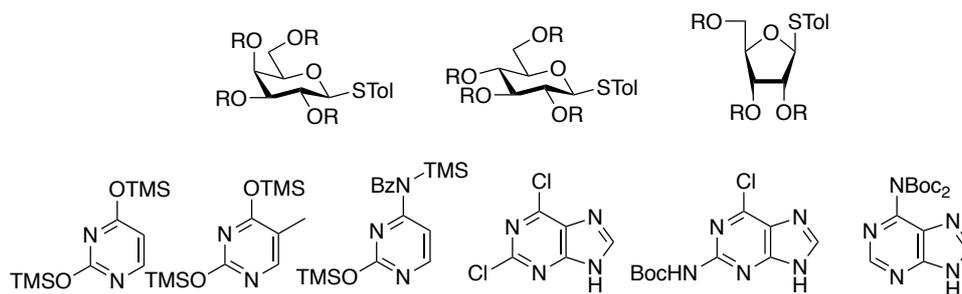


Schéma 11

Les thioglycosides sont également des précurseurs pour l'obtention d'autres catégories de donneurs tels que les sulfoxydes. Le groupe de Kahne a en effet montré que l'activation de la position anomérique sous la forme d'un sulfoxyde se révélait efficace pour la *O*-glycosylation de nucléophiles faibles tels que les alcools encombrés ou les dérivés du phénol.<sup>49</sup> La réaction s'effectue alors dans des conditions douces en utilisant l'anhydride triflique comme promoteur, à basse température. L'oxygène du sulfoxyde **A** réagit avec l'anhydride triflique pour former une espèce sulfonium **B**, qui se réarrange avec éjection d'un triflate de

<sup>45</sup> (a) Mitsudo, K.; Kawaguchi, T.; Miyahara, S.; Matsuda, W.; Kuroboshi, M.; Tanaka, H. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4649-4652. Mata, G.; Luedtke, N. W. (b) *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 9006-9017. (c) Nokami, J.; Osafune, M.; Ito, Y.; Miyake, F.; Sumida, S.-i.; Torii, S. *Chem. Lett.* **1999**, *28*, 1053-1054.

<sup>46</sup> Knapp, S.; Shieh, W.-C. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 3627-3630.

<sup>47</sup> Mukhopadhyay, B.; Collet, B.; Field, R. A. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5923-5925.

<sup>48</sup> Liu, G.-j.; Zhang, X.-t.; Xing, G.-w. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 12803-12806.

<sup>49</sup> Kahne, D.; Walker, S.; Cheng, Y.; Van Engen, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6881-6882.

phénylesulfenyle **C** pour donner l'espèce oxonium active du donneur **D**. Cette dernière est ensuite piégée par un alcool pour former le glycoside **E** (Schéma 12). De très bons rendements sont obtenus en un temps de réaction très court. Il existe de nombreux exemples de l'utilisation des sulfoxydes en glycosylation, notamment illustrée par le groupe de Crich dans les années 90.<sup>50</sup>

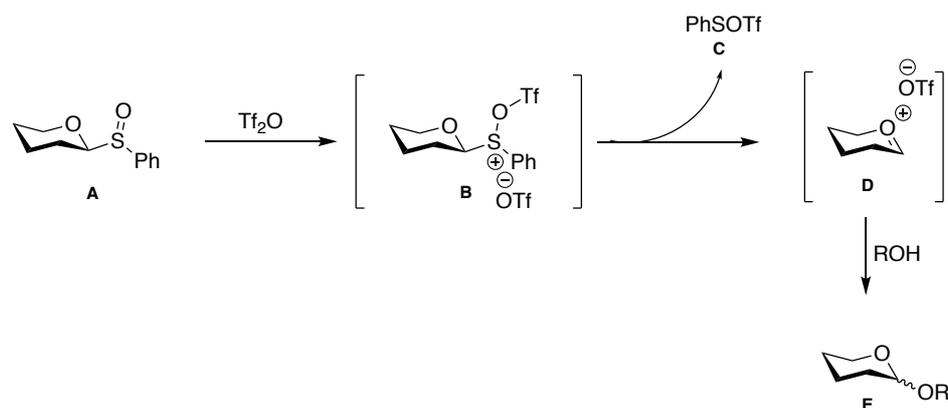


Schéma 12

Cependant, peu d'articles font référence à la *N*-glycosylation de bases nucléiques par des sulfoxydes pour la synthèse de dérivés nucléosidiques. En 1992, le groupe de Beau a utilisé des sulfoxydes dérivés du ribose dans les conditions de Vorbrüggen, pour synthétiser efficacement des nucléosides avec des rendements allant jusqu'à 95 % (Schéma 13).<sup>51</sup>

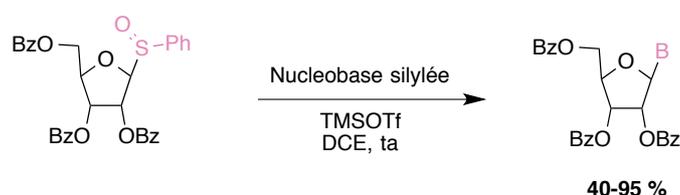


Schéma 13

A notre connaissance, il n'existe qu'un seul exemple dans la littérature de glycosylation de bases nucléiques par des pyranosides où la position anomérique est substituée par un sulfoxyde.<sup>52</sup> Il s'agit du donneur **6**, un pyranose disubstitué en C5, où la position 2 est estérifiée, la position 3 est occupée par un groupement méthoxy et les positions 4 et 6 sont protégées par un benzylidène, et avec lequel seule la thymine a été glycosylée pour conduire au nucléoside **7** avec un rendement de 81 % (Schéma 14). Comme il sera décrit dans le

<sup>50</sup> (a) Crich, D.; Sun, S. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 8321-8348. (b) Crich, D.; Sun, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11217-11223.

<sup>51</sup> Chanteloup, L.; Beau, J.-M. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5347-5350.

<sup>52</sup> Bomholt, N.; Jørgensen, P. T.; Pedersen, E. B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 7376-7378.

chapitre III, une étude portant sur la glycosylation de différentes bases nucléiques par un donneur de type *D-gluco* substitué par un sulfoxyde en position anomérique sera effectuée lors de ce travail.

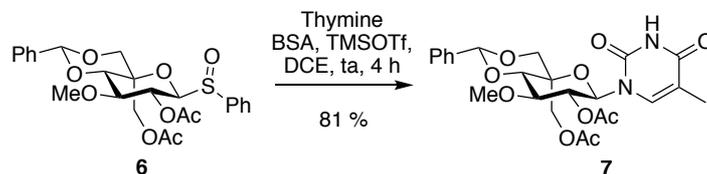


Schéma 14

### – Les trichloroacétimidates et trifluoroacétimidates

La formation de donneurs activés par l'intermédiaire d'un groupement trichloroacétimide en position anomérique est une méthode parmi les plus courantes en *O*-glycosylation, mise en place par Schmidt.<sup>53</sup> Étonnamment, l'utilisation de ces donneurs dans la synthèse de nucléosides est moins fréquente. Il existe néanmoins quelques exemples, notamment avec des furanosides. En 1994, Chanteloup et Thuong ont synthétisé plusieurs 2'-*O*-alkylribonucléosides, avec une  $\beta$ -sélectivité supérieure à 95 %, à partir de ribofuranosides trichloroacétimidates en glycosylant plusieurs bases silylées avec succès, avec TMSOTf comme promoteur (Schéma 15).<sup>54</sup>

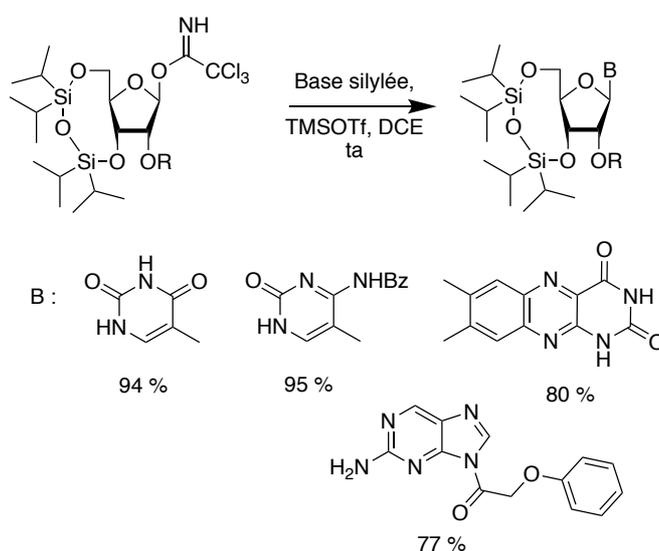


Schéma 15

<sup>53</sup> (a) Schmidt, R. R.; Reichrath, M. *Angew. Chem.* **1979**, *91*, 497-499. (b) Schmidt, R. R.; Michel, J. J. *Carbohydr. Chem.* **1985**, *4*, 141-169.

<sup>54</sup> Chanteloup, L.; Thuong, N. t. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 877-880.

Concernant les donneurs trichloroacétimidates pyranoses, Datta et Stauffer ont décrit un exemple de glycosylation de la thymine par ce type de donneurs en présence de TMSOTf (Schéma 16).<sup>55</sup> Cependant, la réaction procède avec un modeste rendement de 33 % et n'a pas fonctionné avec une autre base de type purine.

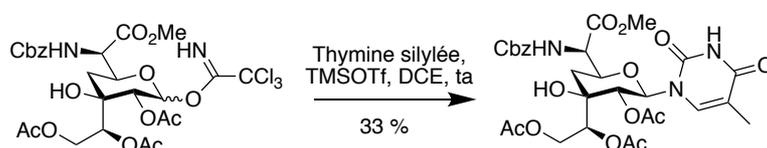


Schéma 16

Plus récemment, il a été montré que les trifluoroacétimidates pouvaient être employés comme donneurs de glycosyle.<sup>56</sup> L'équipe de Yu a synthétisé plusieurs nucléosides avec des rendements élevés (> 80 %) à partir de l'uracile ou de la thymine et des donneurs trifluoroacétimidates furanoses ou pyranoses.<sup>57</sup> Cette méthode a l'avantage d'utiliser seulement 0,1 eq. de TMSOTf en tant que promoteur.

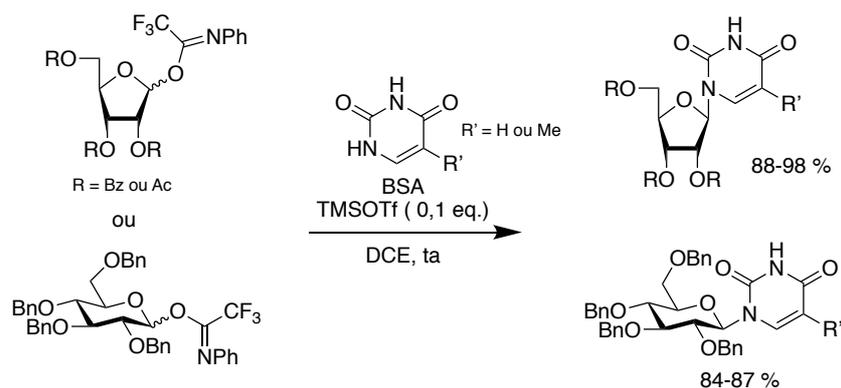


Schéma 17

Enfin, une dernière catégorie de donneurs est présentée : les halogénés, largement utilisés en *O*-glycosylation mais plus rarement en *N*-glycosylation.

### – Les donneurs halogénés

Comme décrit précédemment, les premières synthèses de nucléosides par Fischer et Helferich au début du 20<sup>e</sup> siècle ont été réalisées par couplage de purines avec des donneurs dont la position anomérique était activée par un atome de brome, à l'aide de sels d'argent ou de

<sup>55</sup> Stauffer, C. S.; Datta, A. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4166-4174.

<sup>56</sup> Yu, B.; Tao, H. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2405-2407.

<sup>57</sup> Liao, J.; Sun, J.; Yu, B. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5036-5038.

mercure.<sup>27,28</sup> Par la suite, cette méthode a été délaissée au profit des conditions de Vorbrüggen et les donneurs halogénés ont été majoritairement remplacés par des donneurs acétates, plus stables et plus simples à appréhender. Il existe cependant quelques exemples actuels décrivant la synthèse de nucléosides à partir de donneurs bromés ou chlorés utilisant les acides de Lewis SnCl<sub>4</sub> ou TMSOTf.<sup>58</sup> Des donneurs ribofuranosides fluorés en position anomérique ont également été couplés à différentes bases silylées, pyrimidines et purines, en présence de tétrafluorosilane pour conduire aux nucléosides correspondants avec des rendements allant de 64 à 90 %.<sup>59</sup>

La *N*-glycosylation de bases silylées employant les conditions de Vorbrüggen est donc peu fréquente avec des donneurs halogénés. Cependant, d'autres méthodes de glycosylation pour la synthèse de nucléosides à partir de ces mêmes donneurs ont vu le jour. On peut par exemple citer la glycosylation par transfert de phase décrite dans le paragraphe suivant.

En effet, même si les nucléosides sont toujours majoritairement obtenus *via* la glycosylation de silyl-Herbert-Johnson, dans les conditions de Vorbrüggen, ces dernières ne sont pas toujours compatibles avec les nombreux groupements présents sur la molécule. Face à ces limitations, d'autres méthodes de *N*-glycosylation de bases pyrimidines et purines ont donc été développées.

#### II.2.2.d) Les autres méthodes de *N*-glycosylation

La principale limitation des conditions de Vorbrüggen correspond à l'utilisation d'acides de Lewis en quantités stœchiométriques qui peuvent se révéler incompatibles avec les différents groupements protecteurs présents sur le sucre ou la base envisagés, et peuvent compliquer le traitement et/ou la purification, notamment à plus grosse échelle. Les nucléosides étant des cibles biologiques particulièrement importantes, la *N*-glycosylation des nucléobases continue de faire l'objet de nombreuses études et plusieurs méthodes de *N*-glycosylation, autre que celle de silyl-Herbert-Johnson, ont été développées. Parmi elles, plusieurs ont retenu notre attention et sont décrites ci-après.

---

<sup>58</sup> (a) Komsta, Z.; Mayes, B.; Moussa, A.; Shelbourne, M.; Stewart, A.; Tyrrell, A. J.; Wallis, L. L.; Weymouth-Wilson, A. C.; Yurek-George, A. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 6216-6219. (b) Pradeepkumar, P. I.; Cheruku, P.; Plashkevych, O.; Acharya, P.; Gohil, S.; Chattopadhyaya, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11484-11499.

<sup>59</sup> Noyori, R.; Hayashi, M. *Chem. Lett.* **1987**, *16*, 57-60.

## – La *N*-glycosylation par catalyse en transfert de phase

Dans un milieu biphasique eau-solvant organique, le catalyseur de transfert de phase va faciliter la migration d'une espèce ionique initialement présente en phase aqueuse vers la phase organique afin que la réaction avec l'autre substrat organique ait lieu. En effet, au contact de la phase aqueuse, le catalyseur va se dissocier en ions dont un est hydrophobe. Celui-ci va former une paire d'ions avec l'espèce ionique présente en phase aqueuse et transporter celle-ci en phase organique où elle pourra subir la réaction. Dans le cas de transfert d'espèce anionique, le catalyseur de transfert de phase utilisé est généralement un ammonium quaternaire.

Cette méthode a été appliquée à la *N*-glycosylation de nucléobases à l'aide de donneurs protégés par Seela et Winkeler en 1979.<sup>60</sup> La purine **9** a été couplée au bromo-D-arabinofuranose perbenzylé **8** pour conduire au nucléoside **10** avec un rendement de 85 % en mélange  $\alpha/\beta$  2/8. La réaction a eu lieu à température ambiante dans un mélange 1:1 benzène/soude et le catalyseur utilisé était le chlorure de benzyltriéthylammonium (Schéma 18). La nucléophilie de la base est ainsi exacerbée et le départ du groupement anomérique n'a pas besoin d'être activé par un promoteur. Néanmoins, les halogènes étant de très bons nucléofuges, il est possible que la réaction ne puisse pas être effectuée avec d'autres types de donneurs.

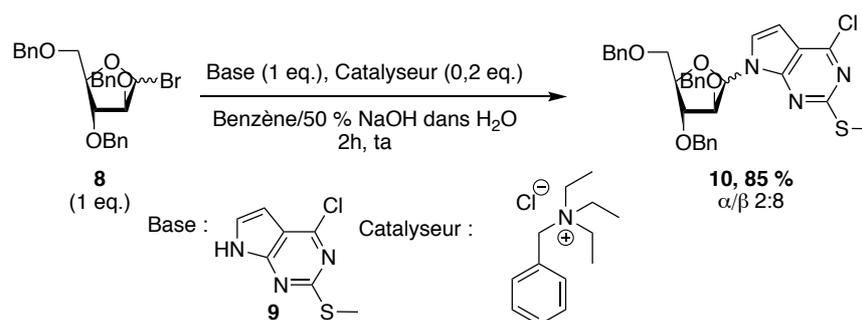


Schéma 18

Les dérivés de 2'-déoxynucléosides, constituants de l'ADN, représentent une importante cible synthétique due à leur potentielle activité antitumorale. L'absence de groupement participant en position C2 du sucre conduit généralement au nucléoside désiré en mélange anomérique. En utilisant la même méthodologie de glycosylation par transfert de phase, Seela et Winkeler

<sup>60</sup> Seela, F.; Winkeler, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1979**, *18*, 536.

ont couplé la purine **12** avec le 1-chloro-2-déoxy- $\alpha$ -D-érythropentofuranose **11** pour conduire au nucléoside correspondant **13** avec une sélectivité  $\beta$  totale (Schéma 19).<sup>61</sup> Ce résultat suppose qu'en l'absence de groupement en position C2, la glycosylation de la nucléobase par un donneur halogéné a lieu via un mécanisme  $S_N2$  et avec une inversion de configuration. Le temps de réaction relativement court favorise également ce mécanisme  $S_N2$ . La réaction a par la suite été étendue à plusieurs purines. Cette voie de synthèse donne donc accès à des  $\beta$ -2'-déoxy-nucléosides de façon stéréosélective à partir d'anomères  $\alpha$  de donneurs halogénés.

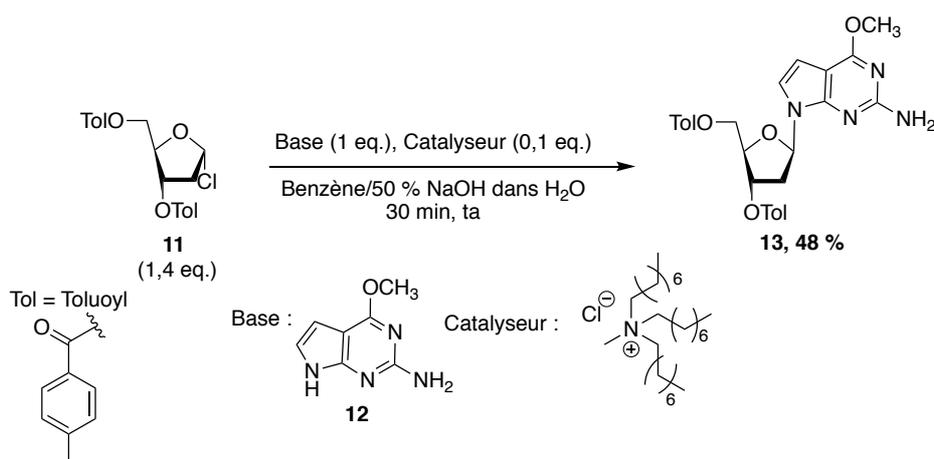


Schéma 19

La *N*-glycosylation par transfert de phase est certes une méthode élégante mais elle peut difficilement faire l'objet d'une exemplification car elle est très substrat-dépendante. C'est pourquoi elle a surtout été décrite sur des réactions modèles.

Les acides de Brønsted sont également capables de servir de promoteurs lors de réaction de glycosylation et cela dans des quantités catalytiques, contrairement aux acides de Lewis utilisés dans les conditions de Vorbrüggen.

#### – La *N*-glycosylation catalysée aux acides de Brønsted

La première utilisation d'un acide de Brønsted en *N*-glycosylation remonte à 1966 avec la fusion d'une purine chlorée avec le  $\beta$ -D-ribofuranoside peracétylé en présence d'une quantité catalytique d'acide *p*-toluène sulfonique à une température élevée sans solvant (Schéma 20).<sup>62</sup>

<sup>61</sup> Winkeler, H. D.; Seela, F. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3119-3122.

<sup>62</sup> Montgomery, J. A.; Hewson, K. *J. Med. Chem.* **1966**, *9*, 354-357.

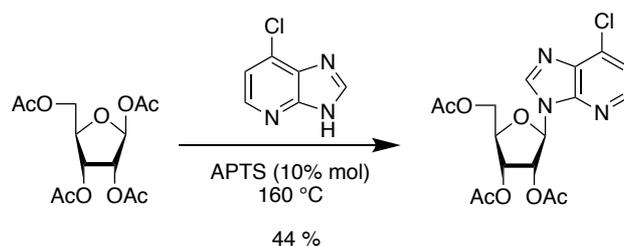


Schéma 20

En 2011, Jamison a rapporté une méthodologie de *N*-glycosylation catalysée par un acide de Brønsted, appliquée en chimie de flux et au micro-onde.<sup>63</sup> Il a présenté dans un premier temps la sélection du catalyseur sur une réaction modèle entre le sucre **14** et la thymine au micro-onde avec 5 %mol de charge catalytique. Les triflates de pyridinium ont conduit aux meilleurs résultats et notamment le triflate de 2,6-di-*tert*-butyl-4-méthylpyridinium **15**. La nature du contre-ion s'est révélée déterminante : aucune conversion n'a été observée avec le chlorure, le trifluoroacétate et le méthanosulfonate de pyridinium. La réaction de *N*-glycosylation de neuf bases purines et pyrimidines par le sucre **14** a ensuite été décrite, en flux et en micro-onde, pour conduire aux nucléosides correspondants **16** avec des rendements allant de 80 à 99 %, pour des temps de réactions compris entre 0,5 et 20 min (Schéma 21).

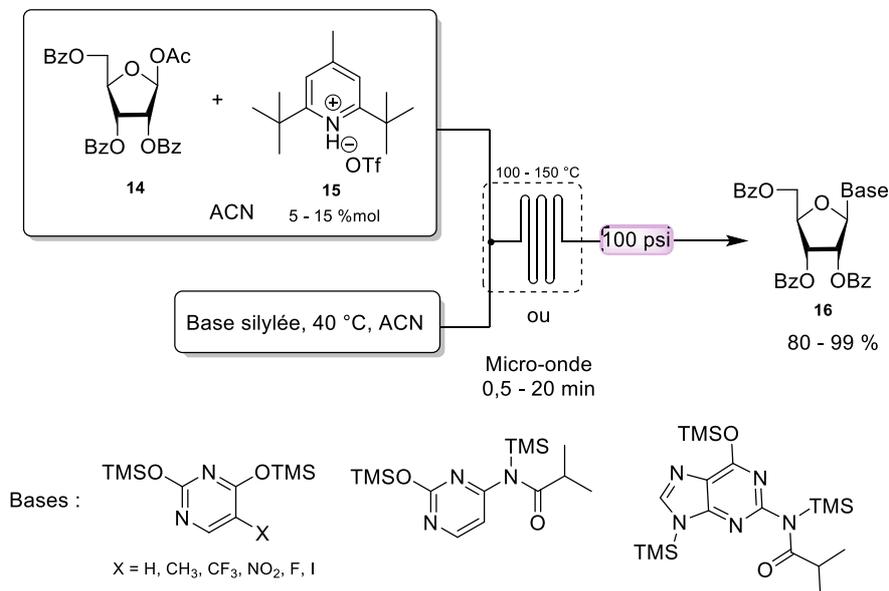


Schéma 21

Cette méthodologie a par la suite été appliquée à la synthèse en flux de produits naturels comme la doxifluridine et la capécitabine.<sup>64</sup> Elle a récemment été étendue à la synthèse de

<sup>63</sup> Sniady, A.; Bedore, M. W.; Jamison, T. F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 2155-2158.

<sup>64</sup> Shen, B.; Jamison, T. F. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3348-3351.

nucléosides à motif pyranose en utilisant un autre acide de Brønsted, le sel d'oxazolium **19**.<sup>65</sup> Les pyrimidines **18** ont été glycosylées par les gluco- et galactopyranosides **17** avec des rendements allant de 91 à 98 % (Schéma 22).

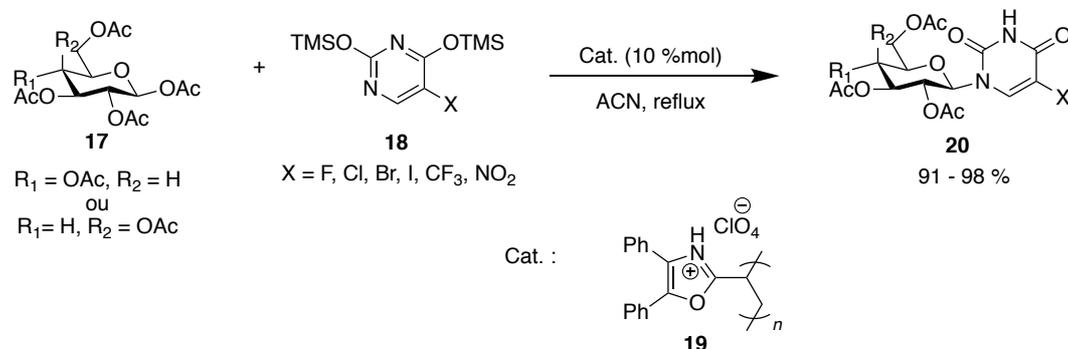


Schéma 22

Récemment, la synthèse de nucléosides grâce à une *N*-glycosylation utilisant des complexes d'or (I) a été décrite.

#### – La *N*-glycosylation catalysée à l'or (I)

En 2006, la glycosylation catalysée à l'or a été introduite par Hotha et Kashyap qui a réalisé des *O*-glycosylations en présence de  $\text{AuCl}_3$  à l'aide de donneurs substitués en position anomérique par un groupement propargyle, compte tenu de l'affinité des alcynes avec l'or.<sup>66</sup> Au cours de la dernière décennie, l'or à l'état Au (I) et Au (III) a en effet prouvé son potentiel chimique exceptionnel, notamment en catalyse, en étant capable d'activer sélectivement des systèmes insaturés et de favoriser les additions nucléophiles grâce à ses propriétés acide de Lewis et carbophile. Le promoteur a donc été utilisé en quantité catalytique et les rendements de glycosylation ont été jusqu'à 95 %, mais la réaction n'a fonctionné qu'avec un donneur armé perbenzylé et des accepteurs particulièrement nucléophiles. Plus tard, le groupe de Yu a mis au point des donneurs ortho-alkynylbenzoates et a utilisé un complexe d'or (I) plus réactif comme  $\text{Ph}_3\text{PAuOTf}$  qui lui a permis d'obtenir d'excellents rendements de glycosylation.<sup>67</sup> Ces donneurs sont stables et facilement accessibles. Le produit secondaire formé, une isocoumarine, n'entre pas en compétition avec le nucléophile du milieu réactionnel. En 2011,

<sup>65</sup> Basu, N.; Oyama, K.-i.; Tsukamoto, M. *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 1921-1924.

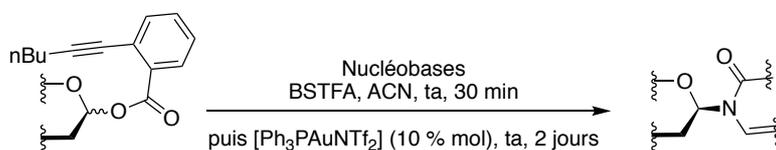
<sup>66</sup> Hotha, S.; Kashyap, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9620-9621.

<sup>67</sup> Li, Y.; Yang, Y.; Yu, B. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3604-3608.

ce donneur a été utilisé par le groupe de Zhang pour réaliser des *N*-glycosylations de pyrimidines et de purines par des furanoses et des pyranoses acétylés et benzoylés en présence du catalyseur de Gagosz  $\text{Ph}_3\text{PAuNTf}_2$ .<sup>68</sup> Le promoteur a été utilisé à hauteur de 10 %mol et la réaction a été réalisée dans des conditions douces à température ambiante et les rendements obtenus sont allés de 48 à 96 % (Schéma 23).

Mécanisme de la réaction :

Présenté Schéma 23, le mécanisme de la réaction procède par la coordination du complexe d'or cationique sur la triple liaison du donneur pour conduire à l'intermédiaire **A** ce qui entraîne une diminution de la densité électronique de l'insaturation, la rendant plus électrophile. L'attaque du carbonyle en alpha du cycle phényle a alors lieu sur la triple liaison avec formation d'une lactone. L'addition sur l'insaturation se fait en *trans* par rapport au métal. Cette cyclisation est motrice du départ du groupement en position anomérique et de l'obtention de l'oxacarbénium **B** d'une part et libération d'une isocoumarine complexée à l'or **C** d'autre part. Une addition nucléophile peut alors avoir lieu sur le motif sucre (**D**) tandis que le proton libéré permet de régénérer le catalyseur et d'obtenir l'isocoumarine **E**.



Mécanisme général :

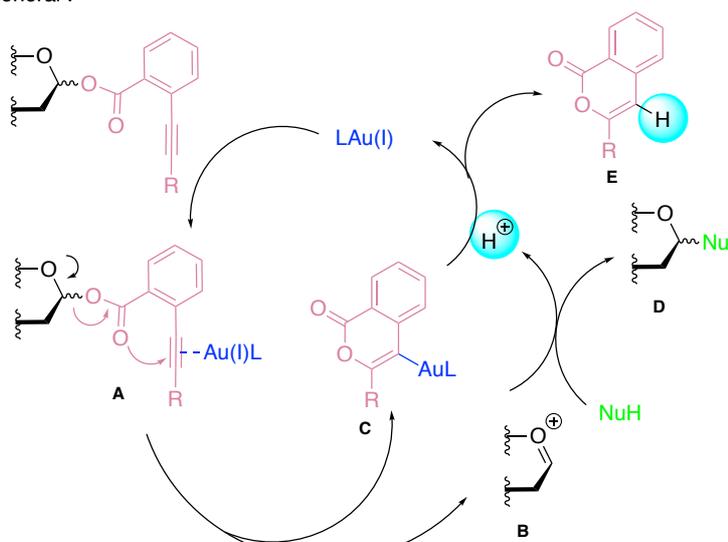


Schéma 23

<sup>68</sup> Zhang, Q.; Sun, J.; Zhu, Y.; Zhang, F.; Yu, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 4933-4936.

Plusieurs questions peuvent se poser quant aux conditions expérimentales mises en jeu. Tout d'abord, pourquoi ce catalyseur-ci en particulier est utilisé, parmi les très nombreux complexes d'or développés ces dernières années.

L'or (I) se présente sous la forme de complexes dicoordinés  $\text{LAuX}$ , de géométrie linéaire. Le ligand L est fortement coordinant et sert à stabiliser le cation métallique. En cela, les phosphines sont particulièrement appréciées de part leur caractère  $\pi$ -accepteur d'une part qui augmente l'électrophilie de l'or et leur caractère  $\sigma$ -donneur d'autre part qui stabilise le complexe. Le ligand X doit lui être faiblement coordinant car sa décooordination est essentielle à l'activation du substrat par le centre métallique. C'est pourquoi, les complexes  $\text{LAuCl}$  ne sont pas assez réactifs, la liaison Au-Cl étant plutôt de type covalente, le complexe est trop stable. Au contraire, l'introduction d'anions d'acides forts en tant que contre anions tels que  $\text{OTf}^-$ ,  $\text{NTf}_2^-$ ,  $\text{PF}_6^-$ ,  $\text{SbF}_6^-$  confère un caractère ionique à la liaison Au-X qui augmente la charge cationique sur l'or et donc son électrophilie (Figure 12).

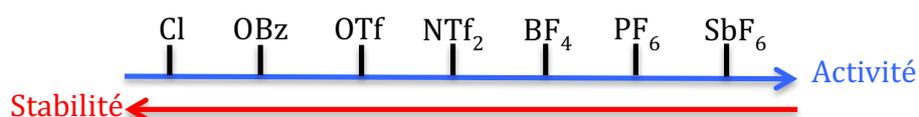


Figure 12

Cependant, certains contre-ions comme  $\text{SbF}_6^-$  rendent le complexe tellement instable qu'il ne peut être conservé et doit être synthétisé *in situ* en amont de la réaction. C'est pourquoi Gagosz a utilisé l'anion  $\text{NTf}_2^-$  qui représente un bon compromis faisant de  $\text{Ph}_3\text{PAuNTf}_2$  un complexe réactif mais assez stable pour être conservé sur de longues périodes.<sup>69</sup> Ce catalyseur est maintenant utilisé comme référence dans certaines études de catalyse à l'or et il est même disponible commercialement.

Un autre point que l'on peut soulever est l'utilisation d'acétonitrile comme solvant de la réaction. Celui-ci est en effet connu pour coordiner les catalyseurs d'or (I) et diminuer leur réactivité. Cependant, d'autres solvants généralement utilisés dans les glycosylations comme le dichloroéthane et le dichlorométhane ont été jugés par Zhang comme pas assez solvatants pour les bases nucléiques. L'acétonitrile a donc été retenu mais en contrepartie, un taux de conversion total n'est obtenu qu'au bout de 3 jours.

<sup>69</sup> Mézailles, N.; Ricard, L.; Gagosz, F. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4133-4136.

La *N*-glycosylation à l'or (I) a d'ores et déjà été appliquée à la synthèse totale de produits naturels comme la tunicamycine V et ses analogues dont une nouvelle voie synthétique a été décrite par Yu en 2015.<sup>70</sup> Même à partir de donneurs complexes tels que le trisaccharide **21**, la glycosylation de l'uracile silylée en présence de 0,2 équivalents de catalyseur a procédé avec un rendement de 73 % (Schéma 24).

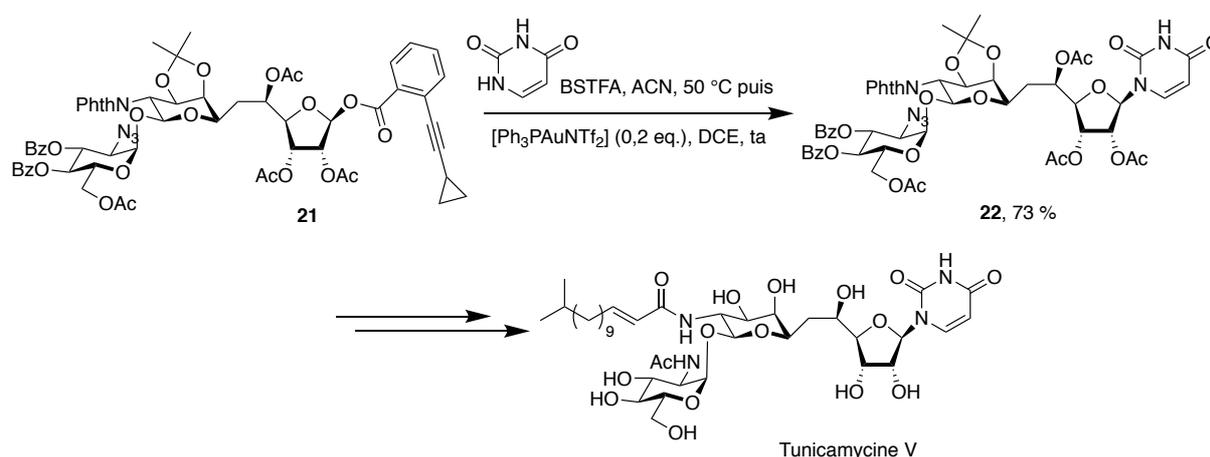


Schéma 24

La méthodologie a également été appliquée en chimie de flux mais uniquement en *O*-glycosylation, avec des donneurs dont la position anomérique était occupée par un groupement orthohexynylbenzoate.<sup>71</sup>

Vidadal et Hotha ont par la suite montré que la *O*-glycosylation catalysée à l'or (III) ne fonctionnait pas uniquement avec des donneurs propargyliques mais également avec des donneurs substitués par un groupement méthoxy en position anomérique.<sup>72</sup> Suite à cela, Vankar et son équipe ont utilisé le système catalytique AuCl<sub>3</sub>-phénylacétylène sur différents donneurs activés par un acétate<sup>73</sup> ou un groupement trichloroacétimide.<sup>74</sup> Plus récemment, la glycosylation à l'or (III) a été appliquée à la *O*-glycosylation de divers accepteurs par des donneurs thioglycosides en utilisant 3 %mol du catalyseur AuCl<sub>3</sub> sans aucun co-promoteur.<sup>75</sup> Enfin, des donneurs sulfoxydes armés et désarmés ont également pu être activés par un système Au(OTf)<sub>3</sub> généré *in situ* à partir d'AuCl<sub>3</sub> (10 %mol) et d'AgOTf (30 %mol).<sup>76</sup> La glycosylation à l'or semble donc ne pas nécessiter la préparation de donneurs spécifiques pour

<sup>70</sup> Li, J.; Yu, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 6618-6621.

<sup>71</sup> Matthies, S.; McQuade, D. T.; Seeberger, P. H. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 3670-3673.

<sup>72</sup> Vidadala, S. R.; Hotha, S. *Chem. Commun.* **2009**, 2505-2507.

<sup>73</sup> Roy, R.; Rajasekaran, P.; Mallick, A.; Vankar, Y. D. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 5564-5573.

<sup>74</sup> Roy, R.; Palanivel, A. K.; Mallick, A.; Vankar, Y. D. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 4000-4005.

<sup>75</sup> Vibhute, A. M.; Dhaka, A.; Athiyarath, V.; Sureshan, K. M. *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 4259-4263.

<sup>76</sup> Palanivel, A.; Chennaiah, A.; Dubbu, S.; Mallick, A.; Vankar, Y. D. *Carbohydr. Res.* **2017**, *437*, 43-49.

fonctionner. Cependant, à notre connaissance, la *N*-glycosylation à l'or appliquée à d'autres donneurs tels que des thioglycosides n'a pour l'instant pas été décrite.

La liaison glycoside C-N entre le sucre et la base peut également être obtenue à l'aide des conditions de Mitsunobu.

#### – La *N*-glycosylation par des donneurs déprotégés via les conditions de Mitsunobu

En 1979, Gryniewicz a utilisé les conditions de Mitsunobu avec le D-glucose déprotégé en présence d'un large excès de phénol.<sup>77</sup> Ce dernier a réagi sélectivement avec l'hydroxyle anomérique pour conduire au pyranoside correspondant avec un rendement de 53 % où l'anomère  $\beta$  était majoritaire. Plus récemment, l'équipe de Mahrwald a développé des conditions catalytiques et a fait réagir le D-ribose avec différents accepteurs, toujours en large excès.<sup>78</sup> La forme thermodynamique pyranoside a été observée majoritairement par rapport à la forme furanique.

Suite à ces exemples, le groupe de Hocek a décidé d'appliquer ces conditions de Mitsunobu à la *N*-glycosylation de nucléobases avec le D-ribose déprotégé.<sup>79</sup> Après optimisation des conditions, il a obtenu une série de nucléosides en utilisant la nucléobase en tant que réactif limitant, en présence de DBU, de DIAD (2,1 eq.), de PBU<sub>3</sub> (2 eq.) et de D-ribose (2 eq.) (Schéma 25). Même s'il a limité la quantité de base engagée dans la réaction, les conditions ne sont pas catalytiques contrairement à celles décrites en *O*-glycosylation par l'équipe de Mahrwald. Les nucléosides ont été obtenus majoritairement sous la forme pyranoside (**23**) thermodynamiquement plus stable que la forme furanique (**24**) et seuls les anomères  $\beta$  ont été observés. Les rendements sont restés modérés et étaient plus faibles pour les nucléosides pyrimidines (21 à 36 %), moins réactives et plus difficiles à purifier que les purines (38 à 85 %). Afin d'obtenir des nucléosides contenant le ribose sous sa forme furanique, plus intéressants vis à vis des applications biologiques, le groupe de Hocek a sélectivement protégé l'alcool primaire avec un groupement labile méthoxytrityle afin de bloquer la conformation furanose. Ce groupement a été facilement déprotégé en conditions acides *in situ* après la réaction de glycosylation ce qui a permis de conserver un procédé monotope. Les rendements des nucléosides obtenus ont été sensiblement les mêmes que pour les formes pyranosides.

<sup>77</sup> Gryniewicz, G. *Pol. J. Chem.* **1979**, *53*, 1571.

<sup>78</sup> Schmalisch, S.; Mahrwald, R. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 5854-5857.

<sup>79</sup> Downey, A. M.; Richter, C.; Pohl, R.; Mahrwald, R.; Hocek, M. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4604-4607.

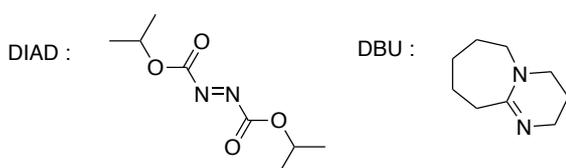
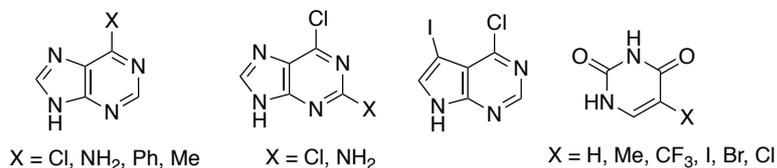
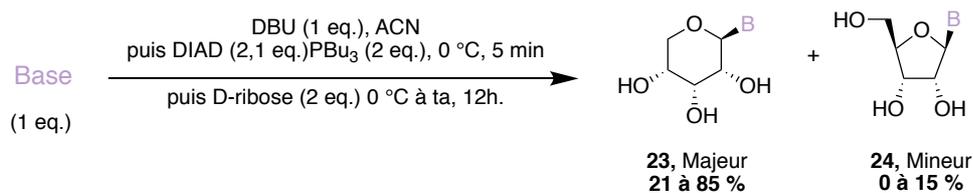


Schéma 25

Très récemment, un mécanisme a été proposé permettant d'expliquer la régiosélectivité de la réaction sur la fonction hémiacétalique.<sup>80</sup> Dans un premier temps, le D-ribose a été soumis aux conditions de Mitsunobu en absence de nucléobase et de tout autre nucléophile. L'anhydrose **26** a alors été isolé. La formation de l'époxyde impose une attaque *anti* du nucléophile conduisant à une sélectivité  $\beta$  du produit final. La formation de l'anhydrose **26** a débuté par la déprotonation sélective de l'hydroxyle anomérique du ribose **25** par le phosphonium (Schéma 26). En effet, le pKa de l'hydroxyle en C1, récemment déterminé par spectroscopie Raman, est de 11,8, bien inférieur à ceux des hydroxyles en C2 et C3. L'ion alkoxyde généré a ensuite attaqué le phosphonium pour générer un ion oxyphosphonium, lui-même attaqué par OH-2. Dans un procédé concerté, l'oxygène en 2 a attaqué la position anomérique permettant la libération de l'oxyde de phosphine O=PBU<sub>3</sub> et la formation de l'anhydrose **26**. Ce mécanisme suppose que le nucléophile a été ajouté dans un deuxième temps, après la formation de l'époxyde.

<sup>80</sup> Downey, A. M.; Pohl, R.; Roithová, J.; Hocek, M. *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 3910-3917.

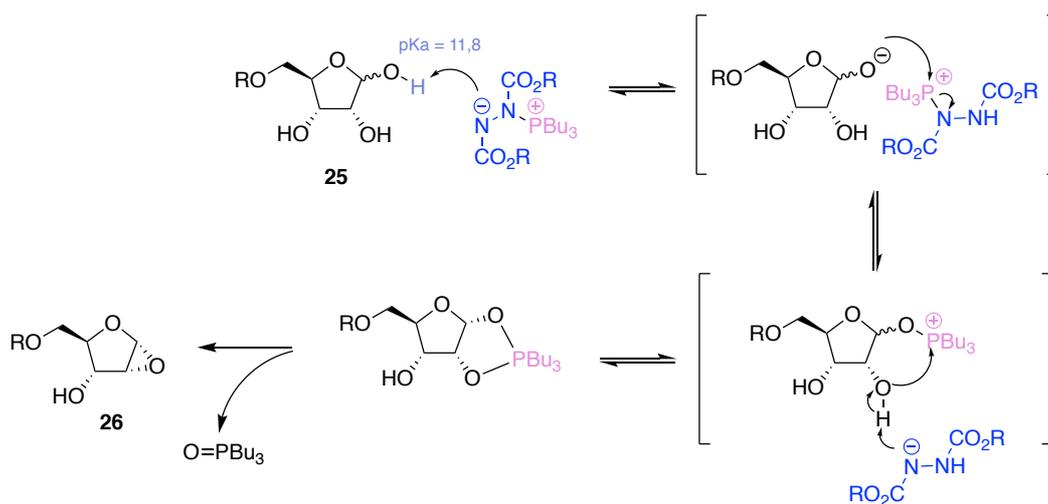


Schéma 26

Cette méthode de *N*-glycosylation par un sucre déprotégé via les conditions de Mitsunobu permet d'avoir accès très rapidement à des nucléosides libres sans passer par des étapes fastidieuses de protections et de déprotections. Néanmoins, les rendements vis à vis des pyrimidines restent faibles et les produits sont souvent contaminés par l'oxyde de phosphine, difficile à éliminer. De plus, la réaction n'a pour l'instant été testée qu'avec le D-ribose, il serait intéressant de l'étendre à différents sucres afin de vérifier sa reproductibilité.

### – Conclusion

Malgré la prédominance des conditions de Vorbrüggen concernant l'étape de *N*-glycosylation au cours de la synthèse de nucléosides, de nombreuses alternatives ont été mises au point. Une liste non exhaustive de quelques méthodes a été présentée ci-dessus. La *N*-glycosylation catalysée par transfert de phase permet notamment de synthétiser des dérivés de 2'-déoxynucléosides avec une sélectivité  $\beta$  *via* un mécanisme  $S_N2$ . La tendance actuelle se dirige vers des méthodes utilisant des catalyseurs en très faibles quantités tels que les acides de Bronsted ou les complexes d'or (I) avec bien souvent une application en chimie de flux qui permet de réduire le temps de réaction et de simplifier les purifications parfois ardues des nucléosides désirés. La glycosylation d'une nucléobase par un donneur de glycosyle peut également être réalisée dans les conditions de Mitsunobu qui permettent l'utilisation de donneurs déprotégés.

Il existe bien sûr d'autres méthodes de *N*-glycosylation pour la synthèse de nucléosides décrites dans la littérature. Ozaki a par exemple décrit une méthode à partir de donneurs halogénés et catalysée par des amines tertiaires.<sup>81</sup>

### II.2.3) Stratégies de synthèse de quelques peptidonucléosides

Par définition, un peptidonucléoside est constitué d'une base, purine ou pyrimidine, liée à un sucre, qui peut être sous la forme furanose (forme des nucléosides naturels) ou pyranose. En position C4 ou C5 de ce sucre se trouve un acide aminé, souvent largement fonctionnalisé. Parmi les peptidonucléosides d'intérêt, certains ont une activité antifongique comme par exemple la blasticidine S, la famille des polyoxines et celle des nikkomyces (Figure 13).

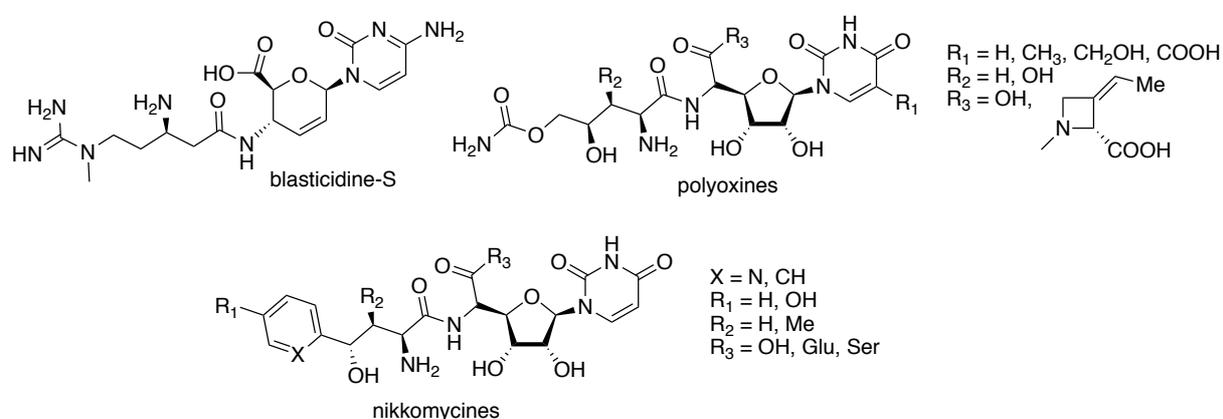


Figure 13

L'approche synthétique usuelle pour l'obtention de ces composés consiste généralement à partir d'un sucre commercialement disponible qui possède déjà de nombreux centres stéréogènes définis. En conservant la chiralité de départ, le sucre est alors soumis à une série de réactions de protection/déprotection nécessaires pour ensuite réaliser le couplage d'une part avec la base envisagée, *via* une réaction de *N*-glycosylation, et d'autre part avec l'acide aminé adéquat, synthétisé en parallèle. Concernant l'ordre des réactions de couplage, la liaison peptidique est généralement effectuée dans un second temps, après la glycosylation. En effet, le couplage avec le peptide correspondant conduit généralement à des molécules plus complexes à manipuler et plus sensibles vis à vis des conditions de réactions.

Un exemple de ce type de schéma synthétique est décrit à travers la synthèse totale de la blasticidine S par l'équipe d'Ichikawa en 2004.<sup>82</sup>

<sup>81</sup> Ozaki, S.; Watanabe, Y.; Hoshiko, T.; Fujisawa, H.; Uemura, A.; Ohrai, K. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 5061-5062.

### II.2.3.a) Rétrosynthèse de la blasticidine S

La synthèse élaborée prévoit comme ultime étape le couplage peptidique entre la cytosinine **27** et l'acide blasticidique **28** (Schéma 27).

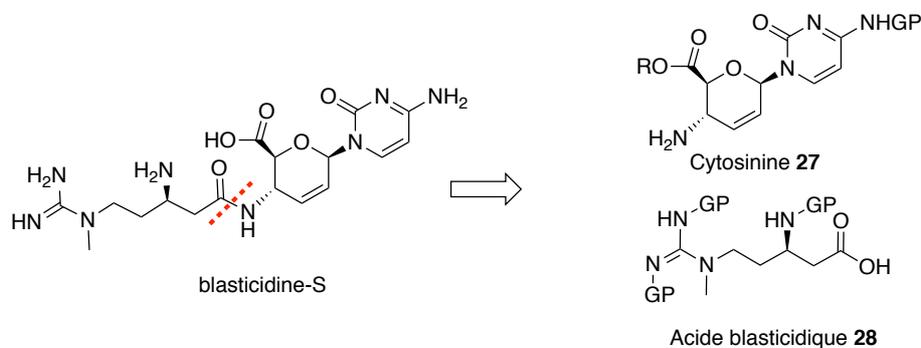


Schéma 27

Dans un premier temps, la rétrosynthèse de la cytosinine est décrite (Schéma 28). Celle-ci contient un fragment pyranose insaturé en position 2,3 et aminé en 4, lié à une cytosine en C1. La cytosinine **27** est donc issue de la glycosylation de la base, préalablement protégée, avec le donneur **29** dont la position anomérique est activée par un acétate, lui-même obtenu après acétylation du composé **30**. L'ester en position 6 de **30** est issu de l'oxydation, suivie d'une estérification, de l'alcool primaire présent sur le composé **31**. Ce dernier peut être obtenu *via* un réarrangement sigmatropique 3,3 du cyanate **32**, dérivé de l'alcool **33**. La synthèse débute à partir du 2-acétoxy-D-glucal commercial.

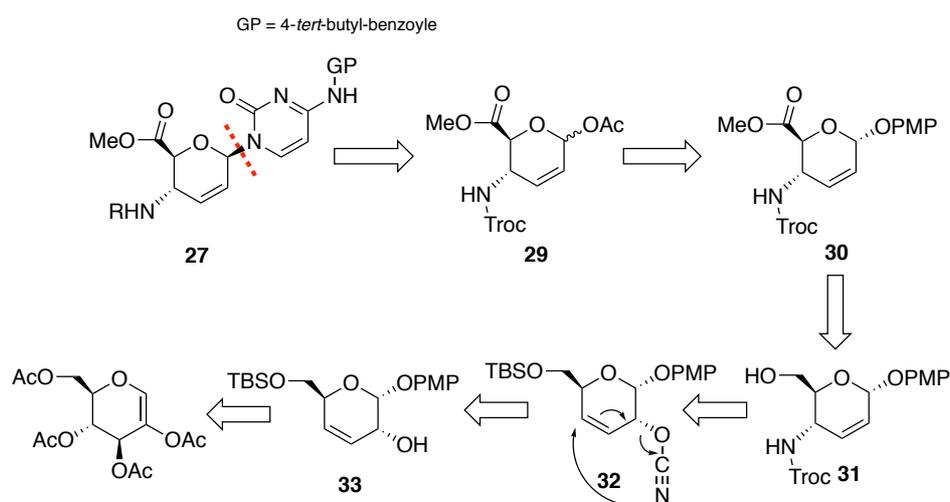


Schéma 28

<sup>82</sup> Ichikawa, Y.; Hirata, K.; Ohbayashi, M.; Isobe, M. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 3241-3251.

Concernant l'étape de glycosylation, celle-ci a été effectuée dans les conditions de Vorbrüggen en utilisant TMSOTf comme acide de Lewis. La cytosine a été protégée par un groupement lipophile 4-*tert*-butyl-benzoyle qui a facilité la purification du nucléoside obtenu par rapport aux groupements acétyles ou benzoyles. La  $\beta$ -sélectivité du couplage n'a pas pu être assurée par la participation d'un groupement ester en C2. Il s'est révélé qu'elle était influencée par la nature du solvant et la quantité de cytosine engagée. Le nucléoside a été obtenu en mélange anomérique avec un rapport  $\alpha/\beta$  de 3:7, en utilisant du THF avec 6 à 8 équivalents de base.

L'acide blasticidique **28** est un  $\beta$ -amino-acide analogue de l'arginine couplé à une *N*-méthyl-guanidine. Il est issu de la saponification de l'ester méthylique **34** lui-même obtenu après la transformation du benzamide de la *N*-méthylguanidine **35**. Cette dernière résulte du traitement de l'amine **36** avec la thiourée correspondante. L'amine **36** est elle-même obtenue après une réaction de Mitsunobu sur le composé **37** où la fonction ester a été remplacée par un benzamide pour éviter la formation de produits secondaires. La synthèse débute à partir du *meso*-ester **38** qui après une hydrolyse énantiosélective enzymatique suivie d'une réduction conduit à l'alcool **37** (Schéma 29).

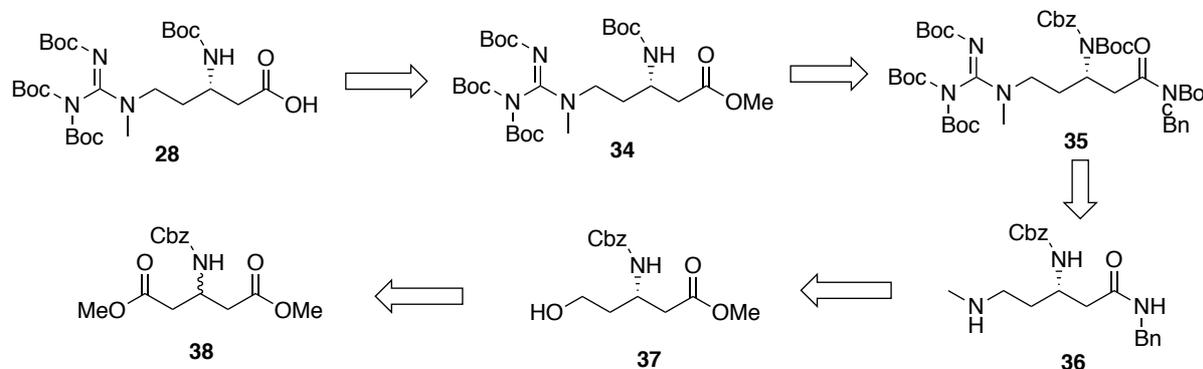


Schéma 29

Le couplage entre l'acide et la cytosine est précédé d'une étape de déprotection sélective de l'amine en C4 du pyranose pour conduire à l'amine primaire désirée. Le couplage peptidique est effectué à l'aide des agents de couplage BOP et HOBt en présence de DIPEA et la blasticidine S est obtenue après quelques étapes supplémentaires de déprotection.

Cette méthode de synthèse est donc efficace mais elle peut se révéler fastidieuse en raison de l'incompatibilité des nombreux groupements protecteurs présents sur le sucre avec les

conditions opérationnelles. Cela demande un large panel de tests et de fausses routes avant de déterminer des conditions compatibles et une augmentation du nombre d'étapes peut en résulter.

Dans le but d'éviter ce type de problème, il est possible de débiter la synthèse à partir d'un synthon chiral différent du sucre comme un acide aminé par exemple. Ainsi, une synthèse d'un analogue pyranose de la nikkomycine B a été décrite à partir d'un dérivé de la D-sérine.<sup>83</sup>

### II.2.3.b) Rétrosynthèse de l'analogue pyranose de la nikkomycine B

L'analogue pyranose de la nikkomycine **39** est obtenu après couplage peptidique de l'acide **40** et de l'amine-nucléoside **41**. L'acide **40** est issu d'une réaction de crotylboration entre le benzaldéhyde et le borane chiral approprié. L'amine-nucléoside **41** n'est cette fois pas obtenue à partir d'un sucre comme matériel de départ mais du dérivé **42** obtenu à partir de la D-sérine (Schéma 30).

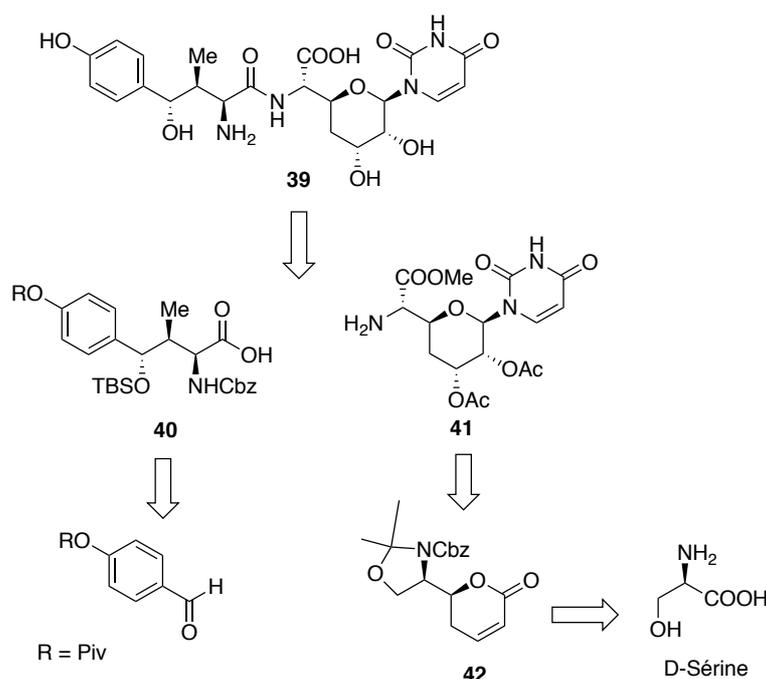


Schéma 30

La synthèse débute donc à partir de l'acide aminé D-sérine (Schéma 31). Après protection en *N,O*-acétonide puis préparation de l'amide de Weinreb **43**, ce dernier réagit avec un Grignard allylique pour conduire à une cétone allylique, directement réduite en alcool **44**. Ce dernier est ensuite converti en acrylate **45**. Une réaction de métathèse fournit le dérivé **42** désiré. Après

<sup>83</sup>Stauffer, C. S.; Bhaket, P.; Fothergill, A. W.; Rinaldi, M. G.; Datta, A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9991-9997.

une oxydation de Lemieux, le diol **46** est obtenu, précurseur du donneur acétylé **47** qui subit une réaction de glycosylation de Vorbrüggen avec l'uracile en présence de TMSOTf pour conduire au **48** qui donnera l'amine **41** après déprotection du groupement Cbz.<sup>84</sup>

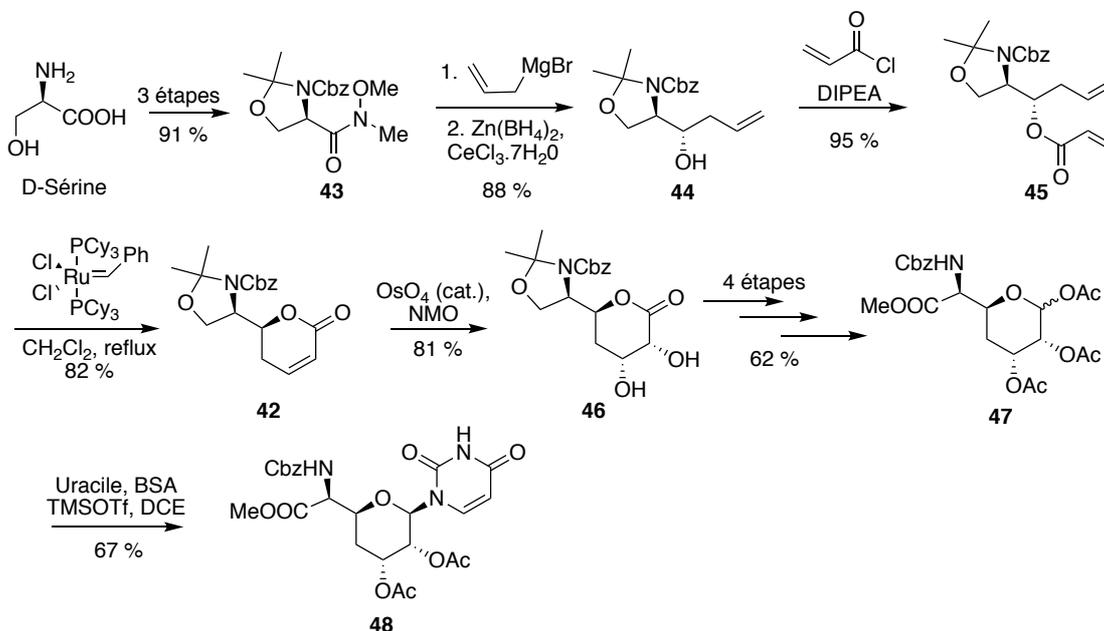


Schéma 31

Une fois l'amine **41** obtenue, le couplage avec l'acide **40** se fait à l'aide de BOPCl et de DIPEA. Une série de déprotection mène ensuite à l'analogue désiré **39**.

## II.2.4) Conclusion

Au cours de cette partie, nous nous sommes intéressés de près à la réaction de *N*-glycosylation, une réaction clé au cours de la synthèse de peptidonucléosides. Le mécanisme de la glycosylation en général a été détaillé et notamment les nouvelles avancées mécanistiques découvertes il y a peu. Les nucléobases sont donc généralement silylées puis glycosylées par les sucres à l'aide des conditions de Vorbrüggen employant un acide de Lewis en quantité stœchiométrique. La réaction est principalement réalisée avec des donneurs activés par un groupement acétate en position anomérique même si elle a été étendue à d'autres types de donneurs tels que les thioglycosides, les sulfoxydes ou encore les trichloroacétimidates. Au cours des dernières années de nouvelles méthodes de *N*-glycosylation pour la synthèse de nucléosides ont émergé avec notamment la catalyse par des

<sup>84</sup> Bhaket, P.; Stauffer, C. S.; Datta, A. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 8594-8601.

complexes d'or (I) ou l'utilisation de la réaction de Mitsunobu avec des donneurs déprotégés. Des synthèses au micro-onde et en chimie de flux ont également été réalisées avec succès. Nous avons vu que différentes stratégies de synthèse peuvent être envisagées pour accéder aux peptidonucléosides. La plus usuelle consiste à utiliser un sucre commercial comme substrat de départ. Une fois celui-ci fonctionnalisé de manière adéquate, la glycosylation avec la base peut avoir lieu. Enfin le couplage peptidique avec l'acide-aminé synthétisé en parallèle permet d'accéder au composé voulu.

Dans la partie suivante, la gougérotine et son activité biologique sont présentés en détails.

## II.3) La gougérotine

### II.3.1) Identité et activités biologiques

La gougérotine **1** a été isolée pour la première fois en 1962 par les industries Takeda Chemicals à partir de souches de *Streptomyces gougerotii*.<sup>4a</sup> Une structure de la molécule a alors été proposée mais il a fallu attendre 1968 et plusieurs révisions pour que celle-ci soit élucidée avec précision par le groupe de Fox (Figure 14).<sup>85</sup> La gougérotine est donc constituée d'un motif saccharidique pyranose de type *gluco* lié en position anomérique à une pyrimidine, la cytosine. Elle est substituée en position 4 par un dipeptide constitué de la D-sérine et de la sarcosine. La position 6 est occupée par un groupement carboxamide. C'est principalement son analogie structurale avec l'ARN qui lui confère ses propriétés biologiques.

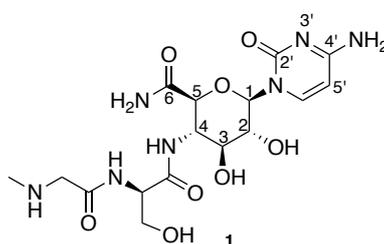


Figure 14

Dés l'année 1963, Clark et Gunther se sont intéressés à la molécule et ont démontré son activité antibiotique par l'inhibition de la synthèse des protéines sur des systèmes procaryotes et eucaryotes.<sup>4b</sup> Son mode d'action sera défini avec précision dans le paragraphe suivant

<sup>85</sup> (a) Fox, J. J.; Kuwada, Y.; Watanabe, K. A.; Ueda, T.; Whipple, E. B. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1964**, 518. (b) Fox, J. J.; Kuwada, Y.; Watanabe, K. A. *Tetrahedron Lett.* **1968**, 9, 6029-6032.

(II.3.2). Des études suivantes ont permis d'établir l'activité antivirale<sup>4c</sup> de la gougérotine et dans les années 70, plusieurs brevets l'ont mentionné comme ayant une activité antiparasitaire en agissant sur l'ovulation des vers de pins mais aussi en étant efficace contre les mites.<sup>4d,86</sup> Cependant, il a également été démontré qu'elle était capable d'inhiber la synthèse des protéines au sein même de la plante.<sup>5</sup> Cette phytotoxicité lui a valu d'être peu à peu délaissée par la communauté scientifique jusqu'à il y a quelques années. Récemment l'industrie agrochimique a montré un regain d'intérêt pour les composés naturels et leurs analogues et parmi eux, pour la gougérotine et son utilisation en tant qu'antifongique. En effet, face aux phénomènes de résistances des pathogènes vis à vis des fongicides systémiques, les chercheurs sont toujours à la recherche de nouveaux composés plus efficaces et polyvalents. En se basant sur ces informations, Bayer CropScience a récemment déposé un brevet sur l'activité antifongique de la gougérotine en mélange avec un agent de contrôle biologique.<sup>3</sup> Cette dernière a été testée en situation préventive sur différentes plantes (tomates, concombre, pomme) et a montré des taux d'efficacité allant jusqu'à 100 % (voir chapitre IV). Des tests en situation curative ont également montré des résultats encourageants.

La connaissance du mode d'action de la gougérotine est primordiale pour ensuite pouvoir moduler son activité biologique et supprimer sa phytotoxicité, notamment en modifiant certains fragments de la molécule.

### II.3.2) Mode d'action de la gougérotine

En 1963 alors même que la structure de la gougérotine n'était pas définitivement établie, elle faisait déjà l'objet d'une étude biologique. Clark et Gunther ont ainsi démontré qu'elle est capable d'inhiber l'incorporation des acides aminés dans les protéines au sein d'extraits cellulaires d'une bactérie, *Escherichia coli*, mais aussi provenant d'extraits de foie de souris afin de vérifier la phytotoxicité de la molécule sur l'hôte.<sup>4b</sup> La concentration nécessaire en gougérotine dans le cadre des cellules animales était dix fois supérieure à celle utilisée pour *E.coli* pour obtenir une inhibition comparable. Ils ont supposé une action de la molécule au niveau du ribosome ou de l'ARNt.

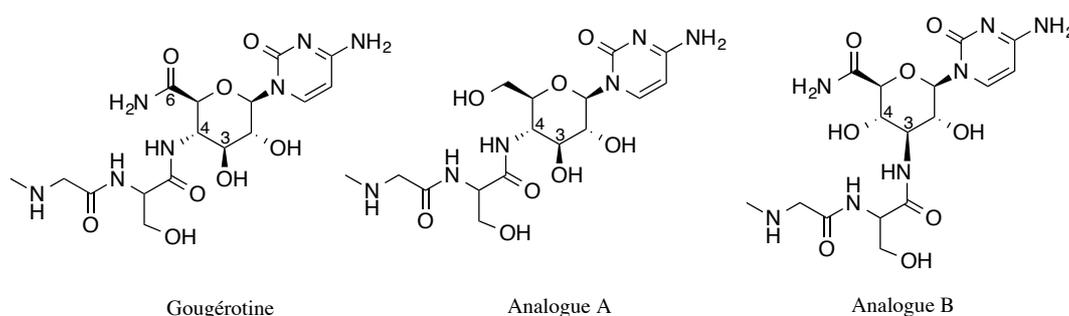
Deux ans plus tard, Casjen et Morris ont réalisé une étude comparative entre la gougérotine et la puromycine, une molécule aux propriétés antibiotiques bien connues, afin de préciser le site d'action exact de la gougérotine.<sup>87</sup> Leur étude, effectuée sur des cellules eucaryote animales, a

---

<sup>86</sup> Shiyunichi, H.; Akiyoshi, U; Meiki, A. *Preparation of miticide gougérotin*. JPS 53109998 (A) : 1978.

<sup>87</sup> Casjens, S. R.; Morris, A. J. *Biochim. Biophys. Acta* **1965**, *108*, 677-686.

confirmé qu'en présence de gougérotine, la vitesse d'incorporation des acides aminés dans la chaîne peptidique en formation est ralentie, voir même stoppée lorsqu'une certaine concentration de la molécule est atteinte. Cependant, contrairement à la puromycine, elle n'a pas d'effet sur la libération de la chaîne peptidique du ribosome. En effet, la puromycine en se liant à la protéine en formation provoque sa libération anticipée alors qu'elle est encore incomplète, la rendant inactive. Ce n'est pas le cas de la gougérotine. Ils ont donc supposé que le lieu d'action de cette dernière se situe au niveau du site P du ribosome et plus précisément au niveau de l'enzyme qui catalyse la formation de la liaison peptidique : la peptidyltransférase. La chaîne peptidique reste donc bien attachée au ribosome mais sa croissance se révèle impossible par la présence continue de la gougérotine sur la polymérase. En 1971, l'activité de quelques analogues de la gougérotine a été évaluée sur *E.coli*.<sup>88</sup> L'étude a révélé que l'analogue A où le carboxamide en position C6 a été remplacé par un alcool primaire montre une activité antibactérienne dix fois inférieure à celle de la molécule mère (Figure 15). Le groupement carboxamide augmenterait donc l'affinité entre la gougérotine et le site actif de la peptidyltransférase. L'autre point qui s'est dégagé de l'étude concerne la position du dipeptide. Lorsque celui-ci est en position C3 au lieu de C4 (analogue B), aucune inhibition n'est observée.



**Figure 15**

Contrairement à la blasticidine S, aucune co-cristallisation entre le ribosome d'un champignon et la gougérotine n'a pour l'instant été obtenue. Cependant, compte tenu des études citées précédemment et de l'analogie structurale de la gougérotine avec la blasticidine S, il est raisonnable de supposer que la gougérotine agit bien au niveau du site P du ribosome du champignon, et plus précisément au niveau de l'enzyme peptidyltransférase comme l'ont proposé Casjen et Morris.

<sup>88</sup> Černá, J.; Lichtenthaler, F. W.; Rychlík, I. *FEBS Lett.* **1971**, *14*, 45-48.

La principale différence entre une cellule procaryote (bactérie) et une cellule eucaryote (animal ou champignon) provient de la présence d'un noyau, contenant le matériel génétique, au sein d'une cellule eucaryote tandis que la cellule procaryote en est dépourvue. Néanmoins, le mécanisme général de synthèse des protéines est similaire chez les bactéries, les champignons, les plantes et les animaux. La sélectivité d'une molécule vis à vis du pathogène ou de l'hôte, est relative à la nature des constituants, c'est-à-dire des acides aminés et nucléiques, de chaque ribosome, avec lesquels le composé actif va interagir ou non. Lorsque que celui-ci est capable de se lier à la fois à l'ARN du pathogène et à celui de l'hôte, le produit peut avoir une activité phytotoxique d'où la nécessité de synthétiser des analogues dont les positions modifiées vont pouvoir interagir sélectivement avec le pathogène visé.

En parallèle des études sur l'activité biologique de la gougérotine, plusieurs synthèses totales de la molécule ont été mises au point.

### II.3.3) Synthèses totales de la gougérotine et d'analogues

Depuis sa découverte dans les années 60, la gougérotine a fait l'objet de peu d'études au niveau synthétique. La toute première synthèse totale du peptidonucléoside a été décrite en 1972 par le groupe de Fox.<sup>89</sup> Elle a nécessité 18 étapes et a débuté à partir de l' $\alpha$ -D-méthylgalactopyranoside **49**. Après une série de protections, la position anomérique a été activée à l'aide d'un bromure sous la forme d'un anomère  $\alpha$  exclusivement (intermédiaire **50**) puis la  $N^4$ -acétylcytosine **51** a été glycosylée à l'aide de cyanure de mercure dans le nitrométhane avec une sélectivité  $\beta$  totale (**52**).<sup>90</sup> Suite à l'introduction d'un azoture en position 4 et d'une nouvelle série de protection-déprotection, la position 6 a été oxydée en acide carboxylique en présence d'oxyde de chrome (III) puis une hydrogénation a permis d'accéder à l'amine primaire en position 4 (**54**). La suite de la séquence a prévu le couplage peptidique avec la D-sérine dans un premier temps, elle même ensuite couplée à la sarcosine pour conduire au peptidonucléoside **55**. Au cours d'une dernière étape de synthèse, la condensation de l'ammoniac sur l'ester en position 6 a été réalisée pour conduire au motif carboxamide et ainsi obtenir la gougérotine **1** (Schéma 32).

<sup>89</sup> (a) Watanabe, K. A.; Kotick, M. P.; Fox, J. J. *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 231-236. (b) Watanabe, K. A.; Falco, E. A.; Fox, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 3272-3274.

<sup>90</sup> Helferich, B.; Weis, K. *Chem. Ber.* **1956**, *89*, 314-321.

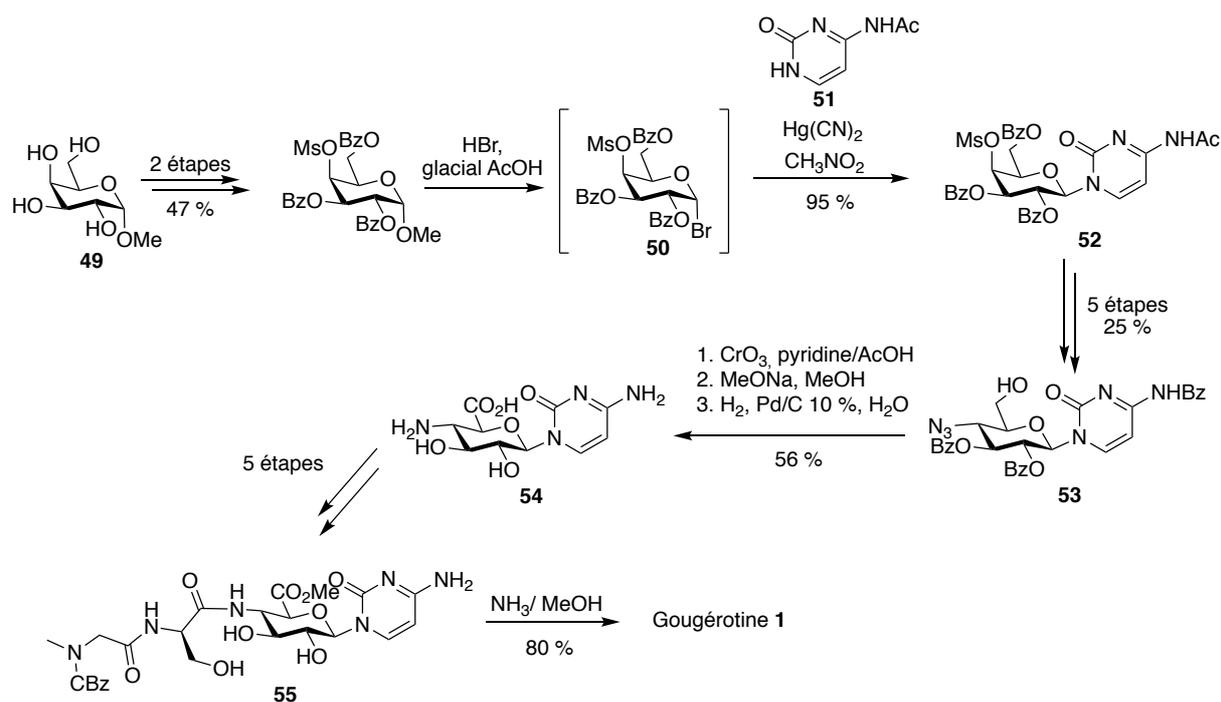


Schéma 22

Cette première synthèse est efficace mais elle utilise un nombre d'étapes conséquent et des réactifs particulièrement toxiques comme le cyanure de mercure ou le trioxyde de chrome.

En 1975, l'équipe de Lichtenthaler a réduit le nombre d'étapes à 13 et a apporté quelques améliorations à la synthèse.<sup>91</sup> L'oxydation de l'alcool primaire en position 6 du composé **56** vers l'acide uronique **57** s'est faite dans des conditions catalytiques en présence de noir de platine. La glycosylation de la base s'est effectuée dans des conditions plus douces, développées par Vorbrüggen, à l'aide de tétrachlorure d'étain et d'une base bis-silylée par le donneur acétylé en mélange anomérique pour conduire au nucléoside **59**. Le couplage peptidique quant à lui a directement été réalisé avec le dipeptide D-Ser-Sar synthétisé préalablement (Schéma 33).

<sup>91</sup> Lichtenthaler, F. W.; Morino, T.; Winterfeldt, W.; Sanemitsu, Y. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 3527-3530.

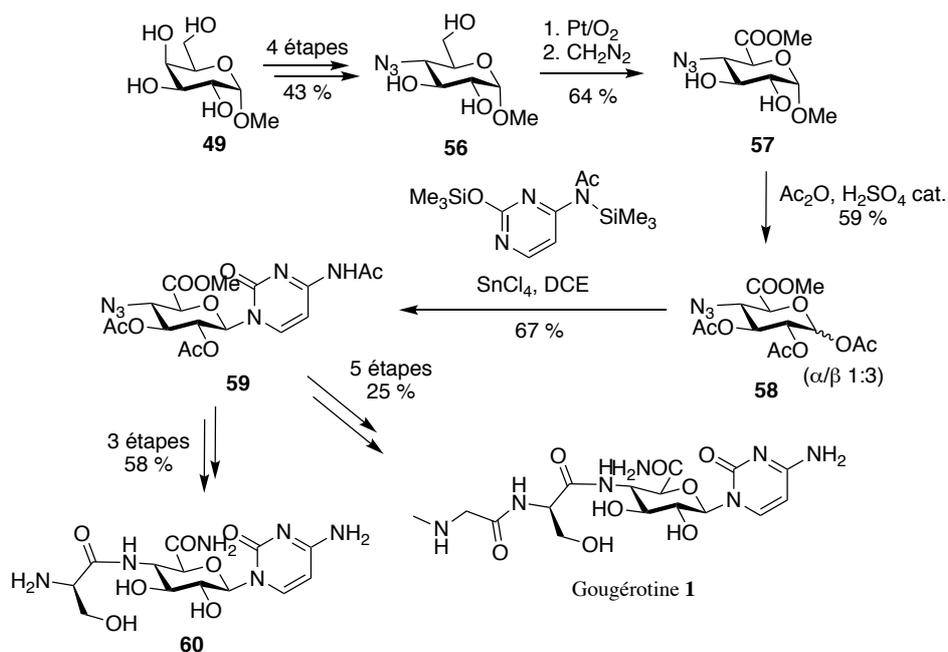


Schéma 33

L'activité biologique d'un analogue **60** comportant uniquement la D-sérine sur l'amine primaire du nucléoside, a également été évaluée (Schéma 33). L'efficacité antibiotique s'en trouve réduite et prouve donc l'importance de la présence de la partie sarcosine au sein de la molécule.

La même année, le groupe de Fox a synthétisé une trentaine d'analogues en modifiant la partie dipeptide et le groupement en position 6.<sup>92</sup> Le dipeptide a donc par exemple été remplacé par un simple acide aminé (D-Ser, D-Phe, D-Ala) ou par d'autres dipeptides (D-Ala-Sar, D-Phe-Sar). Le carboxamide en C6 a lui été remplacé, entre autres, par un alcool primaire, un acide carboxylique, différents esters, etc. Cependant, aucun de ces composés n'a montré une activité antibiotique supérieure à celle de la molécule mère.

Il a fallu attendre 30 ans pour qu'une nouvelle synthèse totale de la gougérotine voie le jour. En 2005, l'équipe de Migawa a réalisé une synthèse supportée sur résine en une quinzaine d'étapes dont l'avantage principal réside dans la pureté des produits finaux obtenus, sans nécessité de purification par HPLC.<sup>93</sup> La phase solide permettrait une synthèse d'analogues plus efficace, la synthèse en solution étant trop complexe.

La voie synthétique utilisée a permis d'obtenir une collection d'une douzaine d'analogues où pour la première fois, en plus de la modification du dipeptide et du groupement en position 6, la base nucléique a également été étudiée. Ainsi, quatre bases différentes ont été testées : la

<sup>92</sup> Coutsogeorgopoulos, C.; Bloch, A.; Watanabe, K. A.; Fox, J. J. *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 771-776.

<sup>93</sup> Migawa, M. T.; Risen, L. M.; Griffey, R. H.; Swayze, E. E. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3429-3432.

cytosine, la  $N^4$ -benzylcytosine, la  $N^4$ -éthylbenzylcytosine et l'uracile. Un des analogues a montré une activité biologique plus importante que la gougératine sur *E.coli* et un autre s'est révélé efficace contre un champignon, révélant le potentiel antifongique intéressant des analogues de la gougératine. Cette dernière étude a ouvert tout un champ de possibilités concernant l'activité biologique de la gougératine n'ayant pas encore été exploitées, notamment en tant qu'antifongique.

La synthèse totale de la gougératine n'a donc pas fait l'objet d'un grand nombre d'études depuis la découverte de la molécule en 1962. Seules trois voies synthétiques ont été proposées, dont deux dans les années 70 qui sont difficiles à mettre en place, notamment du fait de la toxicité de certains composés utilisés. Un point important se dégage de cette étude bibliographique. La structure de la base nucléique de la molécule a été très peu étudiée, avec un nombre limité de modifications à ce niveau dans les études de relations structure-activité. La modification de la base nucléique dans la synthèse d'analogues de la gougératine et son influence sur l'activité antifongique de la molécule est donc un sujet à fort potentiel. De plus, de nombreuses améliorations peuvent être apportées lors de la synthèse d'analogues de la gougératine au niveau du nombre d'étapes et des conditions expérimentales employées afin de se placer dans un contexte plus en adéquation avec les préoccupations environnementales de la chimie ces dernières années.

## II.4) Présentation du projet de thèse

Dans le cadre de la recherche de nouveaux composés fongicides, la gougératine, avec son large spectre d'activité biologique, est une molécule à fort potentiel. En plus de son activité antibiotique démontrée dès sa découverte dans les années 60,<sup>4b</sup> il a été montré qu'elle est également capable de prévenir l'apparition de plusieurs pathogènes fongiques<sup>3</sup> (voir chapitre IV). Le problème majeur qui se pose face à l'utilisation de la gougératine en tant qu'antifongique est son manque de sélectivité. En effet, les différentes études dont elle a fait l'objet ont montré qu'elle inhibe la synthèse des protéines au sein des cellules animales et végétales, à des concentrations certes supérieures à celles nécessaires pour combattre bactéries et champignons.<sup>4,5</sup> Cette phytotoxicité est néanmoins rédhibitoire à l'utilisation de la gougératine elle-même. De plus, il est préférable qu'un composé antifongique ne soit pas également un antibiotique même si certains exemples existent (comme la blasticidine S).

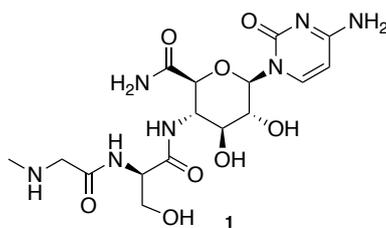


Figure 16

L'objectif de ce travail est donc d'utiliser la gougérotine en tant que composé-parent pour réaliser une série d'analogues afin d'une part d'éliminer la phytotoxicité de la molécule et d'autre part d'obtenir une activité antifongique optimisée. Après avoir mis au point une synthèse efficace et flexible pour l'obtention de ces analogues, l'activité antifongique de ces derniers et de quelques intermédiaires synthétiques sera donc évaluée au moyen de tests préventifs *in vitro* et *in vivo*.

L'activité et la toxicité d'un composé dépendent de plusieurs propriétés : son adsorption, sa distribution, sa métabolisation et son élimination. Ces propriétés sont chacune influencées par de nombreux paramètres physico-chimiques ( $\log P$ ,  $pK_a$ , masse, point de fusion, etc..) sur lesquels on peut jouer grâce à l'introduction de différents groupements fonctionnels sur la structure carbonée de base.

Les principaux paramètres physico-chimiques permettant d'influencer l'activité d'un composé sont définis ci-après.

#### II.4.1) Les paramètres physico-chimiques d'un composé actif

En chimie médicinale, Lipinski a établi « la règle des 5 »<sup>94</sup> sensée prédire une biodisponibilité<sup>95</sup> maximale du composé actif s'il respecte les paramètres physico-chimiques suivants :

- Un poids moléculaire inférieur ou égal à 500
- Un nombre de donneurs de liaisons hydrogènes (alcool, amine) inférieur ou égal à 5
- Un nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes (oxygène, azote) inférieur ou égal à 10
- Un coefficient de partition  $\log P$  inférieur ou égal à 5.

<sup>94</sup> Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *46*, 3-26.

<sup>95</sup> La biodisponibilité correspond à la capacité d'un composé à être assimilé par l'hôte et à atteindre sa cible biologique.

Selon la même méthodologie, une liste de règles a été établie pour les composés agrochimiques à partir de l'analyse de centaines de pesticides commerciaux.<sup>96</sup> Il en est ressorti les paramètres suivants :

- Un poids moléculaire inférieur ou égal à  $300 \pm 100$
- Un nombre de donneurs de liaisons H inférieur ou égal à 3
- Un nombre d'accepteurs de liaisons H inférieur ou égal à 6
- Un nombre de liaison en rotation inférieur ou égal à 9
- Un point de fusion inférieur ou égal à  $300\text{ }^{\circ}\text{C}$

Un des paramètres les plus importants quant à la biodisponibilité d'un composé est sa lipophilie, mesurée par le coefficient de partition eau-octanol  $\log P$  qui correspond au ratio des concentrations de ladite molécule dans les deux phases.

$$\log P = \log \left( \frac{[X]_{\text{octanol}}}{[X]_{\text{eau}}} \right) \text{ à pH physiologique}$$

Plus le  $\log P$  d'une molécule est élevé, plus celle-ci est hydrophobe et inversement. La plupart des fongicides ont un  $\log P$  compris entre 3 et 4 (à un pH physiologique), ce qui correspond à une valeur intermédiaire. En effet, les fongicides, et les pesticides en général, sont répandus dans les champs sous forme de sprays. Afin de pénétrer la feuille, ils vont devoir franchir une première barrière nommée la cuticule (Figure 17).<sup>97</sup> Cette couche grasse qui recouvre la feuille est constituée de cires très hydrophobes. Le rôle premier de la cuticule est d'empêcher l'évaporation de l'eau au sein de la plante. Un produit possédant un  $\log P$  très bas ( $\leq 1$  par exemple), très soluble dans l'eau, n'aura aucune affinité avec les cires cuticulaires et ne pénétrera pas cette première couche. Un produit avec un  $\log P$  élevé ( $\geq 4$  par exemple) aura une très forte affinité avec les cires et il y restera adsorbé, sans diffuser vers les couches suivantes. C'est pourquoi un produit avec un  $\log P$  intermédiaire sera suffisamment lipophile pour pénétrer la cuticule mais il n'y sera pas retenu et migrera ensuite vers l'épiderme et la couche palissadique pour pénétrer les cellules végétales en traversant leur paroi pectocellulosique et atteindre leurs enzymes-cibles.

---

<sup>96</sup> (a) Tice, C. M. *Pest Manage. Sci.* **2001**, *57*, 3-16. (b) Hao, G.; Dong, Q.; Yang, G. *Molecular Informatics* **2011**, *30*, 614-622.

<sup>97</sup> Buchholz, A. *J. Exp. Bot.* **2006**, *57*, 2501-2513.

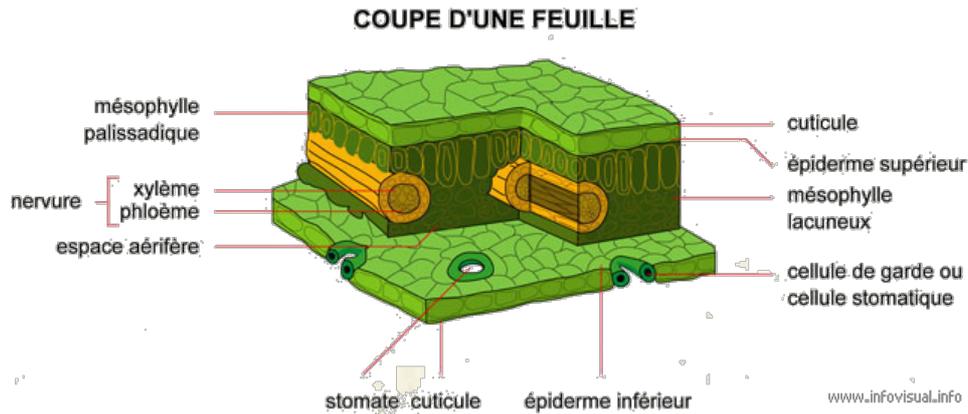


Figure 17

La lipophilie d'une molécule peut être modifiée par l'introduction de groupements fonctionnels : les donneurs de liaisons H, les insaturations, les groupements polaires (alcools, amines) rendent la molécule moins hydrophobe tandis que les longues chaînes carbonées ou l'ajout d'halogènes tendent à augmenter la lipophilie. L'ajout d'un atome de fluor notamment modifie de nombreux paramètres physico-chimiques (cf p.66).

D'autres paramètres vont jouer sur la biodisponibilité du produit comme par exemple la solubilité dans l'eau. Si celle-ci est trop importante, le produit va être redistribué à travers les sols et dans les nappes phréatiques par l'eau de pluie ou de rinçage. Cependant, il faut quand même qu'il soit assez soluble pour être formulé et répandu dans les champs. Le composé antifongique doit également posséder une volatilité ni trop haute pour ne pas s'évaporer avant d'avoir atteint sa cible (notamment dans les pays tropicaux), ni trop faible pour ne pas persister dans l'environnement. Enfin, il doit posséder une stabilité suffisante pour ne pas être métabolisé avant d'avoir atteint sa cible. Un temps de vie trop court est synonyme de perte d'activité et de traitements plus fréquents. La plus grande menace pour les pesticides est la photolyse. Il faut donc limiter le nombre de liaisons et de groupement pouvant être oxydé, réduit, hydrolysé, etc. Cependant, cette stabilité ne doit pas non plus être trop importante pour que le produit puisse être dégradé et éliminé par la plante. Un produit non métabolisable est toxique pour son hôte.

## Cas particulier du fluor

Peu présent au sein de molécules naturelles, le fluor se retrouve sur une quantité importante de composés actifs que ce soit en chimie médicinale ou en agrochimie.<sup>98</sup> De nombreux fongicides présents sur le marché contiennent un ou plusieurs atomes de fluor comme par exemple le fluotrimazole ou la fluoxastrobine (Figure 18).<sup>99</sup>

Ses propriétés particulières en font un des éléments les plus attractifs du tableau périodique. Le fluor est en effet un isostère de l'atome d'hydrogène (le rayon de Van der Waals du premier est de 1,47 Å et celui du deuxième est de 1,20 Å). Malgré sa forte électronégativité, le fluor est également capable d'effectuer des liaisons hydrogènes. Remplacer un hydrogène par un fluor ne va donc pas empêcher la molécule d'accéder au site enzymatique ciblé par la molécule-mère.

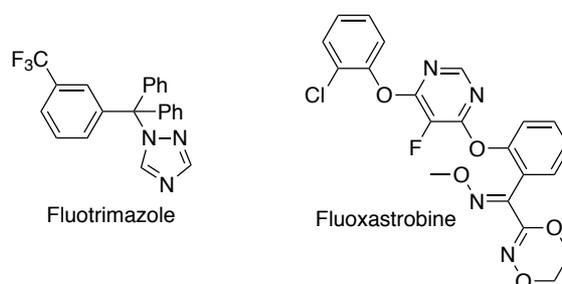


Figure 18

Cependant, d'autres propriétés vont être modifiées par la présence de l'halogène. La présence d'un ou plusieurs atomes de fluor sur la molécule accroît l'hydrophobie de cette dernière et modifie donc sa biodisponibilité.

De plus, la liaison C-F est forte en énergie (485 kJ/mol contre 416 kJ/mol pour la liaison C-H), et fortement polarisée. L'électronégativité ralentit les processus d'oxydation et la métabolisation du composé est retardée.

Compte tenu de ces informations, plusieurs modifications structurales sur la gougérotine ont été envisagées.

<sup>98</sup> Purser, S.; Moore, P. R.; Swallow, S.; Gouverneur, V. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 320-330.

<sup>99</sup> Theodoridis, G., Chapter 4 Fluorine-Containing Agrochemicals: An Overview of Recent Developments. In *Advances in Fluorine Science*, Tressaud, A., Ed. Elsevier: 2006; Vol. 2, pp 121-175.



20).<sup>100</sup> Ainsi, l'atome d'oxygène de la fonction carbonyle en position 2' et l'atome d'azote en position 3' jouent le rôle d'accepteur de liaisons H tandis que la fonction amine en position 4' est antagoniste et joue le rôle de donneur de liaison H.

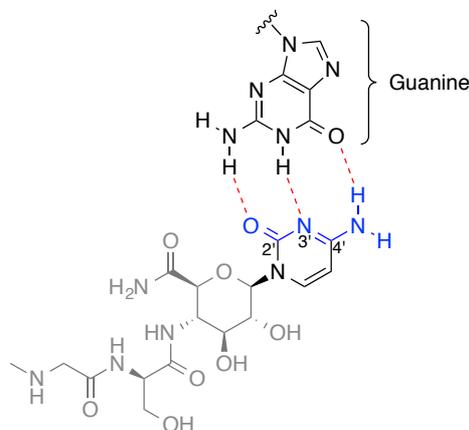


Figure 20

Les liaisons hydrogène ne sont pas les seules interactions moléculaires qui aident à la fixation de la gougérotine sur son site d'action. Il existe d'autres forces telles que les forces de Van der Waals, les interactions hydrophobes, le  $\pi$ -stacking, etc.

Des modifications fonctionnelles sur la base nucléique de la gougérotine peuvent avoir des effets électroniques, stériques, hydrophobes, etc. Ils sont capables d'influencer la force des liaisons entre la molécule et sa cible enzymatique mais aussi d'induire une sélectivité vers le ribosome du champignon uniquement. De nombreux calculs de modélisation moléculaire ont déjà été effectués pour évaluer ces liaisons hydrogène entre les bases nucléiques et les acides-aminés.<sup>101</sup> Cependant, tant que la gougérotine n'as pas été co-cristallisée avec le ribosome cible, les acides aminés avec lesquels elles se lient restent indéterminés et plusieurs modifications fonctionnelles pour permettre d'atteindre une meilleure fonction biologique sont envisageables.

Les différentes bases envisagées sont résumées Figure 21.

<sup>100</sup> Seeman, N. C.; Rosenberg, J. M.; Rich, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1976**, *73*, 804-808.

<sup>101</sup> Luscombe, N. M.; Laskowski, R. A.; Thornton, J. M. *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 2860-2874.

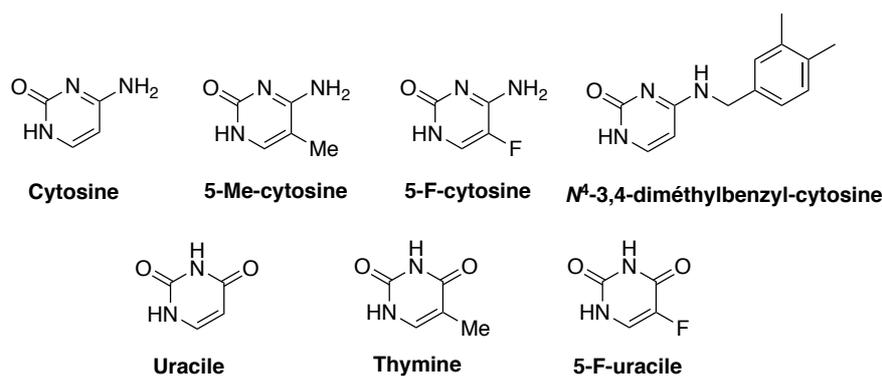


Figure 21

Dans un premier temps, l'amine primaire en position 4' de la cytosine est conservée et un groupement fonctionnel ou un atome est ajouté en position 5'.

Sur la 5-méthylcytosine, la présence du groupement électrodonneur va renforcer la densité électronique sur les atomes voisins et l'acidité du proton sur la fonction amine en position 4' est diminuée. Cependant, la basicité des atomes d'oxygène et d'azote en 2' et 3' augmente. Le groupement méthyle peut également générer un encombrement stérique pouvant bloquer la molécule dans une certaine conformation.

Sur la 5-fluorocytosine, l'effet inverse est observé. Par sa forte électronégativité, le fluor diminue la densité électronique sur ses atomes voisins : le proton en 4' est plus acide et donc plus accepteur mais la basicité des atomes en 2' et 3' diminue ce qui peut altérer leur rôle d'accepteur de liaisons H. Il faut donc faire attention à ne pas utiliser de groupement très fortement électroattracteur (comme par exemple un groupement nitro) à cause des propriétés antagonistes présentes sur la base. En outre, comme expliqué précédemment, la présence d'un atome de fluor peut augmenter la lipophilie d'une molécule, facilitant son passage à travers la cuticule et elle peut également influencer sa métabolisation. Il peut également effectuer des liaisons avec des atomes d'hydrogène.

Il a également été envisagé de fonctionnaliser l'amine primaire en position 4 de la cytosine avec un groupement aryle. La présence d'un cycle aromatique peut d'une part favoriser des interactions de  $\pi$ -stacking et d'autre part, il peut permettre à la molécule de s'insérer au sein d'une poche hydrophobe. Il a été montré que l'activité microbienne et antifongique d'analogues de la gougérotine était conservée lors de la fonctionnalisation de la cytosine par

un groupement 3,4-diméthylbenzyle.<sup>102</sup> C'est pourquoi nous avons envisagé ce groupement aryle.

Les trois dernières bases (uracile, thymine et 5-F-uracile) contiennent non plus une amine libre en position 4 mais une fonction carbonyle. La thymine au sein de l'ADN et l'uracile au sein de l'ARN s'apparient avec l'adénine selon les liaisons hydrogènes présentées Figure 22. L'oxygène en position 4 est accepteur de liaison H et l'amine en position 3 est donneur de liaisons H, inversement à la cytosine. Les liaisons H effectuées avec l'oxygène du groupement carbonyle en 2' sont très faibles voir inexistantes.

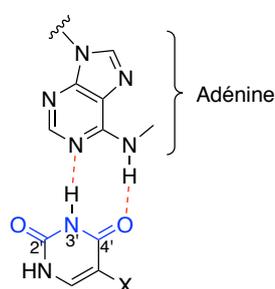


Figure 22

Ce type de bases pourrait donc permettre aux analogues correspondants de la gougérotine de se lier sur des sites différents du ribosome que ceux portant la cytosine. De la même façon que précédemment, la thymine, avec un méthyl en position 5 et la 5-fluorouracile, avec un atome de fluor sur la même position, seront utilisés en plus de l'uracile. Par ailleurs, il a été montré que les liaisons hydrogènes entre l'adénine et l'uracile étaient plus fortes qu'entre l'adénine et la thymine.<sup>103</sup>

#### II.4.2.b) Modification du dipeptide

La plus grande partie du travail concernant la modification du dipeptide présent en position 4 du sucre a été effectuée par une équipe différente au sein du laboratoire de recherche de BayerCropScience à Monheim. Pour notre part, des analogues avec le dipeptide naturel D-sérine-sarcosine (D-Ser-Sar), avec son isomère L-Ser-Sar et sans dipeptide du tout (juste avec une amine primaire en position 4 du sucre) sont envisagés. De par la voie synthétique employée (cf chapitre III), une fonction azoture est utilisée en tant que précurseur de l'amine.

<sup>102</sup> Migawa, M. T.; Swayze, E. E.; Griffey, R. H., Novel pyranosyl cytosines: pharmaceutical formulations and methods. WO03/066633: 2003.

<sup>103</sup> Swart, M.; Fonseca Guerra, C.; Bickelhaupt, F. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16718-16719.

Certains intermédiaires avancés, comportant les fonctionnalités majeures, avec la fonction azoture en 4 seront donc également soumis aux tests biologiques (Figure 23).

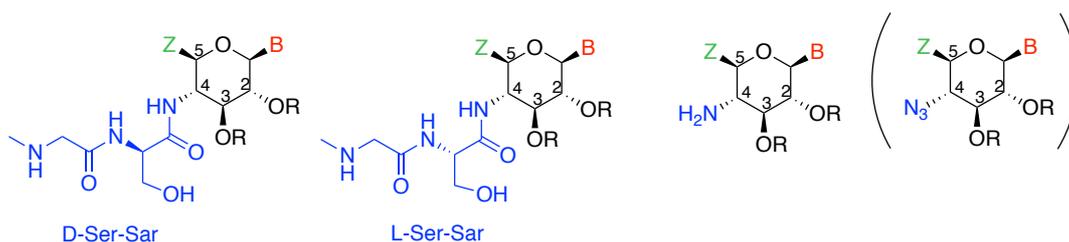


Figure 23

Il existe quelques exemples d'azidonucléosides possédant une activité biologique,<sup>104</sup> le plus célèbre étant l'AZT, utilisé dans le traitement contre le VIH. Dans le but de diminuer la toxicité de l'AZT, plusieurs analogues d'azidonucléosides ont vu le jour comme par exemple le pyranosyl-azidonucléoside **61**, moins cytotoxique et plus efficace pour empêcher la réplication du virus (Figure 24).<sup>105</sup>

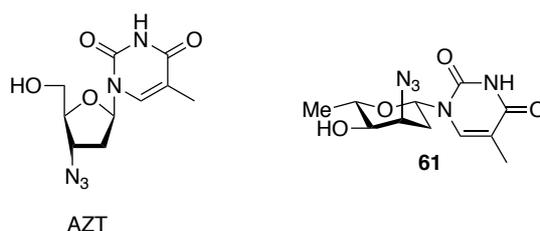


Figure 24

#### II.4.2.c) Modification du carboxamide en position 6

Sur la gougérotine naturelle, la position 6 du pyranose est occupée par une fonction carboxamide. Dans le but de diminuer la polarité de la molécule, cette fonction carboxamide pourra être remplacée dans un premier temps par un alcool primaire ou par un acide carboxylique. Il existe en effet certains nucléosides portant un acide uronique en position 6 qui présente une activité biologique comme par exemple la blasticidine S, l'amipurimycine ou encore la miharamycin.<sup>106</sup> L'accès à un éther benzylique ou méthylique sur cette position 6 sera également envisagé.

<sup>104</sup> Pathak, T. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1623-1668.

<sup>105</sup> Sztaricskai, F.; Dinya, Z.; Batta, G.; Gergely, L.; Szabó, B. *Nucleosides Nucleotides* **1992**, *11*, 11-21.

<sup>106</sup> Xavier, N. M.; Schwarz, S.; Vaz, P. D.; Csuk, R.; Rauter, A. P. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 2770-2779.

L'analyse rétrosynthétique permettant d'accéder aux analogues envisagés est décrite dans la partie suivante.

### II.4.3) Analyse rétrosynthétique

La synthèse des nucléosides complexes s'articule généralement autour de trois axes : la préparation dans un premier temps des différents fragments synthétiques de façon individuelle, puis leur couplage avec la stéréochimie requise et enfin la déprotection et la purification de la molécule cible. Comme vu en partie II.2.3, les synthèses de peptidonucléosides les plus courantes débutent à partir d'un composé monosaccharidique commercial. C'est la stratégie que nous avons décidé d'employer pour accéder aux analogues de la gougérotine.

A partir des précédentes synthèses totales de la gougérotine, trois fragments ont été identifiés : l'unité saccharidique, la base nucléique et le dipeptide. Deux coupures synthétiques ont pu être envisagées (Figure 25). D'une part, la glycosylation entre la position 1 de l'unité saccharidique et la base nucléique (**A**) et d'autre part le couplage peptidique entre la position 4 de l'unité saccharidique et le motif dipeptide (**B**).

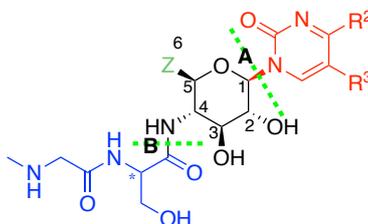
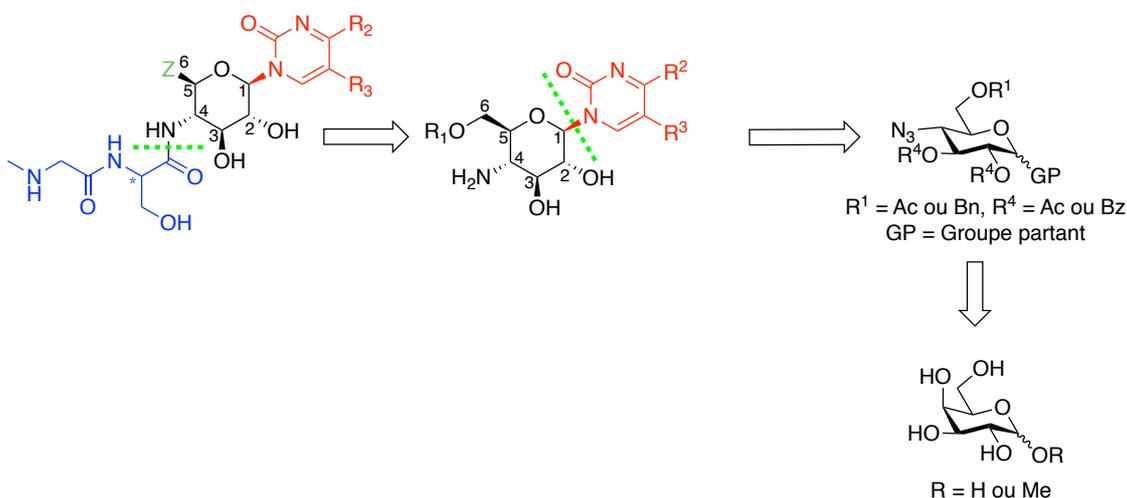


Figure 25

Pour des raisons déjà évoquées au paragraphe II.2.3, la glycosylation de la base est effectuée avant le couplage peptidique. De plus, cela permet l'accès à des nucléosides analogues possédant une fonction azoture ou amine en position 4.

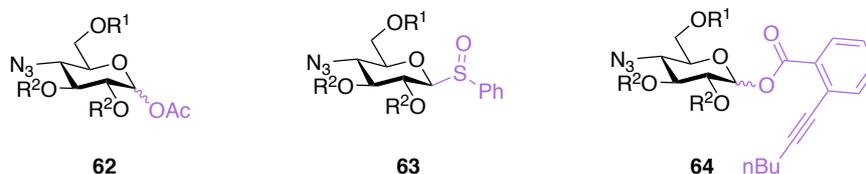
La synthèse envisagée débute donc par la préparation du motif glucose, protégé de façon adéquate à partir du D-galactose ou de l' $\alpha$ -D-méthylgalactopyranoside, selon le donneur de glycosyle désiré. Les différentes bases sont ensuite couplées à la position anomérique du donneur. La présence d'un groupement participant en position 2 du sucre est nécessaire pour obtenir le nucléoside avec une sélectivité  $\beta$  totale. Suite à l'étape de glycosylation, le

groupement azoture présent sur la position 4 est réduit en amine pour permettre le couplage peptidique avec le dipeptide synthétisé en parallèle. Des conditions de déprotection des différents groupements protecteurs mènent finalement aux différents analogues de la gougérotine (Schéma 34).



L'étape de glycosylation fera l'objet d'une étude méthodologique mettant en jeu différents donneurs et différentes conditions pour conduire aux nucléosides correspondants de la manière la plus efficace. Suite à notre introduction bibliographique, trois donneurs ont été retenus pour effectuer cette étude (Figure 26). Dans un premier temps, les glycosylations ont été effectuées avec le donneur acétate **62**, un donneur classiquement utilisé en association avec les conditions de Vorbrüggen. Notre attention s'est ensuite portée sur le donneur **63** portant un sulfoxyde en position anomérique. En effet, ce type de donneur a déjà été employé pour la synthèse de furanonucléosides, son utilisation pour la glycosylation de base sur des motifs pyranoses est très peu décrite dans la littérature. De plus, nous verrons que ce donneur donne accès à des 6-OBn-nucléosides. Enfin, un donneur **64** portant un groupement orthohexynylbenzoate en position anomérique pour une application de la glycosylation à l'or (I) a également été synthétisé. Si les glycosylations de la cytosine, de l'uracile et de la thymine sont largement décrites dans la littérature, celles de la 5-méthycytosine et de la 5-fluorocytosine directement avec un motif pyranose n'ont fait l'objet d'aucun exemple. La voie usuelle veut que l'on passe par la glycosylation de la base thymine ou 5-fluorouracile puis cette dernière est ensuite transformée en 5-méthyl-cytosine ou 5-fluorocytosine par une réaction de substitution sur le carbonyle en position 4. La glycosylation directe de la 5-

méthylcytosine et 5-fluorocytosine permettrait donc un accès plus rapide aux nucléosides correspondants.



R<sup>1</sup> = Ac ou Bn, R<sup>2</sup> = Ac ou Bz

Figure 26

## II.5) Conclusion du chapitre II

L'objectif de ce travail de thèse concerne donc la synthèse d'analogues de la gougérotine, un peptidonucléoside aux propriétés antifongiques et antibiotiques. Au cours de ce chapitre, quelques généralités sur les fongicides ont été introduites et un état de l'art concernant la réaction de *N*-glycosylation, au cœur de la synthèse de nucléosides, a été réalisé. Les rendements de ces *N*-glycosylations dépendent de nombreux facteurs parmi lesquels la nature du donneur de glycosyle. Plusieurs types de donneurs ont donc été envisagés afin de réaliser une étude des glycosylations des différentes bases citées ci-dessus. Une des principales problématiques des conditions de *N*-glycosylation les plus populaires, celles de Vorbrüggen, est l'utilisation d'un acide de Lewis en quantité stoechiométrique. Une méthode de glycosylation à l'or (I) en quantité catalytique sera donc appliquée. La rétrosynthèse des analogues prévoit dans un premier temps la préparation des trois donneurs **62**, **63** et **64** à partir de sucres commerciaux, présentée au chapitre suivant.

III) Synthèses et méthodologie de  
glycosylation :  
Résultats et discussion



### III.1) Synthèse des donneurs

La synthèse envisagée a donc débuté par la préparation du motif glucose, protégé de façon adéquate. Comme vu au chapitre II, un des facteurs les plus influents de la glycosylation est la nature du groupement partant en position anomérique du donneur de glycosyle. C'est pourquoi plusieurs donneurs ont été envisagés : un donneur acétate **62**, un donneur sulfoxyde **63** et un donneur orthohexynylbenzoate **64** (Figure 27).

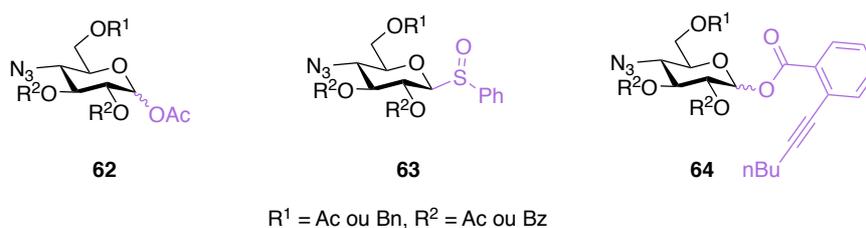


Figure 27

#### III.1.1) Synthèse du donneur **62**

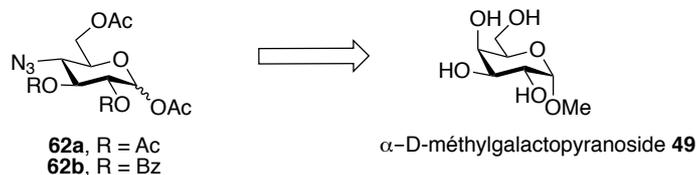


Schéma 35

Le donneur **62** a été protégé en position 2 et 3 sous forme acétylées ou benzoylées. La position 6 est également protégée par un acétate. En position 4, une fonction azoture est présente. Elle masque une fonction amine nécessaire au couplage peptidique avec l'acide carboxylique désiré. La position anomérique est activée par un groupement acétate. La synthèse de ce donneur a débuté à partir de l' $\alpha\text{-D-méthylgalactopyranoside}$  commercial **49**. On peut tout d'abord s'interroger sur l'utilisation d'un motif *galacto* alors que le motif final est de stéréochimie *gluco*. L'introduction de la fonction azoture passe par un mécanisme  $\text{S}_{\text{N}}2$  qui a pour conséquence une inversion totale de configuration. Donc si l'on souhaite obtenir un groupement en position équatoriale sur la position 4, il est nécessaire de démarrer à partir d'un hydroxyle en position axiale, d'où l'utilisation du galactopyranoside. Le groupement méthoxy initialement présent sur la position anomérique est un groupement stable qui résiste aux conditions mises en œuvre avant l'acétolyse de la molécule. L'utilisation

de ce composé commercial permet de s'affranchir d'une première étape de glycosylation du méthanol sur le D-galactose (Schéma 35).

### III.1.1.a) Premières étapes de protection

Les positions O4 et O6 de l' $\alpha$ -D-méthylgalactopyranoside **49** ont tout été d'abord protégées sous la forme d'un benzylidène dans des conditions standard d'acétalation pour conduire au produit **65** avec un rendement de 90%. Les positions O2 et O3 ont ensuite été estérifiées soit à l'aide d'anhydride acétique permettant l'obtention du produit **66a** avec un rendement quantitatif, soit en présence de chlorure de benzoyle et d'une quantité catalytique de 4-diméthylaminopyridine (DMAP) conduisant au sucre **66b** avec un rendement de 94 % (Schéma 36).

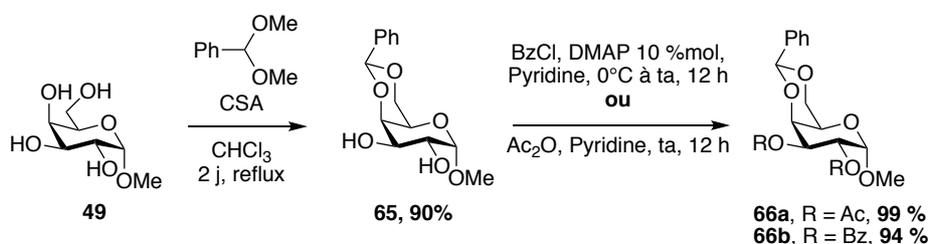


Schéma 36

La synthèse a été menée en parallèle sur ces deux composés car nous souhaitons pouvoir déterminer par la suite lequel des deux groupements protecteurs, benzoyle ou acétate, nous permettrait d'obtenir les produits finaux avec le plus de facilité. En effet, les benzoyles étant des groupements plus stables, ils sont plus susceptibles de résister face à des conditions de réactions dures. Les groupements acétates sont plus facilement déprotégeables car moins stables et d'après la littérature, les composés possédant ces groupements semblent conduire à de meilleurs rendements de glycosylation.<sup>107</sup>

Les composés **66a** et **66b** ont ensuite été engagés dans une réaction d'ouverture réductrice du 4,6-O-benzylidène pour conduire aux galactopyranosides **67a** et **67b** possédant un hydroxyle libre en position 4 (Schéma 37). Nous avons rencontré des difficultés lors de cette étape et de nombreuses conditions ont été testées.

<sup>107</sup> Ikemoto, N.; Schreiber, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 2524-2536.

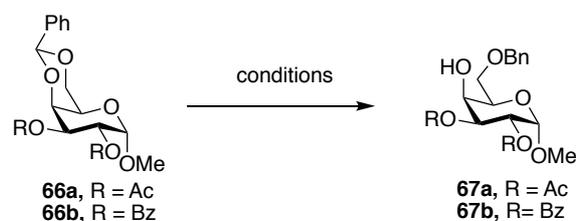


Schéma 37

### III.1.1.b) Etude de cas : Ouverture réductrice de 4,6-O-benzylidène sur un motif galactose

La formation d'acétals sur les fonctions alcools des unités saccharidiques est une des réactions de protection les plus anciennes et les plus utilisées.<sup>108</sup> Les réactifs sont en effet facilement accessibles et les protocoles expérimentaux sont simples et bénéficient de hauts rendements.<sup>109</sup> C'est pourquoi, nous avons choisi ici d'utiliser un benzylidène afin de protéger les positions 4 et 6 du galactopyranoside. De plus, les 4,6-O-benzylidènes peuvent être ouverts régiosélectivement sous conditions réductrices pour conduire aux composés 6-OH ou 4-OH. La sélectivité de l'ouverture est guidée par les conditions expérimentales utilisées.

Les ouvertures réductrices des 4,6-O-benzylidènes sont très largement décrites dans la littérature.<sup>109,110</sup> Ces réactions font intervenir un acide de Lewis ou un acide de Brønsted en association avec un réducteur. La régiosélectivité de l'ouverture (4-OH ou 6-OH) va dépendre du couple réducteur/acide utilisé et du solvant.

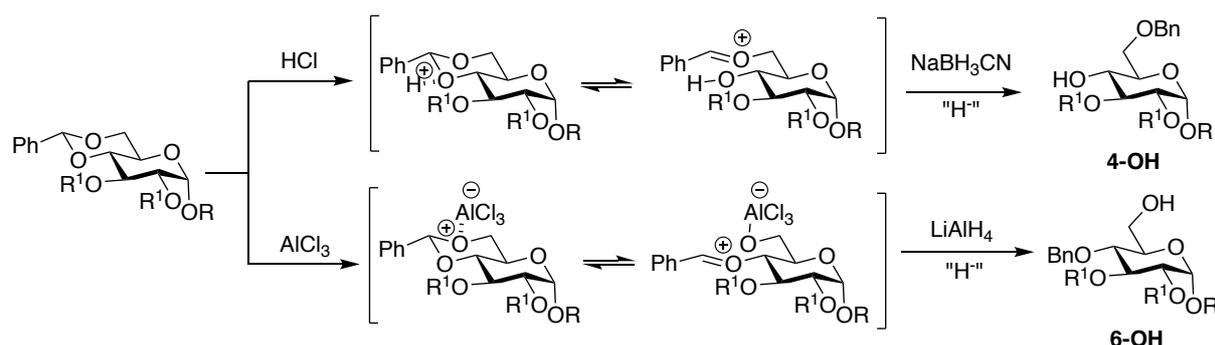


Schéma 38

Il est généralement admis qu'un acide protique se coordine de préférence sur l'oxygène en position 4, permettant l'accès à l'alcool 4-OH, tandis qu'un acide de Lewis encombré va se coordiner sur l'oxygène en 6, plus facilement accessible pour conduire à l'alcool 6-OH

<sup>108</sup> Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1895**, 28, 1145-1167.

<sup>109</sup> *Protecting Groups*, 3rd ed. ; Kocienski, P.J. ; Ed. ; Georg Thieme Verlag : Stuttgart, **2005** et référence citées.

<sup>110</sup> Tanaka, N.; Ogawa, I.; Yoshigase, S.; Nokami, J. *Carbohydr. Res.* **2008**, 343, 2675-2679.

(Schéma 38). Une large bibliothèque de méthodes disponibles pour l'ouverture régiosélective des benzylidènes sur des glycopyranosides a donc été développée.

La majorité des conditions et des aspects mécanistiques cités dans la littérature ont été étudiés sur des motifs glucopyranoses. En comparaison, il existe peu d'exemples d'ouvertures réductrices de 4,6-*O*-benzylidène sur des motifs galactopyranoses. Cela nous a donc permis de faire une sélection de conditions à tester sur le composé **66**.

Nos résultats sont résumés ci-dessous (Tableau 2).

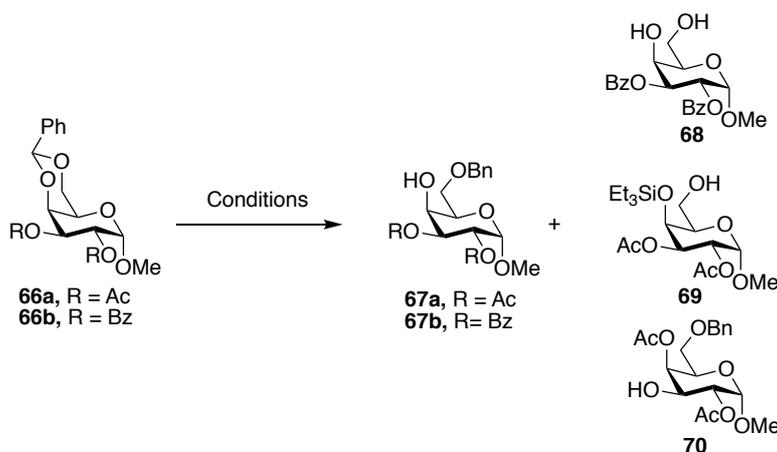


Schéma 39

Entrée	R	Réducteur / acide	Traitement	<b>67</b>	Produit 2 <sup>nd</sup>
1	Bz	NaBH <sub>3</sub> CN / HCl	-	<b>67b</b> , 0 %	<b>66b</b> , 100 %
2	Bz	NaBH <sub>3</sub> CN / I <sub>2</sub>	-	<b>67b</b> , 0 %	<b>68</b> , 100 %
3	Bz	Et <sub>3</sub> SiH / FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	-	<b>67b</b> , 0 %	<b>68</b> , 100 %
4	Bz	Et <sub>3</sub> SiH / TfOH	Ajout Et <sub>3</sub> N	<b>67b</b> , 85 %	-
5	Ac	Et <sub>3</sub> SiH / TfOH	Ajout Et <sub>3</sub> N	<b>67a</b> , 34 - 57	<b>69</b> , 40-54 %
6	Ac	Et <sub>3</sub> SiH / TfOH	Sans Et <sub>3</sub> N	<b>67a</b> , 67 - 75 %	-
7	Ac	Et <sub>3</sub> SiH / TfOH	Sans Et <sub>3</sub> N	<b>67a</b> , 33-57 %	<b>70</b> , 5-23 %

Composé **17** (1 eq.), Et<sub>3</sub>SiH (2,5 eq.), TfOH (2 eq.), tamis 4 Å dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (C = 0,1 M). Réaction effectuée à -78°C. Voir partie expérimentale.

Tableau 2

L'utilisation de NaBH<sub>3</sub>CN avec l'acide chlorhydrique, une méthode connue pour fournir de très bons résultats sur les motifs *gluco*,<sup>111</sup> n'a pas du tout fonctionné dans le cas présent avec la récupération du produit de départ dans son intégralité (entrée 1). En associant ce même

<sup>111</sup> Garegg, P. J.; Hultberg, H. *Carbohydr. Res.* **1981**, *93*, C10-C11.

hydrure avec du diiode,<sup>112</sup> le composé a été hydrolysé et seul le diol **68** a été obtenu (entrée 2). Un résultat identique a été observé en utilisant du triéthylsilane (Et<sub>3</sub>SiH) avec un complexe de fer (III) (entrée 3). Ce sont finalement les conditions de Sagakami et Hamana qui nous ont permis d'aboutir à l'alcool désiré.<sup>113</sup> La réaction s'est faite en présence de 2,5 équivalents de triéthylsilane et de 2 équivalents d'acide triflique à -78 °C et a fourni l'alcool **67b** (R = Bz) avec un rendement de 85 % (entrée 4). Cependant, pour l'alcool **67a** (R = Ac), les rendements ont été plus faibles et difficilement reproductibles (entrée 5). Le traitement de la réaction a nécessité l'ajout de triéthylamine pour neutraliser TfOH en excès et nous avons observé lors de cet ajout, la formation du produit **69** où un groupement triéthylsilyle est présent sur l'hydroxyle en 4, à hauteur de 40 à 54 %. La régiosélectivité de la réaction n'est donc pas remise en cause. De plus, ce produit secondaire a été facilement hydrolysé en présence d'acide tétrafluoroborique pour fournir l'alcool désiré **67a** avec un rendement final avoisinant 80 % (Schéma 40).

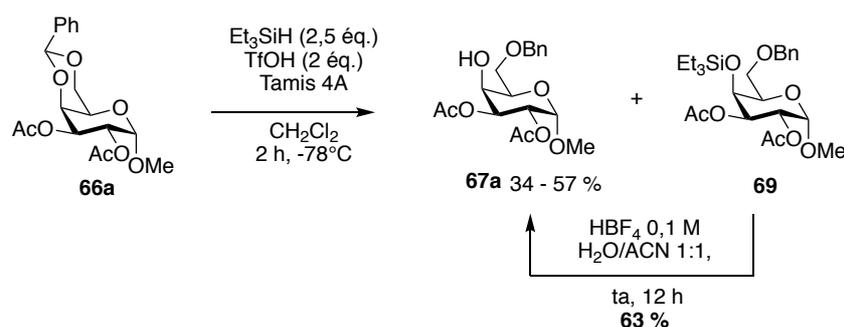


Schéma 40

En modifiant le traitement, sans ajout de triéthylamine, les rendements ont augmenté jusqu'à 75 %, lorsque la réaction a été réalisée sur 1 g maximum (entrée 6). Sur 5 à 6 g de réactif de départ, on a observé une chute des rendements alors compris entre 33 et 57 % (entrée 7). Le produit secondaire isolé **70** correspond à une migration d'acétate de l'oxygène en 3 à l'alcool libre en 4. La migration des groupements acyles sur des sucres partiellement libres est un phénomène courant bien connu.<sup>114</sup> Le réarrangement s'effectue en passant par un intermédiaire orthoacide cyclique vers l'isomère le plus stable.

Pour conclure, les conditions retenues ont été celles sans triéthylamine (entrée 6). En effet, la migration de l'acétate de la position 3 à la position 4 ayant lieu au cours de la réaction, avant

<sup>112</sup> Rao, K. V.; Patil, P. R.; Atmakuri, S.; Kartha, K. P. R. *Carbohydr. Res.* **2010**, *345*, 2709-2713.

<sup>113</sup> Sakagami, M.; Hamana, H. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5547-5551.

<sup>114</sup> Haines, A. H. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1976**, *33*, 11-109.

le traitement, sur une échelle de 5 à 6 g, il est probable que l'ajout de triéthylamine en fin de réaction ne permettrait pas d'améliorer la sélectivité en faveur de l'isomère 4-OH.

D'autres conditions mettant en jeu le triflate de cuivre en association avec du triéthylsilane ont été utilisées lors de la préparation du donneur **63** (voir p. 92). Elles n'ont pas pu être testées sur le composé **66**.

Ces dernières années, des séquences réactionnelles monotopes conduisant à des monosaccharides régiosélectivement protégés ont été développées. Ces réactions ont été testées ici pour tenter d'accéder plus rapidement aux composés **67a** et **67b**.

### III.1.1.c) Protections régiosélectives monotopes

A partir de monosaccharides persilylés, des protocoles monotopes catalysés par différents acides de Lewis comme le triflate de cuivre  $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ ,<sup>115</sup> le trichlorure de fer hexahydraté  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,<sup>116</sup>  $\text{TMSOTf}$ <sup>117</sup> ou  $\text{TfOH}$ <sup>118</sup> permettent de réaliser des protections de manière régiosélective. Ces conditions ont été employées pour tenter d'optimiser l'accès aux alcools **67a** et **67b**.

La publication de l'équipe de J.M. Beau décrit l'accès au produit **72** par un protocole mono- tope d'acétalation-éthérification réductrice-acylation catalysé par  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  à 5 %mol en présence de benzaldéhyde et de triéthylsilane à partir du composé persilylé **71** (Schéma 41).<sup>116</sup> La synthèse de l'alcool **73** est également décrite par un protocole similaire en remplaçant l'ajout d'anhydride par un agent réducteur. Les sels de fer sont en effet des agents peu coûteux, stables et éco-compatibles utilisés dans de nombreux procédés de chimie organique.<sup>119</sup>

<sup>115</sup> Français, A.; Urban, D.; Beau, J.-M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8662-8665.

<sup>116</sup> Bourdreux, Y.; Lemetais, A.; Urban, D.; Beau, J. M. *Chem Commun* **2011**, *47*, 2146-2148.

<sup>117</sup> Wang, C.-C.; Lee, J.-C.; Luo, S.-Y.; Kulkarni, S. S.; Huang, Y.-W.; Lee, C.-C.; Chang, K.-L.; Hung, S.-C. *Nature* **2007**, *446*, 896-899.

<sup>118</sup> Despras, G.; Urban, D.; Vauzeilles, B.; Beau, J. M. *Chem Commun* **2014**, *50*, 1067-1069.

<sup>119</sup> (a) Bolm, C.; Legros, J.; Le Paih, J.; Zani, L. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 6217-6254. (b) Beau, J.-M. *et al.* Chapter 7 Recent results in synthetic glycochemistry with iron salts at Orsay-Gif. In *Carbohydrate Chemistry: Volume 40*, The Royal Society of Chemistry: 2014; Vol. 40, pp 118-139.

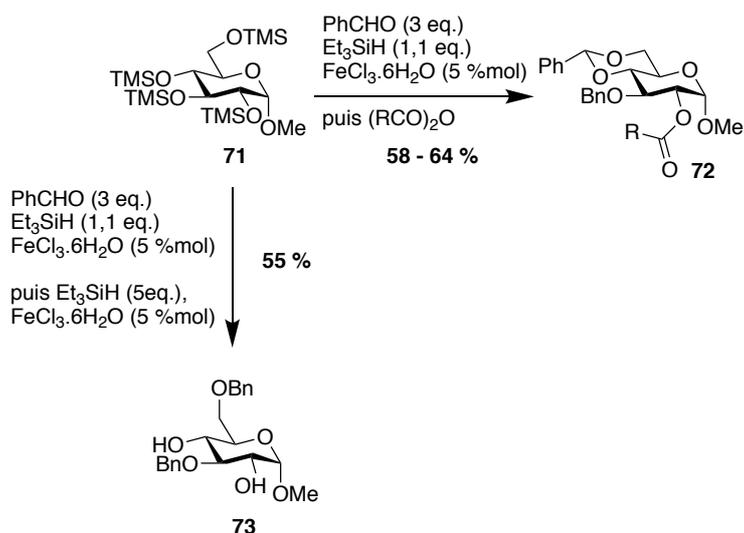


Schéma 41

Dans un premier temps, l' $\alpha$ -D-méthylgalactopyranoside a donc été persilylé à l'aide de chlorure de triméthylsilyle puis le composé **71** obtenu a directement été engagé dans la réaction monotope de protection des positions 4,6 puis 2 et 3 à l'aide de différents catalyseurs. Dans un premier temps, seules les deux premières étapes ont été réalisées en monotopes, sans faire intervenir l'ouverture réductrice du benzylidène. Les positions 4 et 6 du composé **71** ont donc tout d'abord été protégées sous la forme d'un benzylidène à l'aide de benzaldéhyde et d'une certaine quantité de catalyseur : 5 %mol de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O ou 15 %mol de TMSOTf ou de TfOH pour conduire au produit **74**. L'anhydride benzoïque et la même quantité de chaque catalyseur ont ensuite été ajoutés au milieu réactionnel. Avec FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O, le produit **66b** a été isolé avec seulement 15 % de rendement à cause d'un faible taux de conversion du benzylidène **74**. Avec TMSOTf et TfOH, le produit **66b** a été obtenu avec des rendements respectifs de 55 et 41 %, en mélange avec le produit monobenzoylé **66c** (Schéma 42).

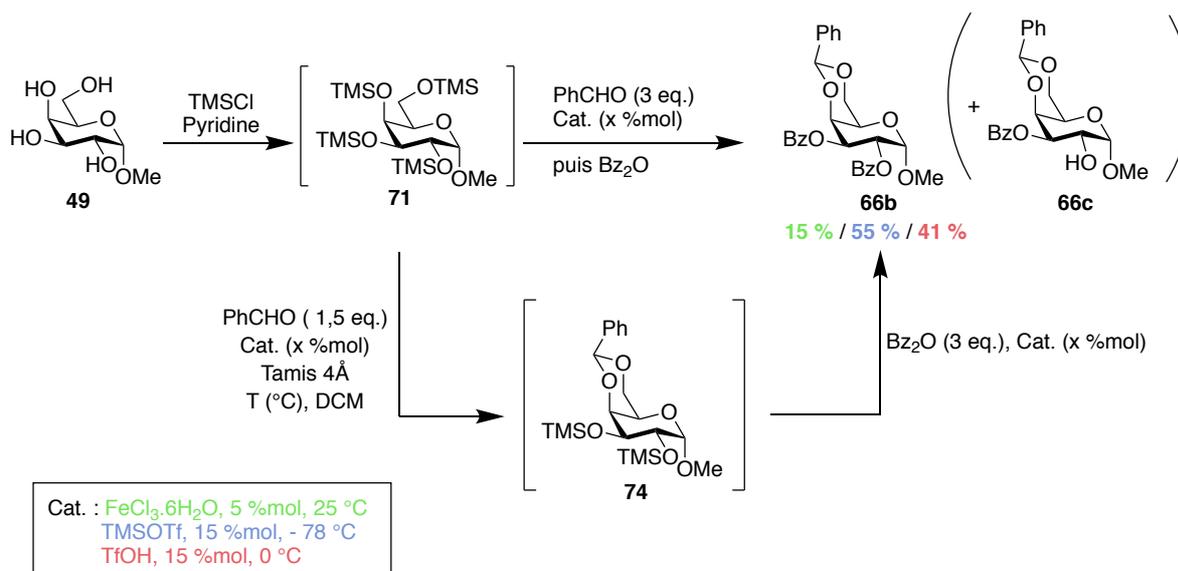


Schéma 42

Des résultats prometteurs pour la protection régiosélective de notre composé ont donc été obtenus via cette procédure « en un seul pot », notamment en présence des catalyseurs TMSOTf et TfOH. Une poursuite de la méthode en intégrant l'étape d'ouverture réductrice à la procédure monotope devra être effectuée.

Suite à l'étape d'ouverture réductrice, la synthèse du donneur **62** s'est poursuivie par l'introduction du groupement azoture.

#### III.1.1.d) Suite de la synthèse et obtention du donneur 62

L'alcool **67** a été engagé dans une réaction de triflation afin de former le triflate en position 4, un bon nucléofuge rapidement substitué par un azoture grâce à l'ajout d'un large excès d'azoture de sodium. Une inversion de configuration sur cette position C4, due au mécanisme de type S<sub>N</sub>2 de la réaction, implique l'obtention d'un motif glucopyranoside et non plus galactopyranoside. Cette inversion de configuration est particulièrement importante car elle correspond au motif glucose présent dans la gougérotine. Les composés **75a** et **75b** ont été obtenus avec des rendements respectifs de 72 % et 69 % sur deux étapes, chacun sous la forme d'un seul diastéréoisomère (Schéma 43).

Une dernière étape d'acétolyse a conduit au donneur **62a** en mélange d'anomères  $\alpha/\beta$  avec un ratio 8:2 en faveur de l'anomère  $\alpha$ . La position anomérique pourra donc être facilement

activée lors d'une future glycosylation grâce au départ du groupement acétate, meilleur groupe partant que le groupement méthoxy. Cependant, conséquence de cette acétolyse, le groupement benzyle en position 6 a également été remplacé par un groupement acétate (Schéma 43). Le donneur **62b** nous a été fourni par l'entreprise.

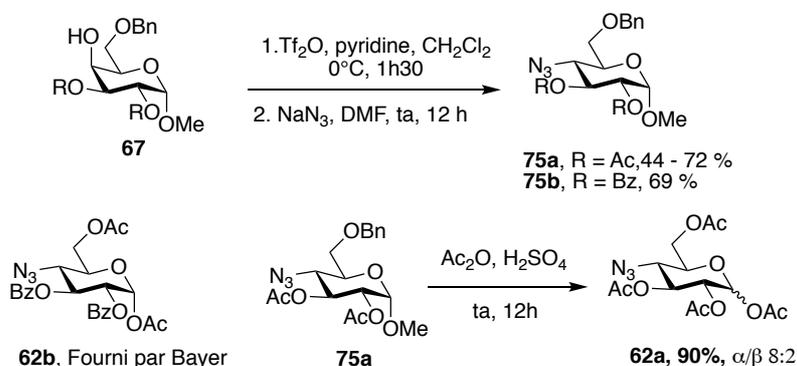


Schéma 43

Dans le but d'obtenir des nucléosides possédant une fonction éther benzylique ou méthylique en position 6, différentes conditions ont été mises en place.

### III.1.1.e) Accès à des donneurs 6-OBn ou 6-OMe

#### - Hydrolyse de la position anomérique du composé **75a**

Etant donné que l'étape d'acétolyse décrite précédemment substitue le groupement benzyle en O6 par un groupement acétate, il a été envisagé d'hydrolyser sélectivement le groupement méthoxy en position anomérique du composé **75a** pour ensuite acétyler cette même position dans des conditions douces, sans acide sulfurique, conditions qui permettraient de conserver le groupement benzyle en position 6 et d'accéder au produit **77** (Schéma 44).

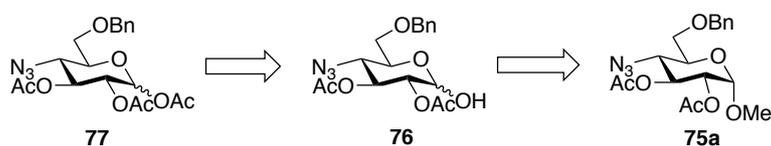


Schéma 44

La déprotection sélective du groupement méthoxy anomérique se fait généralement en milieu acide. Différentes conditions ont donc été testées sur le composé **75a** pour conduire au produit **76**. Elles sont résumées dans le Tableau 3.

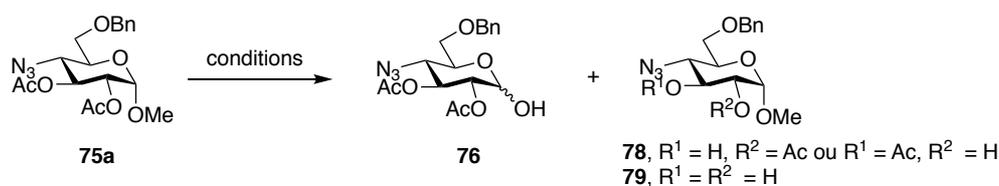


Schéma 45

Entrée	Conditions	Résultats
1	TFA (3,76 M), reflux, 3 h <sup>120</sup>	<b>79</b> , non isolé
2	AcOH 70 %, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 3N, 110 °C, 1 h <sup>121</sup>	<b>75a</b> , aucune conversion
3	HCl 10 %, THF <sup>122</sup>	<b>78</b> et <b>79</b> en mélange, non isolés

Tableau 3

Aucunes des conditions employées n'a permis d'hydrolyser le groupement méthoxy en position anomérique. L'utilisation d'acide trifluoroacétique ou d'acide chlorydrique a conduit à l'hydrolyse des groupements acétates en positions 2 et 3 (entrées 1 et 3). Aucune conversion n'a été observée avec l'acide acétique en présence d'acide sulfurique. Les conditions mériteraient d'être testées sur le composé **75b** possédant des groupements benzoates en positions 2 et 3, moins labiles que les acétates.

Par la suite, le composé **80**, avec un hydroxyle libre en position 6, synthétisé par les équipes de Bayer, nous a été envoyé (Schéma 46). Ce dernier est issu de la déprotection sélective en conditions acides (AcCl ou HCl dans le méthanol) de l'acétate en position 6 du composé **81**. Ce dernier a lui-même été obtenu après la glycosylation de la N<sup>4</sup>-Ac-cytosine par le donneur **62b'** puis la mise en place du groupement Boc sur le nucléoside résultant **82**.<sup>123</sup>

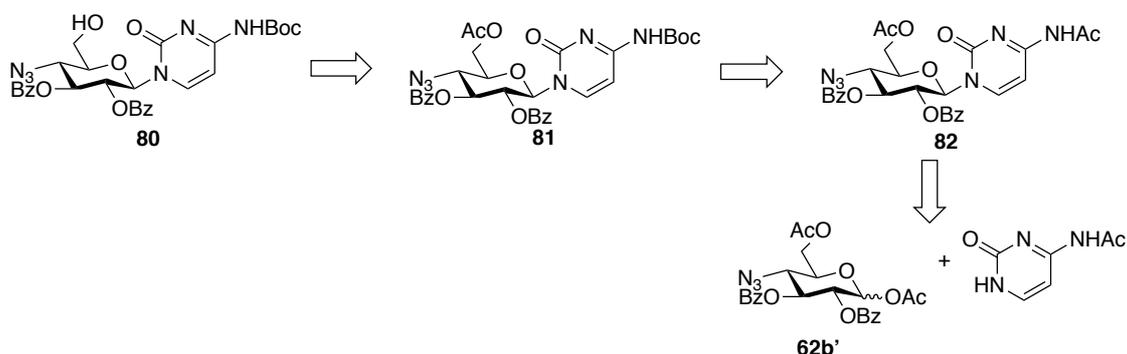


Schéma 46

<sup>120</sup> Lowary, T. L.; Eichler, E.; Bundle, D. R. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7316-7327.

<sup>121</sup> Mintz, C. S.; Kogan, N. A.; Kakarla, R.; Axelrod, H. R.; Sofia, M. J., Polyamine conjugates for treatment of infection. US574453 : 1998.

<sup>122</sup> Yang, G.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* **1998**, *312*, 77-83.

<sup>123</sup> Les conditions de réaction sont décrites p 97 pour la glycosylation et p 114 pour la protection par le groupement Boc.

- Benzylation de la position 6 du composé **80**

La formation d'éthers benzyles à partir des alcools correspondants demande généralement des conditions relativement dures à l'instar de la synthèse de Williamson, une réaction  $S_N2$  entre un alkoxyde métallique et du bromure de benzyle, ou en utilisant le benzyltrichloroacétimidate en association avec TfOH à hauteur de 50 %mol.<sup>124</sup> Un test dans ces dernières conditions sur le composé **80** a permis d'obtenir le produit benzylé **83** avec un rendement de 19 % (Schéma 47). Une déprotection du groupement Boc conduisant au produit secondaire **84** a également eu lieu lors de la réaction, due à la quantité importante d'acide triflique utilisée. Cependant, lors d'un second test employant 10 %mol de TfOH, aucune conversion du réactif de départ n'a été observée.

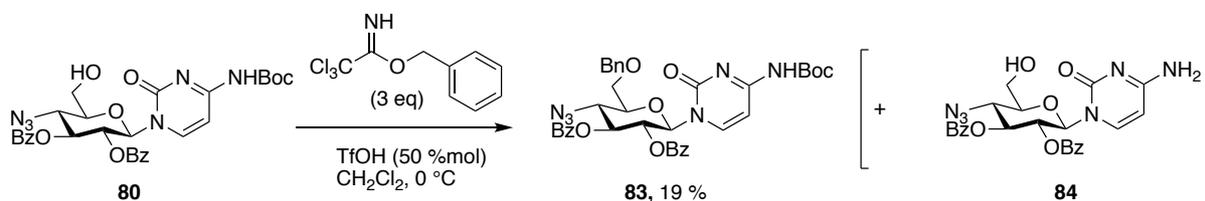


Schéma 47

Poon et Dudley ont décrit la benzylation d'alcool dans des conditions douces et neutres à l'aide de triflate de 2-benzyloxy-1-méthylpyridinium **85** en présence d'une quantité stœchiométrique d'oxyde de magnésium dans le trifluorotoluène à reflux.<sup>125</sup> Ces conditions ont également été appliquées au composé **80** mais une dégradation du réactif de départ a été observée (Schéma 48).

En 2012, l'équipe de Dudley a optimisé sa réaction de benzylation avec le triflate de benzyloxyypyridinium **85** en utilisant un chauffage rapide au micro-onde afin d'éviter la dégradation de certains substrats sensibles par un chauffage prolongé de la réaction.<sup>126</sup> Les composés **80** et **85** ont donc été dissous dans le trifluorotoluène puis le mélange réactionnel a été chauffé au micro-onde à 120 °C pendant 30 min. Malheureusement, le composé benzylé **83** a été obtenu sous formes de traces (Schéma 48).

<sup>124</sup> (a) Iversen, T.; Bundle, D. R. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 1240-1241. (b) Eckenberg, P.; Groth, U.; Huhn, T.; Richter, N.; Schmeck, C. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1619-1624.

<sup>125</sup> Poon, K. W.; Dudley, G. B. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3923-3927.

<sup>126</sup> Wang, T.-w.; Intaranukulkit, T.; Rosana, M. R.; Slegeris, R.; Simon, J.; Dudley, G. B. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 248-250.

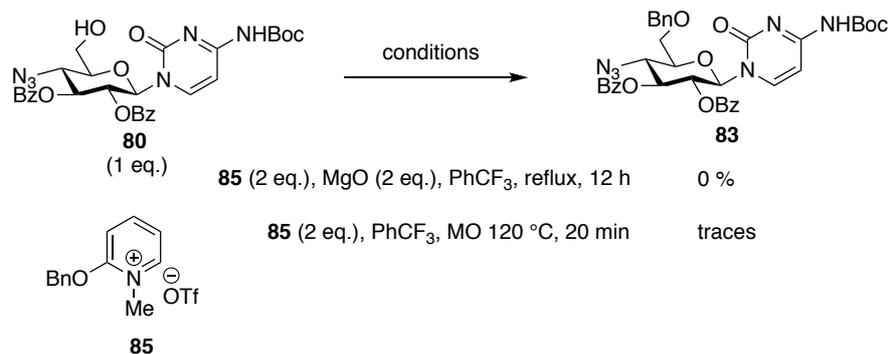


Schéma 48

Aucune des conditions testées n'a permis d'obtenir le composé benzylé **83** de manière satisfaisante. Les meilleurs résultats ont été observés en utilisant le benzyltrichloroacétimide où le composé **83** a été obtenu avec seulement 19 % de rendement. Il pourrait être intéressant de tester sur notre substrat les conditions d'éthérisation catalysée à l'or décrites par Liu et Cheng en 2015.<sup>127</sup> Une série d'alcools a été benzylée avec des rendements compris entre 60 et 99 % à l'aide d'alcool benzylique et du catalyseur de Gagosz [Ph<sub>3</sub>PAuNTf<sub>2</sub>] à hauteur de 0,05 %mol avec un chauffage micro-onde à 150 °C pendant 30 min (Schéma 49).

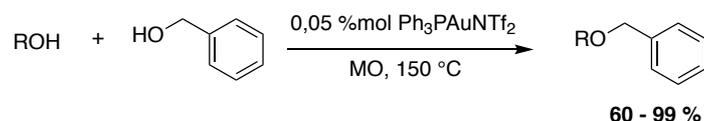


Schéma 49

Finalement, la voie de synthèse du donneur **63** avec un sulfoxyde en position anomérique nous a permis d'obtenir des composés avec un éther benzylique en position 6 sans avoir à réaliser de réactions supplémentaires (voir paragraphe III.1.2).

Des essais de méthylation de la position 6 du composé **80** ont également été réalisés.

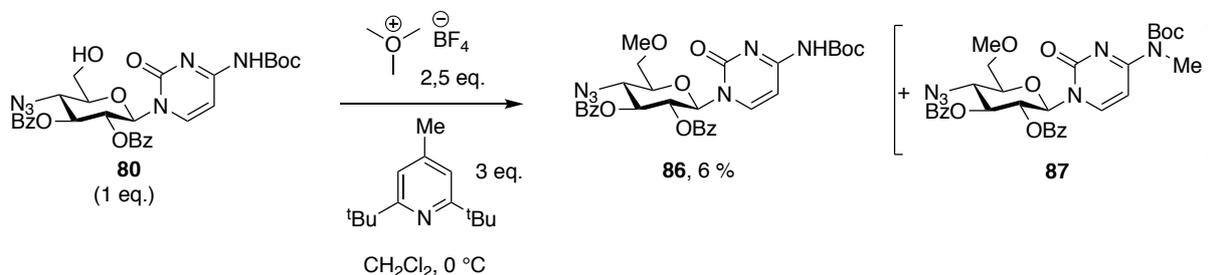
### - Méthylation de la position 6 du composé **80**

Le tétrafluoroborate de triméthylxonium – ou sel de Meerwein – est un puissant agent méthylant couramment utilisé.<sup>128</sup> Afin d'obtenir l'éther méthylique en position 6 du composé **80**, ce dernier a été mis à réagir avec le sel de Meerwein en présence d'une base encombrée, la 2,6-di-*tert*-butyl-4-méthylpyridine, dans le dichlorométhane à 0 °C. Cependant, l'éther

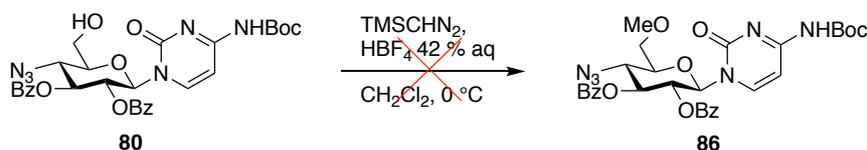
<sup>127</sup> Liu, Y.; Wang, X.; Wang, Y.; Du, C.; Shi, H.; Jin, S.; Jiang, C.; Xiao, J.; Cheng, M. *Adv. Synth. Catal.* **2015**, 357, 1029-1036.

<sup>128</sup> Meerwein, H.; Battenberg, E.; Gold, H. *J. Prakt. Chem.* **1939**, 154, 83-156.

désiré **86** n'a pu être isolé qu'à hauteur de 6 %. Une conversion incomplète du réactif de départ a été observée et un produit secondaire issu d'une surméthylation a également été obtenu (**87**) (Schéma 50).



Un autre essai de méthylation a été conduit sur le composé **80** à l'aide de triméthylsilyldiazométhane. En effet, Aoyama et Shioiri ont démontré que TMSCHN<sub>2</sub> en présence d'acide fluoroborique 42 % aqueux était capable de méthyler les alcools en générant *in situ* le diazométhane.<sup>129</sup> Cependant, après 12 h de réaction, seule une faible quantité de substrat de départ avait été consommée (Schéma 51).



Les différents essais de méthylation pour accéder à des composés 6-OMe n'ont donc pas donné des résultats satisfaisants. D'autres conditions devront être testés afin d'accéder aux composés désirés.

Le donneur dont la position anomérique porte un sulfoxyde a nécessité une voie synthétique différente du donneur **62** et a débuté à partir d'un autre réactif de départ que l' $\alpha$ -D-méthylgalctopyranoside.

<sup>129</sup> Aoyama, T.; Shioiri, T. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5507-5508.

### III.1.2) Synthèse du donneur **63**

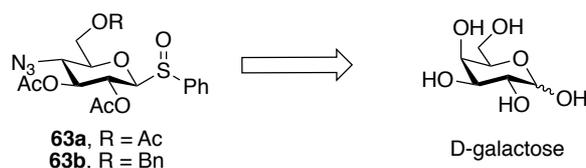


Schéma 52

Le donneur **63** est protégé en position 2 et 3 sous forme d'esters acétylés. La position 6 peut être protégée par un acétate (**63a**) mais la voie synthétique permet également l'accès à un *O*-benzyle sur cette même position (**63b**). Tout comme le donneur **62**, la position 4 est occupée par un azoture. La position anomérique quant à elle est donc substituée par un phénylesulfoxyde. La synthèse a débuté à partir du D-galactose, disponible en grande quantité à un prix accessible (Schéma 52).

Dans un premier temps, le D-galactose a été peracétylé à l'aide d'anhydride acétique (composé **88**) puis directement thioglycosylé selon la procédure de Ferrier pour conduire au thioglycoside **89** en mélange anomérique, avec un rendement de 63 % sur deux étapes.<sup>130</sup> Le ratio  $\alpha/\beta$  du mélange est de 2/8 et les anomères sont séparables par purification sur gel de silice (Schéma 53).

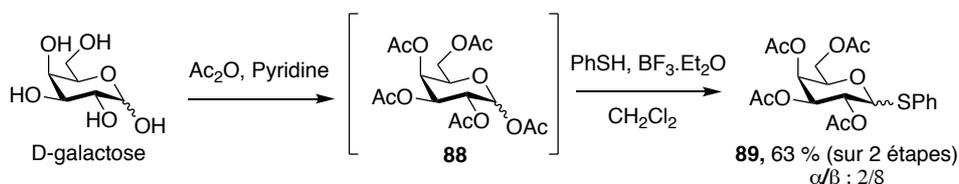


Schéma 53

L'anomère **89 $\beta$**  a ensuite été déacétylé dans les conditions de Zemplen<sup>131</sup> puis le thioglycoside déprotégé **90** a été directement engagé dans une réaction monotope afin de protéger dans un premier temps les positions O4 et O6 sous la forme d'un 4,6-*O*-benzylidène puis les positions 2 et 3 par des groupements acétates (Schéma 54). Cette réaction a été décrite dans la littérature sur le même substrat.<sup>132</sup> Elle se fait en présence d'une quantité catalytique de triflate de cuivre (II) et permet de réaliser des fonctionnalisations orthogonales sur des

<sup>130</sup> Ferrier, R. J.; Furneaux, R. H. *Carbohydr. Res.* **1976**, 52, 63-68.

<sup>131</sup> Wang, Z., Zemplen Deacetylation. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, John Wiley & Sons, Inc.: 2010.

<sup>132</sup> Tran, A.-T.; Jones, R. A.; Pastor, J.; Boisson, J.; Smith, N.; Galan, M. C. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, 353, 2593-2598.

thioglycosides libres dans des conditions douces. La procédure prévoit normalement de réaliser en monotope les trois réactions d'acétalation, d'estérification puis d'ouverture réductrice à température ambiante mais ici seules les deux premières étapes ont été réalisées avec succès de façon monotope. Le composé **91** a été obtenu avec des rendements allant de 40 à 79 %. Lors de la montée en échelle, les résultats ont été difficilement reproductibles entraînant des écarts de rendements importants. Cette méthodologie a également été testée sur l' $\alpha$ -D-méthylgalactopyranoside **49** mais après plusieurs jours de réaction, l'acétalation des positions O4 et O6 était toujours incomplète avec un taux de conversion inférieur à 50 %.

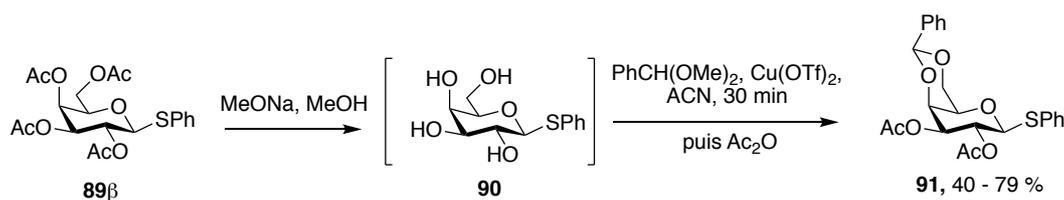


Schéma 54

L'ouverture réductrice sur le composé **91** a été réalisée dans les mêmes conditions que précédemment en utilisant du triéthylsilane et de l'acide triflique et l'alcool **92** a été obtenu. De même, la réaction a procédé avec des rendements non reproductibles de 32 à 75 % et un produit secondaire dû à la migration d'acétate de C3 en C4 a également été obtenu à hauteur de 23 %. D'autres conditions, décrites sur le même substrat par l'équipe de Galan ont été testées. Elles prévoient l'utilisation d'une quantité catalytique de triflate de cuivre  $\text{Cu(OTf)}_2$  en présence de 10 équivalents de triéthylsilane dans l'acétonitrile à température ambiante. Pour notre part, le composé **91** a été mis à réagir avec 5 équivalents de triéthylsilane et 5 %mol de  $\text{Cu(OTf)}_2$  dans l'acétonitrile. A l'issue de la réaction, les produits **92** et **93** ont été obtenus, en mélange avec un ratio de 30/70. Comme vu précédemment, le mélange a été hydrolysé à l'aide d'acide tétrafluoroborique pour conduire à l'alcool désiré **92** (Schéma 55). Ces conditions permettent donc d'obtenir **92** avec un rendement global de 89 % en utilisant une quantité minimale d'acide de Lewis, contrairement aux 2,5 équivalents d'acide triflique utilisés dans les conditions de Sagakami et Hamana.<sup>113</sup> Il serait intéressant de tester ces conditions sur le produit **66**.

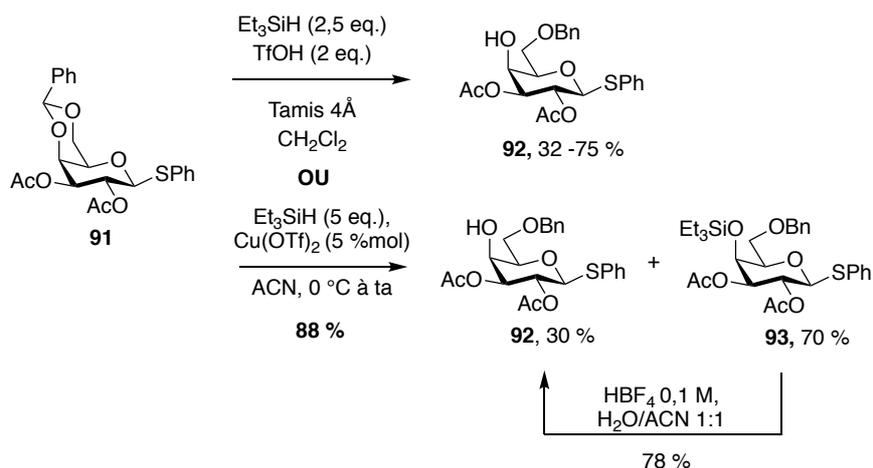


Schéma 55

L'alcool **92** a ensuite été engagé dans une réaction de substitution nucléophile permettant l'introduction du groupement azoture en position 4 selon la même séquence réactionnelle que lors de la synthèse du donneur **62** et le thioglycoside **94** a été obtenu avec un rendement de 66 %. L'oxydation de **94** a été réalisée en présence de *m*CPBA conduisant au sulfoxyde **63b** avec un rendement de 89 % en mélange de diastéréoisomères. Cette étape conduit en effet à la formation d'un nouveau centre stéréogène ce qui explique la formation de deux diastéréoisomères dans un rd = 2/3. La position 6 du thioglycoside **28** a été acétylée en présence d'anhydride acétique et de TFA et le composé **95** a été obtenu avec un rendement de 52 %. L'oxydation de ce dernier a conduit au sulfoxyde **63a** avec un rendement de 67 %, également en mélange 2/3 de diastéréoisomères (Schéma 56).

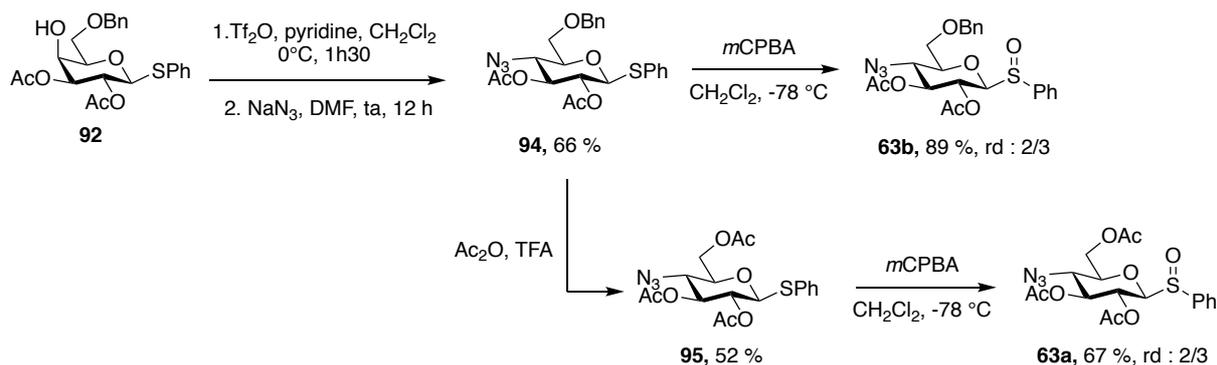


Schéma 56

Le donneur **64** a ensuite été synthétisé à partir du donneur **62a**.

### III.1.3) Synthèse du donneur **64**

La position anomérique du donneur est substituée par un groupement orthohexynylbenzoate, dont les propriétés de groupe partant en présence de complexe d'or ont d'ores et déjà été démontrées.<sup>133</sup>

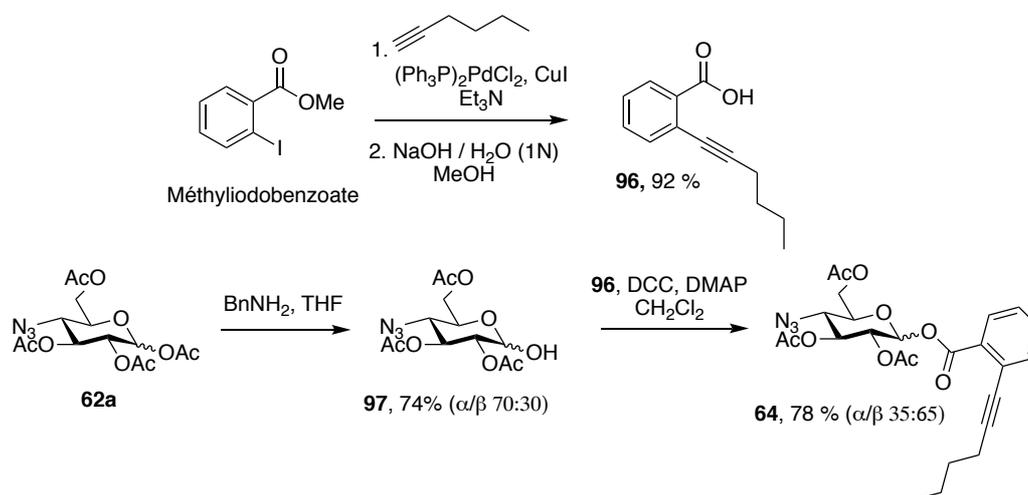


Schéma 57

La synthèse du donneur **64** a débuté à partir de méthylidobenzoate couplé à de l'hexynyle par une réaction de Sonogashira puis l'ester correspondant a été saponifié pour fournir l'acide hexynylbenzoïque **96** avec un rendement de 92 % sur deux étapes. En parallèle, la position anomérique du donneur **62a** a été déprotégée à l'aide de benzylamine pour conduire au lactol **97** ( $\alpha/\beta$  70:30) avec un rendement de 74 %. Le mélange d'anomères a été directement condensé sur l'acide **96** en présence de DCC et de DMAP pour former le donneur **64** avec un rendement de 78 %, en mélange anomérique  $\alpha/\beta$  35:65 (Schéma 57).<sup>134</sup>

### III.1.4) Conclusion

Des donneurs de glycosyle ont donc été synthétisés grâce à une synthèse innovante et efficace. Le donneur acétate **62** est le plus conventionnellement utilisé lors de glycosylation de bases nucléiques dans les conditions de Vorbrüggen pour l'obtention d'analogues de nucléosides. La synthèse de ce donneur nécessite peu d'étapes et il est obtenu avec un rendement global maximum de 38 %.

La synthèse du donneur sulfoxyde **63** comporte deux étapes supplémentaires et le rendement global de la synthèse du donneur sulfoxyde est d'au maximum 26 %. De plus, le réactif de

<sup>133</sup> Asao, N.; Aikawa, H.; Tago, S.; Umetsu, K. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4299-4302.

<sup>134</sup> Ma, Y.; Lian, G.; Li, Y.; Yu, B. *Chem. Comm.* **2011**, *47*, 7515-7517.

départ, le D-galactose est disponible à un prix bien plus accessible que l' $\alpha$ -D-méthylgalactopyranoside, le réactif de départ de la synthèse du donneur **62**. Les donneurs sulfoxydes ayant peu été étudiés dans des glycosylations de type Vorbrüggen, ils sont donc particulièrement intéressants. De plus, ils donnent accès à des fonctions éthers benzyliques en position 6.

Concernant, le donneur **64**, synthétisé à partir du donneur **62a**, les étapes supplémentaires nécessaires sont faciles, rapides et fonctionnent avec de hauts rendements. L'accès à ce donneur permet l'utilisation de récentes conditions de glycosylations à l'or dans des conditions catalytiques.

### III.2) Glycosylation

Comme précisé au chapitre II, la synthèse de nucléosides fait intervenir une base hétérocyclique et un sucre électrophile. La *N*-glycosylation de Vorbrüggen met en jeu une base silylée avec un donneur de glycosyle activé en présence d'un acide de Lewis. L'enjeu ici est de mettre au point des conditions de glycosylation reproductibles avec différentes bases (cytosine, 5-méthylecytosine, 5-fluorocytosine, thymine, uracile et 5-fluorouracile) et avec les meilleurs rendements possibles. Un des facteurs primordiaux jouant sur la glycosylation étant la nature du groupement partant sur le centre anomérique du donneur, les réactions ont été testées avec les trois donneurs **62**, **63** et **64** dont les synthèses ont été décrites ci dessus (Schéma 58).

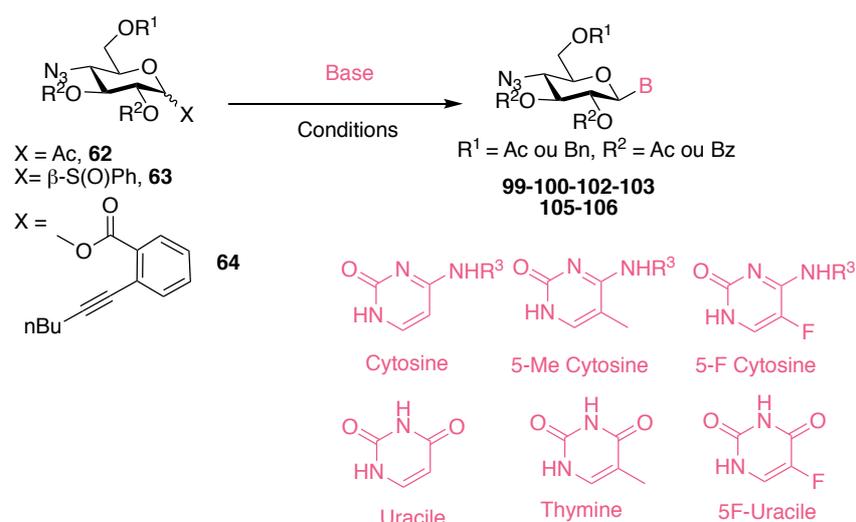


Schéma 58

A noter que, de par l'assistance anchimérique du groupement ester en position 2 des donneurs, tous les nucléosides ont été obtenus sous la forme d'un seul diastéréoisomère avec une sélectivité  $\beta$  totale.<sup>22</sup>

### III.2.1) Présentation des différentes conditions de glycosylation testées sur une réaction modèle

Les conditions ont tout d'abord été mises au point à partir de celles décrites par Vorbrüggen en utilisant le donneur le plus couramment utilisé dans les réactions de *N*-glycosylation, le donneur acétate **62**, par lequel a été glycosylée la base naturellement présente dans la gougérotine, à savoir la cytosine (Schéma 60), en présence de différents acides de Lewis.<sup>37, 38</sup> Dans un premier temps, la fonction amine primaire de la cytosine a été protégée par un groupement acétate afin qu'elle ne réagisse pas lors de la glycosylation et des réactions suivantes, notamment lors du couplage peptidique. Cette protection s'est donc faite en amont, sur la cytosine seule, en présence d'anhydride acétique dans la pyridine pour conduire à la *N*<sup>4</sup>-Ac-cytosine **51** avec un rendement de 98 %. Pour des raisons pratiques, décrites plus tard au paragraphe III.4.1, il était également intéressant pour nous de glycosyler la cytosine protégée par un groupement Boc. Cette protection a été effectuée à l'aide de Boc<sub>2</sub>O et de DMAP dans la pyridine pour conduire à la *N*<sup>4</sup>-Boc-cytosine **98** avec un rendement de 49 % (Schéma 59).

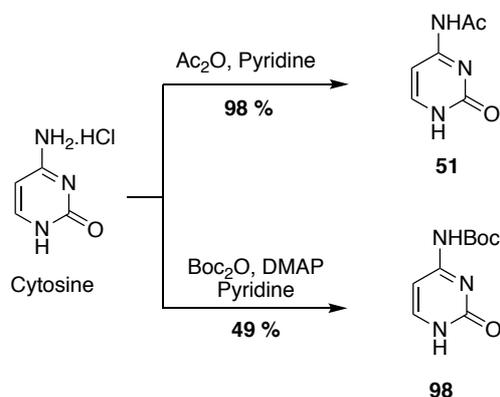


Schéma 59

Les résultats des différentes conditions de glycosylation des bases **51** et **98** sur le donneur **62** sont résumés dans le Tableau 4.

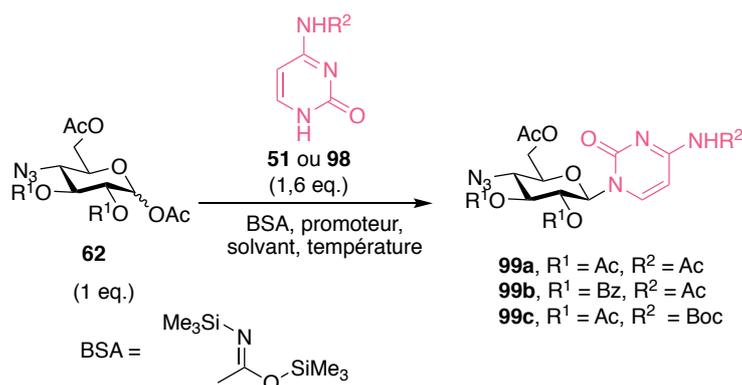


Schéma 60

Entrée	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Promoteur	Agent silylant	Solvant, Température	99, Rdt
1	Ac	Ac	SnCl <sub>4</sub>	BSA	DCE, 80 °C	99a, 69 %
2	Ac	Ac	TMSOTf	BSA	ACN, 80 °C	99a, 36 %
3	Bz	Ac	SnCl <sub>4</sub>	BSA	DCE, 80 °C	99b, 75 %
4	Ac	Boc	SnCl <sub>4</sub>	BSA	ACN ou DCE, 80 °C	99c, 0 %

Nombres d'équivalents : SnCl<sub>4</sub> : 3 eq., TMSOTf : 1,5 eq., BSA : 4 eq. Rdt = Rendement.

Tableau 4

Afin d'augmenter la nucléophilie et la solubilité de la base **51**, cette dernière a tout d'abord été silylée à l'aide de BSA dans le dichloroéthane (DCE) à reflux puis le donneur **62a** a été rajouté dans le milieu réactionnel et activé en présence de 3 équivalents de SnCl<sub>4</sub>, un acide de Lewis communément utilisé dans les glycosylations de Vorbrüggen.<sup>35</sup> L'ajout de SnCl<sub>4</sub> s'est fait à température ambiante puis la réaction s'est poursuivie à reflux pendant 12 h et le nucléoside **99a** a été obtenu avec un rendement de 69 % (entrée 1). Cependant, l'utilisation de réactifs à base d'étain au cours de la synthèse de produits bioactifs est souvent déconseillée à cause de l'élimination difficile de stannates résiduels. Compte tenu du nombre important d'équivalents de SnCl<sub>4</sub> mis en jeu ici, un autre acide de Lewis, le TMSOTf, a été envisagé (avec 1,5 équivalents) mais le rendement a alors chuté à 36 % (entrée 2). La N<sup>4</sup>-Ac-cytosine **51** a également été glycosylée par le donneur **62b** protégé en O2 et O3 par des groupements Bz en présence de BSA, de SnCl<sub>4</sub> dans le DCE à 60 °C pour conduire au nucléoside **99b** avec un rendement de 75 % (entrée 3). Pour finir, aucune conversion n'a été observée lors de la glycosylation de la N<sup>4</sup>-Boc-cytosine **98**, certainement due au manque de solubilité de la base dans les conditions utilisées (entrée 4).

Les meilleurs résultats ont été obtenus en utilisant SnCl<sub>4</sub> comme promoteur en présence de BSA dans le DCE avec les donneurs **62a** et **62b** et la N<sup>4</sup>-Ac-cytosine **51**, donnant accès aux

nucléosides **99a** et **99b** avec des rendements respectifs de 69 et 75 %.<sup>135</sup> Nous avons également pu constater que le groupement protecteur présent sur la base jouait un rôle crucial dans le fonctionnement de la réaction en influençant la solubilité et donc la réactivité de ladite base.

### III.2.2) Glycosylation de la cytosine par différents donneurs

Les conditions de glycosylation déterminées avec le donneur **62** peuvent-elles être étendues à d'autres types de donneurs de glycosyle ? La glycosylation sur les donneurs **63** et **64** peut-elle se faire de manière efficace dans des conditions plus douces, en utilisant des promoteurs plus éco-compatibles dans des quantités moindres, voir catalytiques ?

Afin de répondre à ces questions, la même base *N*<sup>4</sup>-Ac-cytosine **51** a été glycosylée avec les deux autres donneurs **63b** et **64** (Schéma 61).

Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 5.

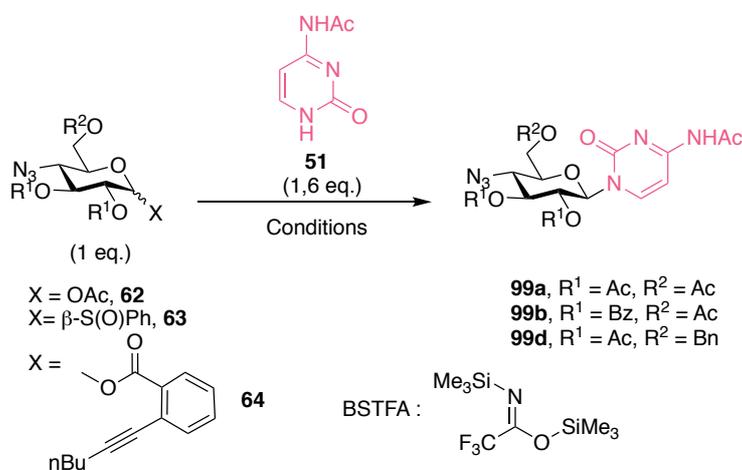


Schéma 61

<sup>135</sup> Lors de travaux réalisés par les équipes de Bayer, il a été montré que les groupements Bz présents sur les positions 2 et 3 posaient des problèmes d'épimérisation au niveau du dipeptide lors des étapes finales de déprotections en milieu basique. C'est pourquoi la synthèse n'a pas été poursuivie avec les donneurs concernés.

Entrée	Donneur	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Conditions	99, Rdt
1	<b>62a</b>	Ac	Ac	SnCl <sub>4</sub> , BSA, DCE, 80°C	<b>99a</b> , 69 %
2	<b>62b</b>	Bz	Ac	SnCl <sub>4</sub> , BSA, DCE, 80°C	<b>99b</b> , 75 %
3	<b>63b</b>	Ac	Bn	TMSOTf, BSA, ACN, 80 °C	<b>99d</b> , 52 %
4	<b>63b</b>	Ac	Bn	TMSOTf, BSA, ACN, ta	<b>99d</b> , 31 %
5	<b>63b</b>	Ac	Bn	TMSOTf, BSA, Tamis 4Å, ACN, 80 °C	<b>99d</b> , 54 %
6	<b>64</b>	Ac	Ac	Ph <sub>3</sub> PAuNTf <sub>2</sub> , BSA, ACN, ta	<b>99a</b> , 32 %
7	<b>64</b>	Ac	Ac	Ph <sub>3</sub> PAuNTf <sub>2</sub> , BSTFA, ACN, ta	<b>99a</b> , 49 %

*Nombres d'équivalents : SnCl<sub>4</sub> : 3 eq., TMSOTf : 1,5 eq., Ph<sub>3</sub>PAuNTf<sub>2</sub> : 10 % mol, BSA : 4 eq., BSTFA : 4 eq.*

**Tableau 5**

La cytosine acétylée **51** a donc été glycosylée par le donneur sulfoxyde **63b** dans les conditions décrites dans la littérature sur un donneur sulfoxyde de type furanose, soit en présence de TMSOTf et de BSA dans l'acétonitrile à reflux.<sup>51</sup> Ce donneur **63b** permet d'avoir accès à un groupement benzyle en position C6 et le nucléoside **99d** a été obtenu avec un rendement de 52 % (entrée 3). Ce rendement est certes moins bon que celui obtenu avec le donneur **62a** en présence de SnCl<sub>4</sub> (69 %, entrée 1), mais il reste correct, notamment en considérant l'utilisation d'un acide de Lewis plus doux dans des quantités plus faibles (1,5 équivalents de TMSOTf contre 3 équivalents de SnCl<sub>4</sub>). Il est également possible que la modification du groupement protecteur en 6, un benzyle au lieu d'un acétate, influence ce résultat.<sup>136</sup> A noter que le donneur **63b** a ici été utilisé en mélange de diastéréoisomères. L'influence de la pureté diastéréoisomérique a été vérifiée lors de l'étude de la glycosylation de la thymine.<sup>137</sup>

La température a ensuite été modifiée. Toujours en présence du donneur **63b**, l'ajout de TMSOTf s'est fait cette fois à 0 °C puis la réaction s'est poursuivie à température ambiante pendant 12 h (entrée 4). Le rendement est alors passé de 52 à 31 %. Il est donc préférable de conserver une température de réaction à 80 °C.

La présence d'eau est un autre paramètre pouvant grandement affecté la réaction de glycosylation et l'ajout de tamis est souvent conseillé. Ici, l'utilisation de tamis 4Å dans la réaction en présence du donneur **63b**, n'a pas permis d'augmenter le rendement de manière significative (entrée 5).

<sup>136</sup> Lors de l'étude de la glycosylation de la thymine il a été vérifié que cela n'avait pas d'influence (voir p. 103).

<sup>137</sup> De même, la différence de rendement n'est pas significative lorsque la glycosylation est réalisée avec un mélange de diastéréoisomères ou avec un composé diastéréopur (voir p. 103).

Les conditions de glycosylation à l'or (I) ont ensuite été testées sur le donneur **64**, substitué en C1 par une fonction orthohexynylbenzoate. Dans un premier temps, le donneur et la base ont été mis en présence de 10% mol du catalyseur de Gagosz, de BSA, dans l'acétonitrile à température ambiante.<sup>68</sup> Après 2 jours de réaction, seuls 32 % du nucléoside **99a** ont été récupérés. L'utilisation de BSTFA à la place de BSA, un agent silylant plus réactif, a permis une augmentation du rendement jusqu'à 49 %.

Les meilleurs rendements ont donc été obtenus avec le donneur acétate **62**. Cependant ces résultats sont à nuancer en considérant les réactifs utilisés. Le principal inconvénient des conditions de Vorbrüggen est l'utilisation d'un acide de Lewis dans des quantités stœchiométriques. Le donneur sulfoxyde **63b** permet d'accéder au nucléoside désiré avec des rendements allant jusqu'à 54 % en utilisant 1,5 eq. de TMSOTf et non 3 eq. de SnCl<sub>4</sub> comme avec le donneur **62**. L'utilisation d'un catalyseur à l'or en quantité catalytique comme promoteur représente également un avantage conséquent, notamment dans un contexte actuel de « chimie verte ». L'étendue de la réaction avec d'autres bases que la cytosine a ensuite été vérifiée.

### III.2.3) Méthodologie de glycosylation appliquée à différentes bases

Dans le but d'accéder aux analogues désirés, nous souhaitons glycosyler quatre bases pyrimidines en particulier : la cytosine, la 5-méthylcytosine, la 5-fluorocytosine et l'uracile. Si la glycosylation de l'uracile par des pyranoses a largement été décrite dans la littérature, il n'existe à notre connaissance aucun exemple de glycosylation de la 5-méthylcytosine et de la 5-fluorocytosine par des saccharides pyranosiques. En parallèle, et afin d'explorer une voie de synthèse différente, la glycosylation de la thymine et de la 5-fluorocytosine, plus couramment utilisées, a également été étudiée.

#### III.2.3.a) Glycosylation de l'uracile

Il existe de nombreux exemples de glycosylations de l'uracile par des motifs à la fois furano- et pyranosides dans la littérature.<sup>138</sup> Diverses conditions ont été étudiées et les rendements obtenus sont généralement très bons.

---

<sup>138</sup> (a) Liu, G.-j.; Zhang, X.-t.; Xing, G.-w. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 12803-12806. (b) Liao, J.; Sun, J.; Yu, B. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5036-5038. (c) Zhang, Q.; Sun, J.; Zhu, Y.; Zhang, F.; Yu, B. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2011**, *50*, 4933-4936.

De même que pour la cytosine, l'uracile a été glycosylée par les différents donneurs **62a**, **63b** et **64** (Schéma 62). Les résultats des conditions testées ici sont résumés dans le Tableau 6.

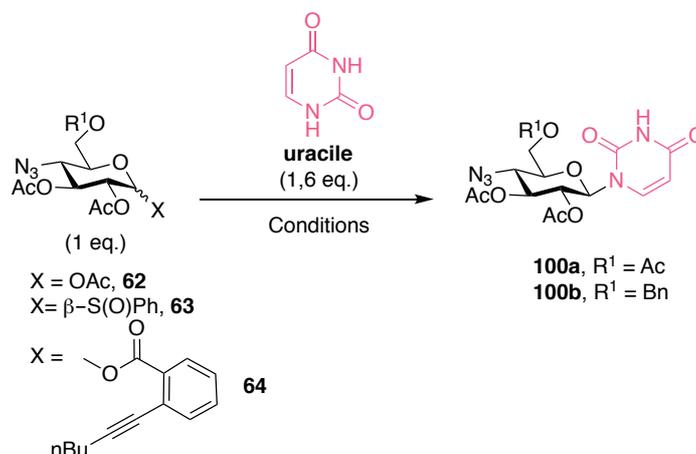


Schéma 62

Entrée	Donneur	R <sup>1</sup>	Conditions	<b>100</b> , Rdt
1	<b>62a</b>	Ac	SnCl <sub>4</sub> , BSTFA, DCE, 80 °C	<b>100a</b> , 12 %
2	<b>62a</b>	Ac	TMSOTf, HMDS, Saccharine, ACN, 80 °C	<b>100a</b> , 25 %
3	<b>63b</b>	Bn	TMSOTf, BSA, ACN, 80 °C	<b>100b</b> , 70 %
4	<b>63b</b>	Bn	TMSOTf, BSA, Tamis 4Å, ACN, 80 °C	<b>100b</b> , 81 %
5	<b>64</b>	Ac	Ph <sub>3</sub> PAuNTf <sub>2</sub> , BSTFA, ACN, ta	<b>100a</b> , 78 %

*Nombres d'équivalents : SnCl<sub>4</sub> : 3 eq., TMSOTf : 1,5 eq., Ph<sub>3</sub>PAuNTf<sub>2</sub> : 10 % mol, BSA : 4 eq., BSTFA : 4 eq.*

Tableau 6

Etonnamment, la glycosylation de l'uracile par le donneur acétate **62a** a fourni des résultats plutôt médiocres, que ce soit en utilisant SnCl<sub>4</sub> ou TMSOTf et le nucléoside **100a** a été obtenu avec des rendements respectifs de 12 et 25 % (entrées 1 et 2), avec de faibles taux de conversions. En revanche, la glycosylation de l'uracile sur le donneur sulfoxyde **64b** en présence de TMSOTf et de BSA a permis l'obtention du nucléoside **100b** avec un rendement de 70 % (entrée 3). L'ajout de tamis moléculaire a abouti à une augmentation du rendement jusqu'à 81 % (entrée 4). Contrairement aux résultats précédents, la glycosylation à l'or (I) a très bien fonctionné. En effet, en présence du catalyseur de Gagosz en quantité catalytique et de BSTFA dans l'acétonitrile, le nucléoside **100a** a été obtenu avec un rendement de 78 % (entrée 5).

### III.2.3.b) Glycosylation de la 5-méthylcytosine

Si la 5-méthyl-*N*<sup>4</sup>-Bz-cytosine a déjà été glycosylée par un donneur acétylé de type furanoside,<sup>139</sup> à notre connaissance, cela n'avait jamais été réalisé sur un donneur de type pyranoside, connu pour être moins réactif.

Afin de réaliser les glycosylations, de même que pour la cytosine, l'amine primaire présente sur la 5-méthylcytosine devait être protégée. Dans la littérature, seule la protection par un benzoyle a été décrite.<sup>139</sup> Pour cause, la 5-méthylcytosine en réaction avec de l'anhydride acétique dans la pyridine a conduit à la 5-méthyl-*N*<sup>4</sup>-Ac-cytosine **101a** avec un rendement de seulement 18 % (contre 98 % pour la cytosine). La protection par un groupement benzoyle est plus courante et s'est effectuée à l'aide d'anhydride benzoïque et de DMAP catalytique avec un rendement de 76 % (**101b**).

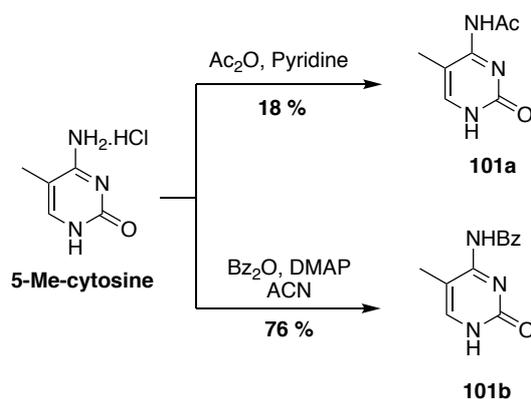


Schéma 63

Ces deux bases ont ensuite été glycosylées par les différents donneurs synthétisés (Schéma 64). Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 7.

<sup>139</sup> Buchini, S.; Leumann, C. J. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2006, 3152-3168.

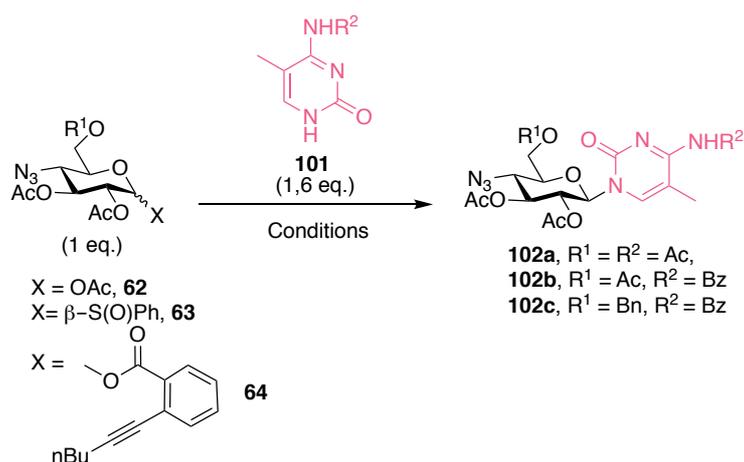


Schéma 64

Entrée	Donneur	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Conditions	<b>102</b> , Rdt
1	<b>62a</b>	Ac	Ac	SnCl <sub>4</sub> , BSA, DCE, 80°C	<b>102a</b> , 0 %
2	<b>62a</b>	Ac	Bz	SnCl <sub>4</sub> , BSA, ACN, 80°C	<b>102b</b> , 45 %
3	<b>63b</b>	Bn	Bz	TMSOTf, BSA, Tamis 4 Å, ACN, 80 °C	<b>102c</b> , 66 %
4	<b>64</b>	Ac	Bz	Ph <sub>3</sub> PAuNTf <sub>2</sub> , BSTFA, ACN, ta	<b>102b</b> , 30 %

Nombres d'équivalents : SnCl<sub>4</sub> : 3 eq., TMSOTf : 1,5 eq., Ph<sub>3</sub>PAuNTf<sub>2</sub> : 10 % mol, BSA : 4 eq., BSTFA : 4 eq.

Tableau 7

Aucune conversion n'a été observée en utilisant la base acétylée **101a** en présence du donneur **62a** dans les conditions de Vorbrüggen. On pouvait pourtant supposer que ce groupement méthyle permettrait d'augmenter la nucléophilie du composé. Cependant, il a diminué la solubilité de la base et celle-ci est restée inactive (entrée 1). Le groupement protecteur présent sur la base s'est cependant révélé particulièrement important. En effet, lorsque l'on a remplacé le groupement acétyle par un benzoyle, la base a pu être solubilisée et le nucléoside **102b** a été obtenu avec un rendement de 45 % à partir du donneur **62a** (entrée 2) et avec un rendement de 30 % grâce aux conditions de glycosylation à l'or (I) (entrée 4). Le meilleur résultat a été obtenu avec le donneur sulfoxyde **63b** en présence de TMSOTf, de BSA et de tamis moléculaire pour conduire au nucléoside **102c** avec un rendement de 66 %.

La glycosylation de la 5-méthylcytosine sur un saccharide de type pyranose a donc été réalisée avec succès.

### III.2.3.c) Glycosylation de la thymine

En parallèle de l'étude sur la 5-méthylcytosine, la thymine a également été glycosylée avec les différents donneurs (Schéma 65). En effet, cette base peut servir de précurseur pour

conduire au même analogue qu'avec la 5-méthylcytosine. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 8.

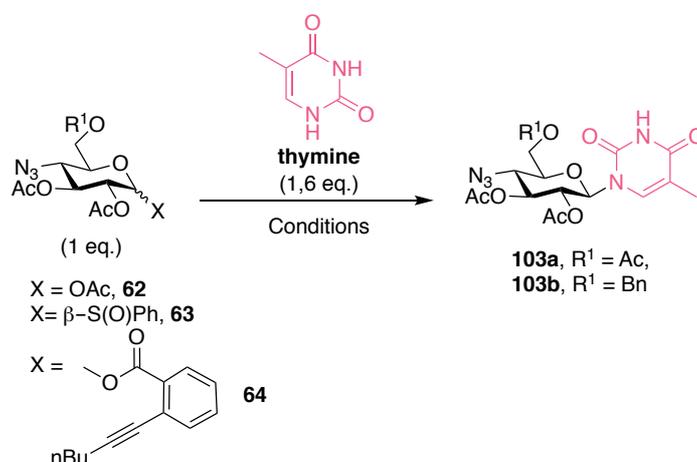


Schéma 65

Entrée	Donneur	R <sup>1</sup>	Conditions	103, Rdt
1	<b>62a</b>	Ac	SnCl <sub>4</sub> , BSA, ACN, 80 °C	<b>103a</b> , 74 %
2	<b>63a</b>	Ac	TMSOTf, BSA, ACN, 80 °C	<b>103a</b> , 87 % <sup>a</sup>
3	<b>63a</b>	Ac	TMSOTf, BSA, ACN, 80 °C	<b>103a</b> , 72 % <sup>b</sup>
4	<b>63b</b>	Bn	TMSOTf, BSA, ACN, 80 °C	<b>103b</b> , 77 %
6	<b>63b</b>	Bn	SnCl <sub>4</sub> , BSA, ACN, 80 °C	<b>103b</b> , 37 %
7	<b>64</b>	Ac	Ph <sub>3</sub> PAuNTf <sub>2</sub> , BSTFA, ACN, ta	<b>103a</b> , 48 %

<sup>a</sup>réaction réalisée sur un composé diastéréopur. <sup>b</sup>réaction réalisée sur un mélange de diastéréoisomères.

Nombres d'équivalents : SnCl<sub>4</sub> : 3 eq., TMSOTf : 1,5 eq., Ph<sub>3</sub>PAuNTf<sub>2</sub> : 10 % mol, BSA : 4 eq., BSTFA : 4 eq

Tableau 8

La glycosylation de la thymine par le donneur acétylé **62a** en présence de SnCl<sub>4</sub> et de BSA dans l'acétonitrile a conduit au nucléoside **103a** avec un bon rendement de 74 % (entrée 1).

Il a également été vérifié que la pureté diastéréoisomérique n'a pas d'influence sur le rendement de la glycosylation. Un seul diastéréoisomère du donneur sulfoxyde **63a** a été isolé puis mis en réaction avec la thymine en présence de TMSOTf et de BSA. Le nucléoside **103a** a été obtenu avec un rendement de 87 % (entrée 2). Les mêmes conditions ont été réitérées avec le donneur **63a** cette fois-ci sous la forme d'un mélange de diastéréoisomères. Le rendement était alors de 72 % (entrée 3). Même si une certaine hausse du rendement a été observée avec un composé diastéréopur, celle-ci n'a pas été considérée comme significative pour justifier une séparation des diastéréoisomères en amont de la glycosylation.

L'utilisation du donneur sulfoxyde **63a** nous a également permis d'étudier l'influence du groupement présent en 6 sur la glycosylation. Pour rappel, le donneur **63a** possède un groupement acétate tandis que le donneur **63b** possède un groupement benzyle qui ouvre des possibilités quant aux futurs analogues possibles. Dans les mêmes conditions, les donneurs **63a** et **63b** ont conduit aux nucléosides **103a** et **103b** avec des rendements respectifs de 72 et 77 % (entrées 3 et 4). Etant donné la similarité de ces résultats, la nature du groupement en 6 n'a donc que très peu d'influence sur les rendements de glycosylation.

Jusqu'à maintenant, nous avons à chaque fois utilisé l'acide de Lewis TMSOTf en association avec un donneur sulfoxyde. A travers cette étude nous avons voulu vérifier si l'association de ce donneur avec le premier acide de Lewis envisagé, SnCl<sub>4</sub>, n'était pas plus efficace. La glycosylation de la thymine sur le donneur **63b** en présence de SnCl<sub>4</sub> et de BSA a conduit au nucléoside **103b** avec un faible rendement de 37 % (entrée 6). L'utilisation de TMSOTf est donc préconisée.

Enfin, la glycosylation à l'or (I) de la thymine par le donneur **64** a abouti au nucléoside **103a** avec un rendement correct de 48 % (entrée 7).

#### III.2.3.d) Glycosylation de la 5-fluorocytosine

De même que pour la 5-méthylcytosine, la 5-fluorocytosine n'a jamais été glycosylée avec un donneur de type pyranoside. En revanche, la glycosylation de cette base sur des ribofuranoses acétylés a été décrite en 1981 par l'équipe de Watanabe.<sup>140</sup> La 5-fluorocytosine a également été utilisée dans la synthèse de nucléosides modifiés portant un motif 1,3-oxathiolane, des antiviraux utilisés dans le traitement contre le virus du VIH ou l'hépatite B.<sup>141</sup>

Dans un premier temps, la protection de la fonction amine primaire de la 5-fluorocytosine a été protégée par un groupement benzoyle à l'aide d'anhydride benzoïque et de DMAP pour conduire à la 5-fluoro-N<sup>4</sup>-Bz-cytosine **104** avec un rendement de 89 % (Schéma 66).

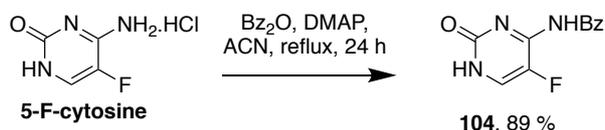


Schéma 66

La base **104** a ensuite été glycosylée avec les différents donneurs pour conduire au nucléoside **105** (Schéma 67). Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 9.

<sup>140</sup> Matsuda, A.; Kurasawa, Y.; Watanabe, K. A. *Synthesis* **1981**, 1981, 748-748.

<sup>141</sup> Caso, M. F.; D'Alonzo, D.; D'Errico, S.; Palumbo, G.; Guaragna, A. *Org. Lett.* **2015**, 17, 2626-2629.

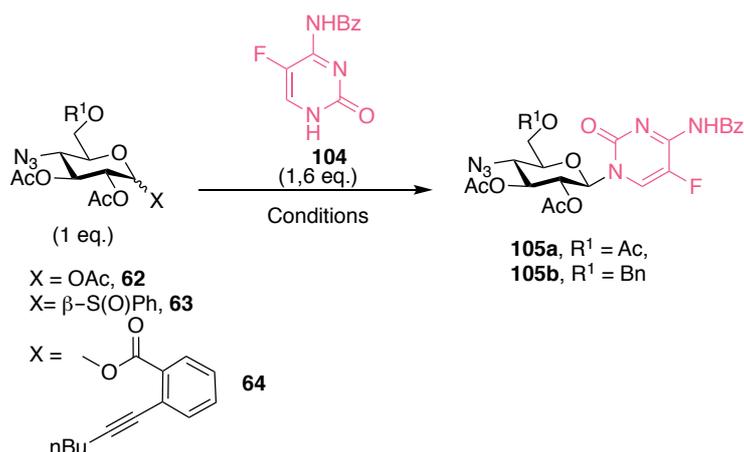


Schéma 67

Entrée	Donneur	R <sup>1</sup>	Conditions	<b>105</b> , Rdt
1	<b>62a</b>	Ac	SnCl <sub>4</sub> , BSA, ACN, 80 °C	<b>105a</b> , 51 %
2	<b>63b</b>	Bn	TMSOTf, BSA, ACN, 80 °C	<b>105b</b> , 50 %
3	<b>64</b>	Ac	Ph <sub>3</sub> PAuNTf <sub>2</sub> , BSA, ACN, ta	<b>105a</b> , 9 %

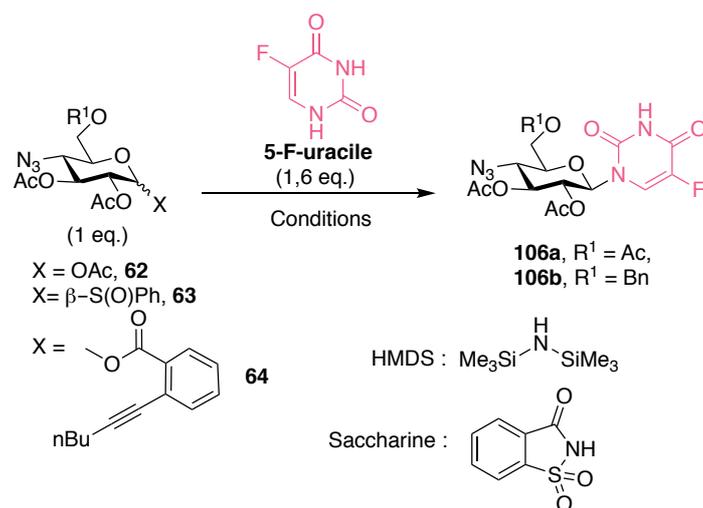
Nombres d'équivalents : SnCl<sub>4</sub> : 3 eq., TMSOTf : 1,5 eq., Ph<sub>3</sub>PAuNTf<sub>2</sub> : 10 % mol, BSA : 4 eq.

Tableau 9

La glycosylation de la 5-fluoro-*N*<sup>4</sup>-Bz-cytosine **104** sur le donneur **62a** dans les conditions de Vorbrüggen utilisant SnCl<sub>4</sub> comme acide de Lewis a conduit au nucléoside **105a** avec un rendement de 51% (entrée 1). Le même rendement a été obtenu avec le donneur sulfoxyde **63b** (entrée 2). Enfin la glycosylation à l'or (I) ne s'est pas montrée très efficace avec un très faible taux de conversion et un rendement de seulement 9 % (entrée 3).

### III.2.3.e) Glycosylation de la 5-fluorouracile

Une voie de glycosylation utilisant la 5-fluorouracile a également été étudiée en parallèle de celle avec la 5-fluoro-cytosine (Schéma 68). Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 10.



Entrée	Donneur	R <sup>1</sup>	Conditions	<b>106</b> , Rdt
1	<b>62a</b>	Ac	SnCl <sub>4</sub> , BSA, ACN, 80 °C	<b>106a</b> , 52 %
2	<b>62a</b>	Ac	TMSOTf, HMDS, Saccharine, ACN, 80 °C	<b>106a</b> , 71 %
3	<b>63b</b>	Bn	TMSOTf, HMDS, Saccharine, ACN, 80 °C	<b>106b</b> , 54 %
4	<b>63b</b>	Bn	TMSOTf, HMDS, Saccharine, Tamis 4Å, ACN, 80 °C	<b>106b</b> , 76 %
5	<b>64</b>	Ac	Ph <sub>3</sub> PAuNTf <sub>2</sub> , BSA, ACN, ta	<b>106a</b> , 40 %

*Nombres d'équivalents : SnCl<sub>4</sub> : 3 eq., TMSOTf : 1,5 eq., Ph<sub>3</sub>PAuNTf<sub>2</sub> : 10 % mol, BSA : 4 eq, HMDS : 1,8 eq., Saccharine : 5 % mol*

**Tableau 10**

La 5-fluorouracile a dans un premier temps été glycosylée par le donneur acétylé **62a** dans les conditions de Vorbrüggen utilisant SnCl<sub>4</sub> comme acide de Lewis. Le nucléoside désiré **106a** a été obtenu avec un rendement de 52 % (entrée 1). Des conditions décrites dans la littérature mentionnaient l'utilisation de TMSOTf avec un donneur acétylé et la silylation de la 5-fluorocytosine se faisaient non pas avec BSA mais avec HMDS en présence d'une quantité catalytique de saccharine.<sup>142</sup> En effet, HMDS seul possède un faible pouvoir silylant et la saccharine joue le rôle de catalyseur.<sup>143</sup> Ces conditions appliquées sur le donneur **62a** ont permis d'augmenter le rendement jusqu'à 71 % (entrée 2).

La voie sulfoxyde avec le donneur **63b** a ensuite été étudiée. La glycosylation s'est effectuée toujours avec HMDS en association avec de la saccharine comme agent silylant et TMSOTf comme acide de Lewis. Le nucléoside **106b** a alors été obtenu avec 54 % de rendement

<sup>142</sup> Kiritsis, C.; Manta, S.; Parmenopoulou, V.; Balzarini, J.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5668-5674.

<sup>143</sup> Bruynes, C. A.; Jurriens, T. K. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 3966-3969.

(entrée 3). L'ajout de tamis 4Å a permis une hausse assez importante du rendement jusqu'à 76 % (entrée 4). Enfin les conditions de glycosylation à l'or (I) sur le donneur **64** ont permis d'obtenir le nucléoside **106a** avec un rendement de 40 % (entrée 5).

### III.2.4) Conclusion

La première conclusion que l'on peut tirer de cette méthodologie de glycosylation est que les résultats sont fortement dépendants des bases employées et notamment de leur solubilité. Nous avons pu voir que la modification d'un simple groupement protecteur sur l'amine primaire de la cytosine, passant d'un acétate à un groupement Boc, est capable d'empêcher la réaction de s'effectuer.

Le tableau suivant résume les principaux résultats obtenus en listant les meilleurs rendements de glycosylation pour chacune des bases avec chacun des trois donneurs testés.

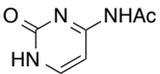
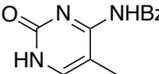
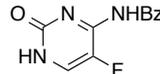
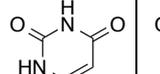
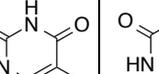
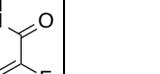
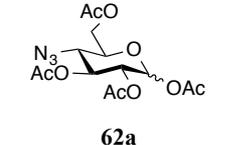
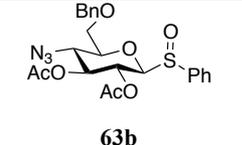
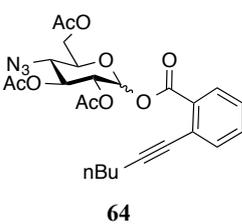
Donneur \ Base	 Cytosine	 5-Me-Cytosine	 5-F-Cytosine	 Uracile	 Thymine	 5-F-Uracile
 <b>62a</b>	69 %	45 %	51 %	25 %	74 %	71 %
 <b>63b</b>	54 %	66 %	50 %	81 %	77 %	76 %
 <b>64</b>	49 %	30 %	9 %	78 %	48 %	40 %

Tableau 11

Même s'il est difficile d'en faire une règle générale, la glycosylation d'une base nucléique avec un donneur de type sulfoxyde semble être la méthode privilégiée la plus générale. En effet, pour plusieurs d'entre elles, c'est avec le donneur sulfoxyde **63b** et en présence de l'acide de Lewis TMSOTf à hauteur de 1,5 équivalents que nous avons obtenu les meilleurs rendements : 66 % avec la 5-méthylcytosine, 77 % avec la thymine, 76 % avec la 5-fluorouracile ou encore 81 % avec l'uracile. L'utilisation de SnCl<sub>4</sub> en quantité importante,

avec un donneur acétylé, largement décrite dans la littérature, n'est donc pas la voie la plus judicieuse. La glycosylation à l'or (I) a particulièrement bien fonctionné avec l'uracile (78 % de rendement) mais donne des résultats mitigés avec les autres bases avec des rendements allant de 9 à 48 %. Cette voie reste tout de même encourageante considérant son aspect « chimie verte » et l'utilisation d'un promoteur en quantité catalytique. Elle représente une bonne alternative aux conditions de Vorbrüggen qui emploient un acide de Lewis en quantité stœchiométrique et qui ne sont pas compatibles avec de nombreux substrats.

Nous avons également pu voir que si le groupement protecteur présent sur la base influence la réaction de manière importante, le groupement situé en position 6 du motif saccharidique, ici un acétate ou un benzyle, ne modifie quasiment pas le rendement.

Cette méthodologie a permis de glycosyler pour la première fois les bases 5-fluorocytosine et 5-méthylcytosine, protégée par un groupement benzoylé, sur des motifs pyranoses avec des rendements respectifs de 36 et 66 %, en suivant la voie sulfoxyde.

En parallèle, les glycosylations de la thymine et de la 5-fluorouracile ont bien fonctionné quelque soit la méthode utilisée (avec des rendements entre 72 et 87 % pour la thymine et 52 et 76 % pour la 5-fluorouracile). La voie de synthèse impliquant ces deux bases est donc à considérer. En effet, nous verrons dans partie III.5 que la fonction carbonyle en 4 peut être substituée par la fonction amine désirée en passant par un intermédiaire triazolo-substitué.

Une fois la glycosylation effectuée, la synthèse diverge pour chacun des analogues. La suite prévoit la mise en place de l'amine primaire en position 4 du motif saccharidique puis le couplage peptidique avec le dipeptide D-Ser-Sar **108** dont la synthèse est décrite ci-après.

### III. 3) Synthèse du dipeptide

La synthèse du fragment dipeptide **108a** a débuté à partir des esters méthyliques de la *O-tert*-butyl-sérine, en série L et en série D, tout d'abord couplés à la Boc-sarcosine en présence des agents de couplage HOBt et EDC. Les dipeptides estérifiés **107a-D** et **107a-L** ont été obtenus avec des rendements de 90 % pour la série D et de 98 % pour la série L puis chacun a ensuite été saponifié à l'aide d'hydroxyde de lithium pour conduire aux acides carboxyliques **108a-D** et **108a-L**, chacun sous la forme d'un seul énantiomère (Schéma 69).

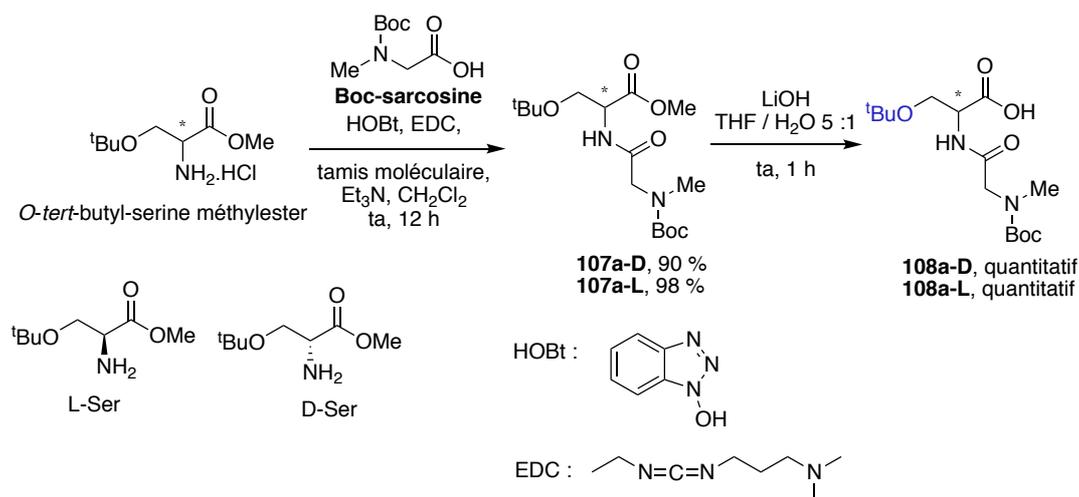


Schéma 69

Un autre groupement protecteur sur la sérine a été envisagé à la place du groupement *tert*-butyl qui peut parfois être difficile à déprotéger. La fonction alcool de l'ester méthylique de la L-sérine a donc été protégée par le groupement *tert*-butyl-diméthylsilyle (TBS) à l'aide de TBSCl en présence d'imidazole dans le chloroforme. L'amine **109** obtenue a ensuite été couplée à la Boc-sarcosine puis l'ester **107b-L** a été saponifié dans les mêmes conditions que précédemment pour conduire au dipeptide **108b-L** avec un rendement global de 45 % (Schéma 70).

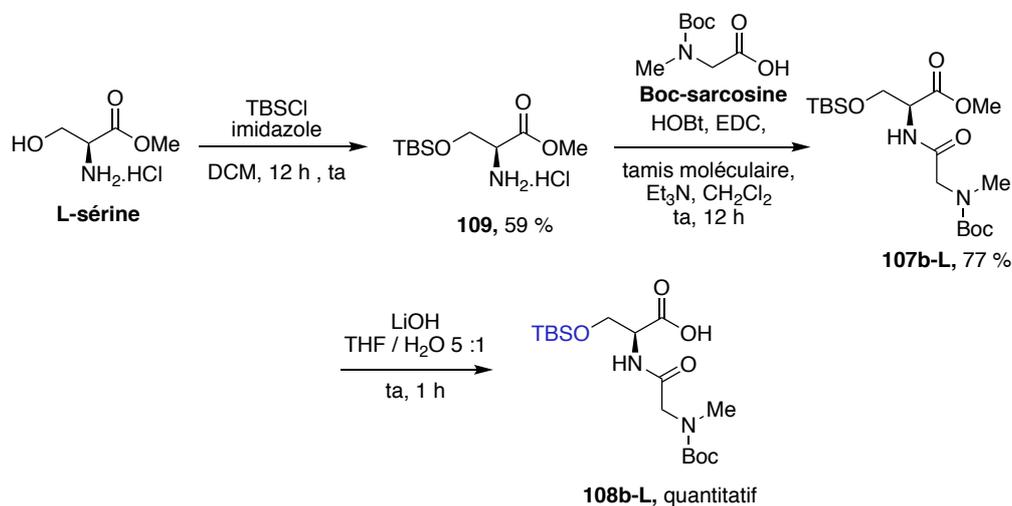


Schéma 70

La voie synthétique permettant l'obtention de l'analogue **I** portant la cytosine et une fonction hydroxyle en position 6 du sucre est décrite dans le paragraphe suivant.

### III.4) Accès à l'analogue I

Pour rappel, l'analogue **I** ne diffère de la gougérotine que par la fonction alcool en position 6 qui remplace la fonction carboxamide. La base nucléique reste quand à elle la cytosine déprotégée. La voie de synthèse envisagée prévoit de l'obtenir à partir du nucléoside **99a**. En effet, le groupement acétate présent en position 6 étant plus facilement clivé qu'un groupement benzyle, le nucléoside **99d** n'a pas été impliqué dans la suite de la synthèse.

Afin de pouvoir mener à bien le couplage peptidique avec l'acide carboxylique des dipeptides **108a** (série L et D) et **108b**, la fonction azoture en position 4 du nucléoside **99a** a du être réduite en amine primaire pour aboutir au composé **109**. (Schéma 71).

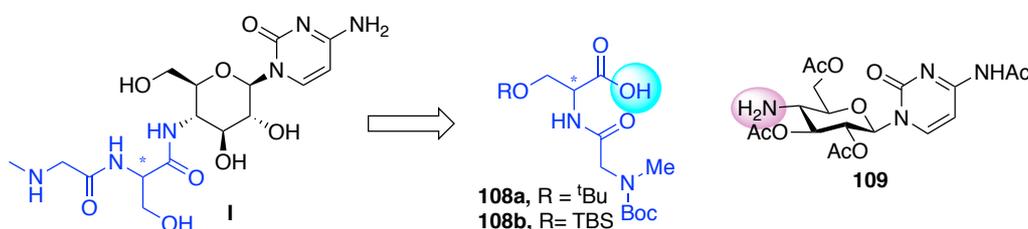


Schéma 71

#### III.4.1) Réduction de l'azoture

Différentes conditions de réduction d'azoture ont été conduites sur le nucléoside **99a** dans le but d'obtenir l'amine **109** (Schéma 72).

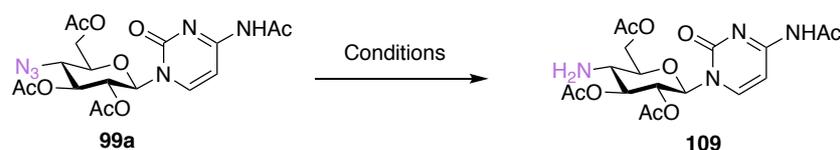


Schéma 72

##### III.4.1.a) Réaction de Staudinger

Une des méthodes de réduction testées est la réaction de Staudinger.<sup>144,145</sup> Il s'agit d'une des réactions les plus anciennes et les plus utilisées pour réduire des azotures en amines, en présence de dérivés de phosphore (III).

<sup>144</sup> Staudinger, H.; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2, 635-646.

Elle procède par l'addition de la phosphine sur l'azoture avec la formation d'un phosphorazide **A** pour conduire ensuite à un intermédiaire iminophosphorane **B** avec l'élimination d'une molécule d'azote. L'hydrolyse de cet intermédiaire fournit l'amine désirée ainsi que l'oxyde de phosphine **C** (Schéma 73).

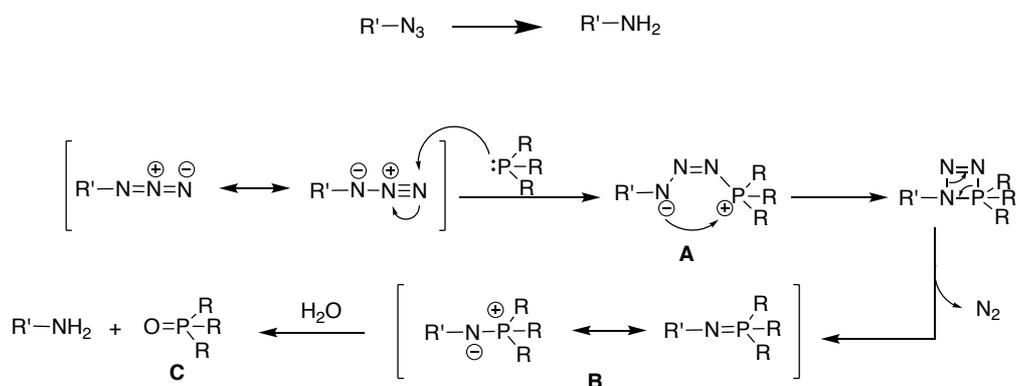


Schéma 73

De par ses conditions douces, son efficacité, sa chimiosélectivité, la réaction de Staudinger est une méthode de choix pour la réduction des azotures permettant la fonctionnalisation des unités saccharidiques au sein de systèmes biologiques.<sup>146</sup> Une de ses principales limitations est la formation de l'oxyde de phosphine dont l'élimination peut s'avérer difficile.

Deux phosphines ont été testées comme réducteurs : la triphénylphosphine et la tributylphosphine, moins souvent employée à cause de son instabilité à l'air. Chacune a été mise en réaction avec le composé **99a** dans le THF puis le mélange réactionnel a été hydrolysé dans l'eau à reflux (Schéma 74). Dans les deux cas, un mélange complexe a été observé, constitué de l'intermédiaire iminophosphorane (qui n'a pas été hydrolysé dans sa totalité malgré une température élevée et un temps de réaction important), de l'oxyde de phosphine et de sous-produits de déacétylation partielle. La purification s'est avérée très difficile, voire impossible de par le caractère polaire de la molécule désirée, de l'oxyde de phosphine et de l'intermédiaire iminophosphorane. L'amine **109** n'a donc pas pu être isolée.

<sup>145</sup> Liu, S.; Edgar, K. J. *Biomacromolecules* **2015**, *16*, 2556-2571.

<sup>146</sup> Beckmann, H. S. G.; Wittmann, V., Azides in Carbohydrate Chemistry. In *Organic Azides*, John Wiley & Sons, Ltd: 2010; pp 469-490.

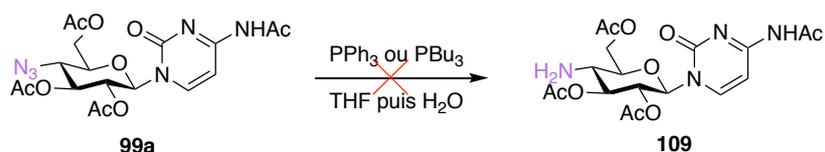


Schéma 74

Une autre méthode a donc été envisagée : l'hydrogénation.

#### III.4.1.b) Hydrogénation

L'hydrogénation représente une autre méthode de réduction des azotures où l'hydrogène joue le rôle de réducteur en présence d'un catalyseur qui peut par exemple être du palladium sur charbon (Pd/C), de l'hydroxyde de palladium (Pd(OH)<sub>2</sub>), de l'oxyde de platine (PtO<sub>2</sub>), du palladium Lindlar ou encore du nickel de Raney (Schéma 75). Le principal critère pour choisir un catalyseur va être sa compatibilité avec les groupements protecteurs présents sur la molécule.

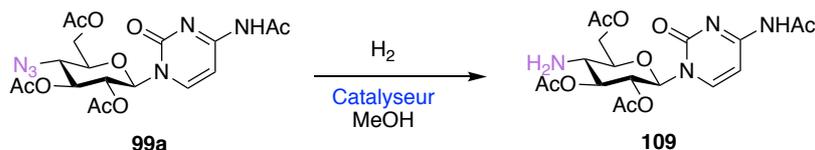


Schéma 75

Plusieurs essais d'hydrogénation en présence de Pd/C et de Pd Lindlar ont tout d'abord été conduits sur le nucléoside **99a**. L'amine **109** a été observée en mélange avec des produits secondaires dûs à une déacétylation partielle de la molécule. La stratégie la plus judicieuse a donc été d'envisager une déprotection totale de la molécule avant hydrogénation. La problématique était alors de déterminer si l'amine déprotégée sur la cytosine, en N<sup>4</sup>, interfèrerait dans le couplage peptidique avec le dipeptide **108**.

Les acétates présents sur le nucléoside **99a** ont donc été clivés en présence de méthanolate de sodium pour conduire au triol **110** directement engagé sans purification dans une réaction d'hydrogénation en présence de 40 % en masse de Pd(OH)<sub>2</sub> sous pression atmosphérique de hydrogène dans le méthanol pour conduire à la diamine **111**. Suite à plusieurs tests avec du palladium sur charbon et du palladium hydroxyde, il s'est avéré que c'est ce dernier catalyseur qui conduisait à de meilleurs résultats, avec l'obtention d'une diamine plus propre ne nécessitant pas de purification supplémentaire (Schéma 76).

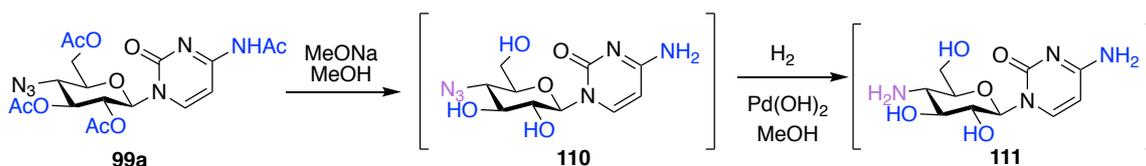


Schéma 76

Un rapide test de couplage peptidique entre le dipeptide **108a-L** et la diamine **111** a ensuite été effectué afin de vérifier si il y avait une sélectivité entre les deux amines libres (Schéma 77). Cependant le peptidonucléoside désiré **112** n'a pas pu être isolé, certainement d'une part à cause d'un manque de sélectivité entre les deux amines, d'autre part à cause de la polarité du produit le rendant difficile à récupérer lors du traitement de la réaction.

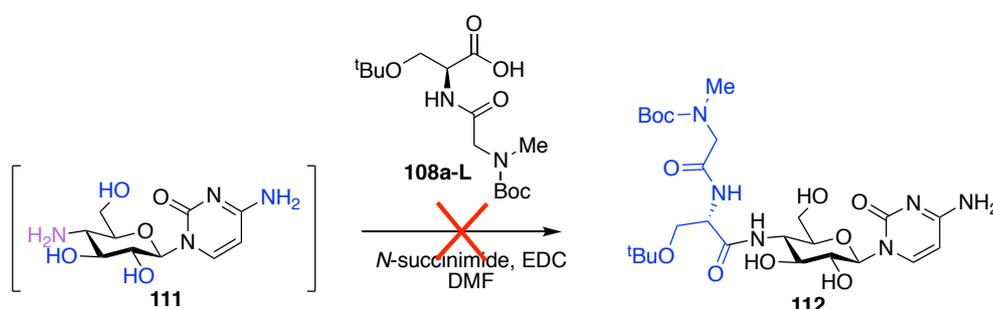


Schéma 77

Un changement de stratégie a donc été opéré. L'amine présente en position  $N^4$  de la base serait protégée non plus par un acétate mais par un groupement Boc, qui résiste aux conditions basiques.

Dans un premier temps, il a été envisagé de glycosyler la  $N^4$ -Boc cytosine **98** sur le donneur **62a** (voir p. 96). Cependant, dans les conditions de Vorbruggen, cette glycosylation s'est révélée impossible, due au manque de solubilité de la base dans l'acétonitrile (Schéma 78).

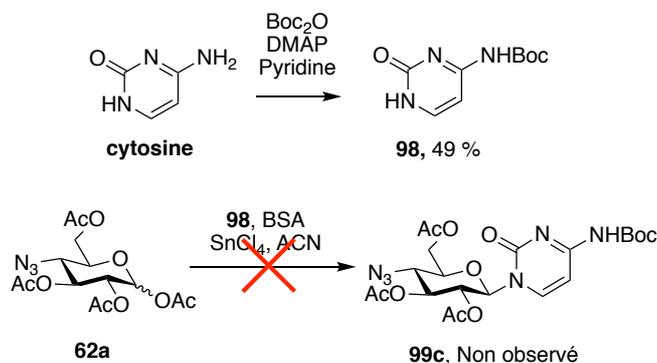


Schéma 78

La protection par le groupement Boc sur la cytosine s'est donc faite post-glycosylation, sur le nucléoside **99a**, à l'aide de  $\text{Boc}_2\text{O}$ , de DMAP et de triéthylamine pour conduire au composé **99c** avec un rendement de 64 %. La formation d'un produit secondaire **99c'**, protégé par deux groupements Boc sur le même azote à hauteur de 32 % a permis d'expliquer ce rendement (Schéma 79).

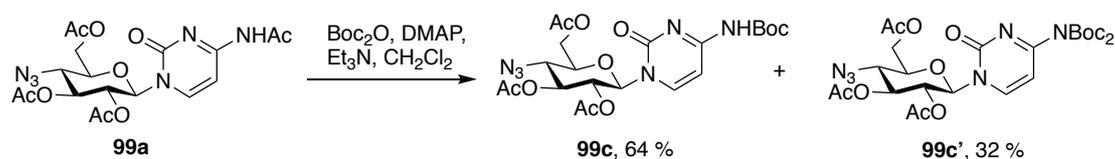


Schéma 79

Le nucléoside **99c** a ensuite été déprotégé au méthanolate de sodium puis hydrogéné avec de l'hydroxyde de palladium sous atmosphère d' $\text{H}_2$  pour conduire à l'amine **113** (Schéma 80).

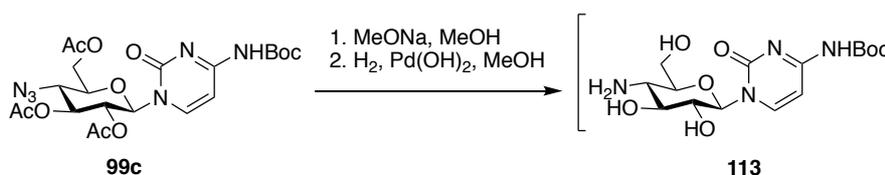


Schéma 80

Cette amine **113** a directement été engagée dans la réaction de couplage peptidique sans purification nécessaire.

### III.4.2) Couplage peptidique

Le couplage peptidique de l'amine **113** s'est fait avec les dipeptides **108a** en série D et en série L et **108b-L** à l'aide de l'agent de couplage HATU en présence de la base de Hünig dans le DMF. HATU est un agent de couplage très efficace qui accélère la réaction grâce à la participation du doublet non liant de l'azote de la pyridine qui stabilise l'amine nucléophile par la formation d'un état de transition cyclique à sept chaînons, comme décrit sur le Schéma 81.<sup>147</sup>

<sup>147</sup> Carpino, L. A.; Imazumi, H.; Foxman, B. M.; Vela, M. J.; Henklein, P.; El-Faham, A.; Klose, J.; Bienert, M. *Org. Lett.* **2000**, 2, 2253-2256.

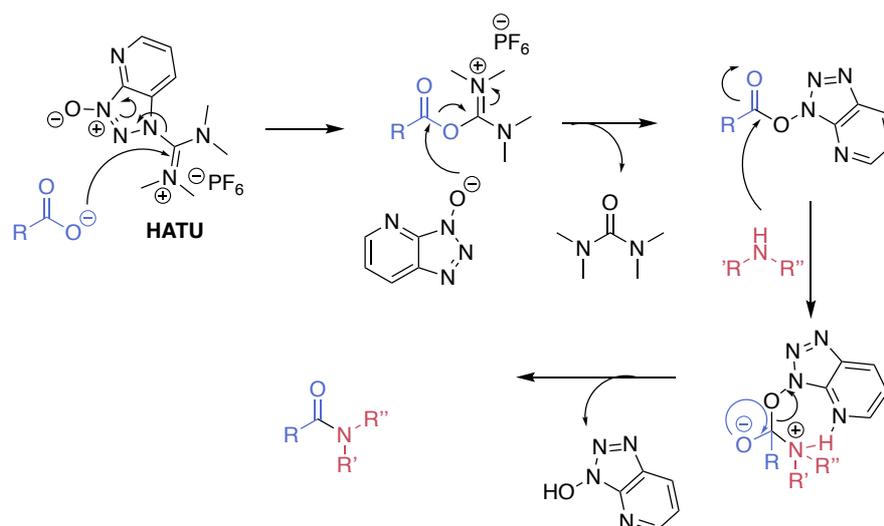


Schéma 81

L'accélération de la réaction par HATU permet de limiter les risques d'épimérisation au niveau du carbone asymétrique du dipeptide. Les peptidonucléosides **114a-D** et **114a-L** où la sérine est protégée par un *tert*-butyle ont été obtenus avec des rendements respectifs de 65 à 57 % sur 3 étapes, chacun sous la forme d'un seul diastéréoisomère (Schéma 82). Le peptidonucléoside **114b-L** où la sérine est cette fois protégée par un groupement TBS a lui été obtenu avec un rendement moindre de 39 %.

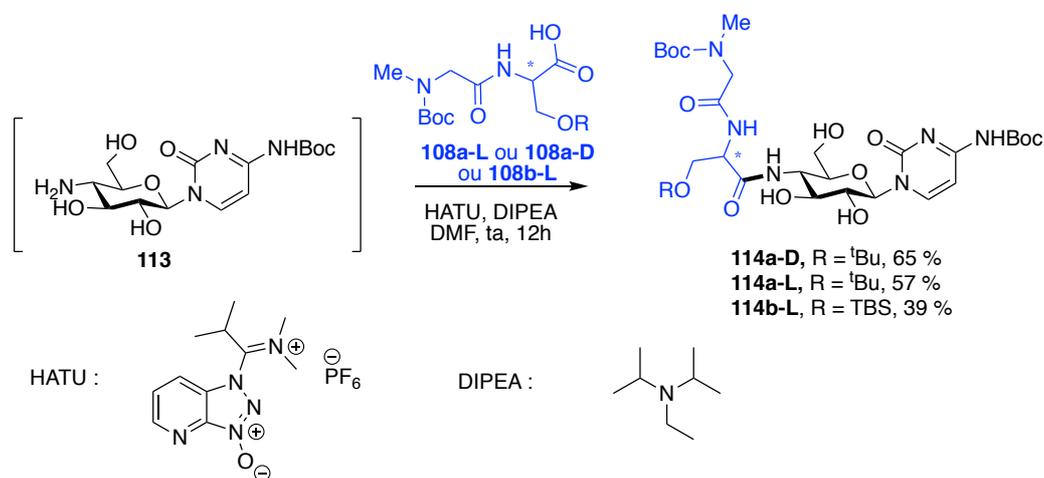


Schéma 82

Ce couplage à la fois en série L et en série D a permis d'étudier l'influence de la stéréochimie du dipeptide sur l'activité biologique (voir chapitre IV).

Une ultime étape de déprotection des groupements Boc, <sup>t</sup>Bu ou TBS a ensuite été nécessaire pour conduire aux analogues finaux désirés.

### III.4.3) Déprotection

Afin d'obtenir la molécule finale, deux groupements Boc et un groupement tert-butyle doivent être clivés sur les peptidonucléosides **114a-D** et **114a-L**. Il existe de nombreuses conditions permettant la déprotection d'un groupement Boc dans la littérature, les principales impliquent l'utilisation d'un acide fort (TFA, HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, etc..) ou d'un acide de Lewis tels que BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O, TiCl<sub>4</sub>, Sn(OTf)<sub>2</sub>.<sup>148</sup> L'utilisation de TFA sur le peptidonucléoside **114a-L** n'a pas fourni de résultats concluants, une dégradation de la molécule ayant été observée. De même, une déprotection thermique dans l'eau à reflux n'a pas permis d'obtenir la molécule désirée.<sup>149</sup> C'est finalement à l'aide d'acide chlorhydrique à 4M dans le dioxane, dans un mélange 2:1 dichlorométhane/méthanol, que nous avons réussi à déprotéger les deux groupements Boc ainsi que le groupement *tert*-butyle sur les composés **114a-D** et **114a-L**. Les analogues **I-D** et **I-L** ont été isolés avec des rendements respectifs de 37 et 28 % (Schéma 83). Les mêmes conditions appliquées au peptidonucléoside **114b-L** dont l'alcool de la sérine est protégé par un groupement TBS ont également permis d'accéder à l'analogue **I-L** avec un rendement de 25 %. En effet, le groupement silylé a été clivé en même temps que les groupements Boc en milieu acide. Aucun produit résultant d'une épimérisation n'a été observé durant cette étape.

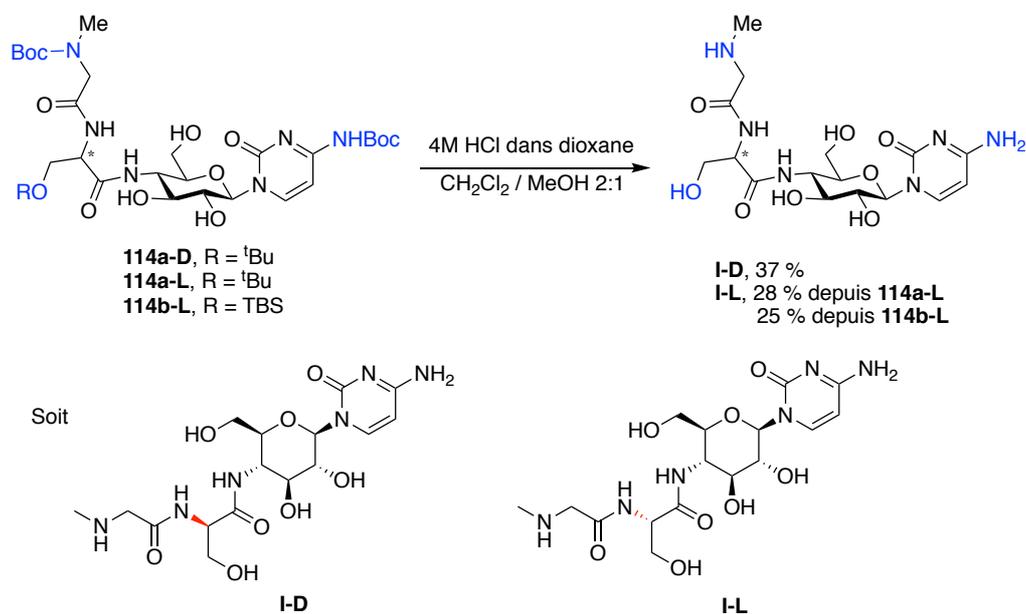


Schéma 83

<sup>148</sup> Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed., John Wiley & Sons, 1999 and references cited therein.

<sup>149</sup> Zinelaabidine, C.; Souad, O.; Zoubir, J.; Malika, B.; Nour-Eddine, A. *Int. J. Chem.* **2012**, *4*, 73-79.

Ces faibles rendements s'expliquent par l'obtention de produits secondaires partiellement déprotégés. Le groupement <sup>t</sup>Bu notamment est difficilement clivé. Dans ce cas, le produit secondaire peut être recyclé en étant de nouveau engagé dans une réaction de déprotection. Ici, l'objectif étant d'obtenir les analogues pour qu'ils soient testés biologiquement et non d'améliorer le rendement, ce recyclage n'a pas été effectué. L'utilisation d'un autre groupement protecteur que le *tert*-butyl sur la sérine, comme le groupement *tert*-butyl-diméthylsilyle n'a pas permis d'améliorer le rendement. De plus, l'étape de couplage peptidique a procédé avec un rendement inférieur. L'étude a donc été poursuivie avec le groupement <sup>t</sup>Bu.

Les deux analogues **I** en série L et en série D ont donc été synthétisés avec succès. Leurs analyses biologiques permettront de déterminer si le remplacement de la fonction carboxamide par une fonction hydroxyle libre, a une influence bénéfique sur l'activité antifongique de la molécule (voir chapitre IV). Un potentiel impact de la stéréochimie du motif dipeptide sera également étudié.

En suivant le même schéma synthétique, nous avons tenté de synthétiser les analogues **II** et **III** portant respectivement la 5-fluorocytosine et la 5-méthylcytosine avec en position 6 du sucre, une fonction hydroxyle, une fonction éther ou encore un acide carboxylique. Cette fois, les modifications structurales concernent également la base nucléique portée par la molécule.

### III.5) Accès aux analogues **II** et **III**

Les analogues **II** et **III** portent respectivement les bases 5-fluorocytosine et 5-méthylcytosine. En position 6 du motif saccharidique, il a été envisagé d'obtenir soit un alcool libre soit un éther benzylique, soit un acide carboxylique. Au vu des résultats biologiques sur les analogues **I-D** et **I-L** obtenus au cours de la thèse (voir chapitre IV), la synthèse conduisant aux analogues portant un éther benzylique en position 6 a été privilégiée.

Deux voies synthétiques sont possibles pour accéder à ces analogues (Schéma 84).

La voie 1 démarre à partir des nucléosides **106** et **103** portant respectivement la 5-fluoro-uracile et la thymine. En effet, la glycosylation de ces deux bases s'est révélée particulièrement efficace. Afin d'accéder aux analogues désirés, les bases de type uracile

doivent être transformées en base type cytosine. Pour cela, la fonction carbonyle en 4' de la base peut être substituée par l'amine désirée en passant par un intermédiaire triazolo-substitué.

La voie 2 désigne la synthèse des analogues la plus courte, à partir des nucléosides **105** et **102** portant directement les motifs 5-fluorocytosine et 5-méthylcytosine. Le groupement benzoyle qui protège l'amine de la base est cependant plutôt instable et peut constituer la principale faiblesse de cette voie.

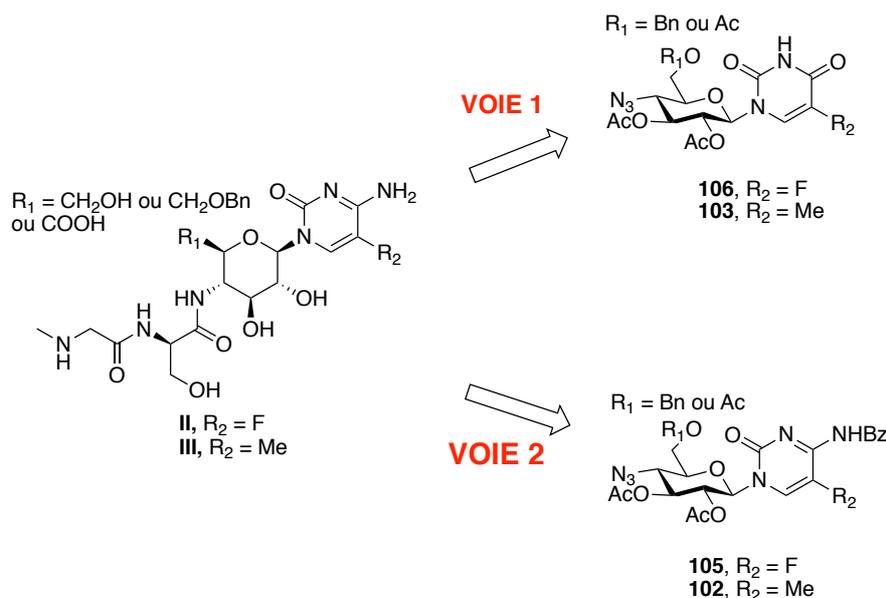


Schéma 84

Dans un premier temps, la voie 1 sera présentée.

### III.5.1) Accès aux analogues **II** et **III**: Voie 1

Les nucléosides **106** et **103** portant respectivement la 5-fluorouracile et la thymine possèdent une fonction carbonyle en 4' qu'il est nécessaire de substituer par une amine primaire pour obtenir les analogues désirés (Schéma 85).

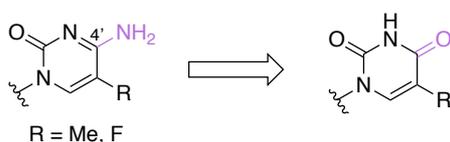


Schéma 85

### III.5.1.a) Généralités

Une des approches principales pour la formation des cytidines consiste en la préparation de dérivés possédant un bon groupe partant en C4 à partir d'uridines, dérivés ensuite traités avec les nucléophiles azotés adéquats (comme l'ammoniac par exemple pour obtenir une amine primaire) (Schéma 86).

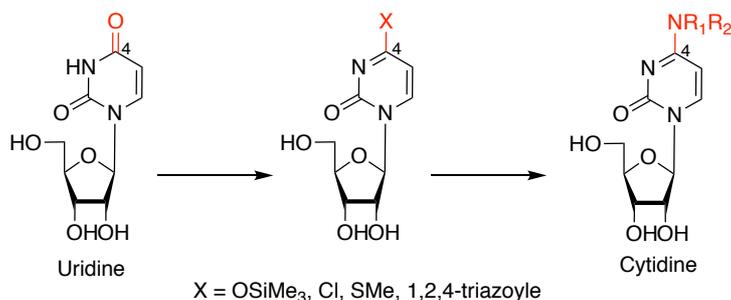


Schéma 86

La conversion des nucléosides « uracile » en nucléosides « cytosine » correspondants (et  $N^4$ -substitués) peut donc se faire en passant par exemple par des éthers de triméthylsilyle selon la procédure de Vorbrüggen,<sup>150</sup> par chloration ou encore par des dérivés soufrés.<sup>151,152</sup> Ces méthodes nécessitent cependant des conditions drastiques, souvent incompatibles avec les groupements protecteurs présents sur le motif saccharidique, et ne fonctionnent pas avec toutes les amines. En 1982, Reese et Divakar introduisent le 1,2,4-triazole comme groupement partant sur la position C4.<sup>153</sup> En effet, son pKa plutôt faible (aux alentours de 10) en fait un bon nucléofuge et son introduction sur la molécule se fait aisément en présence de trichlorure de phosphoryle. La réaction de substitution par une amine nécessite des conditions douces et des exemples ont été réalisés sur l'uracile et sur la thymine.<sup>154</sup> Toutes ces raisons nous ont poussé à choisir l'intermédiaire triazole en vue d'obtenir les analogues de cytosine cités ci-dessus.

<sup>150</sup> Vorbrüggen, H.; Krolikiewicz, K.; Niedballa, U. *Liebigs Ann. Chem.* **1975**, 1975, 988-1002.

<sup>151</sup> Kaneko, M.; Shimizu, B. *Chem. Pharm. Bull.* **1972**, 20, 1050-1053.

<sup>152</sup> Fox, J. J.; Van Praag, D.; Wempen, I.; Doerr, I. L.; Cheong, L.; Knoll, J. E.; Eidinoff, M. L.; Bendich, A.; Brown, G. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 178-187.

<sup>153</sup> Divakar, K. J.; Reese, C. B. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1982**, 1171-1176.

<sup>154</sup> Rahman, S. M.; Seki, S.; Obika, S.; Haitani, S.; Miyashita, K.; Imanishi, T. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2007**, 46, 4306-4309.

### Mécanisme :

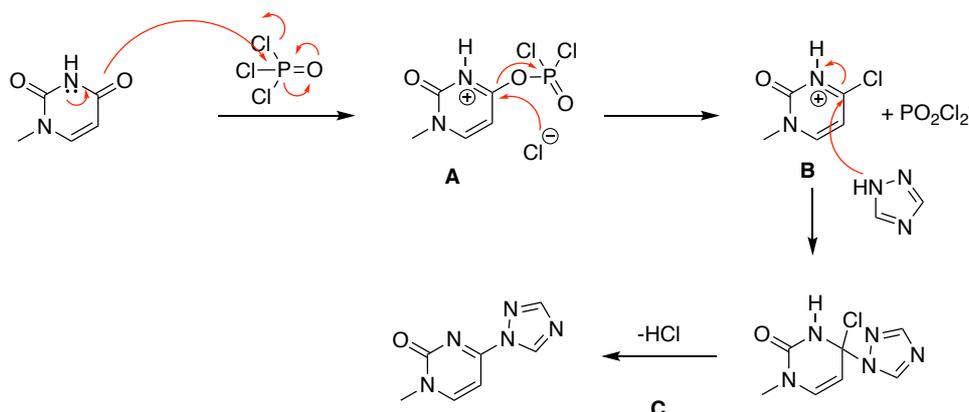


Schéma 87

Le mécanisme de la substitution s'apparente à celui d'une réaction de Vilsmeier-Hack. L'oxygène de l'amide s'additionne sur le trichlorure de phosphore, libérant un ion chlorure. Ce dernier vient ensuite effectuer une substitution nucléophile sur le carbone en C4 de l'intermédiaire **A** en provoquant le départ de l'ion dichlorophosphate. L'intermédiaire imine chlorée résultant **B** est particulièrement électrophile, au niveau du carbone, et le triazole, riche en électrons, présent en excès dans le milieu, va donc venir s'ajouter sur cette position. On observe alors le départ d'une molécule d'acide chlorhydrique et la formation du composé triazolosubstitué désiré **C**. La sélectivité entre les deux carbonyles, en C2 et en C4, s'explique par une différence d'électronégativité. Le carbonyle en C2 est composante d'un motif urée : les deux azotes qui l'entourent rendent le carbone moins électrophile que celui en C4, engagé uniquement dans une fonction amide et donc plus disponible pour un déplacement d'électrons (Schéma 87).

#### III.5.1.b) Synthèse de composés triazole-substitués

Dans le but d'économiser au maximum le nombre d'étapes de synthèse, le moment le plus judicieux envisagé pour effectuer cette conversion était après le couplage peptidique, juste avant la déprotection finale.

Les nucléosides **106a** et **103a** ont donc été déprotégés en présence de méthanolate de sodium puis ont été hydrogénés à l'aide de Pd(OH)<sub>2</sub> selon la procédure établie précédemment pour la préparation de l'amine **113**. Les amines correspondantes ont directement été engagées dans un

couplage peptidique avec le dipeptide **108a-D**,<sup>155</sup> toujours en présence d'HATU et de DIPEA. Les peptidonucléosides **115** et **116** ont été obtenus sous la forme d'un seul diastéréoisomère avec des rendements respectifs de 28 et 47 % sur trois étapes (Schéma 88).

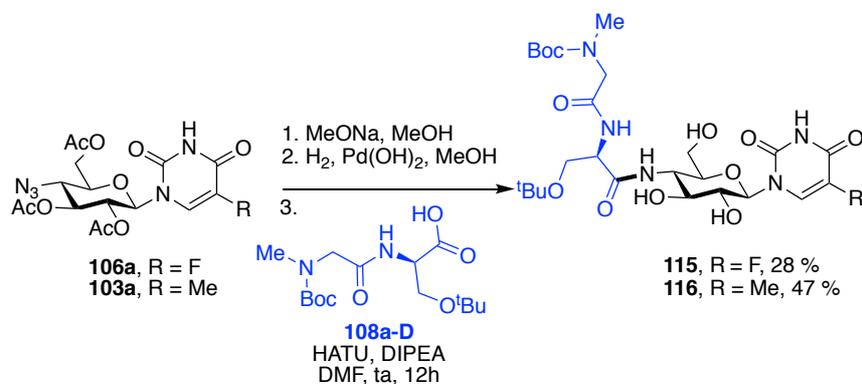


Schéma 88

Ces deux peptidonucléosides ont été mis en réaction en présence de triazole, de POCl<sub>3</sub> et de triéthylamine dans l'acétonitrile pour conduire aux intermédiaires triazolo-substitués correspondants. Cependant, dans les deux cas, les produits désirés **117** et **118** n'ont pas été observés (Schéma 89).

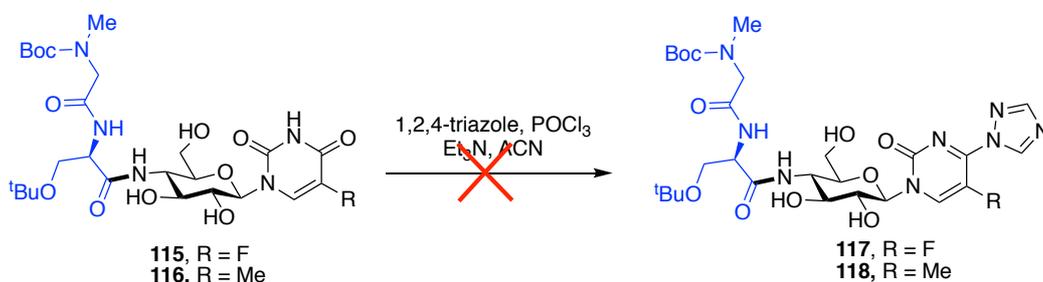


Schéma 89

Dans le but d'accéder à des analogues supplémentaires, les peptidonucléosides **115** et **116** ont été déprotégés à l'aide d'acide chlorhydrique 4M dans un mélange dichlorométhane/méthanol (Schéma 90). L'analogue **IV** portant la 5-fluorouracile a ainsi été obtenu avec un rendement de 21 % en mélange de diastéréoisomères avec un ratio 1 :1. L'analogue **V** portant la thymine n'a lui pas pu être isolé suite à une dégradation lors de la purification.

<sup>155</sup> Suites aux résultats biologiques montrant que la stéréochimie du dipeptide influe peu sur l'activité de la molécule (chapitre IV), il a été décidé de synthétiser les analogues futurs avec le dipeptide naturel de la gougérotine.

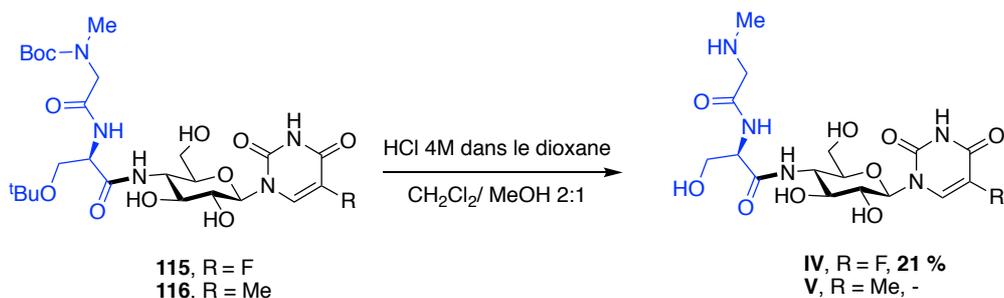


Schéma 90

Pour revenir aux composés triazolo-substitués, la réaction de substitution a donc été conduite sur les composés avant couplage peptidique, sans hydroxyles libres et portant la fonction azoture en position 4. Les conditions citées précédemment (Schéma 89) ont été appliquées aux nucléosides **106b**, **103a** et **103b**. Les intermédiaires triazolo-substitués **119** et **120a** ont été isolés avec des rendements respectifs de 61 et 41 % (Schéma 91). Le composé **120b** avec un benzyle en position 6 n'a pas nécessité de purification et a directement été engagé dans la suite de la synthèse.

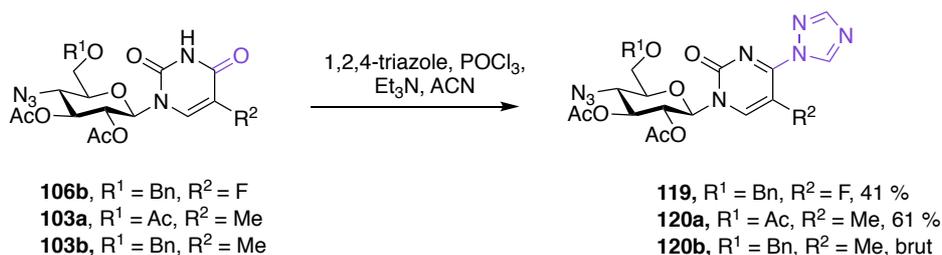


Schéma 91

### III.5.1.c) Couplage peptidique

Il a été envisagé de conserver le groupement triazole sur la position 4' de la base jusqu'à l'étape du couplage peptidique. Cependant, en présence de méthanolate de sodium, le triazole a été substitué par un groupement méthoxy sur le nucléoside **120a** pour donner le produit **121** (Schéma 92). Le triazole n'est donc pas assez stable pour servir d'amine masquée jusqu'à la fin de la synthèse.

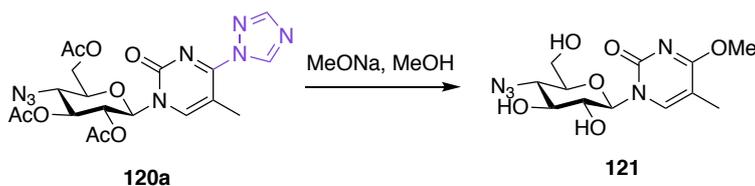


Schéma 92

Il a alors été décidé de substituer le triazole par une amine secondaire qui pourrait être déprotégée en fin de synthèse pour accéder à l'amine primaire. Notre choix s'est porté sur la benzylamine. En effet, le groupement benzyle est stable sous les conditions utilisées et elles peuvent donner accès à un nouvel intermédiaire synthétique pouvant être biologiquement évalué. Nous verrons que cette stabilité peut représenter un avantage conséquent en comparaison d'un groupement *N*-benzoylé dont le clivage a posé problème lors de la voie de synthèse n°2. Il existe plusieurs méthodes de débenzylation parmi lesquelles on peut citer l'hydrogénation par transfert de proton à l'aide de 1,4-cyclohexadiène ou encore l'utilisation d'acide de Lewis forts tels que AlCl<sub>3</sub>.<sup>156</sup> Cependant ces conditions ne sont pas compatibles avec la conservation du groupement *O*-benzyléther en position 6 sur l'analogue final. Des conditions sélectives de *N*-débenzylation en présence d'éthers benzyliques ont déjà été décrites dans la littérature sur des motifs saccharidiques. En 1983, Gigg et Conant décrivent l'utilisation de tert-butoxyde de potassium dans le DMSO avec du dioxygène pour une débenzylation de groupement *N*-benzylacétamide sur des glucopyranosides benzylés (Schéma 93).<sup>157</sup>

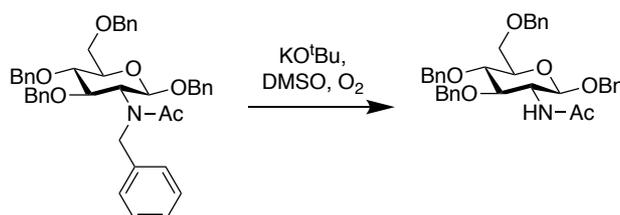


Schéma 93

Plus tard, l'équipe de Černý a réalisé la *N*-débenzylation sélective du composé **122**.<sup>158</sup> Pour cela, du DIAD a été utilisé pour former un intermédiaire triazane dont l'hydrolyse avec HCl génère l'amine primaire (Schéma 94).

<sup>156</sup> (a) Felix, A. M.; Heimer, E. P.; Lambros, T. J.; Tzougraki, C.; Meienhofer, J. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4194-4196. (b) Forbes, I. T.; Johnson, C. N.; Thompson, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 275-281.

<sup>157</sup> Gigg, R.; Conant, R. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1983**, 465-466.

<sup>158</sup> Kroutil, J.; Trnka, T.; Černý, M. *Synthesis* **2004**, *2004*, 446-450.

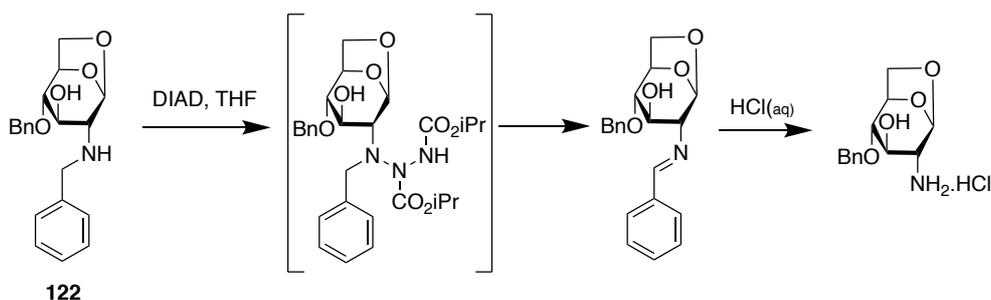


Schéma 94

Pour effectuer la substitution, le nucléoside **120b** a donc été mis en réaction avec la benzylamine en présence de DIPEA dans le dichlorométhane. Le nucléoside **123** a été obtenu avec un rendement de 46 % sur deux étapes (Schéma 95).

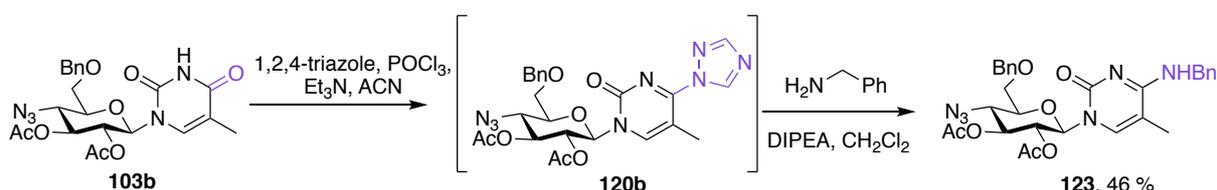


Schéma 95

Le nucléoside **123** a ensuite été déprotégé en position 2 et 3 puis hydrogéné selon la procédure habituelle pour conduire à l'amine **124** qui a directement été engagée dans une réaction de couplage peptidique avec le dipeptide **108a-D** (Schéma 96). Cependant, le peptidonucléoside désiré **125** n'a pas pu être isolé. En effet un mélange complexe de produits secondaires a été obtenu. Différentes hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce résultat. On peut par exemple se demander si le groupement benzyle présent en C6 a pu engendrer un encombrement stérique important autour de la position 4 empêchant le couplage peptidique de s'effectuer.

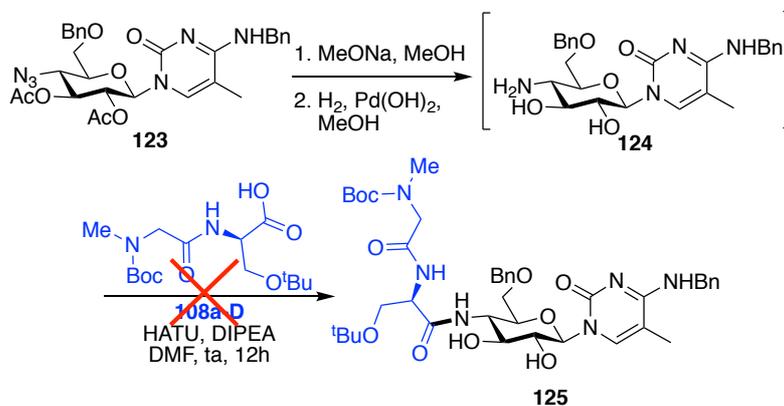
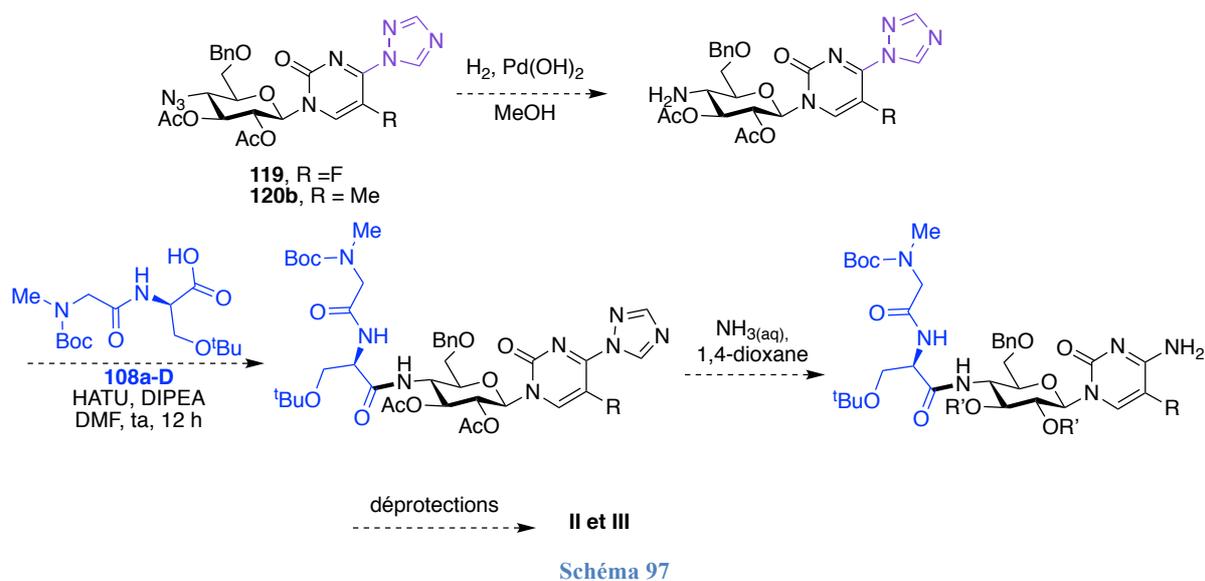


Schéma 96

La suite réactionnelle devra également être réalisée sur les nucléosides **119** et **120a**.

### III.5.1.d) Conclusion voie 1

Les analogues **II** et **III** n'ont donc pas pu être obtenus à l'aide de la voie de synthèse n°1. Concernant l'analogue **II**, la séquence réactionnelle s'est arrêtée au nucléoside triazolo-substitué **119** et devra être poursuivie. En ce qui concerne l'analogue **III**, la synthèse a pu être poursuivie jusqu'à l'obtention de l'amine **124**. Le couplage peptidique de cette dernière avec **108a-D** n'a cependant pas fonctionné et par manque de matière, la suite réactionnelle n'a pu être mise en place. A la place de la substitution sur la benzylamine, il pourrait être intéressant également de tester directement l'hydrogénation sur les composés **119** et **120** pour voir si le groupement triazole résisterait à ces conditions. Si tel est le cas, après le couplage peptidique, ce triazole pourrait être substitué par une amine primaire simplement en présence d'ammoniac. Une série de déprotections finales conduiraient alors aux analogues désirés (Schéma 97).



Une autre voie réactionnelle à partir des nucléosides **105** et **102** a été mise en place pour tenter d'obtenir les deux analogues.

### III.5.2) Accès aux analogues II et III: Voie 2

#### III.5.2.a) Réduction de l'azoture

La voie de synthèse n°2 a débuté à partir des nucléosides **105b** et **102c** portant directement les motifs 5-fluorocytosine et 5-méthylcytosine. Comme précédemment, il a tout d'abord fallu réduire la fonction azoture pour accéder aux amines **126** et **127**.

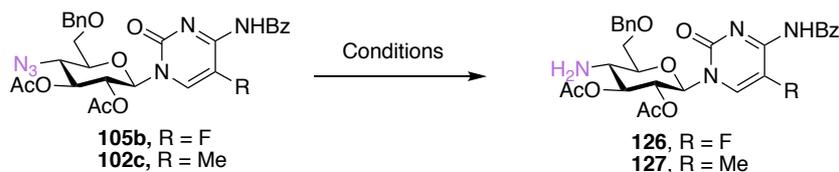


Schéma 98

Comme pour le nucléoside **99a**, une déprotection des positions 2 et 3 employant du méthanolate de sodium a conduit à libération de l'amine libre sur la cytosine en déprotégeant également le groupement benzoyle. Pour palier ce problème, nous avons dans un premier temps souhaité réitérer notre stratégie en remplaçant ce groupement Bz par un groupement Boc. Un essai a été réalisé sur le nucléoside **105b** et sur le produit **128** issu de la déprotection du même nucléoside au méthanolate de sodium. Ces deux derniers ont donc été mis à réagir avec l'anhydride  $\text{Boc}_2\text{O}$  en présence de DMAP et de TEA (Schéma 99). Cependant aucune des deux réactions n'a abouti au produit désiré **129**. Dans le premier cas, seul le réactif de départ a été récupéré. Sur le nucléoside déprotégé en revanche, un mélange complexe a été observé avec des protections partielles des fonctions alcools et/ou une double protection de l'amine en  $N^4$  par des groupements Boc.

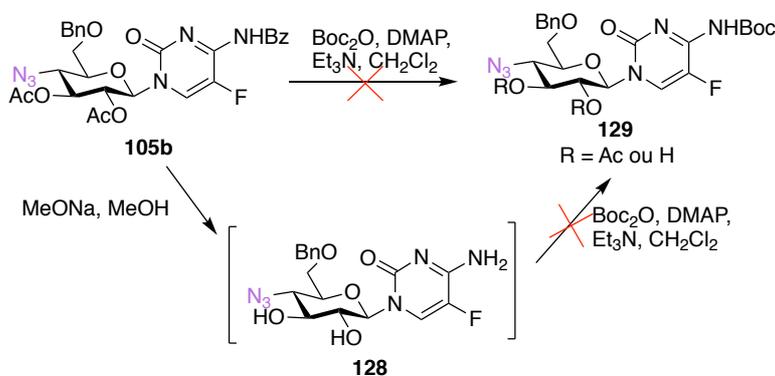


Schéma 99

Compte tenu des résultats insatisfaisants, cette stratégie n'a pas été retenue. La réduction de Staudinger a donc de nouveau été testée sur les nucléosides **105b** et **102c**.

### - Réduction de Staudinger

Nous avons cette fois-ci accès à de la triphénylphosphine supportée sur résine.<sup>159</sup> Celle-ci présente l'avantage de grandement simplifier la purification de la réaction. En effet, l'oxyde de phosphine généré, ou encore l'intermédiaire iminophosphorane qui n'aurait pas été hydrolysé, reste fixé à la résine et une simple filtration permet généralement d'isoler l'amine désirée. Les nucléosides **105b** et **102c** ont donc été mis en réaction avec la triphénylphosphine supportée puis le mélange a été hydrolysé avec de l'eau à un pH légèrement basique (pH = 8-9) (Schéma 100). En effet à pH neutre, l'hydrolyse n'avait pas lieu. Cependant, une augmentation de la basicité a provoqué la déprotection du groupement benzoyle présent sur la base. De plus, très peu de produit a été récupéré ce qui suggère que l'hydrolyse était incomplète et que l'intermédiaire iminophosphorane était encore présent en grande quantité sur la résine.

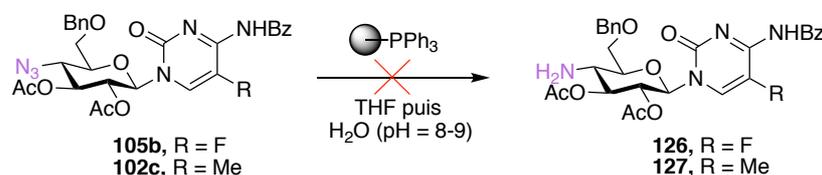


Schéma 100

La réduction de Staudinger ne permettant pas d'accéder aux amines désirées avec des performances suffisantes, une autre méthode a été envisagée : l'hydrogénation.

### - Hydrogénation

Les hydrogénations des nucléosides **105b** et **102c** ont été réalisées à l'aide d'un appareil H-Cube. Plusieurs catalyseurs ont été testés :  $\text{Pd}(\text{OH})_2$  et  $\text{PtO}_2$  ne conduisaient qu'à de faibles taux de conversion et c'est finalement Pd/C 10 % qui a permis d'obtenir les meilleurs résultats. Les nucléosides ont donc été dissous dans le solvant adéquat, l'acétate d'éthyle pour le nucléoside **102c** et le méthanol pour le nucléoside **105b**, et la réaction s'est ensuite déroulée à 40 °C, sous pression atmosphérique d'hydrogène (Schéma 101). Cependant, les amines

<sup>159</sup> Holletz, T.; Cech, D. *Synthesis* **1994**, 1994, 789-791.

désirées **126** et **127** n'ont pas été les seuls produits observés à l'issue de la réaction même si elles sont majoritaires. Cette fois ci, aucune déacétylation partielle en C2 et C3 n'a eu lieu mais une possible hydrogénation de la double liaison 5',6' présente sur la base nucléique a conduit aux supposés produits secondaires **130** et **130'**.<sup>160</sup> L'hydrogénation des pyrimidines en leurs dérivés di ou tétra-hydro se fait de façon classique en présence d'un catalyseur au rhodium Rh/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> dans l'eau.<sup>161</sup> Elle a été déjà été réalisée sur l'uridine et la cytidine et la réduction se fait préférentiellement sur la double liaison en 5,6.<sup>162</sup> Il est possible qu'ici, les groupements présents sur la cytosine dérivée favorisent l'hydrogénation de cette double liaison.

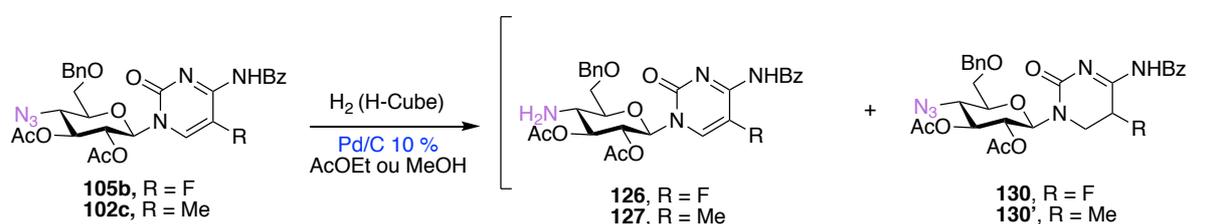


Schéma 101

Afin d'éviter le clivage du groupement benzyle durant la purification en milieu alcalin, cette dernière n'a pas été effectuée et le produit secondaire n'a pas pu être isolé.

Deux autres méthodes usuelles de réduction des azotures ont été testées sur le nucléoside **102c** : l'utilisation d'hydru de dichloroindium et l'hydrogénation par transfert de proton.

### - Réduction à l'indium

Les azotures peuvent être réduits par voie radicalaire par addition de radicaux stannylés.<sup>163</sup> Des exemples ont montré que l'indium était également capable d'effectuer ce type de réduction.<sup>164</sup> Ce métal représente une alternative plus douce à l'utilisation de composés à base d'étain. L'association du trichlorure d'indium avec du triéthylsilane permet de générer *in situ* l'hydru de dichloroindium qui s'ajoute alors de façon radicalaire à l'azoture pour former des intermédiaires radicaux indium-aminyl ensuite réduits en amine correspondante.<sup>165</sup>

<sup>160</sup> La réaction a été suivie par spectrométrie de masse et la structure du produit secondaire est une hypothèse. La réaction n'ayant pas été purifiée, les produits n'ont pas été isolés.

<sup>161</sup> (a) Greenberg, M. M.; Barvian, M. R.; Cook, G. P.; Goodman, B. K.; Matray, T. J.; Tronche, C.; Venkatesan, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1828-1839. (b) Kim, S. J.; Lester, C.; Begley, T. P. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6256-6257.

<sup>162</sup> Cohn, W. E.; Doherty, D. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 2863-2866.

<sup>163</sup> Frankel, M.; Wagner, D.; Gertner, D.; Zilkha, A. *J. Organomet. Chem.* **1967**, *7*, 518-520.

<sup>164</sup> Reddy, G. V.; Rao, G. V.; Iyengar, D. S. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3937-3938.

<sup>165</sup> Benati, L.; Bencivenni, G.; Leardini, R.; Nanni, D.; Minozzi, M.; Spagnolo, P.; Scialpi, R.; Zanardi, G. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2499-2502.

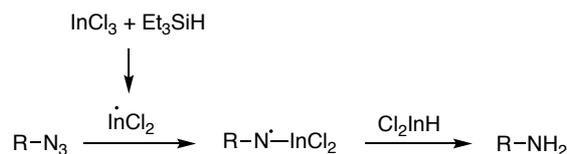


Schéma 102

La réaction a donc été conduite sur le nucléoside **102c** mais après 12 h d'agitation, seule la déprotection du groupement benzoyle a eu lieu (Schéma 103). La réaction semble trop lente et nécessite certainement l'ajout d'un initiateur. Quoi qu'il en soit, la conservation du groupement Bz est un critère primordial et la réduction à l'indium n'a donc pas été approfondie.



Schéma 103

#### - Réduction au formiate d'ammonium

La réduction par transfert de proton est une autre méthode usuelle permettant de réduire un grand nombre de groupements fonctionnels.<sup>166</sup> Elle est basée sur l'utilisation d'un donneur d'hydrogène tel que le cyclohexène, l'acide formique, des formates, des terpènes insaturés, etc. En association avec un catalyseur métallique (le palladium, le platine, le nickel, etc.), le proton du donneur d'hydrogène est transféré au groupement devant être réduit. Cette méthode permet notamment d'utiliser une quantité stœchiométrique d'hydrogène.

Le formiate d'ammonium a été utilisé ici car c'est un réactif polyvalent et peu cher, qui a déjà permis la réduction des azotures en amines primaires avec succès.<sup>167</sup> Le nucléoside **102c** a donc été engagé dans une réaction de transfert d'hydrogène avec du formiate d'ammonium en présence de palladium sur charbon. Cependant, cette fois encore, après 12 h de réaction, seul le clivage du groupement benzoyle sur l'amine de la pyrimidine a été observé (Schéma 104).

<sup>166</sup> Johnstone, R. A. W.; Wilby, A. H.; Entwistle, I. D. *Chem. Rev.* **1985**, *85*, 129-170.

<sup>167</sup> Gartiser, T.; Selve, C.; Delpuech, J. J. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1609-1610.

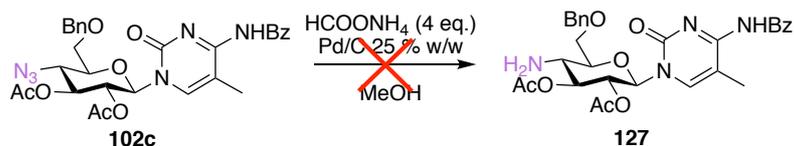
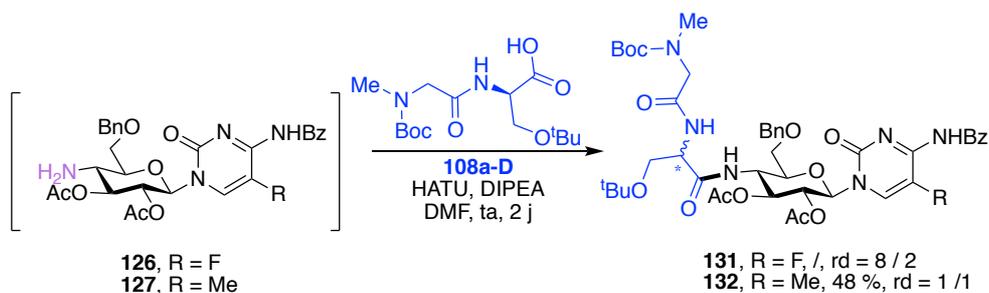


Schéma 104

Concernant les nucléosides **105b** et **102c**, l'hydrogénation à l'aide du H-Cube en présence de Pd/C sans déprotection préalable a donc été jugée la méthode de réduction la plus efficace. Une fois les amines **126** et **127** obtenues, en mélange avec un produit secondaire **130** issu de la réduction d'une double liaison, elles ont directement été engagées dans une réaction de couplage peptidique avec le dipeptide **108a-d**.

### III.5.2.b) Couplage peptidique

Le couplage peptidique des amines **126** et **127** avec le dipeptide **108a-d** a été réalisé à l'aide de l'agent de couplage HATU en présence de DIPEA dans le DMF. Le peptidonucléoside **132** portant la 5-méthyl- $N^4$ -Bz-cytosine a été obtenu avec un rendement de 48 % sur deux étapes en mélange 1/1 de diastéréoisomères. En ce qui concerne le peptidonucléoside **131** portant la 5-fluoro- $N^4$ -Bz-cytosine, seule une partie de l'amine non purifiée **126** a été engagée dans cette réaction. Par conséquent, aucun rendement ne peut être donné ici. On observe également pour ce composé un mélange de diastéréoisomères avec un ratio 8/2 (Schéma 105). On suppose que la racémisation a eu lieu au niveau du carbone asymétrique du dipeptide. En effet, cela avait déjà été observé sur certains composés similaires lors de travaux antérieurs du projet. Cette racémisation peut s'expliquer ici par un temps de réaction plus long que pour l'obtention des autres peptidonucléosides.



*Mécanisme de l'épimérisation :*

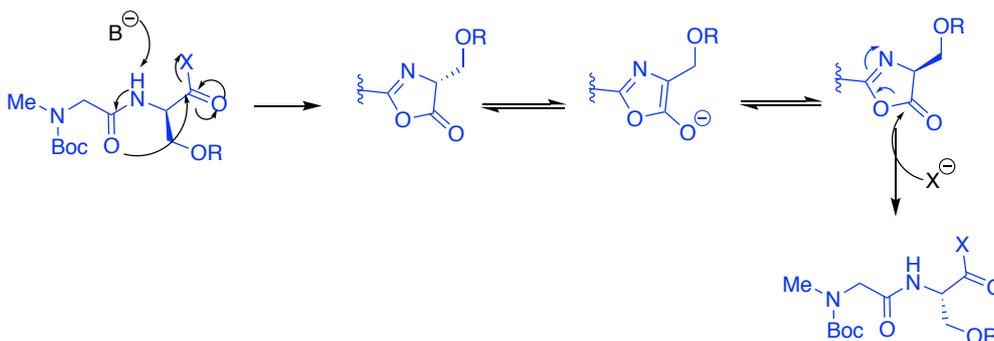


Schéma 105

Il est intéressant de noter que dans les deux cas, aucun produit issu du couplage peptidique du dipeptide avec le produit secondaire **130** n'a été observé. On peut supposer que le produit se réoxyde aisément pour retrouver son aromaticité.

### III.5.2.c) Déprotections

Le clivage de tous les groupements protecteurs présents sur les peptidonucléosides **131** et **132** a lieu en deux temps. Une première déprotection à l'aide de méthanolate de sodium a permis le clivage des acétates présents en position C2 et C3 et du benzoate présent sur l'amine primaire de la cytosine. Les peptidonucléosides correspondants **133** portant la 5-fluorocytosine et **134** portant la 5-méthyl-cytosine, ont été obtenus avec des rendements respectifs de 19 et 25 %, en mélange de diastéréoisomères (Schéma 106). Lors du traitement de la réaction, une résine échangeuse d'ions de type Amberlyst® H<sup>+</sup> permet de neutraliser le milieu et le produit est récupéré après une simple filtration. On peut supposer que les peptidonucléosides sont restés fixés sur la résine ce qui explique ces rendements particulièrement faibles. Un rinçage plus efficace de la résine en milieu basique aurait certainement permis d'améliorer ce rendement.

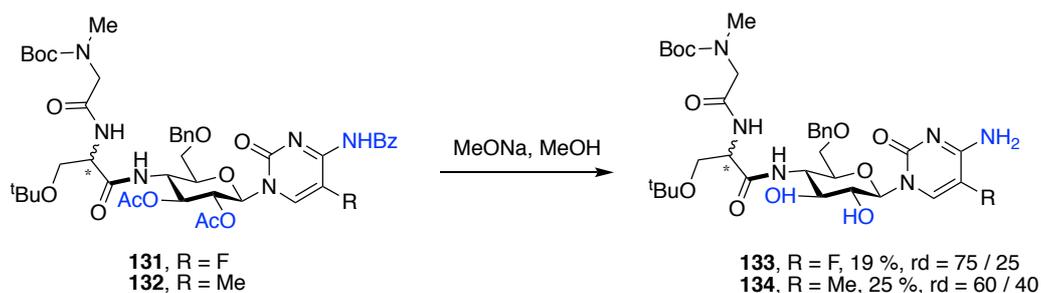


Schéma 106

La deuxième étape de déprotection concerne le clivage du groupement Boc et du groupement *tert*-butyle présents sur le dipeptide. Comme pour l'analogue **I**, cette étape peut être conduite en milieu acide à l'aide d'HCl 4M dans le dioxane (analogues **II-1** et **III-1**, Schéma 107). Par manque de temps, cette déprotection n'a pas pu être réalisée au cours de ce travail. Des étapes futures de débenzylation pour accéder à un hydroxyle libre en position 6 (analogues **II-3** et **III-3**) et d'oxydation suivie de la déprotection des groupements Boc et <sup>t</sup>Bu pour conduire aux acides uroniques correspondants (analogues **II-2** et **III-2**) pourront également être menées. Les conditions d'Anelli utilisant du TEMPO en présence de NaOCl permettent une oxydation douce et sélective des alcools primaires pour conduire aux acides uroniques.<sup>168,169</sup>

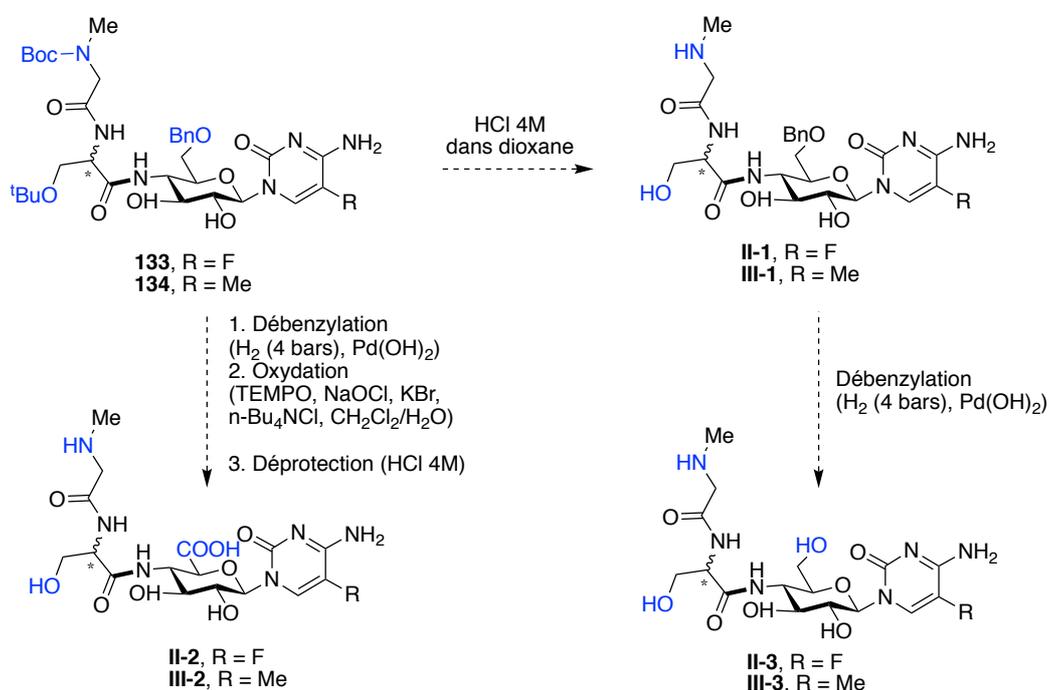


Schéma 107

<sup>168</sup> Lucio Anelli, P.; Biffi, C.; Montanari, F.; Quici, S. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2559-2562.

<sup>169</sup> Ying, L.; Gervay-Hague, J. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 835-841.

### III.5.2.d) Conclusion

Une seule étape de déprotection supplémentaire est nécessaire pour accéder aux analogues **II** et **III** à partir des peptidonucléosides **133** et **134**, une étape qui a déjà été réalisée avec succès pour les analogues **I-D** et **I-L**. Cette voie n°2 plus courte que la voie n°1 a permis d'obtenir des intermédiaires synthétiques très proches des analogues finaux désirés, à l'image des peptidonucléosides **133** et **134**. En plus de ces deux derniers, de nombreux intermédiaires réactionnels synthétisés que ce soit par la voie 1 ou la voie 2 ont pu être évalués biologiquement (voir récapitulatif en conclusion).

Le même schéma synthétique a été réitéré pour accéder à l'analogue **VI** portant la 3,4-diméthylbenzylcytosine.

## III.6) Accès à l'analogue VI

La base nucléique présente sur l'analogue **VI** est la  $N^4$ -3,4-diméthylbenzyl-cytosine. En position 6, plusieurs fonctions ont été envisagées : une fonction alcool ou un éther benzyle ou encore un acide carboxylique. C'est pourquoi la synthèse de cet analogue se fait à partir des nucléosides **100a** et **100b** portant l'uracile et dont la position 6 est respectivement protégée par un ester acétate ou par un *O*-benzyle (Schéma 108). La  $N^4$ -3,4-diméthylbenzyl-cytosine sera obtenue à partir de l'uracile suivant la même stratégie employée lors de la synthèse des analogues **II** et **III** c'est-à-dire en passant par des intermédiaires triazolo-substitués.

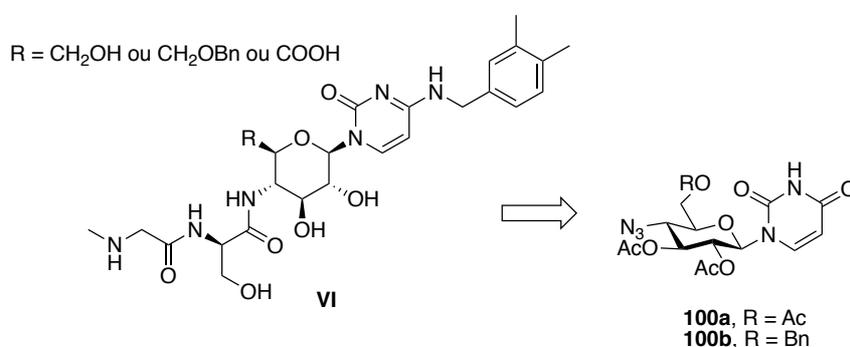


Schéma 108

### III.6.1) Substitution carbonyle-amine

Dans la partie III.5.1, il a été montré qu'une fonction carbonyle d'une base uracile pouvait être transformée en amine primaire ou secondaire en passant par un intermédiaire triazolo-substitué. Les nucléosides **100a** et **100b** ont donc réagi en présence de 1,2,4-triazole, de POCl<sub>3</sub> et de TEA dans le dichlorométhane pour conduire aux produits **135a** et **135b** avec des rendements respectifs de 68 et 70 %. Ces deux intermédiaires triazolo-substitués ont ensuite été engagés dans une réaction de substitution nucléophile aromatique avec de la benzylamine en présence de la base de Hünig. Les nucléosides **136a** et **136b** ont ainsi été obtenus avec des rendements de 95 % et 68 % (Schéma 109).

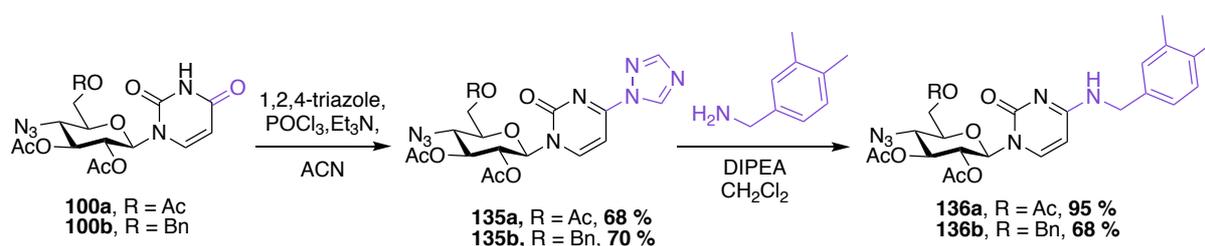


Schéma 109

### III.6.2) Déprotections, hydrogénation et couplage peptidique

Suivant un schéma déjà décrit précédemment, les esters acétates des nucléosides **136a** et **136b** ont été clivés à l'aide de méthanolate de sodium puis la fonction azoture a été hydrogénée. Cette hydrogénation n'a pas été réalisée avec le même protocole pour les deux nucléosides. Concernant le produit **136a** portant un acétate en position 6, l'hydrogénation a été réalisée dans des conditions classiques avec du palladium hydroxyde à 40 % en masse dans le méthanol sous pression atmosphérique d'hydrogène pour conduire à l'amine correspondante **137**. L'hydrogénation du nucléoside **136b** a elle été réalisée à l'aide d'un appareil H-Cube en utilisant une cartouche de catalyseur de platine sur charbon 10 % (qui donnait de meilleurs résultats que Pd(OH)<sub>2</sub>) pour conduire à l'amine **138** (Schéma 110).

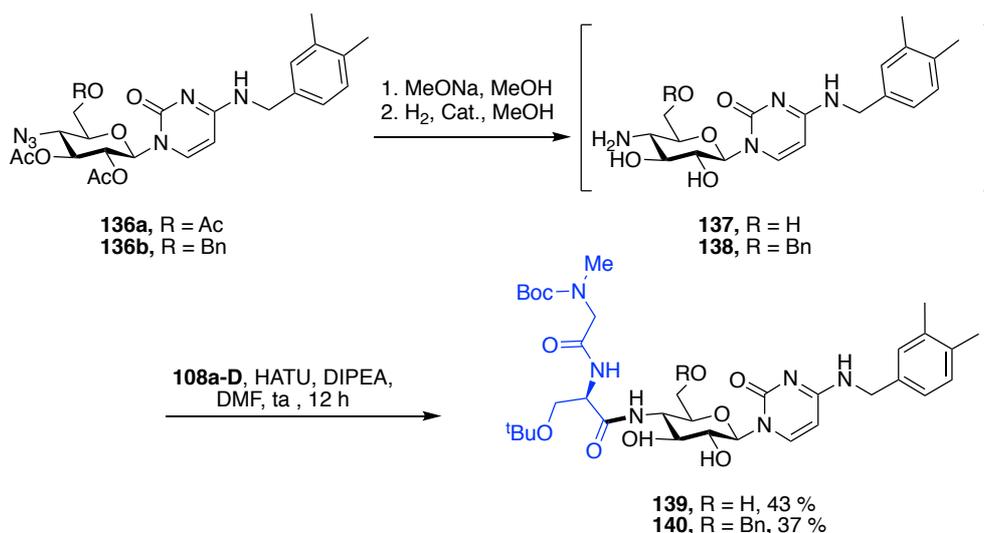


Schéma 110

Ces deux amines ont ensuite été directement engagées, sans purification, dans le couplage peptidique avec le dipeptide **108a-D**, toujours en utilisant HATU en association avec la base de Hünig. Les peptidonucléosides **139** et **140** ont été obtenus, sous la forme d'un seul diastéréoisomère, avec des rendements respectifs de 43 % et 37 % pour trois étapes (Schéma 110). On peut vérifier ici que le groupement benzyle en position 6 ne représente pas une gêne stérique pour un couplage peptidique sur l'amine en position 4.

Afin d'accéder aux analogues désirés, un clivage des groupements Boc et <sup>t</sup>Bu doit être réalisé. Les conditions mises en place sont décrites ci-après.

### III.6.3) Déprotections finales

Dans un premier temps, le peptidonucléoside **139** possédant une fonction hydroxyle libre en position 6 a été placé en milieu acide avec de l'acide chlorhydrique 4M dans le dioxane. A l'issue de la réaction, le produit **141** et l'analogue **VI-1** ont été observés, résultant d'une déprotection partielle d'une part, avec le groupement <sup>t</sup>Bu toujours en place, et d'une déprotection totale d'autre part. Cependant, l'analogue **VI-1** était présent en trop faible quantité dans le mélange pour être récupéré et seul le produit partiellement déprotégé **141** a pu être isolé (Schéma 111). La suite de la synthèse prévoit le clivage du <sup>t</sup>Bu de **141** pour obtenir l'analogue **VI-1** et l'oxydation de la position 6 du motif saccharique du composé **139** en acide carboxylique suivi d'une étape de déprotection pour conduire à l'analogue **VI-2**. Faute de temps pour réaliser ces étapes, le composé **141** a été envoyé en tests pour évaluer son activité antifongique.

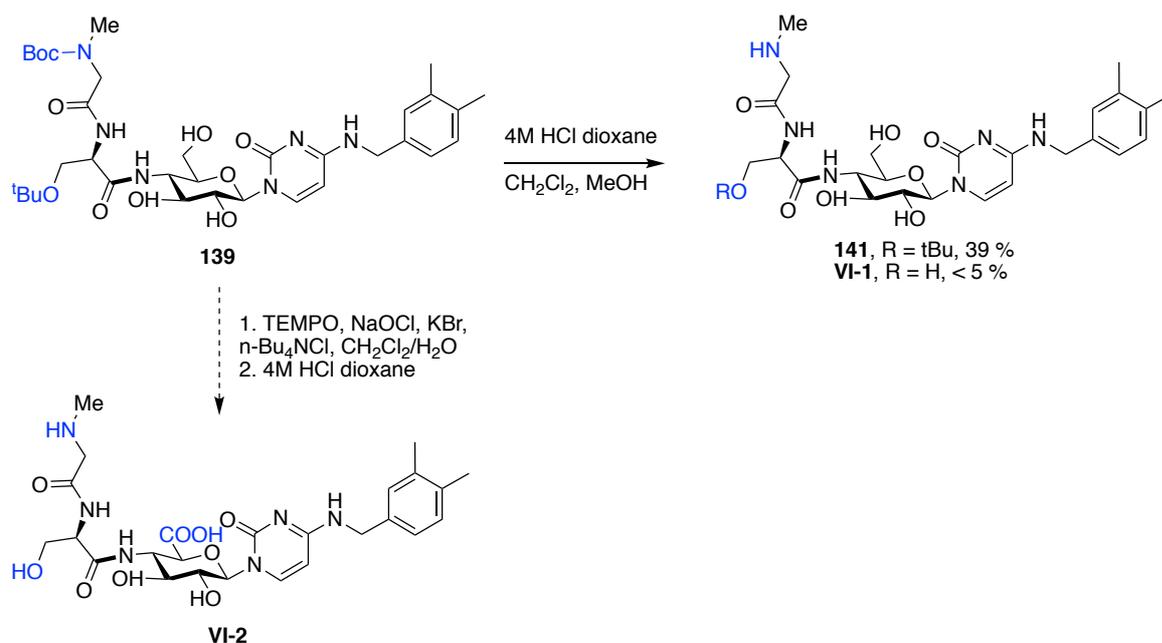


Schéma 111

Concernant le peptidonucléoside **140** portant un benzyle en position 6, des conditions plus dures ont été mises en place dans le but d'éliminer le groupement *tert*-butyle. A la place d'acide chlorhydrique 4M, un nouvel essai à l'acide trifluoroacétique a été tenté en milieu dilué. Cependant, de nouveau, une dégradation du produit a été observée et aucun analogue n'a pu être récupéré (Schéma 112). D'autres conditions de déprotections mériteraient d'être testées afin d'accéder au composé désiré.

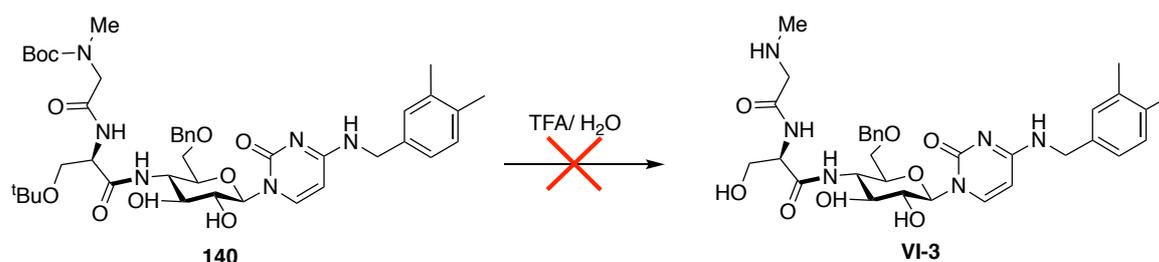


Schéma 112

### III.6.4) Conclusion

Même si l'analogue **VI** n'a pas pu être obtenu à l'issue de cette synthèse, des composés structurellement très proches tels que les peptidonucléosides **139**, **140** et **141** ont pu être synthétisés. Les résultats biologiques de ces composés, en comparaison avec des peptidonucléosides de même type portant des bases différentes, devraient nous permettre d'étudier l'influence positive ou non sur l'activité antifongique d'une base telle que la 3,4-diméthylcytosine ayant un potentiel lipophile important.

### III.7) Conclusion du chapitre

Au début de ce chapitre, les synthèses de trois donneurs de glycosyle ont été décrites. A partir du galactose et de l' $\alpha$ -D-méthyl-galactopyranoside, et au travers d'une série de protections/déprotections, les monosaccharides glucosidiques **62**, **63** et **64** ont été obtenus (Figure 28).

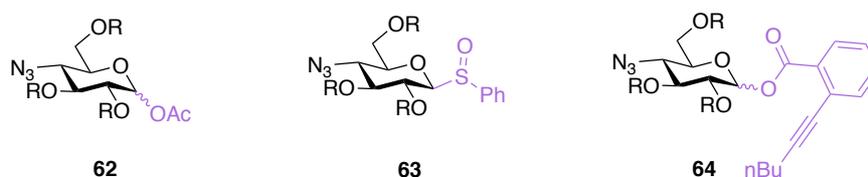


Figure 28

A l'aide de ces trois donneurs, une méthodologie de glycosylation des bases pyrimidiques envisagées a été mise en place (Schéma 113). Pour la première fois, les cytosines modifiées  $N^4$ -acyl-5-méthyl-cytosine et  $N^4$ -acyl-5-fluoro-cytosine ont pu être glycosylées sur des motifs pyranoses. La synthèse de ce type de nucléosides modifiés ne passe donc pas nécessairement par des nucléosides de type uridine ou thymidine. A l'issue de cette étude, la glycosylation sur les donneurs sulfoxydes s'est révélée être la méthode la plus performante. La glycosylation à l'or a montré des résultats encourageants pour la plupart des bases. Ce type d'activation représente une réelle alternative aux conditions de Vorbrüggen en faisant intervenir un promoteur doux en quantité catalytique.

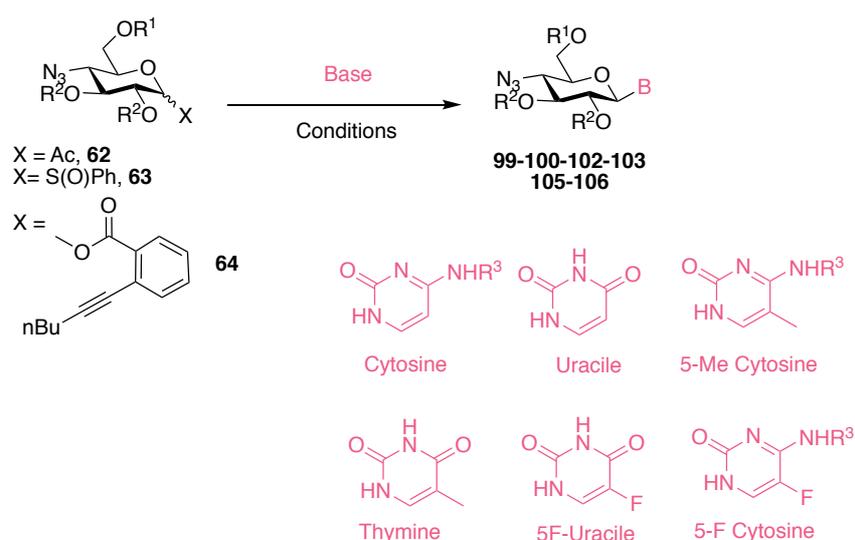


Schéma 113

La synthèse des analogues s'est poursuivie par la réduction de la fonction azoture en amine primaire pour permettre le couplage peptidique avec le dipeptide **108**. De nombreuses méthodes de réduction ont été testées mais l'hydrogénation en présence d'une quantité catalytique d'hydroxyde de palladium reste la plus performante.

Le couplage en présence de l'agent HATU pour la formation des peptidonucléosides a donné de bons résultats. Une autre possibilité pouvant être envisagée pour la formation de ces composés est la réaction de Staudinger-Vilarrasa.<sup>170</sup> Elle permet la formation d'une liaison peptidique non pas en passant par l'activation de l'acide carboxylique mais par celle de l'amine. En effet, à partir de l'azoture, il est possible de générer une fonction iminophosphorane en présence d'une phosphine (comme pour la réaction de Staudinger) et cet iminophosphorane est capable de réagir directement avec l'acide carboxylique déprotoné pour conduire au carboxamide désiré. Cette méthode a déjà fait ses preuves pour la synthèse de peptidonucléosides furaniques.<sup>171</sup> L'utilisation sur nos composés pourrait se révéler particulièrement intéressante.

Lors des étapes de déprotections finales, la polarité des produits finaux a rendu ces derniers difficiles à isoler lors de purifications souvent fastidieuses. Les conditions trop acides ont parfois conduit à la dégradation de la molécule. D'autres conditions plus douces mériteraient d'être évaluées pour accéder aux analogues finaux désirés.

Néanmoins, les analogues **I-L** et **I-D** ont été synthétisés. Concernant les autres analogues, il ne reste qu'une ou deux étapes de déprotections dans chacun des cas pour atteindre les produits finaux.

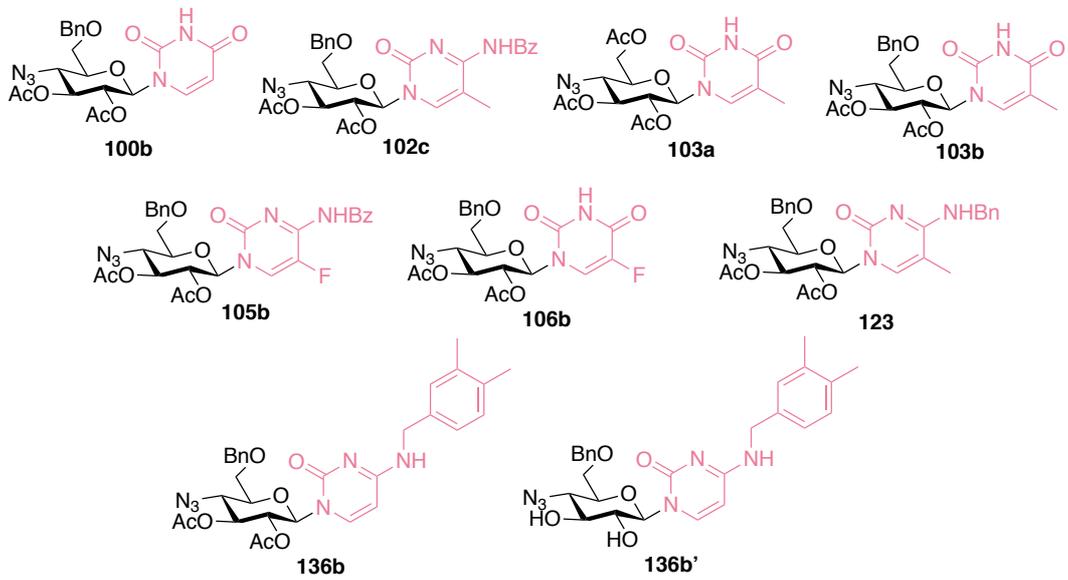
Grâce aux différentes synthèses effectuées, de nombreux intermédiaires synthétiques ont été obtenus. En fonction de leur quantité, de leur pureté et de l'intérêt biologique qu'ils représentent, certains ont été retenus pour que leur potentielle activité antifongique soit évaluée. Ils sont résumés ci-après. Les résultats des tests biologiques sont présentés dans le chapitre suivant.

---

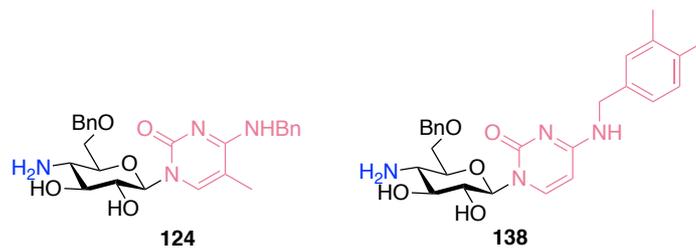
<sup>170</sup> Garcia, J.; Urpi, F.; Vilarrasa, J. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4841-4844.

<sup>171</sup> Charafeddine, A.; Chapuis, H.; Strazewski, P. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2787-2790.

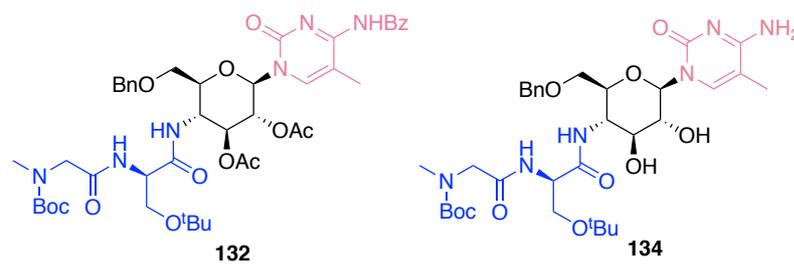
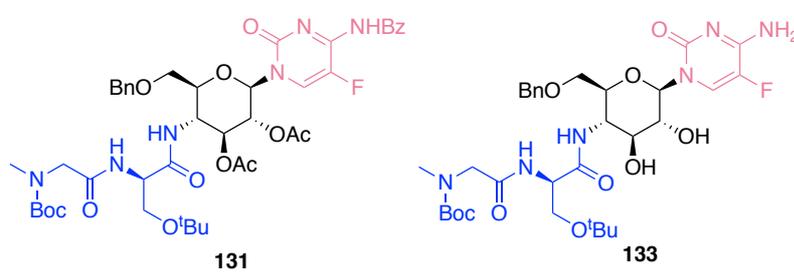
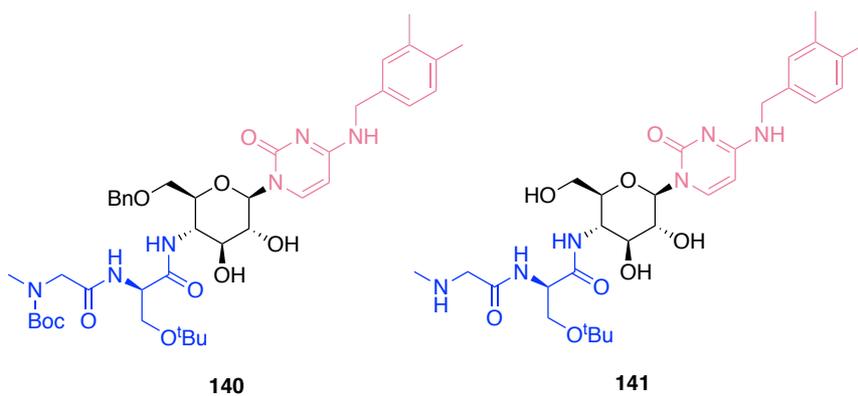
### Les nucléosides protégés



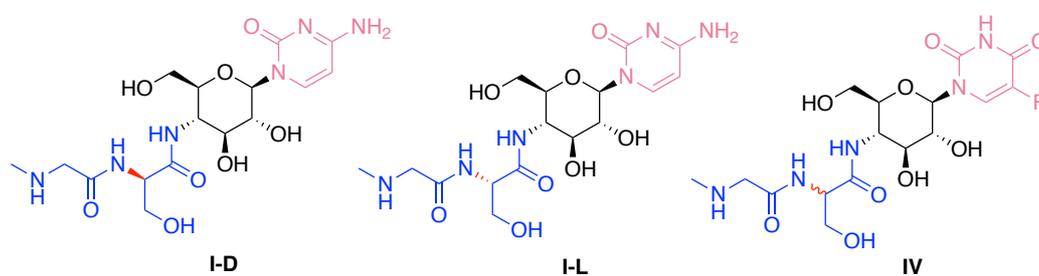
### Les nucléosides 4-aminés



*Les peptidonucléosides protégés et partiellement déprotégés*



*Les analogues I-D, I-L et IV*



## IV) Résultats biologiques



## IV.1) Introduction

L'activité antifongique des molécules d'intérêt synthétisées a été évaluée sur différents pathogènes d'importance agronomique. Pour chacun des composés évalués, deux tests ont été effectués : un test sur champignon isolé et un test sur plante. Les souches des champignons retenues pour chacun des tests constituent un panel représentatif de la plupart des maladies présentes au sein des cultures dans le monde entier.<sup>172</sup> Pour ne citer que quelques exemples, on trouve notamment des pathogènes responsables des principales maladies des céréales ou des cultures légumières. Des pathogènes pouvant attaquer le riz sont également représentés et leur contrôle représente un marché particulièrement important dans les pays d'Asie.

Afin d'illustrer nos propos, un exemple d'infestation d'une feuille de soja par le champignon *Phakopsora pachyrhizi* après 24 h d'incubation est montré sur la photo ci-dessous (Figure 29). On observe ici que le pathogène a traversé la cuticule pour envahir la couche palissadique.

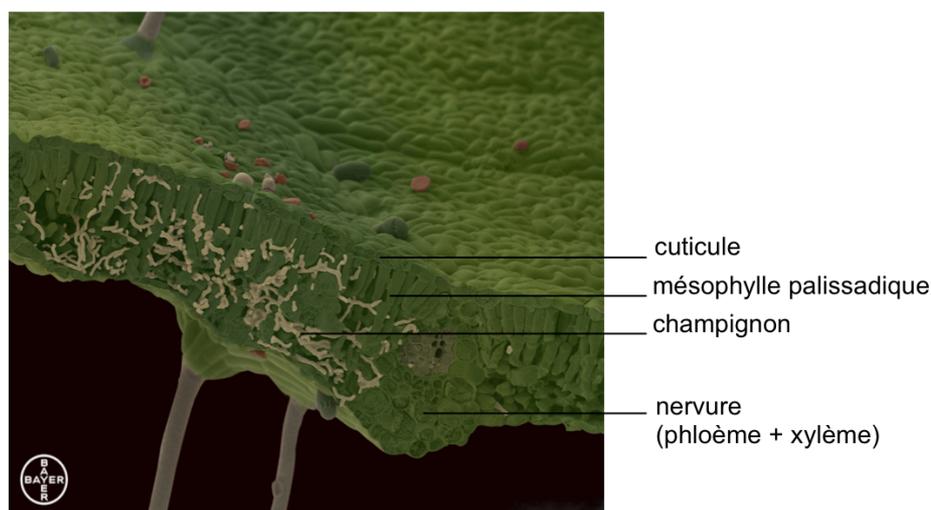


Figure 29<sup>173</sup>

<sup>172</sup> Pour des raisons de confidentialités, le nom des pathogènes utilisés pour les tests ne sont pas mentionnés ici. Chaque pathogène a été désigné par son sigle à 6 lettres dans les tableaux de résultats (code EPPO).

<sup>173</sup> Photo utilisée avec l'accord de Bayer, division CropScience. Image colorisée obtenue au microscope électronique.

#### IV.1.1) Le test sur champignon isolé

Le test sur champignon isolé est un test *in vivo*. Chaque pathogène de ce test a été inoculé dans un puits de plaque de culture cellulaire contenant le composé à tester, dilué à une certaine concentration dans un milieu de culture approprié. L'objectif de ce test est de déterminer tout d'abord si le produit-test empêche la croissance du champignon, et si tel est le cas, jusqu'à quelle concentration le fait-il, sachant que plus le produit est efficace, plus cette concentration sera minime. Après un temps d'incubation propre à chaque champignon, l'efficacité des composés est évaluée par mesure d'absorbance (Figure 30).

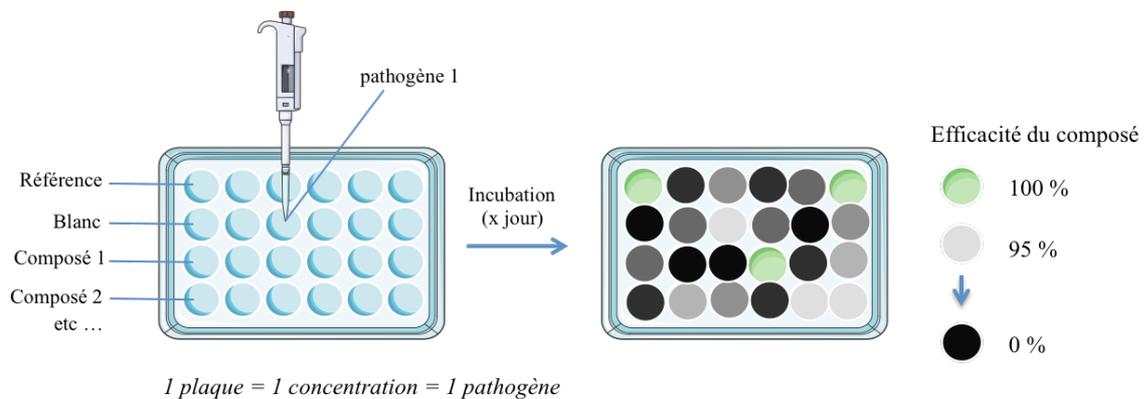


Figure 30

Plus le champignon s'est développé, et donc moins le produit-test a été efficace, plus la densité optique (DO) mesurée est élevée. La DO correspondant à chaque concentration testée est ainsi mesurée. Si un composé est actif, la courbe  $DO=f(C)$  permet de déterminer la  $DE_{50}$  du composé, c'est à dire la concentration en produit pour laquelle on observe 50 % d'inhibition de la croissance du pathogène (Figure 31).

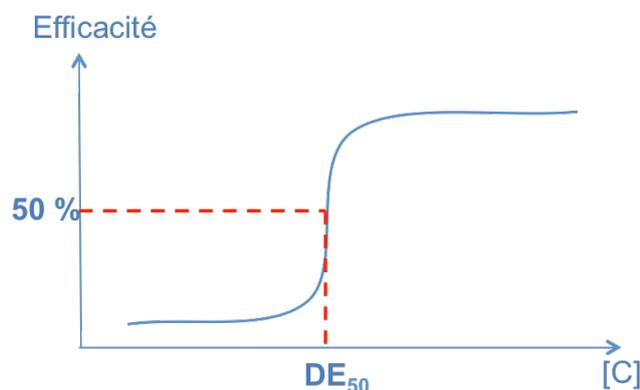


Figure 31

Ce test permet de détecter une activité en mettant en œuvre de très petites quantités de produit et donnent une première idée de l'efficacité d'un composé. Néanmoins, on mesure l'effet direct du produit sur le champignon isolé ce qui n'est pas le cas dans les conditions réelles d'utilisation des fongicides en agriculture. En effet, la plante elle-même peut représenter une barrière entre la molécule active et le champignon. De plus, la phytotoxicité du produit ne peut pas être évaluée ici.

Un deuxième test a donc été effectué sur les composés d'intérêt : le test sur plante

#### IV.1.2) Le test sur plante

Le test sur plante permet d'évaluer l'activité d'un composé directement sur une plante en culture. Il a été effectué en deux étapes : le produit à tester a tout d'abord été pulvérisé à deux concentrations différentes sur de jeunes plantes, hôtes spécifiques des pathogènes. Puis, après un temps de séchage, la plante a été contaminée par le champignon correspondant (Figure 32). L'efficacité du produit et son éventuelle phytotoxicité ont été observés visuellement après plusieurs jours d'incubation.

En plus des composés-test, chaque essai comprend également des témoins solvants négatifs qui permettent de vérifier le bon développement de la maladie ainsi que des témoins positifs (avec des fongicides commerciaux) qui permettent de valider la qualité de l'essai

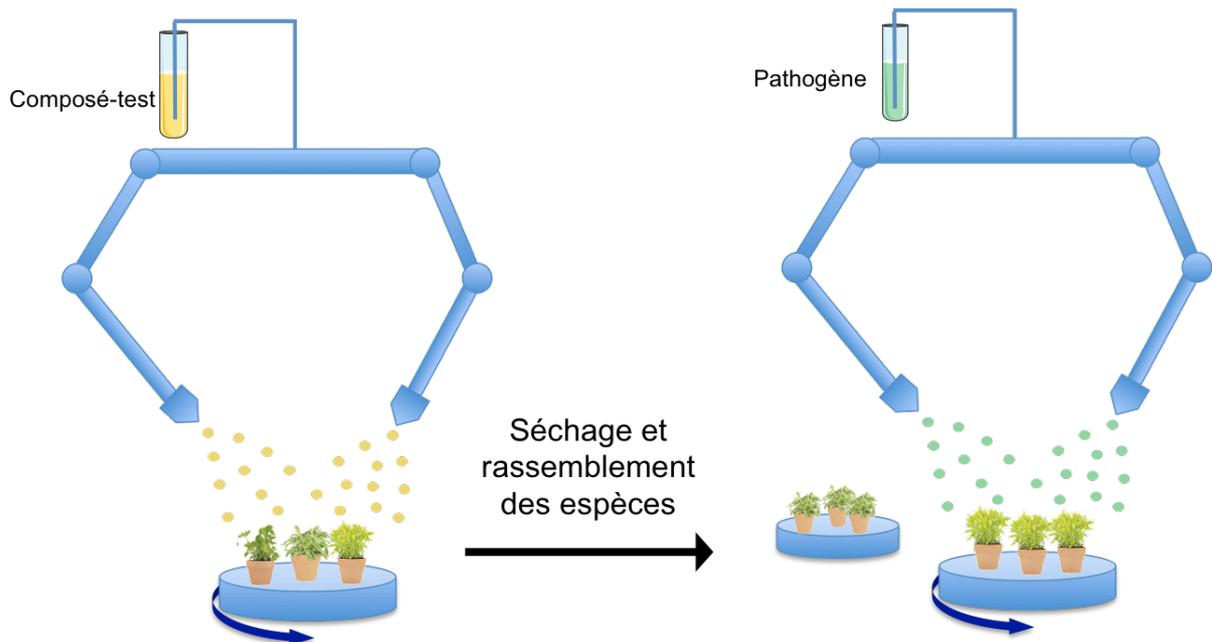


Figure 32

Au bout d'un temps d'incubation propre à chaque pathogène, les biologistes ont évalué visuellement le pourcentage de la surface de la plante infectée par rapport aux plantes témoins solvant.<sup>174</sup> A partir de ces observations visuelles, ils ont calculé un pourcentage d'efficacité du composé-test. La phytotoxicité du produit a également été observée. Celle-ci peut se manifester par des symptômes d'attaque (nécrose d'une partie ou de la totalité de la plante, chlorose) ou par des symptômes hormonaux (modification de la taille de la plante).

Le potentiel fongicide des intermédiaires et des analogues synthétisés a été évalué dans ces deux types de tests. Dans un premier temps, l'évaluation de l'activité antifongique de la gougérotine est rapportée.

## IV.2) Résultats biologiques

Tous les résultats présentés dans ce chapitre sont issus de tests dits préventifs, c'est-à-dire que le composé a été déposé sur la plante avant le pathogène.

### IV.2.1) Evaluation de l'activité antifongique de la gougérotine

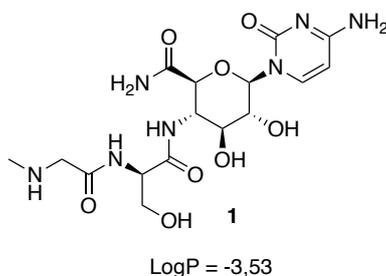


Figure 33

Dans un premier temps, l'activité antifongique de la gougérotine, représentée Figure 33, a été évaluée sur la molécule obtenue à partir de la fermentation d'une bactérie, *Streptomyces microflavius*. La gougérotine a pu être isolée à 80 % en mélange avec d'autres métabolites.<sup>3</sup> Seul le test sur plante a été réalisé ici et les résultats sont résumés dans le Tableau 12 (les pathogènes sur lesquels l'efficacité est la plus importante sont présentés).

<sup>174</sup> Pour des raisons de confidentialité, le temps d'incubation, l'âge des plantes et les symptômes observés ne sont pas communiqués ici.

[C] (ppm)	SPHRFU	UROMAP	PUCCRT	SEPTTR	PYRNTE	LEPTNO
250	<b>83 %</b>	<b>100 %</b> (30 %)	<b>100 %</b>	<b>100 %</b>	<b>86 %</b>	57 %

Tableau 12 : Gougérotine 80 % dans milieu de fermentation. Valeurs de l'efficacité (+phytotoxicité si il y a).

La gougérotine issue du milieu de fermentation est donc active sur la majorité des pathogènes fongiques testés. Elle présente cependant parfois une phytotoxicité importante, comme rapporté dans le test sur UROMAP par exemple. On peut noter que la gougérotine possède un logP très bas (-3,53)<sup>175</sup> comparé aux attentes vis à vis des composés antifongiques ( $2 < \log P < 4$ , voir partie II.4.1). Il s'agit donc d'une molécule particulièrement polaire. On peut supposer que les métabolites secondaires présents peuvent jouer le rôle d'agents pénétrants ou sont eux-mêmes actifs. D'après ces résultats, la gougérotine est une candidate potentielle pour l'élaboration d'un nouveau composé antifongique. Comme décrit dans la partie précédente, des analogues et des intermédiaires simplifiés de la gougérotine ont été synthétisés. L'évaluation de leur activité biologique est présentée dans la partie suivante.

Dans un deuxième temps, la gougérotine obtenue par voie chimique (synthétisée au laboratoire Bayer) a elle-même été évaluée. Les résultats sont présentés dans le Tableau 13.

[C] (ppm)	SPHRFU	UROMAP	PUCCRT	SEPTTR	PYRNTE	LEPTNO
250	<b>85 %</b>	9 %	0 %	<b>86 %</b>	22 %	38 %

Tableau 13 : Gougérotine obtenue par voie chimique. Valeurs de l'efficacité.

Sur un échantillon purifié, la gougérotine perd son activité sur quelques champignons comme par exemple UROMAP et PUCCRT. On suppose qu'il s'agit principalement d'un problème de biodisponibilité. La formulation du composé actif joue donc un rôle important dans son activité. Cependant, la gougérotine synthétisée reste efficace face à SPHRFU et SEPTTR.

Les résultats biologiques concernant les analogues déprotégés **I-L** et **I-D** sont présentés dans le paragraphe suivant.

<sup>175</sup> Les logP sont calculés à pH physiologique grâce au logiciel PYTHIA (logiciel Bayer).

#### IV.2.2) Evaluation de l'activité antifongique des analogues I-L et I-D

Les analogues **I-L** et **I-D** diffèrent de la gougérotine par la présence d'un alcool primaire en position 6 à la place de la fonction carboxamide. **I-L** porte un motif L-sérine au sein du dipeptide et non D-sérine comme dans le dipeptide naturel.

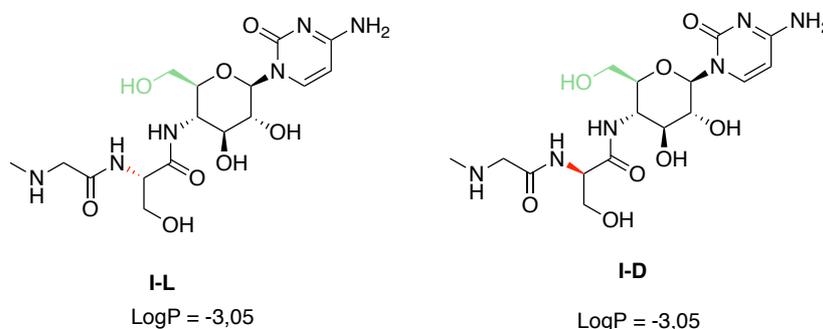


Figure 34

Les résultats du test sur champignon isolé sont résumés Tableau 14. Seules les DE<sub>50</sub> de quelques pathogènes sont présentées ici.

Composé	ALTEAL	SEPTTR	LEPTNO	PYRIOR	RHIZO
<b>I-L</b>	19 ppm	> 20 ppm	10,5 ppm	> 20 ppm	<b>7,1 ppm</b>
<b>I-D</b>	<b>6,2 ppm</b>	> 20 ppm	10,7 ppm	> 20 ppm	<b>1,7 ppm</b>

Tableau 14 : Valeurs de l'DE<sub>50</sub> pour les composés I-L et I-D

Les résultats du test sur plante sont résumés dans le Tableau 15. Seules les efficacités à 500 ppm sont décrites, soit à une concentration deux fois supérieure à celle utilisée pour la gougérotine.

Composé	[C] (ppm)	SPHRFU	UROMAP	PUCCRT	PYRNTE	BOTRCI	SEPPTR
<b>I-L</b>	500	<b>90 %</b>	11 %	67 %	25 %	45 %	<b>79 %</b>
<b>I-D</b>		<b>75 %</b>	<b>86 % (5 %)</b>	0 %	0 %	0 %	43 %

Tableau 15 : Test sur plante. Valeur de l'efficacité (+phytotoxicité si il y a) pour les analogues I-D et I-L

Le test sur plante a été réalisé ici à une concentration de 500 ppm, soit deux fois supérieure à celle utilisée pour la gougérotine. D'après ce test, les deux analogues **I-L** et **I-D** affichent respectivement une efficacité de 90 et 75 % sur SPHRFU. L'analogue **I-D** a également affiché une activité envers UROMAP (86 %) avec cependant une phytotoxicité minime (5 %).

D'après le test sur champignon isolé, les analogues sont surtout actifs sur le pathogène RHISZO ( $DE_{50} = 7,1$  et  $1,7$  ppm) et le composé **I-D** présente aussi une activité sur ALTEAL ( $DE_{50} = 6,2$  ppm).

Le remplacement de la fonction carboxamide sur la gougérotine par une fonction alcool en position 6 a donc conduit à une diminution de l'activité sauf sur SPHRFU. Dans l'ensemble, les deux analogues restent aussi efficaces l'un que l'autre et une épimérisation éventuelle du dipeptide comme observée quelques fois lors de la synthèse aura donc peu d'impact sur l'efficacité du produit. Cependant, ces résultats sont à prendre avec précaution, n'ayant été réalisés qu'une seule fois.

Le paragraphe suivant décrit les résultats biologiques obtenus avec les composés **140** et **141** et avec l'analogue déprotégé **IV**.

#### IV.2.3) Evaluation de l'activité antifongique des composés **140** et **141** et de l'analogue **IV**

Les structures des composés **IV**, **140** et **141** possèdent les trois briques moléculaires constituant la gougérotine : la base nucléique, le cycle pyranose et le dipeptide. Ce paragraphe se concentre notamment sur la modification de la nucléobase. En effet les composés **140** et **141** possèdent une cytosine substituée par un groupement 3,4-diméthylbenzyle et l'analogue **IV** voit la cytosine remplacée par la 5-fluorouracile. (Figure 35).

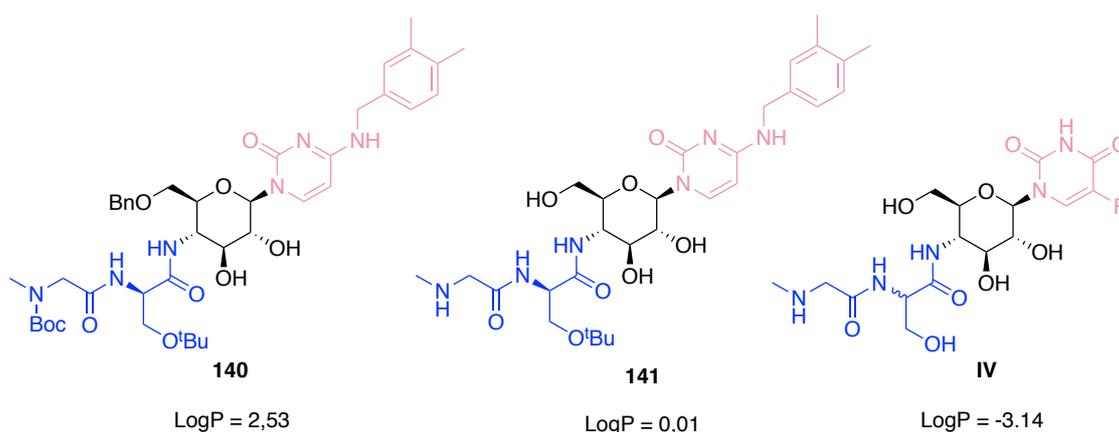


Figure 35

La position 6 des composés **140** et **141** est respectivement occupée par un éther benzylique et par une fonction alcool. Le dipeptide est totalement protégé sur le produit **140** alors que seul le groupement <sup>t</sup>Bu est présent sur le produit **141**. Il en résulte un logP plus favorable en terme

de biodisponibilité pour **140** ( $\log P = 2,53$ ) que pour **141** ( $\log P = 0,01$ ). Cependant, aucun des deux composés n'a montré une efficacité face aux pathogènes, en test sur champignon isolé et en test sur plante.

Comme mentionné au chapitre II, il a été décrit dans la littérature que le remplacement de la cytosine par la 3,4-diméthylbenzylcytosine permettait un maintien de l'activité biologique sur des analogues de la gougérotine.<sup>102</sup> Il semblerait donc que la perte d'activité antifongique observée ici soit due notamment aux groupements protecteurs présents sur le dipeptide.

Le test sur champignon isolé n'a pas été réalisé sur l'analogue **IV**. Les résultats du test sur plante sont résumés dans le tableau suivant.

Composé	[C] (ppm)	SPHRFU	UROMAP	PUCCRT	ALTEBA	BOTRCI	SEPPTR
<b>IV</b>	500	<b>80 %</b>	0 %	0 %	0 %	0 %	20 %

Tableau 16 : Test sur plante. Valeurs de l'efficacité pour l'analogue **IV**

On observe que l'analogue **IV** conserve une légère activité antifongique sur SPHRFU (80 % d'efficacité). Cependant, l'activité sur le pathogène SEPPTR est perdue (20 % d'efficacité). Le composé n'a pas d'activité sur les autres champignons. Cette perte d'activité n'est pas surprenante. Comme mentionné au chapitre II., les bases de type uracile sont capables de s'apparier avec l'adénine et non avec la guanine comme la cytosine. Elles peuvent donc présenter des sélectivités différentes. Néanmoins, ce type de bases reste intéressant pour une action contre SPHRFU.

L'évaluation biologique des nucléosides dans le paragraphe suivant vise à déterminer si une activité antifongique est observée lorsque le dipeptide est absent de la molécule.

#### IV.2.4) Evaluation de l'activité antifongique de nucléosides 4-aminés et d'intermédiaires synthétiques

Les composés **124** et **138** possèdent une fonction amine en position 4, un éther benzylique en position 6 et la cytosine est fonctionnalisée respectivement par un benzyle et par le groupement 3,4-diméthylbenzyle.

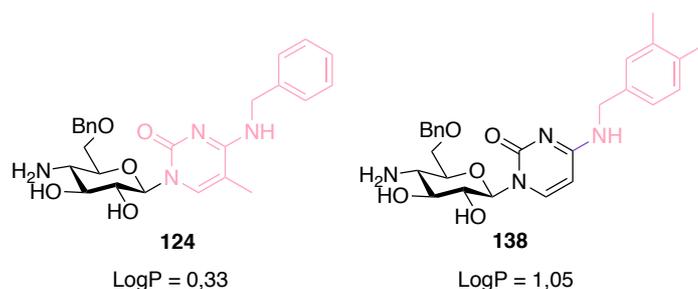


Figure 36

Cependant ces deux composés n'ont pas montré d'efficacité significative sur l'inhibition des champignons testés. La présence du dipeptide est donc primordiale à l'obtention d'une activité antifongique.

L'activité antifongique des intermédiaires synthétiques présent Figure 36 a également été évaluée. Ils sont tous substitués par une fonction azoture sur la position 4 du sucre et un éther benzylique est présent en position 6, excepté pour le composé **103a** dont la position 6 est protégée par un acétate. Les positions 2 et 3 sont protégées par des acétates exceptés sur le composé **136b'** où elles ont été déprotégées.

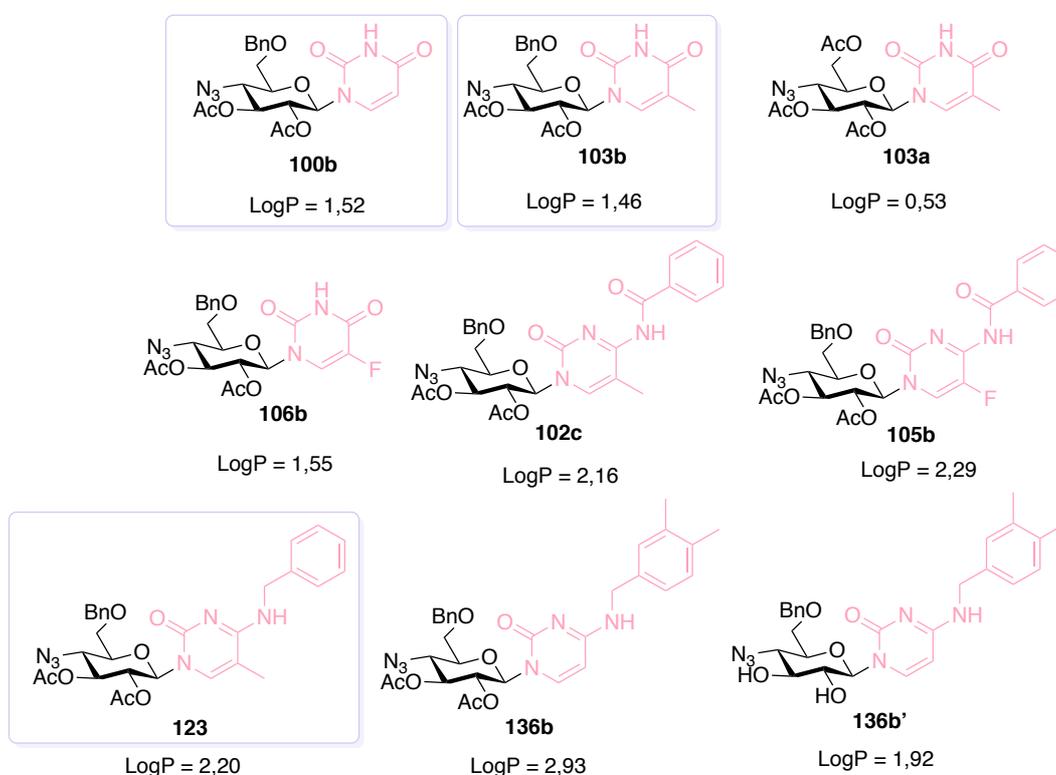


Figure 37

Tous les composés de la Figure 37 possèdent une DE<sub>50</sub> supérieure à 20 ppm, calculée avec le test sur champignon isolé. Les résultats de ce dernier ne sont donc pas détaillés ici. Les résultats du test sur plante sont résumés Tableau 17. Seules les efficacités significatives sont présentées.

Composé	[C] (ppm)	SPHRFU	UROMAP	PUCCRT	ALTEBA	BOTRCI	SEPPTR
		<b>100b</b>	83 %	0 %	0 %	0 %	0 %
<b>103b</b>	500	70 %	0 %	0 %	0 %	0 %	20 %
<b>123</b>		83 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %

Tableau 17 : Tests sur plante. Valeur de l'efficacité pour les composés représentés Figure 37.

Etonnamment, les nucléosides **100b**, **103b** et **123**, portant respectivement les bases uracile, thymine et N<sup>4</sup>-benzylcytosine, conservent une activité sur le pathogène SPHRFU même sans la présence du dipeptide. Il semblerait que l'ajout d'un fluor sur **106b** par rapport à **103b** annihile l'activité biologique. Tout comme leur analogues **124** et **138**, les composés **136b** et **136b'** portant la 3,4-diméthylbenzylcytosine montrent aucune activité. Les composés **102c** et **105b** n'affichent aucune activité non plus, certainement à cause des groupements benzoyles présents sur la base. Il serait intéressant d'évaluer l'activité des mêmes composés après déprotection de tous les groupements benzoyles et acétates (**102c'** et **105b'**, Schéma 114). Enfin, si l'on compare les composés **103a** (6-OAc), inactif, et **103b** (6-OAc), 83 % d'efficacité contre SPHRFU, il semblerait que la présence d'un éther benzylique en position 6 ait une influence bénéfique sur l'activité par rapport à un acétate. Là encore il faudrait comparer **103b** avec son analogue 6-OH.

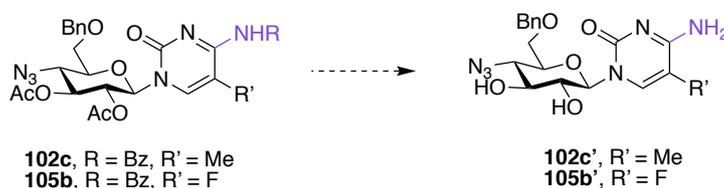


Schéma 114

L'activité observée pour les composés **100b**, **103b** et **123** qui ne possèdent pas de dipeptide, peut être due à un mode d'action différent de celui de la gougérotine. Les bases de type

uracile notamment ne possèdent pas les mêmes propriétés que la cytosine. Toutefois, ces résultats devront être reproduits plusieurs fois pour confirmer l'activité.

D'autres intermédiaires synthétiques avancés sont actuellement en test (Figure 38). Les composés **131**, **132**, **133** et **134** permettront d'observer si l'ajout du dipeptide suivi d'une déprotection partielle de la molécule restore une activité par rapport aux résultats décevants obtenus avec les nucléosides **105b** et **102c**.

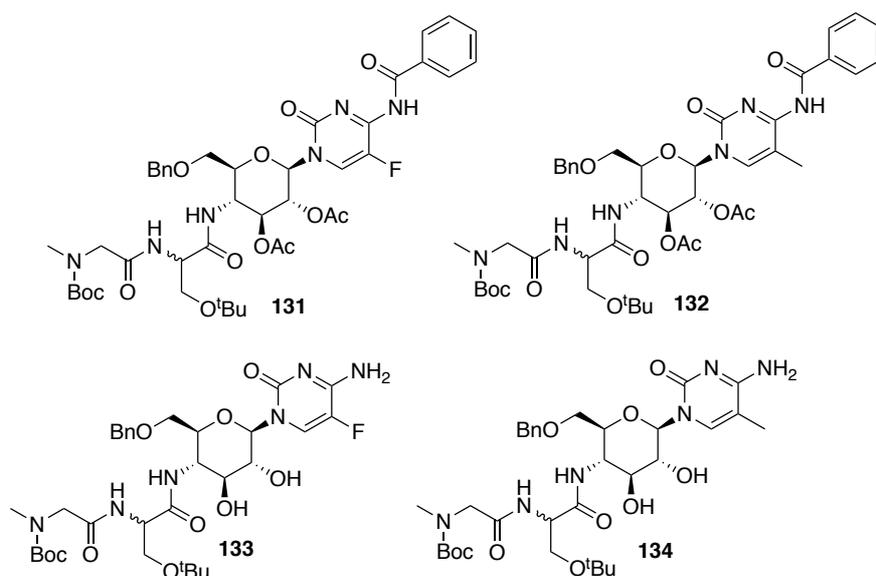


Figure 38

#### IV.2.6) Conclusion

Parmi les composés testés, quelques-uns conservent une activité antifongique intéressante, notamment sur le champignon *Sphaerotheca fulginea* (SPHRFU). Il s'agit d'un pathogène courant, responsable de l'oïdium des cucurbitacées, qui représente des opportunités de marché au niveau mondial. Ainsi, les analogues **I-L**, **I-D**, **IV** et les nucléosides **100b**, **103b** et **123** ont des efficacités comprises entre 70 et 90 % (85 % pour la gougérotine synthétisée) contre ce champignon. L'activité sur *Septoria tritici* (SEPTR), le champignon responsable de la septoriose du blé, par contre, est globalement perdue par ces composés. Grâce au test sur champignon isolé nous avons également pu observer une activité intense de l'analogue **I-D** sur le champignon *Rhizoctonia solani* (RHIZSO).

En conclusion, le remplacement de la fonction carboxamide par un alcool en position 6 du pyranose de la gougérotine a conduit à une diminution de l'activité. La présence du dipeptide déprotégé semble être nécessaire pour observer une activité antifongique même si quelques composés dépourvus de cette brique moléculaire ont montré une certaine efficacité. Dans ces cas précis, un autre mode d'action peut être envisagé. La fonctionnalisation de la cytosine par des groupements aryles conduit également à une perte d'activité, même si cela est en contradiction avec la littérature.<sup>102</sup> Des bases de type uracile comme sur l'analogue **IV** montrent une activité moindre mais sont toujours capables d'inhiber le champignon. Cependant afin d'évaluer le rôle seul de la base, il aurait été préférable de ne faire qu'un seul changement structural en conservant la fonction carboxamide en position 6. Les expériences devront être reproduites plusieurs fois afin de confirmer les résultats sur les composés ayant montré une efficacité. De plus, il pourrait être intéressant d'identifier les métabolites issus de la fermentation de la bactérie *Streptomyces microflavius* présents avec la gougérotine et qui permettent d'obtenir un spectre d'activité antifongique important.

## V) Conclusion générale



L'objectif de ce travail était de synthétiser une famille d'analogues de la gougérotine afin d'optimiser l'activité antifongique de cette dernière. Les principales modifications structurales envisagées concernaient la base nucléique, avec l'introduction de différentes pyrimidines à la place de la cytosine naturelle : la 5-fluoro- et la 5-méthylecytosine, la 3,4-diméthylbenzylcytosine, la thymine ou encore la 5-fluorouracile. La fonction carboxamide en position 6 du sucre et la stéréochimie du dipeptide ont également fait l'objet de modifications (Figure 39).

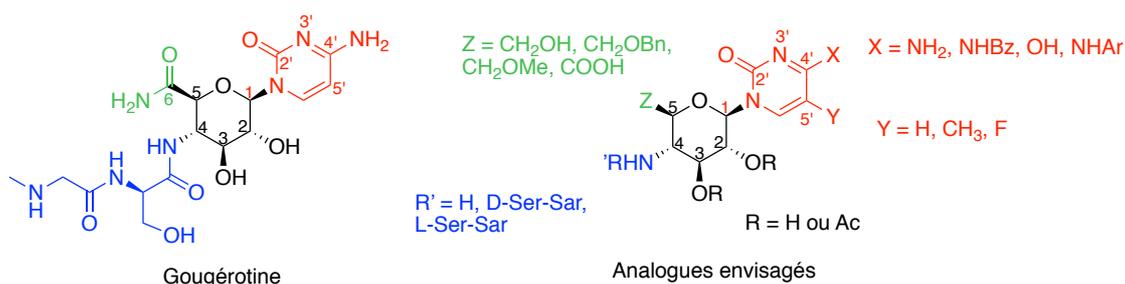


Figure 39

Une synthèse robuste, flexible et efficace a donc été mise en place afin d'accéder à ces analogues. Dans un premier chapitre, nous avons présenté un état de l'art concernant la *N*-glycosylation, une réaction au cœur de la synthèse des peptidonucléosides. Celle-ci a couramment lieu dans les conditions de Vorbrüggen, en utilisant une base silylée en association avec un acide de Lewis en quantité stœchiométrique.<sup>37,38</sup> Les donneurs généralement employés sont substitués par un groupement acétate en position anomérique et sont de type furanique. En s'inspirant des travaux de la littérature, nous avons synthétisé trois donneurs pyranosides afin d'effectuer une étude méthodologique de *N*-glycosylation lors de la synthèse des analogues : un donneur acétate **62**, un donneur sulfoxyde **63**, peu représenté dans la littérature, et un donneur orthohexynylbenzoate **64** permettant la mise en place de conditions de glycosylation catalysée à l'or (I) (Figure 40).<sup>68</sup>

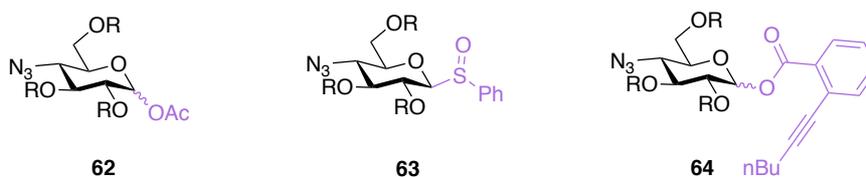


Figure 40

Profitant des travaux antérieurs du laboratoire,<sup>116,118</sup> des protections régiosélectives monotopes ont été effectuées à l'aide de différents acides de Lewis en quantité catalytique

lors de la synthèse des trois donneurs. A partir de l' $\alpha$ -D-méthylgalactopyranoside persilylé, le composé **66b** a été obtenu avec des rendements allant de 15 à 55 % et l'utilisation de TMSOTf comme catalyseur a permis d'accéder aux meilleurs résultats (Schéma 115). Cette procédure est prometteuse et l'étape d'ouverture réductrice du benzylidène devra être intégrée à cette série de protections régiosélectives.

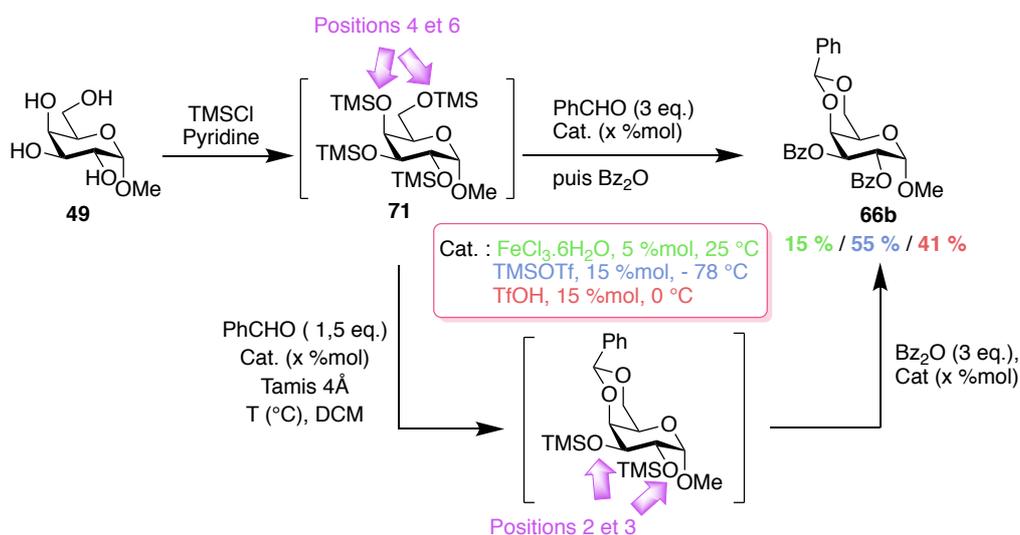


Schéma 115

Durant l'étape de *N*-glycosylation, six pyrimidines différentes ont été glycosylées avec les trois donneurs **62**, **63** et **64** (Figure 41). Le donneur sulfoxyde **63** en association avec TMSOTf comme promoteur a conduit le plus généralement aux meilleurs rendements. Cette méthode permet notamment de s'affranchir de l'utilisation de 3 équivalents de SnCl<sub>4</sub>, couramment employés dans les glycosylations de type Vorbrüggen. Néanmoins, la glycosylation catalysée à l'or (I), même si elle a donné des résultats mitigés avec certaines pyrimidines, représente une bonne alternative aux conditions de Vorbrüggen, notamment grâce à l'utilisation d'un promoteur en quantité catalytique. D'autres méthodes peu exploitées, comme la glycosylation catalysée aux acides de Brønsted et l'application en chimie de flux pourraient être envisagées dans des réactions de *N*-glycosylation entre des bases pyrimidines ou purines et des donneurs pyranosides.<sup>63</sup>

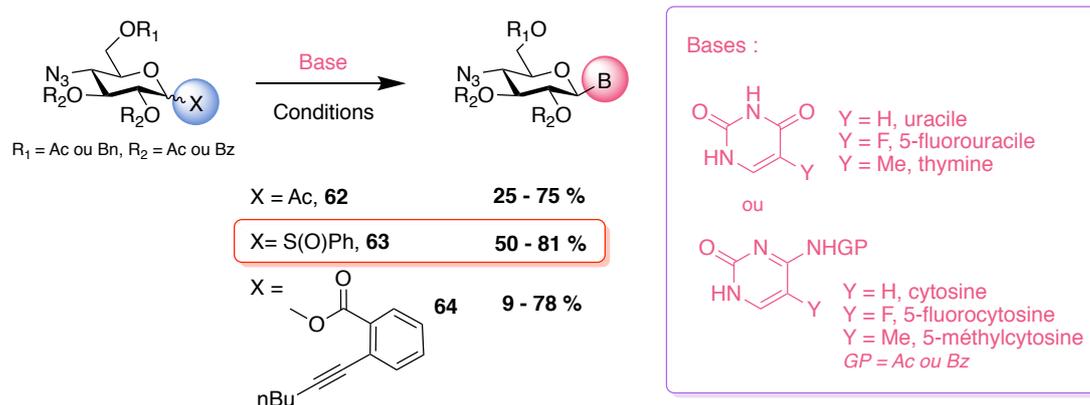


Figure 41

Après la glycosylation, la synthèse a divergé pour chacun des analogues. Chaque nucléoside a été couplé au dipeptide **108** après réduction de leur fonction azoture. Les déprotections finales ont parfois été fastidieuses et ont conduit à la dégradation de certains analogues (Schéma 116). Cependant, les analogues finaux **I-L**, **I-D** et **IV** ont été obtenus et de nombreux intermédiaires synthétiques avec des fonctionnalités avancées, issus des synthèses de chaque analogue envisagé, ont également pu être testés.

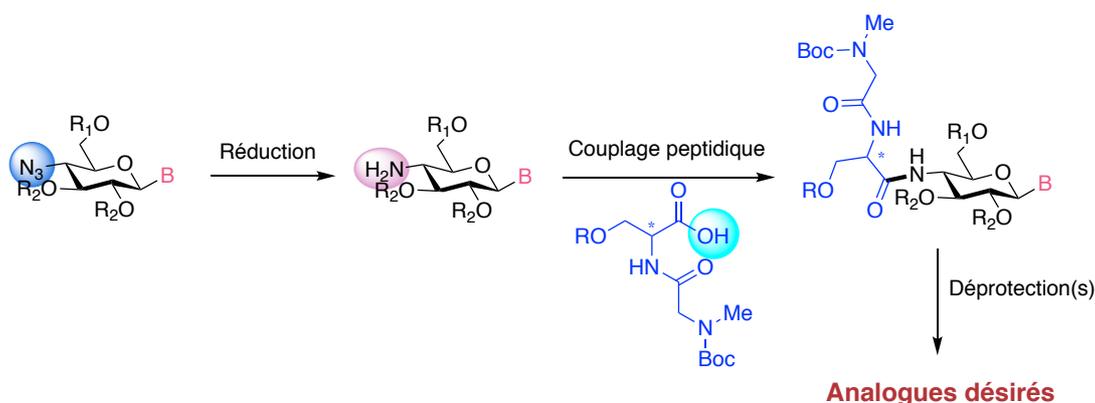


Schéma 116

Même s'ils n'ont pas conduit à de meilleurs résultats biologiques que la gougérotine elle-même, les analogues **I-L**, **I-D** et **IV** et les composés **100b** et **123** ont montré une activité intéressante sur le pathogène *Sphaerotheca fulginea* (SHRFU), responsable notamment de l'oïdium qui touche de nombreuses plantes et notamment les cucurbitacées.

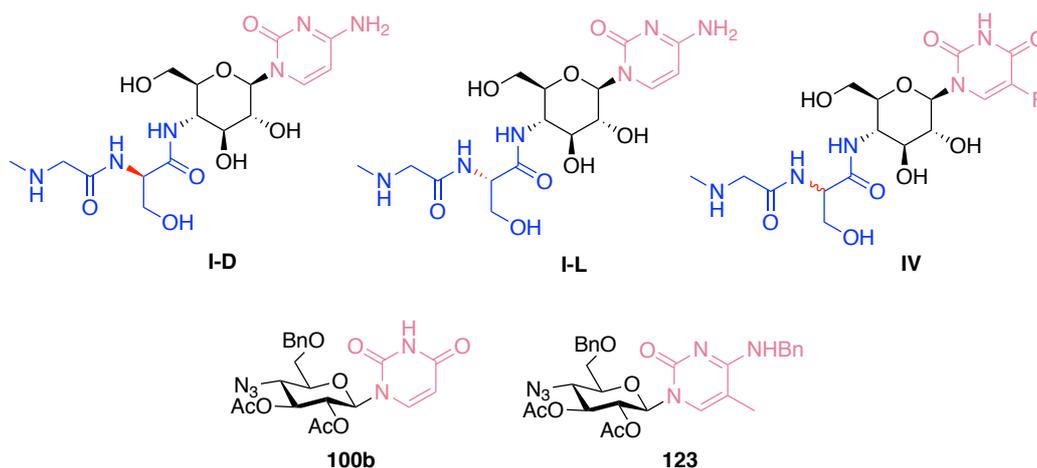


Figure 42

Concernant les autres analogues, la synthèse est à un stade avancé et seules des ultimes étapes de déprotections doivent être conduites pour accéder aux composés désirés. Les composés **140** et **141** ont été testés mais n'ont pas montré d'activité (Schéma 117). L'analogue **VI** pourrait être obtenu rapidement après débenzylation, oxydation et des étapes de déprotection.

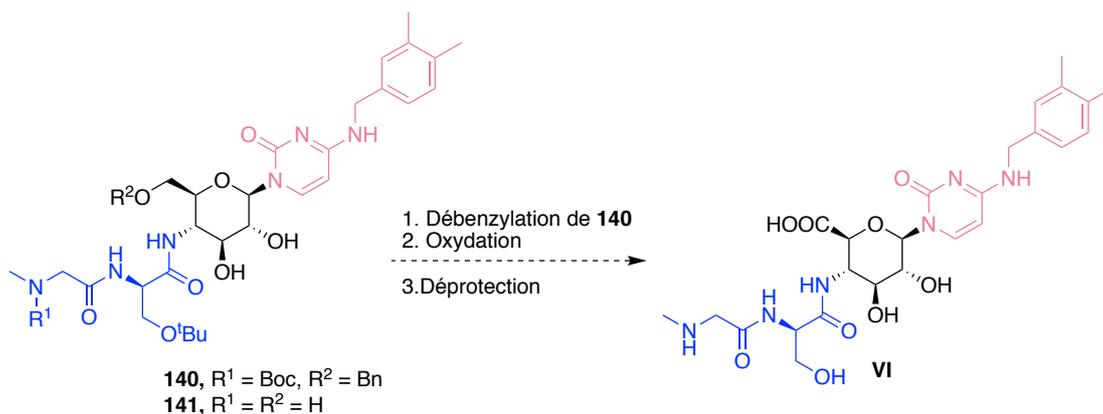


Schéma 117

Les composés **133** et **134** sont actuellement en test (Schéma 118). Quelques étapes supplémentaires à partir de ces composés permettront d'accéder aux analogues **II** et **III**.

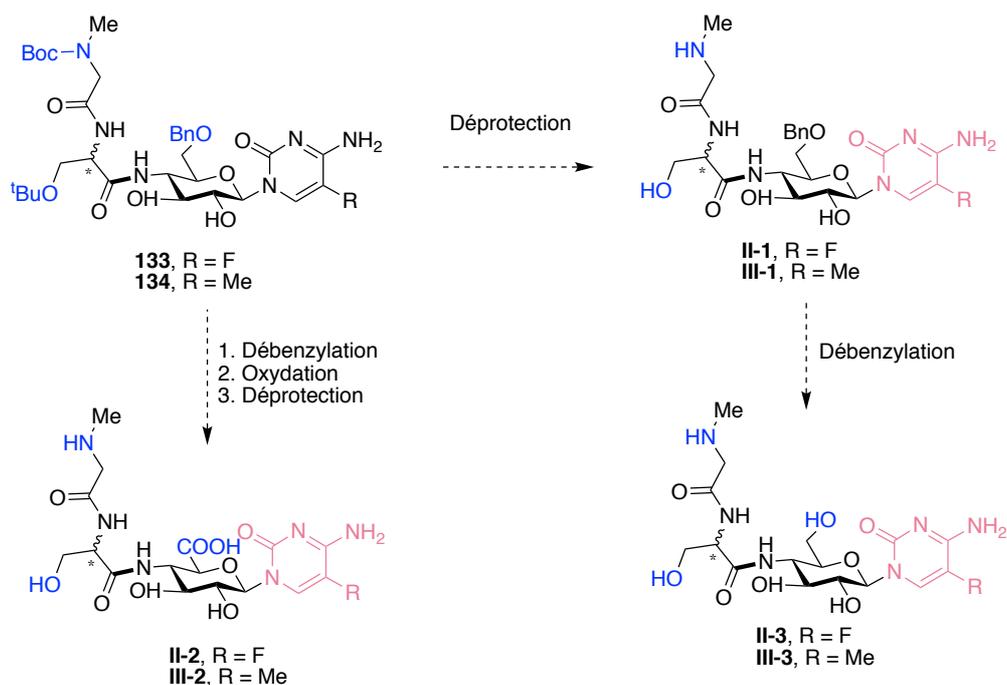


Schéma 118

Bien que leur synthèse se révèle parfois compliquée, les dérivés saccharidiques constituent une famille de molécules particulièrement intéressante pour la défense des plantes. Nous avons vu que quelques peptidonucléosides naturels, tout comme la gougérotine, possèdent des propriétés antifongiques et certains comme la blasticidine S ont même été commercialisés. La tendance actuelle de la recherche en agrochimie tend vers l'utilisation non plus de produits de synthèse mais de molécules naturelles ou d'organismes vivants capables de stimuler la défense de la plante ou de favoriser des interactions biologiques naturelles comme par exemple la mycorhization, une symbiose plante-champignons (non pathogène) qui correspond à un échange d'éléments bénéfiques entre la plante et le micro-organisme. Cette mycorhization peut être notamment promue par des facteurs de mycorhization qui sont des oligosaccharides lipophiles, ou encore par des hormones végétales comme les strigolactones.<sup>176</sup>

<sup>176</sup> (a) Whipps, J. M. *Canadian Journal of Botany* **2004**, 82, 1198-1227. (b) Li, H.-Y.; Yang, G.-D.; Shu, H.-R.; Yang, Y.-T.; Ye, B.-X.; Nishida, I.; Zheng, C.-C. *Plant and Cell Physiology* **2006**, 47, 154-163. (c) Pozo, M. J.; Azcón-Aguilar, C. *Current Opinion in Plant Biology* **2007**, 10, 393-398.



## VI) Experimental section



## VI.1.) General informations

All non-aqueous reactions were run under an inert atmosphere (argon), by using standard techniques for manipulating air-sensitive compounds and the glassware was stored in the oven prior to use. All reagents and solvents were commercially available and were used without further purification. Molecular sieves 4 Å were used as a powder and were activated overnight at 250 °C and under reduce pressure, in a Kugelrohr apparatus or with a microwave for 45 seconds. Reactions were monitored with analytical Merck TLC silica gel 60 F254 plates and visualized under UV (254 nm) and stained with KMNO<sub>4</sub> or Vanillin. Column chromatography was done with Merck Geduran silical gel Si 60 (40-63 µm) and Redisep Rf columns (silica gel Si 60 , 40-63 µm) on an Interchim puriFlash<sup>®</sup> apparatus and on a Teledyne Isco combiflash Rf. Preparative thin-layer chromatography was performed on silica gel 60 F254 0.5 mm 20 × 20 cm plates and visualised under UV (254 nm). Preparative HPLC were performed with Gilson PLC 2020 system. Deuterated chloroform used for NMR analyses was generally neutralized by addition of anhydrous and granular K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. NMR spectra were recorded with AM 300, AVANCE 300 and AVANCE 500 Brüker spectrometers. Chemical shifts are given in parts per million, referenced to the solvent peak of CDCl<sub>3</sub>, defined at 77.2 ppm (<sup>13</sup>C NMR) and 7.26 ppm (<sup>1</sup>H NMR) or to the solvent peak of MeOD, defined at 49.9 ppm (<sup>13</sup>C NMR) and 3.34 ppm (<sup>1</sup>H NMR) or to the solvent peak of D<sub>2</sub>O, defined at 4.79 ppm (<sup>1</sup>H NMR) or to the solvent peak of DMSO-d<sub>6</sub>, defined at 39.5 ppm (<sup>13</sup>C NMR) and 2.50 ppm (<sup>1</sup>H NMR). Data are reported as follow : chemical shifts, multiplicity (s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet, m = multiplet, bs = broad singlet), coupling constant (in Hz) and integration. IR spectra were recorded on a Perkin-Elmer Spectrum BX instrument with an FT-IR system. Optical rotation were measured on an Anton Paar MCP300 polarimeter using a cell of 1dm-length path. Mass spectra were recorded with Waters Micromass LCT Premier mass spectrometer.

## VI.2) General procedures for chemical reactions

### General Procedure (A) for the azide introduction.

The galactopyranose (1 eq.) is coevaporated 2 times with toluene and then diluted in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (C = 0.1 M) under argon atmosphere. Pyridine (11 eq.) was added and the mixture cooled to 0 °C. Triflic anhydride (2 eq.) was added and the mixture stirred for 90 min at 0 °C. The mixture was quenched by addition of 10 % aqueous NaHCO<sub>3</sub> solution, the phases were

separated and the organic layer was extracted with 3% hydrochloric acid (3 x), with water (1 x), dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and was concentrated under vacuum. The resulting crude product was coevaporated with toluene (3 x) to remove all traces of pyridine and dried for 1 h under vacuum. The yellow residue was dissolved in dry DMF, sodium azide (12 eq.) was added, and the reaction mixture was stirred overnight. The mixture was diluted with water and AcOEt and the phases were separated. The organic phase was washed with brine (3 x), dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt) to afford the clean glucopyranose.

### **General Procedure (B) for Vorbrüggen glycosylation.**

To a stirred solution of the nitrogen base (1.6 eq.) in dry solvent under argon atmosphere was added BSA (4 eq.). The resulting mixture was heated at 60 °C for 1 h and then cooled to room temperature. The donor (1 eq.) was added followed by promotor (SnCl<sub>4</sub>, 3 eq. or TMSOTf, 1.5 eq.). The resulting mixture was refluxed overnight and then quenched with aqueous saturated NaHCO<sub>3</sub>. The aqueous phase was extracted with AcOEt (5 x). The organic layers were combined, washed with NaCl, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The residue was purified by flash chromatography on silica gel to afford the clean product.

### **General Procedure (C) for peptide coupling.**

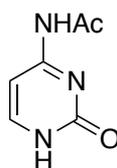
The solution 1 was prepared with Na (10 mg) in dry MeOH (2 mL, C = 0.22 M). To a stirred solution of the corresponding protected nucleoside (1 eq.) in dry MeOH (C = 0.06 M) was added the solution 1 (x %mol of Na). The resulting mixture was stirred at room temperature for 1 h and then neutralized with Dowex® H<sup>+</sup>, filtered on celite and concentrated under reduce pressure to afford clean product without further purification. The obtained product was then hydrogenated at atmospheric pressure in the presence of Pd(OH)<sub>2</sub> (40 %w/w) in MeOH (C = 0.1 M) for 12 h. The resulting mixture was then filtered on celite® and concentrated under reduced pressure to afford the clean corresponding amine which still doesn't need purification. To a stirred solution of the resulting amine (1 eq.) in DMF (C = 0.06 M) was added the dipeptide (1.3 eq.) and DIPEA (4 eq.). After 1 min, HATU (1.5 eq.) was added and the resulting mixture was stirred at room temperature for 18 h. Solvent was removed and the crude product was purified by flash chromatography on silica gel to afford the clean product.

### General Procedure (D) for deprotection.

To a stirred solution of the protected analogue (1 eq.) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (2 :1, C = 0.1 M) was added a solution of 4M HCl in dioxane (50 eq.). The resulting mixture is stirred at room temperature for 2 days and then diluted with H<sub>2</sub>O and then neutralized with DOWEX<sup>®</sup> MONOSPHERE<sup>®</sup> 550A (OH) anion exchange resin (previously regenerated with NaOH 1M and H<sub>2</sub>O MQ). The mixture was filtered on celite and then concentrated under vacuum. The crude product was purified by preparative TLC (H<sub>2</sub>O/EtOH/AcOEt, pH = 9) to afford clean analogue.

## VI.3) Characterisations

### *N*-acetylcytosine **51**

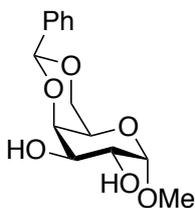


Chemical Formula: C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  
Molecular Weight: 153,14

To a stirred solution of cytosine (500 mg, 4.5 mmol, 1 eq.) in pyridine (2.5 mL) was added acetic anhydride (2.1 mL, 22.05 mmol, 5.0 eq.). The resulting mixture was stirred overnight at room temperature then diluted with AcOEt (2.0 mL) and stirred again for 30 min at room temperature. The resulting white solid was filtered, washed with AcOEt (15 mL), coevaporated with toluene and dried under vacuum to afford clean product **51** (678 mg, 4.43 mmol, 98 %) as a white solid (Experimental data are in agreement with those reported in the literature).<sup>177</sup>

<sup>177</sup> Shalom, Y.; Blum, J.; Harvey, R. G. *J.Heterocycl. Chem.* **1996**, *33*, 681.

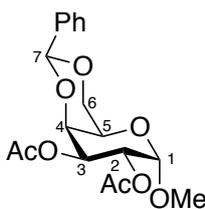
### Methyl 4,6-*O*-benzylidene- $\alpha$ -D-galactopyranoside **65**



Chemical Formula: C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>  
Molecular Weight: 282,29

To a suspension of methyl- $\alpha$ -D-galactopyranoside (5.0 g, 25.75 mmol, 1.0 eq.) and camphor-10-sulfonic acid (119.6 mg, 0.52 mmol, 0.02 eq.) in dry chloroform (400 mL) under argon atmosphere was added dropwise benzaldehyde dimethyl acetal (5.4 mL, 36.05 mmol, 1.4 eq.). The resulting mixture was stirred for 24 h at 80 °C. Solvent was then removed and the residue was diluted in AcOEt (75 mL), neutralized with triethylamine then washed with water (75 mL). Aqueous phase was extracted with AcOEt (10 x 50 mL). The organic layers were combined, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under reduced pressure to afford the clean product **65** (6.52 g, 23.12 mmol, 90 %) as a white powder (Experimental data are in agreement with those reported in the literature).<sup>178</sup>

### Methyl 2,3-di-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene- $\alpha$ -D-galactopyranoside **66a**



Chemical Formula: C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub>  
Molecular Weight: 366,37

To a stirred solution of **65** (2.47 g, 8.76 mmol, 1 eq.) in pyridine (14 mL) was added acetic anhydride (6.62 mL, 70.1 mmol, 8 eq.). The resulting mixture was stirred at room temperature for 12 h. Solvent was then removed and the residue was co-evaporated with toluene (3 x). The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 70:30 to 60:40) to afford product **66a** (3.20 g, 8.74 mmol, quantitative) as a white powder.

<sup>178</sup> Tamiya, M.; Ohmori, K.; Kitamura, M.; Kato, H.; Arai, T.; Oorui, M.; Suzuki, K. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 9791-9823.

$[\alpha]_D^{25} + 202,3$  ( $c = 0.6$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

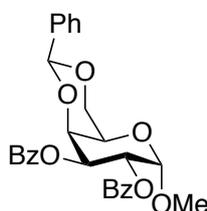
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.53-7.46 (m, 2H,  $H_{Ar}$ ), 7.41-7.31 (m, 3H,  $H_{Ar}$ ), 5.50 (s, 1H,  $H7$ ), 5.35 (dd, 1H,  $J_{2,1} = 3.0$  Hz,  $J_{2,3} = 10.5$  Hz,  $H2$ ), 5.30 (dd, 1H,  $J_{3,4} = 2.5$  Hz,  $J_{3,2} = 10.5$  Hz,  $H3$ ), 5.07 (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.0$  Hz,  $H1$ ), 4.45 (d, 1H,  $J_{4,3} = 2.5$  Hz,  $H4$ ), 4.27 (dd, 1H,  $J_{6,5} = 1.5$  Hz,  $J_{6,6'} = 12.5$  Hz,  $H6$ ), 4.05 (dd, 1H,  $J_{6',5} = 1.5$  Hz,  $J_{6',6} = 12.5$  Hz,  $H6'$ ), 3.74 (m, 1H,  $H5$ ), 3.40 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.07 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2.06 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.9 (C=O), 170.4 (C=O), 137.7 ( $C_q$ ,  $C_{Ar}$ ) 129.2 (CH,  $C_{Ar}$ ), 128.4 (CH,  $C_{Ar}$ ), 126.4 (CH,  $C_{Ar}$ ), 101.1 (C7), 98.0 (C1), 74.1 (C4), 69.3 (C6), 68.8 (C3), 68.3 (C2), 62.2 (C5), 55.7 ( $\text{OCH}_3$ ), 21.2 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 21.1 ( $\text{OCOCH}_3$ ).

**ESIHRMS**  $m/z = 389.1214$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .  $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{Na}$  requires 389.1212.

**IR v (film,  $\text{cm}^{-1}$ )** 2914 (=C-H), 2866 ( $\text{CH}_3$ ), 1746 (C=O).

### Methyl-2,3-di-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene $\alpha$ -D-galactopyranoside **66b**

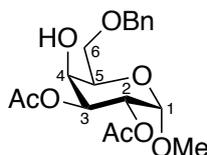


Chemical Formula:  $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{O}_8$   
Molecular Weight: 490,51

To stirred solution of **65** (3.0 g, 10.64 mmol, 1.0 eq.) in dry pyridine (14 mL) under argon atmosphere at 0 °C was added dropwise benzoyl chloride (3.7 mL, 31.91 mmol, 3.0 eq.) then 4-dimethylaminopyridine (130 mg, 1.06 mmol, 10 mol%). The resulting mixture was stirred overnight allowing the temperature to raise 20 °C. Solvent was then removed and co-evaporated with toluene (3 x). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 95:5 to 20:80) to afford product **66b** (4.88 g, 10.16 mmol, 94%) as a white powder (Experimental data are in agreement with those reported in the literature).<sup>179</sup>

<sup>179</sup> Pádár, P.; Bokros, A.; Paragi, G.; Forgó, P.; Kele, Z.; Howarth, N. M.; Kovács, L. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8669-8672.

## Methyl 2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-galactopyranoside **67a**



Chemical Formula: C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>8</sub>  
Molecular Weight: 368,38

A solution of **66a** (2.72 g, 7.4 mmol, 1 eq.) and 4Å molecular sieves (5 g) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) was stirred for 1 h at room temperature under argon atmosphere. Then, the mixture was cooled to -78 °C and Et<sub>3</sub>SiH (1.18 mL, 7.4 mmol, 1 eq.) and TfOH (330 μL, 3.7 mmol, 0.5 eq.) were added successively. After being stirred for 15 min at -78 °C, Et<sub>3</sub>SiH (1 eq.) and TfOH (0.5 eq) were added again. After 15 min on same conditions, news additions of Et<sub>3</sub>SiH (0.5 eq.) and TfOH (0.5 eq.) were done. Finally, after again 15 min, a final addition of TfOH (0.5 eq.) was realized. The resulting mixture was stirred at -78°C for 30 min then diluted with CHCl<sub>3</sub> (10 mL) and poured in saturated aqueous solution of sodium bicarbonate (40 mL). The organic layer was extract with CHCl<sub>3</sub> (3x25 mL), dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 90:10 to 60:40) to afford the clean product **67a** (1.52 g, 4.1 mmol, 56 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} +119,6$  ( $c = 0,9$ , CHCl<sub>3</sub>)

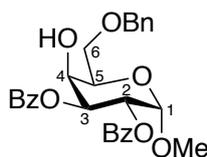
**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.36-7.26 (m, 5H,  $H_{Ar}$ ), 5.30 (dd, 1H,  $J_{2,1} = 3.0$  Hz,  $J_{2,3} = 10.5$  Hz,  $H2$ ), 5.24 (dd, 1H,  $J_{3,4} = 2.5$  Hz,  $J_{3,2} = 10.5$  Hz,  $H3$ ), 5.00 (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.0$  Hz,  $H1$ ), 4.60 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz,  $CH_2Ph$ ) 4.54 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz,  $CH_2Ph$ ), 4.24 (m, 1H,  $H4$ ), 3.97 (t, 1H,  $J_{5,4} = J_{5,6} = 4.5$  Hz,  $H5$ ), 3.78 (dd, 1H,  $J_{6,5} = 4.5$  Hz,  $J_{6,6} = 10.0$  Hz,  $H6$ ), 3.73 (dd, 1H,  $J_{6,5} = 4.5$  Hz,  $J_{6,6} = 10.0$  Hz,  $H6'$ ), 3.38 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 3.01 (bs, 1H,  $OH$ ), 2.08 (s, 3H,  $OCOCH_3$ ), 2.06 (s, 3H,  $OCOCH_3$ ).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.6 (C=O), 170.3 (C=O), 137.5 (Cq,  $C_{Ar}$ ), 128.7 (CH,  $C_{Ar}$ ), 128.1 (CH,  $C_{Ar}$ ), 127.9 (CH,  $C_{Ar}$ ), 97.6 (C1), 74.1 ( $CH_2Ph$ ), 70.4 (C2), 70.4 (C6), 69.4 (C4), 68.5 (C3), 68.1 (C5), 55.6 ( $OCH_3$ ), 21.2 ( $OCOCH_3$ ), 21.1 ( $OCOCH_3$ ).

ESIHRMS  $m/z = 391.1369$   $[M+Na]^+$ .  $C_{18}H_{24}O_8Na$  requires 391.1369.

IR  $\nu$  (film,  $cm^{-1}$ ) 3466 (O-H), 2934 (=C-H), 1738 (C=O).

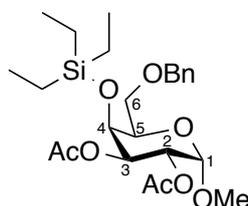
### Methyl 2,3-di-*O*-benzoyl-6-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-galactopyranoside 67b



Chemical Formula:  $C_{28}H_{28}O_8$   
Molecular Weight: 492,52

A solution of **66b** (35 mg, 0.07 mmol, 1 eq.) and 4Å molecular sieves (250 mg) in dry  $CH_2Cl_2$  (0.9 mL) was stirred for 1 h at room temperature under argon atmosphere. Then, the mixture was cooled to  $-78$  °C and  $Et_3SiH$  (37  $\mu$ L, 0.23 mmol, 3.25 eq.) and TfOH (18  $\mu$ L, 0.21 mmol, 2.9 eq.) were added successively. After being stirred for 1 h at  $-78$  °C,  $Et_3N$  (170  $\mu$ L) and MeOH (170  $\mu$ L) were added successively and the mixture was diluted with  $CHCl_3$  (2 mL) and washed with aqueous saturated  $NaHCO_3$  (2 mL). The organic layer was dried over  $Na_2SO_4$ , filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 90:10 to 80:20) to afford the clean product **66b** (30 mg, 0.06 mmol, 85 %) as a colorless oil (NMR data are in agreement with those reported in the literature).<sup>180</sup>

### Methyl 2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-4-tri-ethylsilyl- $\alpha$ -D-galactopyranoside 69



Chemical Formula:  $C_{24}H_{38}O_8Si$   
Molecular Weight: 482,65

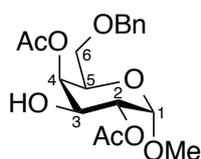
<sup>180</sup> Nokami, T.; Werz, D. B.; Seeberger, P. H. *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 2823-2831.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.41-7.26 (m, 5H, *H*<sub>Ar</sub>), 5.34-5.25 (m, 2H, *H*<sub>2</sub>, *H*<sub>3</sub>), 4.95 (bs, 1H, *H*<sub>1</sub>), 4.62-4.50 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Ph) 4.19 (bs, 1H, *H*<sub>4</sub>), 4.00 (t, 1H, *J*<sub>5,4</sub> = *J*<sub>5,6</sub> = 6.0 Hz, *H*<sub>5</sub>), 3.70-3.50 (m, 2H, *H*<sub>6</sub>, *H*<sub>6'</sub>), 3.40 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.08 (s, 6H, OCOCH<sub>3</sub>), 0.96 (t, 9H, *J*<sub>H,H</sub> = 8.0 Hz, CH<sub>3</sub>), 0.61 (q, 6H, *J*<sub>H,H</sub> = 8.0 Hz, CH<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.6 (C=O), 170.2 (C=O), 138.0 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 128.6 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 97.5 (C<sub>1</sub>), 73.7 (CH<sub>2</sub>Ph), 70.5 (C<sub>2</sub>), 69.8 (C<sub>4</sub>), 69.5 (C<sub>5</sub>), 69.0 (C<sub>6</sub>), 68.7 (C<sub>3</sub>), 55.4 (OCH<sub>3</sub>), 21.2 (OCOCH<sub>3</sub>), 21.1 (OCOCH<sub>3</sub>), 7.1 (CH<sub>3</sub>), 5.2 (CH<sub>2</sub>).

**ESIHRMS** *m/z* = 505.2213 [M+Na]<sup>+</sup>. C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub>SiNa requires 505.2234.

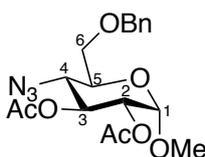
### Methyl 2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-galactopyranoside 70



Chemical Formula: C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>8</sub>  
Molecular Weight: 368,38

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.39-7.27 (m, 5H, *H*<sub>Ar</sub>), 5.42 (d, 1H, *J*<sub>1,2</sub> = 3.0 Hz, *H*<sub>4</sub>), 4.99 (dd, 1H, *J*<sub>2,1</sub> = 3.5 Hz, *J*<sub>2,3</sub> = 10.0 Hz, *H*<sub>2</sub>), 4.95 (d, 1H, *J*<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, *H*<sub>1</sub>), 4.95 4.57 (d, 1H, *J*<sub>H,H</sub> = 12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph) 4.45 (d, 1H, *J*<sub>H,H</sub> = 12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.25-4.15 (m, 1H, *H*<sub>3</sub>), 4.13-4.05 (m, 1H, *H*<sub>5</sub>), 3.53 (s, 1H, *H*<sub>6</sub>), 3.51 (s, 1H, *H*<sub>6'</sub>), 3.40 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.27 (d, 1H, *J*<sub>OH,H3</sub> = 5.0 Hz, OH), 2.14 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 2.09 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>).

### Methyl 2,3-di-*O*-acetyl-4-azido-6-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside 75a



Chemical Formula: C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>  
Molecular Weight: 393,40

The General Procedure (A) was followed using **67a** (77 mg, 0.209 mmol), pyridine (0.18 mL, 2.29 mmol) and Tf<sub>2</sub>O (70 μL, 0.418 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL) then NaN<sub>3</sub> (332 mg, 5.12 mmol) in dry DMF (2.4 mL). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 90:10 to 80:20) to afford product **75a** (69 mg, 0.175 mmol, 84 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} +136.2$  ( $c = 0.6$ , CHCl<sub>3</sub>).

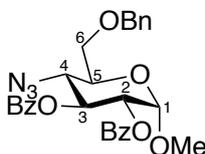
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.39-7.26 (m, 5H, H<sub>Ar</sub>), 5.41 (t, 1H,  $J_{3,2} = 10.0$  Hz, H<sub>3</sub>), 4.91 (d, 1H,  $J_{1,2} = 4.0$  Hz, H<sub>1</sub>), 4.85 (dd, 1H,  $J_{2,1} = 4.0$  Hz,  $J_{2,3} = 10.0$  Hz, H<sub>2</sub>), 4.65 (d, 1H,  $J_{H,H'} = 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph) 4.54 (d, 1H,  $J_{H,H'} = 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 3.79 (t, 1H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz, H<sub>4</sub>), 3.74-3.41 (m, 3H, H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>6'</sub>), 3.36 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.08 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 2.05 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.5 (C=O), 170.0 (C=O), 137.8 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 128.7 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 97.3 (C<sub>1</sub>), 73.8 (CH<sub>2</sub>Ph), 71.2 (C<sub>2</sub>), 70.9 (C<sub>3</sub>), 69.3 (C<sub>5</sub>), 68.5 (C<sub>6</sub>), 60.2 (C<sub>4</sub>), 55.6 (O-CH<sub>3</sub>), 21.0 (OCOCH<sub>3</sub>), 21.0 (OCOCH<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 457.1712$  [M+ACN+Na]<sup>+</sup>. C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>Na requires 457.1699.

IR ν (film, cm<sup>-1</sup>) 2935 (CH<sub>2</sub>), 2106 (N<sub>3</sub>), 1746 (C=O).

### Methyl 4-azido-2,3-di-O-benzoyl-6-O-benzyl-α-D-glucopyranoside **75b**



Chemical Formula: C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>  
Molecular Weight: 517,54

The General Procedure (A) was followed using **67b** (105 mg, 0.213 mmol), pyridine (0.19 mL, 2.34 mmol) and Tf<sub>2</sub>O (72 μL, 0.43 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL) then NaN<sub>3</sub> (339 mg, 5.22 mmol) in dry DMF (2.5 mL). The residue was purified by flash chromatography on silica

gel (Heptane/AcOEt 90:10 to 80:20) to afford product **75b** (76 mg, 0.15 mmol, 69 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} +137.6$  ( $c = 0.6$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

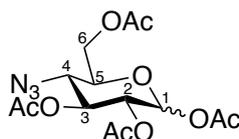
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.03-7.90 (m, 4H,  $H_{\text{Ar}}$ ), 7.55-7.44 (m, 2H,  $H_{\text{Ar}}$ ), 7.42-7.27 (m, 9H,  $H_{\text{Ar}}$ ), 5.94-5.83 (m, 1H,  $H_3$ ), 5.20-5.13 (m, 2H,  $H_1$ ,  $H_2$ ), 4.69 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ) 4.60 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.02 (t, 1H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz,  $H_4$ ), 3.86-3.72 (m, 3H,  $H_5$ ,  $H_6$ ,  $H_6'$ ), 3.39 (s, 3H, O- $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.1 (C=O), 165.8 (C=O), 137.8 (Cq,  $C_{\text{Ar}}$ ), 133.6 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 133.5 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 130.1 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 130.0 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 129.5 (Cq,  $C_{\text{Ar}}$ ), 129.2 (Cq,  $C_{\text{Ar}}$ ), 128.7 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 128.6 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 128.1 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 97.5 (C1), 74.0 ( $\text{CH}_2\text{-Ph}$ ), 72.2 (C2), 71.3 (C3), 69.5 (C5), 68.6 (C6), 60.6 (C4), 55.8 (O $\text{CH}_3$ ).

**ESIHRMS**  $m/z = 540.1750$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ .  $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_7\text{Na}$  requires 540.1747.

**IR v (film,  $\text{cm}^{-1}$ )** 3064 (=C-H), 2934 ( $\text{CH}_3$ ), 2107 ( $\text{N}_3$ ), 1722 (C=O).

### 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl-4-azido- $\alpha$ -D-glucopyranose **62a**

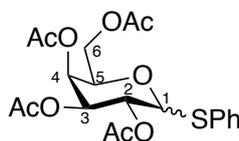


Chemical Formula:  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_9$   
Molecular Weight: 373,32

To a stirred solution of **75a** (57 mg, 0.16 mmol, 1 eq.) in acetic anhydride (0.5 mL) was added dropwise at 0 °C  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (10  $\mu\text{L}$ ). The resulting mixture was stirred overnight at room temperature and then diluted by cold water. After being stirred for 1 h, the phases were separated and the aqueous phase was extracted with AcOEt (3 x 2 mL). Organic layers were combined, neutralized with aqueous  $\text{NaHCO}_3$  (4 mL), then washed with brine (2x 3 mL), dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and evaporated under vacuum. The residue was then purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 70:30 to 60:40) to afford clean product **62a**

( $\alpha/\beta$  8:2) (43 mg, 0.12 mmol, 73 %) as a colorless oil (Experimental data are in agreement with those reported in the literature).<sup>181</sup>

### Phenyl 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-D-galactopyranosyl **89**



Chemical Formula: C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub>S  
Molecular Weight: 440,46

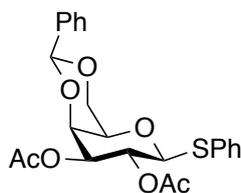
To a stirred solution of D-galactose (5 g, 27.8 mmol, 1 eq.) in pyridine (35 mL) was added Ac<sub>2</sub>O (21 mL, 0.2 mol, 8 eq.). The resulting mixture was stirred overnight at room temperature. The solvent was removed under reduced pressure and the peracetylated D-galactose **88** was obtained without further purification (Experimental data are in agreement with those reported in the literature).<sup>182</sup> **88** (10.8 g, 27.7 mmol, 1 eq.) was then dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 mL) and the resulting mixture was cooled to -78 °C under nitrogen atmosphere. Thiophenol (4.26 mL, 41.5 mmol, 1.5 eq.) was added and then BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O (17 mL, 138 mmol, 5 eq.) was added dropwise. The mixture was allowed to warm to room temperature, stirred overnight and then neutralized with saturated aqueous sodium bicarbonate (20 mL). Organic and aqueous phase was separated and iodine (3.5 g) was added to the organic phase. The resulting solution was stirred for 10 min and then washed with saturated solution of Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (20 mL) and then with water (20 mL). The organic phase was dried with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (heptane / ethyl acetate 9/1 to 7/3) to separate the  $\alpha$  anomer **89 $\alpha$**  (1.47 g, 3.35 mmol, 12 %) and the  $\beta$  anomer **89 $\beta$**  (6.23 g, 14.14 mmol, 51 %) (Experimental data are in agreement with those reported in the literature).<sup>183</sup>

<sup>181</sup> Lei, Z.; Wang, J.; Mao, G.; Wen, Y.; Tian, Y.; Wu, H.; Li, Y.; Xu, H. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 6065-6071.

<sup>182</sup> Wahler, D.; Boujard, O.; Lefèvre, F.; Reymond, J.-L. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 703-710.

<sup>183</sup> Kumar, V.; Taxak, N.; Jangir, R.; Bharatam, P. V.; Kartha, K. P. R. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 3427-3439.

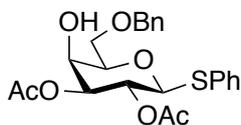
### Benzyl 4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-acetyl- $\beta$ -thio-D-galactopyranosyl **91**



Chemical Formula: C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>S  
Molecular Weight: 444,50

To a stirred solution of the  $\beta$  anomer **89 $\beta$**  (6.2 g, 14.1 mmol, 1 eq.) in dry MeOH (140 mL) was added Na (64 mg, 20 mol%) under nitrogen atmosphere. The resulting mixture is stirred at room temperature for 2 h and then neutralized with Dowex® H<sup>+</sup>, filtered on celite® and concentrated under reduced pressure to afford clean product **90** (3.8 g) without further purification. **90** (1 g, 3.67 mmol, 1 eq.) was then dissolved in ACN (37 mL). Benzaldehyde dimethyl acetal (0.66 mL, 4.4 mmol, 1.2 eq.) and Cu(OTf)<sub>2</sub> (66 mg, 0.18 mmol, 0.05 eq.) was added (successive addition every 5 min for the catalyst). The system was sonicated at room temperature for 45 min under nitrogen atmosphere. Ac<sub>2</sub>O (2.8 mL, 29.4 mmol, 8 eq.) was then added and the resulting mixture was stirred at room temperature for 18 h. Solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by flash chromatography (heptane / AcOEt 9/1 to 7/3) to afford clean product **91** (1.29 g, 2.9 mmol, 79 %) as a white solid (Experimental data are in agreement with those reported in the literature).<sup>184</sup>

### Benzyl 2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- $\beta$ -thio -D-galactopyranosyl **92**



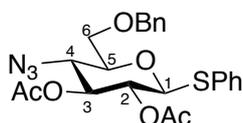
Chemical Formula: C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>O<sub>7</sub>S  
Molecular Weight: 446,51

A solution of **91** (5.0 g, 11.2 mmol, 1 eq.) in dry ACN (110 mL) was cooled to 0 °C and Et<sub>3</sub>SiH (10.8 mL, 67.4 mmol, 1 eq.) was added, followed by the addition of Cu(OTf)<sub>2</sub> (200 mg, 0.56 mmol, 0.05 eq.). The resulting mixture was stirred at 0 °C for 1 h and then hydrolysed with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> (60 mL). The phases were separated and

<sup>184</sup> Tiwari, P.; Misra, A. K. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 339-350.

organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The desired product **92** was obtained in mixture with the silylated one **93** (6.28 g, ratio **92/93** 30/70). The crude mixture was directly dissolved in ACN (20 mL) and treated with a diluted solution of HBF<sub>4</sub> (C = 0.25 M, 20 mL). The resulting solution was stirred at room temperature for 1h30 and then quenched with saturated solution of NaHCO<sub>3</sub> until neutralization. Aqueous layer was extracted with AcOEt (3 x 15 mL). Organic layers were dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by flash chromatography (Heptane / AcOEt 9/1 to 4/6) to afford product **92** (4.43 g, 9.93 mmol, 88 %) as a colorless oil. (Experimental data are in agreement with those reported in the literature).<sup>185</sup>

#### Phenyl 4-azido-2,3-di-O-acetyl-6-O-benzyl-β-thio-D-glucopyranosyl **94**



Chemical Formula: C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S  
Molecular Weight: 471,53

The General Procedure (A) was followed using **92** (500 mg, 1.12 mmol), pyridine (1.0 mL, 12.32 mmol) and Tf<sub>2</sub>O (280 μL, 1.68 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (11 mL) then NaN<sub>3</sub> (1.6 g, 25.0 mmol) in dry DMF (10 mL). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 90:10 to 80:20) to afford product **94** (347 mg, 0.736 mmol, 66 %) as a colorless oil.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> - 4.4 (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.42-7.34 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.30-7.09 (m, 8H, H<sub>Ar</sub>), 5.04 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub> = 9.5 Hz, J<sub>3,4</sub> = 10.0 Hz, H<sub>3</sub>), 4.79 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub> = 10.0 Hz, J<sub>2,3</sub> = 9.5 Hz, H<sub>2</sub>), 4.56 (d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 10.0 Hz, H<sub>1</sub>), 4.52 (d, 1H, J<sub>H,H</sub> = 12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.45 (d, 1H, J<sub>H,H</sub> = 12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 3.69 (dd, 1H, J<sub>6,6'</sub> = 11.0 Hz, J<sub>6,5</sub> = 2.0 Hz, H<sub>6</sub>), 3.64 (t, 1H, J<sub>4,3</sub> = J<sub>4,5</sub> = 10.0 Hz, H<sub>4</sub>) 3.62 (dd, 1H, J<sub>6',6</sub> = 11.0 Hz, J<sub>6',5</sub> = 4.0 Hz, H<sub>6'</sub>), 3.31 (ddd, 1H, J<sub>5,4</sub> = 10.0 Hz, J<sub>5,6'</sub> = 4.0 Hz, J<sub>5,6</sub> = 2.0 Hz, H<sub>5</sub>), 1.96 (s, 6H, CH<sub>3</sub>).

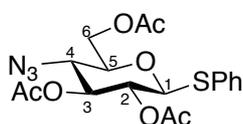
<sup>185</sup> Dara, S.; Saikam, V.; Yadav, M.; Singh, P. P.; Vishwakarma, R. A. *Carbohydr. Res.* **2014**, *391*, 93-96.

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.2 (C=O), 169.7 (C=O), 138.0 ( $\text{C}_q$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 133.3 (CH,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 132.0 ( $\text{C}_q$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 129.2 (CH,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 128.6 (CH,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 128.5 (CH,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 128.0 (CH,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 127.9 (CH,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 85.9 (C1), 78.4 (C5) 75.0 (C3), 73.8 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 70.4 (C2), 69.0 (C6), 60.0 (C4), 21.0 ( $\text{COCH}_3$ ), 20.9 ( $\text{COCH}_3$ ).

ESIHRMS  $m/z = 494.1360$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .  $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_6\text{SNa}$  requires 494.1362.

IR v (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3122 (=C-H), 2926 (- $\text{CH}_2$ ), 2110 ( $\text{N}_3$ ), 1752 (C=O).

### Phenyl 4-azido-2,3,6-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -thio-D-glucopyranosyl **95**

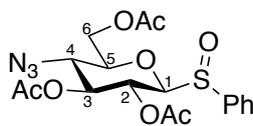


Chemical Formula:  $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}$   
Molecular Weight: 423,44

To a stirred solution of **94** (242 mg, 0.51 mmol, 1 eq.) in  $\text{Ac}_2\text{O}$  (4 mL) was added  $\text{CF}_3\text{COOH}$  (1 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 2 h and then neutralized by a saturated solution of  $\text{NaHCO}_3$  (3 mL). The aqueous phase was extracted by  $\text{AcOEt}$  (3x4 mL). The organic phases were combined, washed with brine (5 mL), dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered and concentrated under vacuum. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/ $\text{AcOEt}$  80:20 to 70:30) to afford product **95** (89 mg, 0.21 mmol, 41 %) as a colorless oil.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.55-7.25 (m, 5H,  $H_{\text{Ar}}$ ), 5.17 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.5$  Hz,  $H_3$ ), 4.87 (dd, 1H,  $J_{2,1} = 10.0$  Hz,  $J_{2,3} = 9.5$  Hz,  $H_2$ ), 4.65 (d, 1H,  $J_{1,2} = 10.0$  Hz,  $H_1$ ), 4.44 (dd, 1H,  $J_{6,6'} = 12.0$  Hz,  $J_{6,5} = 2.0$  Hz,  $H_6$ ), 4.22 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 12.0$  Hz,  $J_{6',5} = 5.0$  Hz,  $H_6'$ ), 3.59 (t, 1H,  $J_{4,3} = 10.0$  Hz,  $J_{4,5} = 10.0$  Hz,  $H_4$ ), 3.46 (ddd, 1H,  $J_{5,4} = 10.0$  Hz,  $J_{5,6'} = 5.0$  Hz,  $J_{5,6} = 2.0$  Hz,  $H_5$ ), 2.09 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2.07 (s, 6H,  $\text{OCOCH}_3$ ).

## 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-azido- $\beta$ -D-glucopyranosyl phenyl sulfoxide **63a**



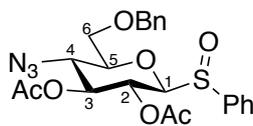
Chemical Formula: C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S  
Molecular Weight: 439,44

To a stirred solution of **95** (89 mg, 0.21 mmol, 1 eq.) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL) was added *m*-CPBA (75%, 44 mg, 0.25 mmol, 1.2 eq.) at -78 °C under argon atmosphere. The resulting mixture was stirred at -30 °C overnight and dimethylsulfide (19  $\mu$ L) was then added. The solution was allowed to warm at room temperature, diluted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL), washed with water (3 mL), with a saturated aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub> (3 mL), with water again (3 mL) and finally with brine (3 mL). The organic phase was dried with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum pressure. The crude product was purified by preparative TLC (Heptane/AcOEt 50:50) to afford product **63a** as two separated diastereoisomers **x** (38 mg, 0.09 mmol) and **y** (24 mg, 0.05 mmol) with a ratio of x/y = 3/2 for a total yield of 67 %.

<sup>1</sup>H NMR (diastereomer **x**) (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.75-7.40 (m, 5H, H<sub>Ar</sub>), 5.32 (dd, 1H,  $J_{2,1} = 9.5$  Hz,  $J_{2,3} = 9.0$  Hz, H<sub>2</sub>), 5.25 (dd, 1H,  $J_{3,2} = 9.0$  Hz,  $J_{3,4} = 9.5$  Hz, H<sub>3</sub>), 4.29 (dd, 1H,  $J_{6,6'} = 12.0$  Hz,  $J_{6,5} = 1.5$  Hz, H<sub>6</sub>), 4.22 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz, H<sub>1</sub>), 4.13 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 12.0$  Hz,  $J_{6',5} = 5.0$  Hz, H<sub>6'</sub>), 3.62 (t, 1H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz, H<sub>4</sub>), 3.44-3.29 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 2.12 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 2.10 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 2.00 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (diastereomer **y**) (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.67-7.45 (m, 5H, H<sub>Ar</sub>), 5.25 (t, 1H,  $J_{2,1} = J_{2,3} = 9.0$  Hz, = H<sub>2</sub>), 5.20 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.0$  Hz, H<sub>3</sub>), 4.49-4.39 (m, 2H, H<sub>1</sub>, H<sub>6</sub>), 4.14 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 12.0$  Hz,  $J_{6',5} = 5.0$  Hz, H<sub>6'</sub>), 3.57 (dd, 1H,  $J_{4,3} = 9.5$  Hz,  $J_{4,5} = 10.0$  Hz, H<sub>4</sub>), 3.52-3.43 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 2.07 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 1.80 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>).

## 2,3-Di-*O*-acetyl-4-azido-6-*O*-benzyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl phenyl sulfoxide **63b**



Chemical Formula: C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S  
Molecular Weight: 487,53

To a stirred solution of **94** (1.0 g, 2.12 mmol, 1 eq.) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (21 mL) was added *m*-CPBA (550 mg, 3.18 mmol, 1.5 eq.) at -78 °C under argon atmosphere. The resulting mixture was stirred at -30 °C overnight and dimethylsulfide (0.2 mL) was then added. The solution was allowed to warm at room temperature, diluted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL), washed with water (8 mL), with a saturated aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub> (8 mL), with water again (8 mL) and finally with brine (8 mL). The organic phase was dried with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum pressure. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 80:20 to 60:40) to afford product **63b** (914 mg, 1.875 mmol, 89 %) as a colorless oil and as a mixture of two diastereoisomers *x* and *y* (dr 2:3).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.71-7.59 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.55-7.42 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 7.42-7.21 (m, 5H, H<sub>Ar</sub>), 5.29 (t, 0.4H,  $J_{2x,1x} = J_{2x,3x} = 9.5$  Hz, H<sub>2x</sub>), 5.24 (t, 0.6H,  $J_{2y,1y} = J_{2y,3y} = 9.0$  Hz, H<sub>2y</sub>), 5.19 (t, 0.4H,  $J_{3x,2x} = J_{3x,4x} = 9.5$  Hz, H<sub>3x</sub>), 5.16 (t, 0.6H,  $J_{3y,2y} = J_{3y,4y} = 9.0$  Hz, H<sub>3y</sub>), 4.56-4.36 (m, 2.6H, CH<sub>2</sub>Ph, H<sub>1y</sub>), 4.25 (d, 0.4H,  $J_{1x,2x} = 9.5$  Hz, H<sub>1x</sub>), 3.82-3.69 (m, 2.2H, H<sub>6</sub>, H<sub>6'</sub>), 3.69-3.56 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.48-3.38 (dt, 0.6H,  $J_{5y,4y} = 10.0$  Hz,  $J_{5y,6'y} = 5.0$  Hz,  $J_{5y,6'y} = 2.5$  Hz, H<sub>5y</sub>), 3.36-3.24 (ddd, 0.4H,  $J_{5x,4x} = 10.0$  Hz,  $J_{5x,6'x} = 6.0$  Hz,  $J_{5x,6'x} = 4.0$  Hz, H<sub>5x</sub>), 2.10 (s, 1.2H, OCOCH<sub>3x</sub>), 2.08 (s, 1.8H, OCOCH<sub>3y</sub>), 2.06 (s, 1.2H, OCOCH<sub>3x</sub>), 1.83 (s, 1.8H, OCOCH<sub>3y</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.4 (C=O), 170.3 (C=O), 169.7 (C=O), 169.4 (C=O), 139.6 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 139.0 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 137.8 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 137.7 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 131.8 (CH, C<sub>Ar</sub>), 131.7 (CH, C<sub>Ar</sub>), 129.2 (CH, C<sub>Ar</sub>), 129.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.6 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.5 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 125.8 (CH, C<sub>Ar</sub>), 125.6 (CH, C<sub>Ar</sub>), 93.0 (C<sub>1y</sub>), 90.5 (C<sub>1x</sub>), 79.3 (C<sub>5x</sub>), 79.0 (C<sub>5y</sub>), 75.1 (C<sub>2y</sub>), 74.8 (C<sub>3y</sub>), 73.8 (CH<sub>2</sub>Ph), 68.6 (C<sub>6x</sub>), 68.4 (C<sub>6y</sub>), 67.8 (C<sub>2x</sub>), 67.4 (C<sub>3x</sub>), 59.4 (C<sub>4y</sub>), 59.2 (C<sub>4x</sub>), 20.9 (COCH<sub>3</sub>), 20.8 (COCH<sub>3</sub>), 20.7 (COCH<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 510.1312$   $[M+Na]^+$ .  $C_{23}H_{25}N_3O_7SNa$  requires 510.1311.

IR  $\nu$  (film,  $cm^{-1}$ ) 2988 (=C-H), 2901 (-CH<sub>2</sub>), 2110 (N<sub>3</sub>), 1755 (C=O).

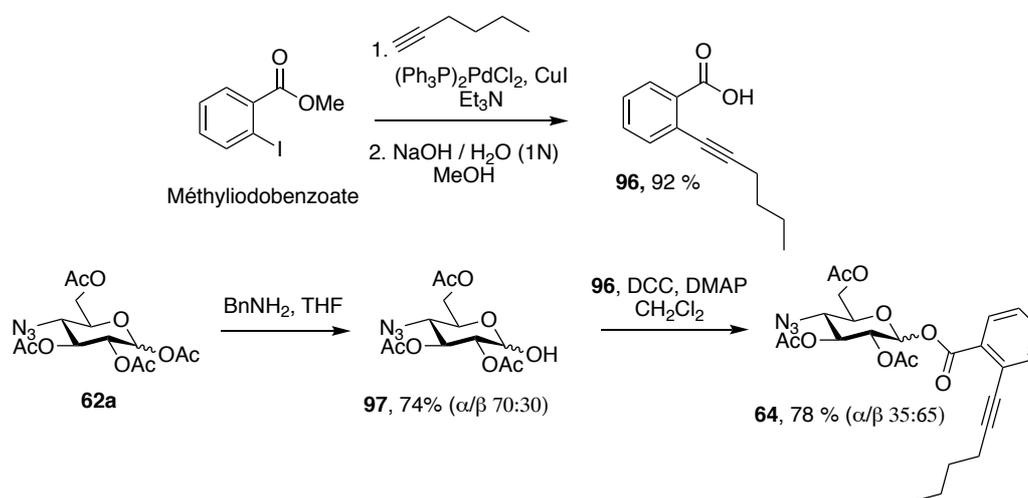
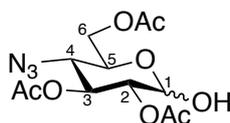


Schéma 119

### 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-azido-D-glucopyranose 97



Chemical Formula:  $C_{12}H_{17}N_3O_8$   
Molecular Weight: 331,28

To a stirred solution of **62a** (1 eq., 50 mg, 0.13 mmol) in THF (1.3 mL, C=0.1 mL) was added benzylamine (1.5 eq., 22  $\mu$ L, 0.20 mmol) and the resulting mixture was stirred at room temperature for 14 h under inert atmosphere. After addition of 0.1 mL of 1 N HCl, the reaction mixture was stirred for one more hour. The reaction mixture was diluted with 1 N HCl (6 mL) and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 8 mL). The combined extracts were dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduce pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt, 7:3 to 4:6) to give **97** (28 mg, 0.085, 63%,  $\alpha/\beta = 70/30$ ) as a colorless oil.

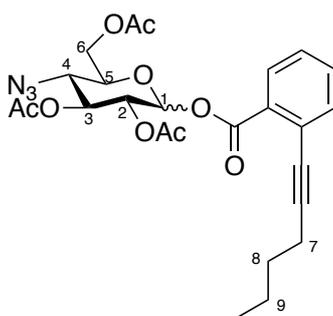
**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.51 (t, 0.7H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 10.0$  Hz, H3α), 5.38 (bs, 0.7H, H1α), 5.19 (t, 0.3H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.5$  Hz, H3β), 4.82 (dd, 0.7H,  $J_{2,3} = 10.0$  Hz,  $J_{2,1} = 3.5$  Hz, H2α), 4.80 (dd, 0.3H,  $J_{2,3} = 9.5$  Hz,  $J_{2,1} = 8.0$  Hz, H2β), 4.70 (t, 0.3H,  $J_{1,2} = 7.0$  Hz, H1β), 4.39 (dd, 0.3H,  $J_{6,6'} = 12.0$  Hz,  $J_{6,5} = 2.5$  Hz, H6β), 4.37 (dd, 0.7H,  $J_{6,6'} = 12.0$  Hz,  $J_{6,5} = 2.5$  Hz, H6α), 4.22 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 12.0$  Hz,  $J_{6',5} = 4.0$  Hz, H6'β, H6'α), 4.02 (ddd, 0.7H,  $J_{5,4} = 10.0$  Hz,  $J_{5,6'} = 4.0$  Hz,  $J_{5,6} = 2.5$  Hz, H5α), 3.63 (t, 0.3H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10$  Hz, H4β), 3.58 (t, 0.7H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz, H4α), 3.48 (ddd, 0.3H,  $J_{5,4} = 10.0$  Hz,  $J_{5,6'} = 4.0$  Hz,  $J_{5,6} = 2.5$  Hz, H5β), 2.10 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 2.09 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 2.06 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.9 (C=O), 170.8 (C=O), 170.7 (C=O), 170.4 (C=O), 169.9 (C=O), 95.5 (C1β), 90.6 (C1α), 73.5 (C2β), 73.2 (C3β), 72.5 (C5β), 71.5 (C2α), 70.6 (C3α), 67.8 (C5α), 63.0 (C6β), 62.8 (C6α), 60.4 (C4β), 60.3 (C4α), 21.0 (COCH<sub>3</sub>) 20.9 (COCH<sub>3</sub>), 20.8 (COCH<sub>3</sub>).

**ESIHRMS**  $m/z = 354.0903$  [M+Na]<sup>+</sup>. C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Na requires 354.0913.

**IR v (film, cm<sup>-1</sup>)** 3458 (O-H), 2960 (CH<sub>3</sub>), 2108 (N<sub>3</sub>), 1739 (C=O).

### Hexynylorthobenzoyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-4-azido-D-glucopyranoside **64**



Chemical Formula: C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>  
Molecular Weight: 515,52

The compound **96** is synthesized as described in the literature.<sup>186</sup>

To a stirred solution of **97** (1 eq., 28 mg, 0.08 mmol) and **96** (1.2 eq, 20 mg, 0.10 mmol), in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.3 mL) were added DCC (1.5 eq., 26 mg, 0.13 mmol) and DMAP (1.5 eq., 15 mg, 0.13 mmol) under inert atmosphere. After being stirred for 3 h at room temperature, the

<sup>186</sup> Ma, Y.; Lian, G.; Li, Y.; Yu, B. *Chem. Comm.* **2011**, 47, 7515.

reaction mixture was diluted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 mL) and washed with saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> (1 mL) and brine (1 mL). The organic layer was dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and then concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 9:1 to 7:3) to provide **64** (36 mg, 84 %;  $\alpha/\beta = 3/6$ ) as a white solid.

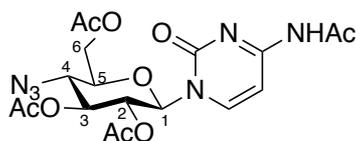
**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.93-7.79 (m, 1H, *H*<sub>Ar</sub> $\alpha$ , *H*<sub>Ar</sub> $\beta$ ), 7.53-7.21 (m, 3H, *H*<sub>Ar</sub> $\alpha$ , *H*<sub>Ar</sub> $\beta$ ), 6.51 (d, 0.4H,  $J_{1,2} = 3.5$  Hz, *H*1 $\alpha$ ), 5.86 (d, 0.6H,  $J_{1,2} = 8.0$  Hz, *H*1 $\beta$ ), 5.55 (t, 0.4H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 10.0$  Hz, *H*3 $\alpha$ ), 5.23 (t, 0.6H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.0$  Hz, *H*3 $\beta$ ), 5.16 (dd, 0.6H,  $J_{2,1} = 8.0$  Hz,  $J_{2,3} = 9.0$  Hz, *H*2 $\beta$ ), 5.09 (dd, 0.4H,  $J_{2,1} = 3.5$  Hz,  $J_{2,3} = 10.0$  Hz, *H*2 $\alpha$ ), 4.37-4.20 (m, 2H, *H*6 $\alpha$ , *H*6' $\alpha$ , *H*6 $\beta$ , *H*6' $\beta$ ), 4.03-3.94 (m, 0.4H, *H*5 $\alpha$ ), 3.72 (t, 0.6H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 9.0$  Hz, *H*4 $\beta$ ), 3.69 (t, 0.4H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz, *H*4 $\alpha$ ), 3.65-3.58 (m, 0.6H, *H*5 $\beta$ ), 2.50-2.36 (m, 2H, *H*7), 2.07 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.93 (s, 1.2H, COCH<sub>3</sub> $\alpha$ ), 1.92 (s, 1.8H, COCH<sub>3</sub> $\beta$ ), 1.64-1.49 (m, 2H, *H*8), 1.49-1.34 (m, 2H, *H*9), 0.88 (t, 3H,  $J_{CH_3,9} = 7.0$  Hz, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.7 (C=O), 170.2 (C=O), 170.0 (C=O), 169.9 (C=O), 164.2 (Cq), 163.3 (Cq), 135.4 (CH, C<sub>Ar</sub>), 135.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 132.8 (CH, C<sub>Ar</sub>), 132.7 (CH, C<sub>Ar</sub>), 130.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 129.8 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 129.2 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 127.6 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.4 (CH, C<sub>Ar</sub>), 126.1 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 125.5 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 97.7 (Cq, C $\equiv$ C), 97.5 (Cq, C $\equiv$ C), 92.1 (C1 $\beta$ ), 90.1 (C1 $\alpha$ ), 79.8 (Cq, C $\equiv$ C), 79.1 (Cq, C $\equiv$ C), 73.7 (C3 $\beta$ ), 73.1 (C5 $\beta$ ), 70.8 (C3 $\alpha$ ), 70.6 (C2 $\beta$ , C5 $\alpha$ ), 69.7 (C2 $\alpha$ ), 62.7 (C6 $\beta$ ), 62.5 (C6 $\alpha$ ), 60.2 (C4 $\beta$ ), 60.0 (C4 $\alpha$ ), 30.9 (C8 $\beta$ ), 30.8 (C8 $\alpha$ ), 22.3 (C9 $\beta$ , C9 $\alpha$ ), 20.9 (COCH<sub>3</sub>), 20.9 (COCH<sub>3</sub>), 20.8 (COCH<sub>3</sub>), 20.7 (COCH<sub>3</sub>), 20.7 (COCH<sub>3</sub>), 19.8 (C7 $\beta$ ), 19.7 (C7 $\alpha$ ), 13.9 (CH<sub>3</sub> $\beta$ ), 13.8 (CH<sub>3</sub> $\alpha$ ).

**ESIHRMS**  $m/z = 538.1804$  [M+Na]<sup>+</sup>. C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>Na requires 538.1801.

**IR v (film, cm<sup>-1</sup>)** 2959 (CH<sub>3</sub>), 2935 (CH<sub>2</sub>), 2229 (C $\equiv$ C), 2110 (N<sub>3</sub>), 1745 (C=O).

### 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-azido-1-*N*-acetylcytosine- $\beta$ -D-glucopyranoside **99a**



Chemical Formula: C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>  
Molecular Weight: 466,41

The General Procedure (**B**) was followed using **62a** (900 mg, 2.41 mmol), **51** (591 mg, 3.86 mmol), BSA (1.26 mL, 5.16 mmol), SnCl<sub>4</sub> (0.85 mL, 7.23 mmol) in dry (CH<sub>2</sub>Cl)<sub>2</sub> (12 mL). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99:1 to 98:2) to afford product **99a** (794 mg, 1.7 mmol, 71 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} + 56.6$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

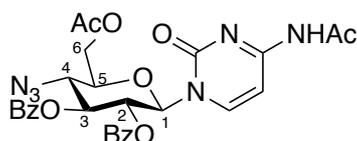
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, MeOD)  $\delta$  8.14 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 7.49 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 6.12 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.0$  Hz,  $H1$ ), 5.54 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.5$  Hz,  $H3$ ), 5.32 (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{2,1} = 9.5$  Hz,  $H2$ ), 4.47 (dd, 1H,  $J_{6,6'} = 13.0$  Hz,  $J_{6,5} = 1.0$  Hz,  $H6$ ), 4.31 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 13.0$  Hz,  $J_{6',5} = 4.5$  Hz,  $H6'$ ), 4.00-3.93 (m, 2H,  $H4$ ,  $H5$ ), 2.21 (s, 3H, NHCOCH<sub>3</sub>), 2.14 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 2.12 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 1.94 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, MeOD)  $\delta$  173.9 (C=O), 173.1 (C=O), 172.0 (C=O), 172.0 (C=O), 165.5 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 158.6 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 147.5 (CH, C<sub>Ar</sub>), 99.8 (CH, C<sub>Ar</sub>), 83.6 (C1), 77.1 (C4), 75.4 (C3), 73.2 (C2), 64.8 (C6), 61.9 (C5), 25.4 (COCH<sub>3</sub>), 21.4 (COCH<sub>3</sub>), 21.1 (COCH<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 467.1486$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub> requires 467.1527.

IR v (film, cm<sup>-1</sup>) 3239 (=C-H), 2112 (N<sub>3</sub>), 1747 (C=O), 1663 (NH-C=O).

#### 4-azido-6-O-acetyl-2,3-di-O-benzyl-1-N-acetylcytosine- $\beta$ -D-glucopyranoside **99b**



Chemical Formula: C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>  
Molecular Weight: 590,55

The General Procedure (**B**) was followed using **62b** (500 mg, 1.00 mmol), **51** (246 mg, 1.61 mmol), BSA (0.52 mL, 2.15 mmol), SnCl<sub>4</sub> (0.35  $\mu$ L, 3.02 mmol) in dry (CH<sub>2</sub>Cl)<sub>2</sub> (5 mL). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99:1 to 98:2) to afford product **99b** (446 mg, 0.76 mmol, 75 %) as a colorless oil.

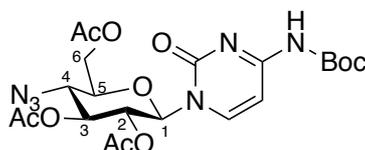
$[\alpha]_D^{25} + 35.9$  ( $c = 0.9$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.92 (dd, 2H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 1.5$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 7.83-7.76 (m, 3H,  $H_{Ar}$ ), 7.56-7.43 (m, 3H,  $H_{Ar}$ ), 7.40-7.27 (m, 4H,  $H_{Ar}$ ), 6.31 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz,  $H1$ ), 5.84 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.5$  Hz,  $H3$ ), 5.51 (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{2,1} = 9.5$  Hz,  $H2$ ), 4.46 (dd, 1H,  $J_{6,6'} = 13.0$  Hz,  $J_{6,5} = 1.5$  Hz,  $H6$ ), 4.36 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 13.0$  Hz,  $J_{6',5} = 4.0$  Hz,  $H6'$ ), 3.98-3.89 (m, 2H,  $H4$ ,  $H5$ ), 2.15 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 1.97 (s, 3H, NHCOCH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.9 (C=O), 170.6 (C=O), 165.5 (C=O), 165.4 (C=O), 163.3 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 154.9 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 144.3 (CH, C<sub>Ar</sub>), 134.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 133.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 130.2 (CH, C<sub>Ar</sub>), 130.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.7 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.7 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.0 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 98.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 81.5 (C1), 75.8 (C4), 73.9 (C3), 71.2 (C2), 62.8 (C6), 60.6 (C5), 24.8 (COCH<sub>3</sub>), 21.0 (COCH<sub>3</sub>).

**ESIHRMS**  $m/z = 591.1853$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub> requires 591.1840.

### 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-azido-1-*N*-Boc-cytosine-β-*D*-glucopyranoside **99c**



Chemical Formula: C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>  
Molecular Weight: 524,49

To a stirred solution of **99a** (40 mg, 0.09 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 mL) was added di-*tert*-butyl-dicarbonate (40 μL, 0.17 mmol, 2 eq.), triethylamine (12 μL, 0.09 mmol, 1 eq.) and 4-dimethylaminopyridine (10.5 mg, 0.09 mmol, 1 eq.). The resulting mixture was stirred at room temperature for 4 h and then concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99:1 to 98:2) to afford product **99c** (29 mg, 0.06 mmol, 64 %) as a yellow powder.

$[\alpha]_D^{25} + 41.7$  ( $c = 1.2$ , CHCl<sub>3</sub>).

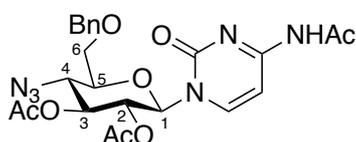
**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.62 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 7.30 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 6.05 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz,  $H1$ ), 5.40 (t, 1H,  $J_{2,1} = J_{2,3} = 9.5$  Hz,  $H2$ ), 5.07 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.5$  Hz,  $H3$ ), 4.39 (d, 1H,  $J_{6,6'} = 12.5$  Hz,  $H6$ ), 4.27 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 12.5$  Hz,

$J_{6',5} = 4.0$  Hz,  $H6'$ ), 3.76-3.67 (m, 2H,  $H4$ ,  $H5$ ), 2.11 (s, 6H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.97 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.51 (s, 9H,  $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.5 (C=O), 170.2 (C=O), 169.5 (C=O), 143.8 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 96.3 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 83.7 (Cq), 81.3 (C1), 75.5 (C4), 73.5 (C3), 70.7 (C2), 62.7 (C6), 60.2 (C5), 28.2 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 20.9 (COCH<sub>3</sub>), 20.8 (COCH<sub>3</sub>), 20.6 (COCH<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 525.1945$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{N}_6\text{O}_{10}$  requires 525.1953.

### 2,3-Di-*O*-acetyl-4-azido-6-*O*-benzyl-1-*N*-acetylcytosine- $\beta$ -D-glucopyranoside **99d**



Chemical Formula:  $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_8$   
Molecular Weight: 514,50

The General Procedure (**B**) was followed using **63b** (50 mg, 0.10 mmol), **51** (25 mg, 0.16 mmol), BSA (0.1 mL, 0.41 mmol), TMSOTf (28  $\mu\text{L}$ , 0.15 mmol) in dry ACN (1 mL). The residue was purified by preparative TLC (Heptane/AcOEt 50 : 50) to afford product **99d** (28 mg, 0.05 mmol, 52 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 47.5$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.67 (d, 1H,  $J_{\text{H}_{\text{Ar}},\text{H}_{\text{Ar}}} = 7.5$  Hz,  $H_{\text{Ar}}$ ), 7.47 (d, 1H,  $J_{\text{H}_{\text{Ar}},\text{H}_{\text{Ar}}} = 7.5$  Hz,  $H_{\text{Ar}}$ ), 7.36-7.27 (m, 5H,  $H_{\text{Ar}}$ ), 5.99 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz,  $H1$ ), 5.32 (dd, 1H,  $J_{3,2} = 9.5$  Hz,  $J_{3,4} = 10.0$  Hz,  $H3$ ), 5.03 (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{2,1} = 9.5$  Hz,  $H2$ ), 4.57 (d, 1H,  $J_{\text{H},\text{H}} = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.52 (d, 1H,  $J_{\text{H},\text{H}} = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 3.94 (t, 1H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz,  $H6$ ), 3.80-3.67 (m, 2H,  $H6$ ), 3.60 (ddd, 1H,  $J_{5,4} = 10.0$  Hz,  $J_{5,6} = 3.5$  Hz,  $J_{5,6'} = 2.0$  Hz,  $H5$ ), 2.23 (s, 3H,  $\text{NHCOCH}_3$ ), 2.08 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.92 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ).

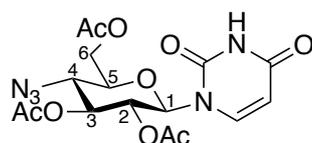
$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, MeOD)  $\delta$  170.0 (C=O), 169.7 (C=O), 163.1 (Cq,  $C_{\text{Ar}}$ ), 155.3 (Cq,  $C_{\text{Ar}}$ ), 144.5 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 137.6 (Cq,  $C_{\text{Ar}}$ ), 128.7 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 128.2 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 128.1 (CH,  $C_{\text{Ar}}$ ), 98.0

(CH, C<sub>Ar</sub>), 81.5 (C1), 77.3 (C5), 73.9 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.5 (C2), 71.0 (C3), 68.2 (C6), 59.7 (C4), 25.2 (COCH<sub>3</sub>), 20.8 (COCH<sub>3</sub>), 20.6 (COCH<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 515.1878$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub> requires 515.1890.

IR  $\nu$  (film, cm<sup>-1</sup>) 3148 (=C-H), 2110 (N<sub>3</sub>), 1754 (C=O), 1667 (NH-C=O).

### 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-azido-1-*N*-Uracile- $\beta$ -D-glucopyranoside **100a**



Chemical Formula: C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>  
Molecular Weight: 425,35

To a stirred suspension of **64** (125 mg, 0.24 mmol), uracil (33 mg, 0.29 mmol, 1.2 eq.) in dry CH<sub>3</sub>CN (2.4 mL) was added BSTFA (0.26 mL, 0.97 mmol, 4 eq.) under argon atmosphere. The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes; a clear solution was resulted. Ph<sub>3</sub>PAuNTf<sub>2</sub> (18 mg, 0.02 mmol, 10 mol%) was added, the stirring was continued at room temperature for 3 days until **64** was consumed as monitored by TLC. The solvent was removed under reduced pressure, the resulting residue was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/ethyl acetate 90:10 to 0:100) to provide **100a** (66 mg, 64 %) as a white solid.

$[\alpha]_D^{25} + 24.1$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

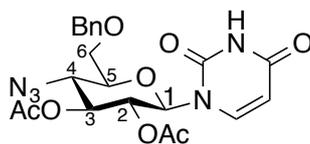
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.81 (bs, 1H, NH), 7.21 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 8.5$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 5.77 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz, H1), 5.74 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 8.5$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 5.32 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.0$  Hz, H3), 5.03 (dd, 1H,  $J_{2,1} = 9.5$  Hz,  $J_{2,3} = 9.0$  Hz, H2), 4.33 (d, 1H,  $J_{6,6'} = 12.5$  Hz, H6), 4.20 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 12.5$  Hz,  $J_{6',5} = 3.0$  Hz, H6'), 3.72-3.53 (m, 2H, H4, H5), 2.05 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 1.93 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.5 (C=O), 169.9 (C=O), 169.6 (C=O), 162.4 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 150.3 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 139.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 104.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 80.5 (C1), 75.4 (C5), 73.6 (C3), 69.6 (C2), 62.7 (C6), 60.1 (C4), 21.0 (CH<sub>3</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>), 20.5 (CH<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 426.1260$   $[M+H]^+$ .  $C_{16}H_{19}N_5O_9F$  requires 426.1261.

IR  $\nu$  (film,  $cm^{-1}$ ) 2960 (=C-H), 2111 ( $N_3$ ), 1748 (C=O), 1689 (NH-C=O).

### 2,3-Di-*O*-acetyl-4-azido-6-*O*-benzyl-1-*N*-Uracile- $\beta$ -D-glucopyranoside **100b**



Chemical Formula:  $C_{21}H_{23}N_5O_8$   
Molecular Weight: 473,44

The General Procedure (**B**) was followed using **63b** (400 mg, 0.82 mmol), uracil (147 mg, 1.31 mmol), BSA (0.80 mL, 3.28 mmol), TMSOTf (0.18 mL, 0.98 mmol) in dry ACN (8.2 mL). The residue was purified by flash chromatography (Heptane/AcOEt 90/10 to 50/50) to afford product **100b** (314 mg, 0.66 mmol, 81 %) as a yellow powder.

$[\alpha]_D^{25} +20.6$  ( $c = 1.0$ ,  $CHCl_3$ ).

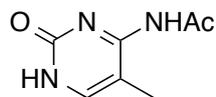
$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.78 (bs, 1H, NH), 7.43-7.29 (m, 6H,  $H_{Ar}$ ), 5.81 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.0$  Hz, H1), 5.80 (d, 1H,  $J_{H_{Ar}, H_{Ar}} = 8.0$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 5.33 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.5$  Hz, H3), 5.07 (dd, 1H,  $J_{2,1} = 9.0$  Hz,  $J_{2,3} = 9.5$  Hz, H2), 4.62 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz,  $CH_2Ph$ ), 4.55 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz,  $CH_2Ph$ ), 3.94 (dd, 1H,  $J_{4,3} = 9.5$  Hz,  $J_{4,5} = 10.0$  Hz, H4), 3.82-3.70 (m, 2H, H6, H6'), 3.61 (ddd, 1H,  $J_{5,4} = 10.0$  Hz,  $J_{5,6} = 3.0$  Hz,  $J_{5,6'} = 2.0$  Hz, H5), 2.13 (s, 3H,  $CH_3$ ), 1.99 (s, 3H,  $CH_3$ ).

$^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  169.9 (C=O), 169.7 (C=O), 162.5 ( $C_q$ ,  $C_{Ar}$ ), 150.3 ( $C_q$ ,  $C_{Ar}$ ), 139.4 (CH,  $C_{Ar}$ ), 137.5 ( $C_q$ ,  $C_{Ar}$ ), 128.7 (CH,  $C_{Ar}$ ), 128.3 (CH,  $C_{Ar}$ ), 128.0 (CH,  $C_{Ar}$ ), 103.8 (CH,  $C_{Ar}$ ), 80.6 (C1), 77.0 (C5), 73.9 ( $CH_2Ph$ ), 73.5 (C3), 69.8 (C2), 68.2 (C6), 59.6 (C4), 20.8 ( $CH_3$ ), 20.6 ( $CH_3$ ).

ESIHRMS  $m/z = 474.1626$   $[M+H]^+$ .  $C_{21}H_{24}N_5O_8$  requires 474.1625.

IR  $\nu$  (film,  $cm^{-1}$ ) 2109 ( $N_3$ ), 1752 (C=O), 1688 (NH-C=O).

### ***N*-acétyl-5-méthylcytosine 101a**

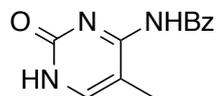


Chemical Formula: C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  
Molecular Weight: 167,17

To a suspension of 5-methylcytosine (200 mg, 1.24 mmol, 1 eq.) in pyridine (1.2 mL) was added acetic anhydride (0.57 mL, 6.06 mmol, 4.9 eq.). The solution became yellow and was stirred overnight at 50 °C. The mixture was then diluted with cold CHCl<sub>3</sub> (5 mL) and the precipitate is filtered to afford clean product **101a** (36 mg, 0.215 mmol, 17 %) as an orange powder, which was used without further purification.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.73 (s, 1H, H<sub>Ar</sub>), 2.22 (s, 3H, C<sub>Ar</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.91 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>).

### ***N*-Benzoyl-5-methylcytosine 101b**

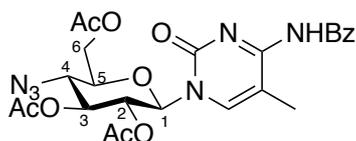


Chemical Formula: C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  
Molecular Weight: 229,24

To a suspension of 5-methylcytosine (1.5 g, 12.0 mmol, 1 eq.) in dry acetonitrile (40 mL) was added benzoic anhydride (3.25 g, 14.4 mmol, 1.2 eq.), followed by DMAP (293 mg, 2.40 mmol, 0.2 eq.), under argon atmosphere. The resulting mixture was refluxed for 24 h then EtOH (25 mL) was added to the hot solution. The solution was cooled to room temperature and the resulting solid was filtered, washed with EtOH (15 mL) and Et<sub>2</sub>O (15 mL) and dried under vacuum to afford clean product **101b** (2.08 g, 9.07 mmol, 76 %) as a pink solid (Experimental data are in agreement with those reported in the literature).<sup>187</sup>

<sup>187</sup> Buchini, S.; Leumann, C. J. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2006, 3152-3168.

## 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-azido-1-*N*-4'-*N*-benzoyl-cytosine- $\beta$ -D-glucopyranoside **102b**



Chemical Formula: C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>  
Molecular Weight: 542,51

The General Procedure (**B**) was followed using **62a** (52 mg, 0.15 mmol), **101b** (51 mg, 0.22 mmol), BSA (0.13 mL, 0.56 mmol), SnCl<sub>4</sub> (49  $\mu$ L, 0.41 mmol) in dry ACN (1.4 mL). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/ AcOEt 70:30 to 50:50) to afford product **102b** (34 mg, 0.06 mmol, 45 %) as a white powder.

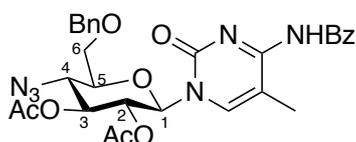
$[\alpha]_D^{25} + 4.1$  ( $c = 1.2$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.39-8.19 (m, 2H, *H*<sub>Ar</sub>), 7.59-7.36 (m, 3H, *H*<sub>Ar</sub>), 7.20 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},CH_3} = 1.5$  Hz, *H*<sub>Ar</sub>), 5.85 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz, *H*<sub>1</sub>), 5.35 (m, 1H, *H*<sub>3</sub>), 5.12 (t, 1H,  $J_{2,1} = J_{2,3} = 9.5$  Hz, *H*<sub>2</sub>), 4.38 (d, 1H,  $J_{6,6'} = 12.5$  Hz, *H*<sub>6</sub>), 4.27 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 12.5$  Hz,  $J_{6',5} = 3.5$  Hz, *H*<sub>6'</sub>), 3.79-3.61 (m, 2H, *H*<sub>4</sub>, *H*<sub>5</sub>), 2.12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.98 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  180.0 (C=O), 170.5 (C=O), 170.0 (C=O), 169.6 (C=O), 159.0 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 148.2 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 136.9 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 135.5 (CH), 133.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 130.2 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.4 (CH, C<sub>Ar</sub>), 113.3 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>-CH<sub>3</sub>), 80.6 (C<sub>1</sub>), 75.4 (C<sub>5</sub>), 73.8 (C<sub>3</sub>), 69.8 (C<sub>2</sub>), 62.9 (C<sub>6</sub>), 60.1 (C<sub>4</sub>), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 14.0 (CH<sub>3</sub>).

**ESIHRMS**  $m/z = 543.1835$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub> requires 543.1840.

## 2,3-Di-*O*-acetyl-4-azido-6-*O*-benzyl-1-*N*-4'-*N*-benzoyl-cytosine- $\beta$ -D-glucopyranoside **102c**



Chemical Formula: C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>  
Molecular Weight: 590,59

The General Procedure (B) was followed using **63b** (552 mg, 1.13 mmol), **101b** (400 mg, 1.74 mmol), BSA (1.1 mL, 4.45 mmol), TMSOTf (0.34 mL, 1.86 mmol) in dry ACN (10 mL). The residue was purified by preparative HPLC, gradient from 30 to 100 % ACN in 15 min to afford product **102c** (395 mg, 0.67 mmol, 56 %) as a yellow powder.

$[\alpha]_D^{25}$  -12.7 ( $c=1.2$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

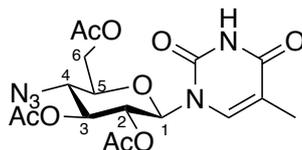
**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.33-8.25 (m, 2H,  $H_{\text{Ar}}$ ), 7.57-7.26 (m, 9H,  $H_{\text{Ar}}$ ), 5.82 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz,  $H1$ ), 5.30 (dd, 1H,  $J_{3,2} = 9.5$  Hz,  $J_{3,4} = 10.0$  Hz,  $H3$ ), 5.10 (t, 1H,  $J_{2,1} = J_{2,3} = 9.5$  Hz,  $H2$ ), 4.60 (d, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.53 (d, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 3.95 (t, 1H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz,  $H4$ ), 3.81-3.68 (m, 2H,  $H6$ ,  $H6'$ ), 3.50 (ddd, 1H,  $J_{5,4} = 10.0$  Hz,  $J_{5,6} = 4.5$  Hz,  $J_{5,6'} = 2.0$  Hz,  $H5$ ), 2.10 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.09 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1.96 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  180.0 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 170.0 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 169.7 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 159.2 ( $\text{C}_q$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 148.2 ( $\text{C}_q$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 137.6 ( $\text{C}_q$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 137.0 ( $\text{C}_q$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 135.9 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 132.9 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 130.2 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 128.7 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 128.4 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 128.2 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 128.0 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 113.1 ( $\text{C}_q$ ,  $\text{C}-\text{CH}_3$ ), 80.7 ( $\text{C}1$ ), 77.0 ( $\text{C}5$ ), 73.8 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 73.7 ( $\text{C}3$ ), 69.9 ( $\text{C}2$ ), 68.2 ( $\text{C}6$ ), 59.6 ( $\text{C}4$ ), 20.8 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 20.6 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 13.9 ( $\text{CH}_3$ ).

**ESIHRMS**  $m/z = 591.2208$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{N}_6\text{O}_8$  requires 591.2203.

**IR v (film,  $\text{cm}^{-1}$ )** 2109 ( $\text{N}_3$ ), 1753 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1709 ( $\text{C}=\text{O}$ ) 1656 ( $\text{NH}-\underline{\text{C}}=\text{O}$ ).

### 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-azido-1-*N*-thymine- $\beta$ -D-glucoopyranoside **103a**



Chemical Formula:  $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_9$   
Molecular Weight: 439,38

The General Procedure (B) was followed using **62a** (400 mg, 1.07 mmol), thymine (216 mg, 1.72 mmol), BSA (1.0 mL, 4.28 mmol),  $\text{SnCl}_4$  (0.38 mL, 3.22 mmol) in dry ACN (10.7 mL).

The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/ AcOEt 70:30 to 40:60) to afford product **103a** (307 mg, 0.70 mmol, 70 %) as a white powder.

$[\alpha]_D^{25} +8.7$  ( $c = 0.9$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

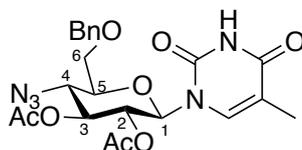
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.68 (s, 1H, *NH*), 7.05 (d, 1H,  $J_{\text{HAr},\text{CH}_3} = 1.3$  Hz, *HAr*), 5.82 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz, *H1*), 5.35 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.5$  Hz, *H3*), 5.10 (t, 1H,  $J_{2,1} = J_{2,3} = 9.5$  Hz, *H2*), 4.37 (dd, 1H,  $J_{6,6'} = 12.5$  Hz,  $J_{6,5} = 1.5$  Hz, *H6*), 4.25 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 12.5$  Hz,  $J_{6',5} = 4.5$  Hz, *H6'*), 3.71-3.64 (m, 2H, *H4*, *H5*), 2.11 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 2.10 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 1.97 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 1.92 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3,\text{HAr}} = 1.0$  Hz,  $\text{CArCH}_3$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.4 ( $\text{C=O}$ ), 169.7 ( $\text{C=O}$ ), 169.4 ( $\text{C=O}$ ), 162.9 ( $\text{Cq}$ ,  $\text{CAr}$ ), 150.2 ( $\text{Cq}$ ,  $\text{CAr}$ ), 134.3 ( $\text{CH}$ ,  $\text{CAr}$ ), 112.3 ( $\text{Cq}$ ,  $\text{CAr-CH}_3$ ), 80.2 (*C1*), 75.1 (*C5*), 73.5 (*C3*), 69.3 (*C2*), 62.6 (*C6*), 59.9 (*C4*), 20.8 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 20.6 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 20.4 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 12.6 ( $\text{CArCH}_3$ ).

**ESIHRMS**  $m/z = 440.1418$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_9$  requires 440.1409.

**IR v (film,  $\text{cm}^{-1}$ )** 3220 (N-H), 3075 ( $=\text{C-H}$ ), 2931 ( $\text{CH}_3$ ), 2111 ( $\text{N}_3$ ), 1748 ( $\text{C=O}$ ), 1690 ( $\text{NH-C=O}$ ).

### 2,3-Di-*O*-acetyl-4-azido-6-*O*-benzyl-1-*N*-thymine- $\beta$ -D-glucopyranoside **103b**



Chemical Formula:  $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_8$   
Molecular Weight: 487,47

The General Procedure (**B**) was followed using **63b** (50 mg, 0.1 mmol), Thymine (21 mg, 1.4 mmol), BSA (0.1 mL, 0.41 mmol), TMSOTf (28  $\mu\text{L}$ , 0.16 mmol) in dry ACN (1.0 mL). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/ AcOEt 70:30 to 60:40) to afford product **103b** (34 mg, 0.07 mmol, 67 %) as a white powder.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} +11.1$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

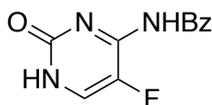
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.42-7.25 (m, 5H,  $H_{\text{Ar}}$ ), 7.11 (d, 1H,  $J_{H_{\text{Ar}},\text{CH}_3} = 1.0$  Hz,  $H_{\text{Ar}}$ ), 5.79 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz,  $H1$ ), 5.29 (dd, 1H,  $J_{3,2} = 9.5$  Hz,  $J_{3,4} = 10.0$  Hz,  $H3$ ), 5.07 (t, 1H,  $J_{2,1} = J_{2,3} = 9.5$  Hz,  $H2$ ), 4.59 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.52 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 3.90 (t, 1H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz,  $H4$ ), 3.79-3.66 (m, 2H,  $H6$ ,  $H6'$ ), 2.08 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 1.95 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 1.91 (d, 3H,  $J_{\text{CH}_3,H_{\text{Ar}}} = 1.0$  Hz,  $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  169.9 ( $\text{C=O}$ ), 169.8 ( $\text{C=O}$ ), 163.5 ( $\text{Cq}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 150.6 ( $\text{Cq}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 137.6 ( $\text{Cq}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 134.6 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 128.7 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 128.2 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 128.0 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 112.3 ( $\text{Cq}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-CH}_3$ ), 80.2 ( $\text{C1}$ ), 76.9 ( $\text{C5}$ ), 73.8 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 73.7 ( $\text{C3}$ ), 69.8 ( $\text{C2}$ ), 68.2 ( $\text{C6}$ ), 59.7 ( $\text{C4}$ ), 20.8 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 20.6 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 12.6 ( $\text{C}_{\text{Ar}}\text{CH}_3$ ).

**ESIHRMS**  $m/z = 487.1783$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_8$  requires 487.1781.

**IR v (film,  $\text{cm}^{-1}$ )** 3675 (N-H), 2988 ( $=\text{C-H}$ ), 2901 ( $\text{CH}_2$ ), 2111 ( $\text{N}_3$ ), 1754 ( $\text{C=O}$ ), 1697 ( $\text{NH-C=O}$ ).

### ***N*-benzoyl-5-fluorocytosine 104**

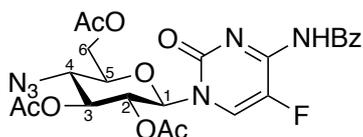


Chemical Formula:  $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{FN}_3\text{O}_2$   
Molecular Weight: 233,20

To a suspension of 5-fluorocytosine (3 g, 23.2 mmol, 1 eq.) in dry acetonitrile (30 mL) was added benzoic anhydride (6.3 g, 27.8 mmol, 1.2 eq.), followed by DMAP (568 mg, 4.64 mmol, 0.2 eq.), under argon atmosphere. The resulting mixture was refluxed for 24 h then EtOH (4 mL) was added to the hot solution. The solution was cooled to room temperature and the resulting solid was filtered, washed with EtOH (15 mL) and  $\text{Et}_2\text{O}$  (15 mL) and dried under vacuum to afford clean product **104** (4.84 g, 20.8 mmol, 89 %) as a white solid (Experimental data are in agreement with those reported in the literature).<sup>188</sup>

<sup>188</sup> Caso, M. F.; D'Alonzo, D.; D'Errico, S.; Palumbo, G.; Guaragna, A. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 2626-2629.

## 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-azido-1-*N*-4'-*N*-benzoyl-5'-fluorocytosine- $\beta$ -*D*-glucopyranoside **105a**



Chemical Formula: C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>6</sub>O<sub>9</sub>  
Molecular Weight: 546,47

The General Procedure (**B**) was followed using **62a** (100 mg, 0.27 mmol), **104** (100 mg, 0.43 mmol), BSA (0.26 mL, 1.08 mmol), SnCl<sub>4</sub> (94  $\mu$ L, 0.80 mmol) in dry ACN (2.7 mL). The residue was purified by preparative HPLC, gradient from 30 to 100 % ACN in 15 min, to afford product **105a** (75 mg, 0.14 mmol, 51 %) as a yellow powder.

$[\alpha]_D^{25} = +10.0$  (c = 1.0, CDCl<sub>3</sub>).

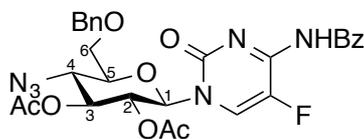
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.26 (d, 2H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 7.55 (t, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz  $H_{Ar}$ ), 7.47-7.39 (m, 3H,  $H_{Ar}$ ), 5.82 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz,  $H1$ ), 5.37 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.5$  Hz,  $H3$ ), 5.03 (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{2,1} = 9.5$  Hz,  $H2$ ), 4.39 (d, 1H,  $J_{H6,H6'} = 12.5$  Hz,  $H6$ ), 4.27 (dd, 1H,  $J_{H6',H6} = 12.5$  Hz,  $J_{H6',H5} = 4.0$  Hz,  $H6'$ ), 3.72-3.63 (m, 2H,  $H4$ ,  $H5$ ), 2.12 (s, 3H,  $CH_3$ ), 2.11 (s, 3H,  $CH_3$ ), 1.99 (s, 3H,  $CH_3$ ).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.5 (C=O), 170.1 (C=O), 169.5 (C=O), 133.6 (CH,  $C_{Ar}$ ), 130.4 (CH,  $C_{Ar}$ ), 128.6 (CH,  $C_{Ar}$ ), 124.0 (CH,  $C_{Ar}$ ), 81.1 (C1), 75.5 (C5), 73.4 (C3), 69.8 (C2), 62.7 (C6), 60.0 (C4), 21.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.6 (C(O)CH<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 547.1589$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>F requires 547.1589.

IR v (film, cm<sup>-1</sup>) 3100 (=C-H), 2113 (N<sub>3</sub>), 1754 (C=O), 1674 (NH-C=O).

**2,3-Di-O-acetyl-4-azido-6-O-benzyl-1-N-4'-N-benzoyl-5'-fluorocytosine- $\beta$ -D-glucopyranoside 105b**



Chemical Formula:  $C_{28}H_{27}FN_6O_8$   
Molecular Weight: 594,56

The General Procedure (**B**) was followed using **63b** (1.49 g, 3.05 mmol), **104** (1.14 g, 4.89 mmol), BSA (2.27 mL, 9.16 mmol), TMSOTf (0.66 mL, 3.66 mmol) in dry ACN (30 mL). The residue was purified by preparative HPLC, gradient from 30 to 100 % ACN in 15 min, to afford product **105b** (918 mg, 1.54 mmol, 50 %) as a yellow powder.

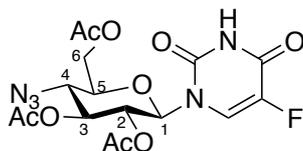
**$^1H$  NMR** (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.29 (d, 2H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.0$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 7.57-7.43 (m, 4H,  $H_{Ar}$ ), 7.42-7.30 (m, 5H,  $H_{Ar}$ ), 5.79 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.0$  Hz,  $H1$ ), 5.32 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.5$  Hz,  $H3$ ), 5.00 (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{2,1} = 9.5$  Hz,  $H2$ ), 4.61 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz,  $CH_2Ph$ ), 4.56 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz,  $CH_2Ph$ ), 3.94 (t, 1H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz,  $H4$ ), 3.81-3.71 (m, 2H,  $H6, H6'$ ), 3.59 (d, 1H,  $J_{5,4} = 10.0$  Hz,  $H5$ ), 2.12 (s, 3H,  $CH_3$ ), 2.00 (s, 3H,  $CH_3$ ).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  170.1 (C=O), 169.7 (C=O), 152.2 ( $Cq, C_{Ar}$ ), 147.0 ( $Cq, C_{Ar}$ ), 141.5 ( $Cq, C_{Ar}$ ), 139.5 ( $Cq, C_{Ar}$ ), 137.5 ( $Cq, C_{Ar}$ ), 133.5 (CH,  $C_{Ar}$ ), 130.4 (CH,  $C_{Ar}$ ), 128.8 (CH,  $C_{Ar}$ ), 128.6 (CH,  $C_{Ar}$ ), 128.3 (CH,  $C_{Ar}$ ), 128.1 (CH,  $C_{Ar}$ ), 81.1 ( $C1$ ), 77.1 ( $C5$ ), 73.9 ( $CH_2Ph$ ), 73.3 ( $C3$ ), 70.1 ( $C2$ ), 68.1 ( $C6$ ), 59.5 ( $C4$ ), 20.8 (C(O) $CH_3$ ), 20.6 (C(O) $CH_3$ ).

**ESIHRMS**  $m/z = 595.1951$  [ $M+H$ ] $^+$ .  $C_{28}H_{28}N_6O_8F$  requires 595.1953.

**IR v (film,  $cm^{-1}$ )** 3089 (=C-H), 2111 ( $N_3$ ), 1753 (C=O), 1672 (NH-C=O).

## 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-azido-1-*N*-5'-fluorouracil- $\beta$ -D-glucopyranoside **106a**



Chemical Formula: C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>9</sub>  
Molecular Weight: 443,34

A mixture of 5-fluorouracil (122 mg, 0.94 mmol, 1.4 eq.), hexamethyldisilazane (0.24 mL, 1.14 mmol, 1.7 eq.) and saccharine (8 mg, 0.04 mmol, 6.5 %mol) in anhydrous ACN (4.3 mL) was refluxed for 30 min under inert atmosphere. **62a** (250 mg, 0.67 mmol, 1 eq.) and TMSOTf (0.24 mL, 1.34 mmol, 2 eq.) were then added and the resulting mixture was refluxed for 6 h, cooled to room temperature, neutralized with saturated aqueous sodium bicarbonate (3 mL) and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL). The organic extract was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (Heptane/AcOEt 9:1 to 5:5) to afford the clean product **106a** (202 mg, 0.46 mmol, 68 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} + 23.0$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

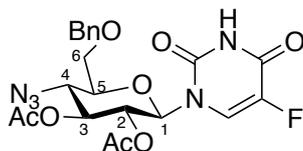
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9.48 (d, 1H,  $J_{NH,F} = 4.5$  Hz, NH), 7.34 (d, 1H,  $J_{HAr,F} = 5.5$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 5.84 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz, H1), 5.39 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.5$  Hz, H3), 5.03 (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{2,1} = 9.5$  Hz, H2), 4.39 (dd, 1H,  $J_{6,6} = 12.5$  Hz,  $J_{6,5} = 1.5$  Hz, H6), 4.25 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 12.5$  Hz,  $J_{6',5} = 4.5$  Hz, H6'), 3.80-3.71 (m, 1H, H5), 3.66 (dd, 1H,  $J_{4,5} = 10.5$  Hz,  $J_{4,3} = 9.5$  Hz, H4), 2.11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.98 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.4 (C=O), 169.9 (C=O), 169.5 (C=O), 156.2 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 142.4 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 139.3 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 123.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 80.5 (C1), 75.0 (C5), 73.1 (C3), 69.5 (C2), 62.4 (C6), 59.7 (C4), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.4 (C(O)CH<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 444.1167$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>F requires 444.1180.

IR  $\nu$  (film, cm<sup>-1</sup>) 3222 (N-H), 3096 (=C-H), 2116 (N<sub>3</sub>), 1712 (C=O), 1673 (NH-C=O).

## 2,3-Di-*O*-acetyl-4-azido-6-*O*-benzyl-1-*N*-5'-fluorouracil- $\beta$ -D-glucopyranoside **106b**



Chemical Formula: C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>8</sub>  
Molecular Weight: 491,43

A mixture of 5-fluorouracil (42 mg, 0.31 mmol, 1.5 eq.), hexamethyldisilazane (77  $\mu$ L, 0.37 mmol, 1.8 eq.) and saccharine (3 mg, 0.01 mmol, 6.5 %mol) in anhydrous ACN (1.5 mL) was refluxed for 30 min under inert atmosphere. **63b** (100 mg, 0.21 mmol, 1 eq.) and TMSOTf (56  $\mu$ L, 0.37 mmol, 1.5 eq.) were then added and the resulting mixture was refluxed for 6 h, cooled to room temperature, neutralized with saturated aqueous sodium bicarbonate (3 mL) and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (8 mL). The organic extract was dried over anhydrous sodium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (Heptane/AcOEt 9:1 to 5:5) to afford the clean product **106b** (85 mg, 0.17 mmol, 82 %) as a yellow powder.

$[\alpha]_D^{25} = +25.6$  (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

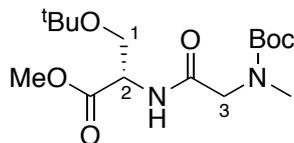
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.41-7.26 (m, 6H, H<sub>Ar</sub>), 5.75 (dd, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz,  $J_{1,HAr} = 1.5$  Hz, H1), 5.30 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.5$  Hz, H3), 4.97 (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{2,1} = 9.5$  Hz, H2), 4.58 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.53 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 3.89 (t, 1H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz, H4), 3.80-3.66 (m, 2H, H6, H6'), 3.59 (dt, 1H,  $J_{5,4} = 10.0$  Hz,  $J_{5,6} = 5.0$  Hz,  $J_{5,6'} = 2.0$  Hz, H5), 2.09 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.0 (C=O), 169.7 (C=O), 149.1 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 142.6 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 139.4 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 137.4 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 128.7 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.3 (CH, C<sub>Ar</sub>), 123.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 123.3 (CH, C<sub>Ar</sub>), 80.9 (C1), 77.0 (C5), 73.8 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (C3), 69.9 (C2), 68.1 (C6), 59.5 (C4), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.5 (C(O)CH<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 514.1348$  [M+Na]<sup>+</sup>. C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub>FNa requires 514.1350.

IR v (film, cm<sup>-1</sup>) 3089 (NH-C=O), 2112 (N<sub>3</sub>), 1710 (C=O), 1670 (NH-C=O).

### Boc-sarcosinyl-*O*-*tert*-butyl-D-serinyl-methyl ester 107a-D



Chemical Formula: C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>  
Molecular Weight: 346,42

To a stirred solution of *O*-*tert*-butyl-D-serinyl-methyl ester (250 mg, 1.18 mmol, 1 eq.) and Boc-sarcosine (290 mg, 1.54 mmol, 1.3 eq.) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (9.8 mL) were added 4Å molecular sieves (400 mg), hydroxybenzotriazole (239 mg, 1.77 mmol, 1.5 eq.) and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (452 mg, 2.36 mmol, 2 eq.). The resulting mixture was cooled to 0 °C and Et<sub>3</sub>N (0.49 mL, 3.54 mmol, 3 eq.) was added. After being stirred overnight at room temperature, the mixture was diluted with aqueous saturated NaHCO<sub>3</sub> (8 mL). The aqueous phase was then extracted with AcOEt (3 x 10 mL). The organic layers were combined, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 8:2 to 6:4) to afford product **107a-D** (367 g, 1.06 mmol, 90 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_D^{25}$  -26.4 ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

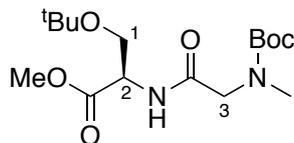
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  4.69 (m, 1H, *H*2), 4.17-3.81 (m, 2H, *H*3), 3.80 (dd, 1H,  $J_{1,1'} = 9.0$  Hz,  $J_{1',1} = 3.0$  Hz, *H*1), 3.72 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.53 (dd, 1H,  $J_{1,1'} = 9.0$  Hz,  $J_{1',1} = 3.0$  Hz, *H*1), 2.93 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.46 (s, 9H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.10 (s, 9H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  62.1 (*C*1), 53.4 (*C*3), 52.8 (*C*2), 52.6 (OCH<sub>3</sub>), 35.7 (NCH<sub>3</sub>), 28.5 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.5 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 347.2182$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> requires 347.2191.

IR  $\nu$  (film, cm<sup>-1</sup>) 3314 (N-H), 2975 (CH<sub>3</sub>), 2935 (CH<sub>2</sub>), 1751 (C=O), 1684 (NH-C=O).

## Boc-sarcosinyl- *O*-*tert*-butyl-L-serinyl methyl ester 107a-L



Chemical Formula: C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>  
Molecular Weight: 346,42

To a stirred solution of *O*-*tert*-butyl-L-serine methyl ester hydrochloride (250 mg, 1.18 mmol, 1 eq.) and Boc-sarcosine (290 mg, 1,55 mmol, 1.3 eq.) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) were added 4Å molecular sieves (335 mg), hydroxybenzotriazole (240 mg, 1.77 mmol, 1.5 eq.) and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (453 mg, 0.47 mmol, 2 eq.). The resulting mixture was cooled to 0 °C and Et<sub>3</sub>N (0.5 mL, 2.36 mmol, 3 eq.) was added. After being stirred overnight at room temperature, the mixture was diluted with aqueous saturated NaHCO<sub>3</sub> (6 mL). Aqueous phase was then extracted with AcOEt (3 x 5 mL). Organic layers were combined, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 50:50 to 30:70) to afford product **107a-L** (400 g, 1.16 mmol, 98 %) as a colorless oil.

$[\alpha]_D^{25} + 32.9$  ( $c = 0.82$ , CHCl<sub>3</sub>).

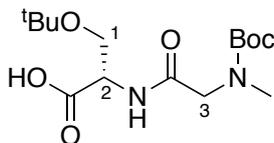
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  4.64 (m, 1H, *H*<sub>2</sub>), 4.13-3.79 (m, 2H, *H*<sub>3</sub>, *H*<sub>3'</sub>), 3.76 (dd, 1H,  $J_{1,1} = 9.0$  Hz,  $J_{1,2} = 3.0$  Hz, *H*<sub>1</sub>), 3.67 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.49 (dd, 1H,  $J_{1',1} = 9.0$  Hz,  $J_{1',2} = 3.0$  Hz, *H*<sub>1'</sub>), 2.89 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.41 (s, 9H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.06 (s, 9H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  61.8 (*C*<sub>1</sub>), 53.2 (*C*<sub>3</sub>), 52.6 (*C*<sub>2</sub>), 52.4 (OCH<sub>3</sub>), 35.4 (NCH<sub>3</sub>), 28.3 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.2 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 369.2003$  [M+Na]<sup>+</sup>. C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Na requires 369.2002.

IR  $\nu$  (film, cm<sup>-1</sup>) 3322 (N-H), 2975 (CH<sub>3</sub>), 2935 (CH<sub>2</sub>), 1750 (C=O), 1686 (NH-C=O).

### Boc-sarcosinyl-*O*-*tert*-butyl-D-serine **108a-D**



Chemical Formula: C<sub>15</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>  
Molecular Weight: 332,40

To a stirred solution of **107a-D** (367 mg, 1.06 mmol, 1 eq.) in THF/H<sub>2</sub>O mixture (8.8 mL/1.8 mL 5:1), was added lithium hydroxide (33 mg, 1.38 mmol, 1.3 eq.). The resulting mixture was stirred for 1 h at room temperature and then concentrated under vacuum until THF was evaporated. HCl 1 N was then added until the pH = 2. The aqueous layer was extracted with AcOEt (3x 10 mL). The organic layers were combined, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum to afford the clean product **108a-D** (351 mg, 1.06 mmol, quantitative). The product is used without further purification.

$[\alpha]_D^{25}$  - 32.8 ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

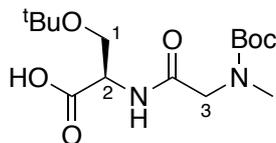
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6.90 (d, 1H,  $J_{NH,H2} = 8.0$  Hz, NH), 4.68 (m, 1H, H2), 4.07-3.64 (m, 2H, H3, H3'), 3.85 (dd, 1H,  $J_{1,1'} = 9.0$  Hz,  $J_{1,2} = 3.0$  Hz, H1), 3.55 (dd, 1H,  $J_{1,1'} = 9.0$  Hz,  $J_{1,2} = 4.0$  Hz, H1'), 2.92 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.44 (s, 9H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.12 (s, 9H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  173.7 (C=O), 169.9 (C=O), 81.2 (Cq, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 74.1 (Cq, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 61.7 (C1), 53.3 (C3), 52.7 (C2), 35.8 (NCH<sub>3</sub>), 28.5 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.5 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 355.1842$  [M+Na]<sup>+</sup>. C<sub>15</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Na requires 355.1845.

IR  $\nu$  (film, cm<sup>-1</sup>) 3320 (O-H), 2975 (CH<sub>3</sub>), 2935 (CH<sub>2</sub>), 1739 (C=O), 1670 (NH-C=O).

### Boc-sarcosinyl-*O*-*tert*-butyl-L-serine **108a-L**



Chemical Formula: C<sub>15</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>  
Molecular Weight: 332,40

To a stirred solution of **107a-L** (320 mg, 0.92 mmol, 1 eq.) in THF/H<sub>2</sub>O mixture (7.7 mL/1.5 mL 5:1) was added lithium hydroxide (29 mg, 1.20 mmol, 1.3 eq.). The resulting mixture was stirred for 1 h at room temperature and then concentrated under vacuum until THF was evaporated. HCl 1 N was then added until the pH = 2. The aqueous layer was extracted with AcOEt (3x 10 mL). The organic layers were combined, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum to afford the clean product **108a-L** (305 mg, 0.92 mmol, quantitative). The product is used without further purification.

$[\alpha]_D^{25} + 27.3$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

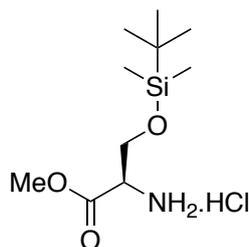
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6.87 (d, 1H,  $J_{NH,H2} = 7.0$  Hz, NH), 4.66 (bs, 1H, H<sub>2</sub>), 4.19-3.65 (m, 2H, H<sub>3</sub>, H<sub>3'</sub>), 3.86 (dd, 1H,  $J_{1,1'} = 9.0$  Hz,  $J_{1,2} = 3.0$  Hz, H<sub>1</sub>), 3.54 (dd, 1H,  $J_{1,1'} = 9.0$  Hz,  $J_{1,2} = 4.0$  Hz, H<sub>1'</sub>), 2.93 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.44 (s, 9H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.13 (s, 9H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  173.4 (C=O), 169.9 (C=O), 81.1 (C<sub>q</sub>, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 74.2 (C<sub>q</sub>, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 61.6 (C<sub>1</sub>), 53.6 (C<sub>3</sub>), 52.7 (C<sub>2</sub>), 35.8 (NCH<sub>3</sub>), 28.5 (CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.5 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 331.1848$  [M-H]<sup>-</sup>. C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> requires 331.1869.

IR  $\nu$  (film, cm<sup>-1</sup>) 3326 (O-H), 2975 (CH<sub>3</sub>), 2935 (CH<sub>2</sub>), 1739 (C=O), 1671 (NH-C=O).

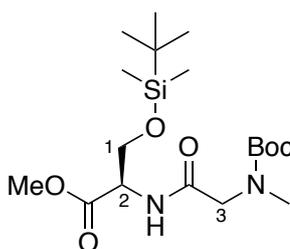
### ***O*-tert-butyl-dimethylsilyl-L-serinyl-methyl ester 109**



Chemical Formula: C<sub>10</sub>H<sub>24</sub>ClNO<sub>3</sub>Si  
Molecular Weight: 269,84

To a stirred solution of L-serine (200 mg, 1.28 mmol, 1 eq.) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.6 mL) was added TBDMSCl (407 mg, 2.7 mmol, 2.1 eq.). The resulting mixture was cooled at 0 °C and imidazole (184 mg, 2.7 mmol, 2.1 eq.) was added. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight and then poured into H<sub>2</sub>O and acidified with HCl until pH = 5. The layers were separated and the organic layer was washed twice with water (2 x 1.5 mL), dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduce pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 6:4 to 1:9) to afford the clean product **109** (178 mg, 0.763 mmol, 59 %) as a white powder (Experimental data are in agreement with those reported in the literature).<sup>189</sup>

### **Boc-sarcosinyl-*O*-tert-butyl-dimethylsilyl-L-serinyl-methyl ester 107b-L**



Chemical Formula: C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Si  
Molecular Weight: 404,58

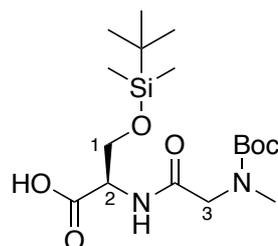
To a stirred solution of **109** (178 mg, 0.76 mmol, 1 eq.) and Boc-sarcosine (188 mg, 0.99 mmol, 1.3 eq.) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6.3 mL) were added 4Å molecular sieves (300 mg), hydroxybenzotriazole (155 mg, 1.50 mmol, 1.5 eq.) and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (292 mg, 1.53 mmol, 2 eq.). The resulting mixture was

<sup>189</sup> Novachek, K. A.; Meyers, A. I. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 1743.

cooled to 0 °C and Et<sub>3</sub>N (0.31 mL, 2.29 mmol, 3 eq.) was added. After being stirred overnight at room temperature, the mixture was diluted with aqueous saturated NaHCO<sub>3</sub> (5 mL). Aqueous phase was then extracted with AcOEt (3 x 10 mL). Organic layers were combined, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/AcOEt 9:1 to 6:4) to afford the corresponding dipeptide **107b-L** (239 g, 0.59 mmol, 77 %) as a colorless oil.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.71-4.61 (m, 1H, *H*<sub>2</sub>), 4.07 (dd, 1H, *J*<sub>1,1'</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>1,2</sub> = 2.5 Hz, *H*<sub>1</sub>), 3.96-3.75 (m, 2H, *H*<sub>3</sub>, *H*<sub>3'</sub>), 3.79 (dd, 1H, *J*<sub>1,1'</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>1',2</sub> = 3.0 Hz, *H*<sub>1'</sub>), 3.72 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.94 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.46 (s, 9H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.84 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

#### Boc-sarcosinyl-*O*-*tert*-butyl-dimethylsilyl-L-serine **108b-L**

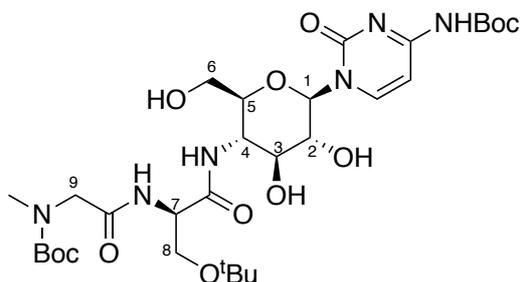


Chemical Formula: C<sub>17</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Si  
Molecular Weight: 390,55

To a stirred solution of the previous dipeptide **107b-L** (239 mg, 0.59 mmol, 1 eq.) in THF/H<sub>2</sub>O mixture (4.9/1.0 mL 5:1), was added lithium hydroxide (18.2 mg, 0.77 mmol, 1.3 eq.). The resulting mixture was stirred for 1 h at room temperature and then concentrated under vacuum until THF was evaporated. HCl 1 N was then added until the pH = 2. The aqueous layer was extracted with AcOEt (3x 8 mL). The organic layers were combined, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum to afford the clean product **108b-L** (225mg, 0.58 mmol, 97 %) The product is used without further purification.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.85 (bs, 1H, NH), 4.60 (bs, 1H, *H*<sub>2</sub>), 4.13 (dd, 1H, *J*<sub>1,1'</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>1,2</sub> = 3.0 Hz, *H*<sub>1</sub>), 3.99-3.75 (m, 2H, *H*<sub>3</sub>, *H*<sub>3'</sub>), 3.79 (dd, 1H, *J*<sub>1,1'</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>1',2</sub> = 4.5 Hz, *H*<sub>1'</sub>), 2.94 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.44 (s, 9H, CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.85 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.05 (s, 6H, CH<sub>3</sub>).

### Peptidonucleoside 114a-D

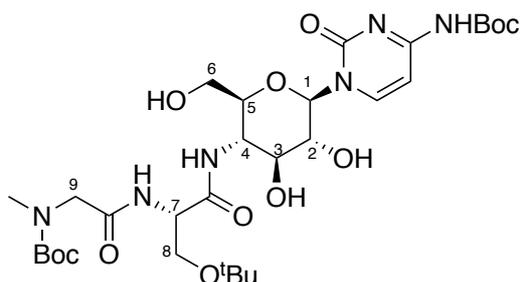


Chemical Formula: C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>N<sub>6</sub>O<sub>12</sub>  
Molecular Weight: 686,76

The General Procedure (C) was followed using **99c** (147 mg, 0.28 mmol), solution 1 (0.26 mL, C = 0,22 M, 20 mol%) in MeOH (5 mL). The obtained product (105 mg) was hydrogenated with Pd(OH)<sub>2</sub> (42 mg) in MeOH (2.6 mL) to give the corresponding amine **113** (94 mg). Then, the peptide coupling was carried with **113** (94 mg, 0.25 mmol), **108a-D** (109 mg, 0.33 mmol), DIPEA (0.17 mL, 1.01 mmol) and HATU (144 mg, 0.32 mmol) in DMF (4 mL). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (AcOEt/EtOH 99:1 to 92:8) to afford product **114a-D** (113 mg, 0.16 mmol, 65 %) as a yellow powder.

ESIHRMS  $m/z = 687.3566$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>30</sub>H<sub>51</sub>N<sub>6</sub>O<sub>12</sub> requires 687.3565.

### Peptidonucleoside 114a-L



Chemical Formula: C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>N<sub>6</sub>O<sub>12</sub>  
Molecular Weight: 686,76

The General Procedure (C) was followed using **99c** (503 mg, 0.96 mmol), solution 1 (0.88 mL, C = 0,22 M, 20 mol%) in MeOH (16 mL). The obtained product (355 mg) was hydrogenated with Pd(OH)<sub>2</sub> (142 mg) in MeOH (8.9 mL) to give the corresponding amine **113** (318 mg). Then, the peptide coupling was carried with **113** (150 mg, 0.40 mmol), **108a-L**

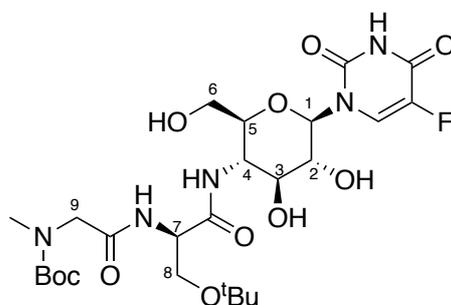


was purified by chromatography on silica gel (AcOEt/EtOH 90:10) to afford the clean product **114b-L** (39 mg, 0.052 mmol, 39 %) as a colorless oil.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, MeOD)  $\delta$  8.10 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 7.25 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 5.74 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.0$  Hz,  $H1$ ), 4.54-4.42 (m, 1H,  $H7$ ), 4.00-3.84 (m, 5H), 3.79-3.53 (m, 5H), 3.96-2.90 (bs, 3H,  $NCH_3$ ), 1.53 (s, 9H,  $CO_2C(CH_3)_3$ ), 1.50-1.41 (bs, 9H,  $CO_2C(CH_3)_3$ ), 0.92 (s, 9H,  $(CH_3)_3$ ), 0.10 (s, 6H,  $CH_3$ ).

**ESIHRMS**  $m/z = 745.3807$   $[M+H]^+$ .  $C_{32}H_{57}N_6O_{12}Si$  requires 745.3804.

### Peptidonucleoside 115

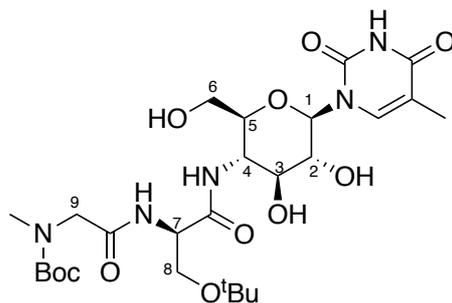


Chemical Formula:  $C_{25}H_{40}FN_5O_{11}$   
Molecular Weight: 605,62

The General Procedure (C) was followed using **106a** (194 mg, 0.72 mmol), solution 1 (1.2 mL,  $C=0.22$  M, 40 mol% of Na) in MeOH (7 mL). The obtained product (125 mg) was hydrogenated with  $Pd(OH)_2$  (50 mg) in MeOH (4 mL) to give the corresponding amine (107 mg). Then, the peptide coupling was carried out using the amine (107 mg, 0.37 mmol), **108a-D** (158 mg, 0.48 mmol), DIPEA (0.25 mL, 1.48 mmol) and HATU (167 mg, 0.44 mmol) in DMF (6 mL). The residue was purified by chromatography on silica gel (DCM/MeOH 96:4 to 92:8) to afford clean product **115** (124 mg, 0.20 mmol, 28 % over three steps) as a mixture of stereoisomers (dr 1:1).

**ESIHRMS**  $m/z = 606.2786$   $[M+H]^+$ .  $C_{25}H_{41}N_5O_{11}F$  requires 606.2787.

## Peptidonucleoside 116



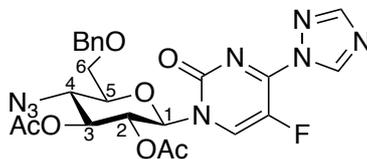
Chemical Formula: C<sub>26</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>11</sub>

Molecular Weight: 601,65

The General Procedure (C) was followed using **103a** (315 mg, 0.72 mmol), solution 1 (0.65 mL, C = 0.44 M, 40 mol%) in MeOH (10 mL). The obtained product (227 mg but only 169 mg were used for the further reaction) was hydrogenated with Pd(OH)<sub>2</sub> (68 mg) in MeOH (3.8 mL) to give the corresponding amine (110 mg). Then, the peptide coupling was carried out with the amine (110 mg, 0.38 mmol), **108a-D** (195 mg, 0.59 mmol), DIPEA (0.3 mL, 1.8 mmol) and HATU (206 mg, 0.54 mmol) in DMF (7.5 mL). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (AcOEt/EtOH 99:1 to 92:8) to afford clean product **116** (204 mg, 0.34 mmol, 47 %) as a yellow powder.

ESIHRMS  $m/z = 602.4783$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>N<sub>5</sub>O<sub>11</sub> requires 601.3037.

## 2,3-Di-O-acetyl-4-azido-6-O-benzyl-1-[4'-(1,2,4-triazole)-5'-fluoro-cytosine]-β-D-glucopyranoside 119



Chemical Formula: C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>8</sub>O<sub>7</sub>

Molecular Weight: 542,48

A solution of **106b** (80 mg, 0.16 mmol, 1 eq.) in DCM (1.6 mL), under argon atmosphere, was cooled to 0°C and Et<sub>3</sub>N (0.34 mL, 2.45 mmol, 15 eq.), and POCl<sub>3</sub> (60 μL, 0.65 mmol, 4 eq.), were added. After 10 min of stirring at 0 °C, triazole (169 mg, 2.44 mmol, 15 eq.) was added. The resulting mixture was stirred at reflux for 2 h and then quenched with water and

brine. The aqueous phase was extracted with AcOEt (3x3 mL). The organic phases were combined and washed with brine, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The crude residue was purified by flash chromatography (Heptane / AcOEt 50/50 to 20:80) to afford product .. (36 mg, 0.07 mmol, 41 %) as a white powder.

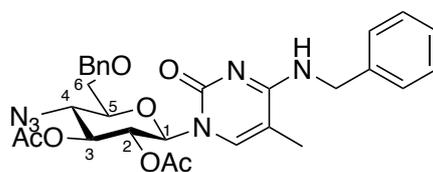
$[\alpha]_D^{25} +52.4$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  9.39 (s, 1H, *H*<sub>triazole</sub>), 9.02 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},F} = 7.0$  Hz, *H*<sub>Ar</sub>), 8.45 (s, 1H, *H*<sub>triazole</sub>), 7.38-7.31 (m, 5H, *H*<sub>Ar</sub>), 6.24 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz, *H*<sub>1</sub>), 5.58 (dd, 1H,  $J_{3,2} = 9.5$  Hz,  $J_{3,4} = 10.0$  Hz, *H*<sub>3</sub>), 5.46 (dd, 1H,  $J_{2,1} = 9.5$  Hz,  $J_{2,3} = 10.0$  Hz, *H*<sub>2</sub>), 4.60 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, *CH*<sub>2</sub>Ph), 4.48 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, *CH*<sub>2</sub>Ph), 4.16 (ddd,  $J_{5,4} = 10.0$  Hz,  $J_{5,6} = 5.0$  Hz,  $J_{5,6'} = 2.0$  Hz, *H*<sub>5</sub>), 3.94 (t, 1H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz, *H*<sub>4</sub>), 3.75-3.65 (m, 2H, *H*<sub>6</sub>, *H*<sub>6'</sub>), 2.08 (s, 3H, *CH*<sub>3</sub>), 1.88 (s, 3H, *CH*<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  169.5 (C=O), 169.4 (C=O), 154.3 (CH, C<sub>triazole</sub>), 151.4 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 145.9 (CH, C<sub>triazole</sub>), 138.0 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 137.3 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 136.1 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 135.8 (CH, C<sub>Ar</sub>), 135.3 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.2 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.5 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.5 (CH, C<sub>Ar</sub>), 81.1 (C<sub>1</sub>), 75.2 (C<sub>5</sub>), 72.4 (C<sub>3</sub>), 72.3 (CH<sub>2</sub>Ph), 70.7 (C<sub>2</sub>), 68.7 (C<sub>6</sub>), 59.1 (C<sub>4</sub>), 20.4 (COCH<sub>3</sub>), 20.1 (COCH<sub>3</sub>).

**ESIHRMS**  $m/z = 543.1752$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>FN<sub>8</sub>O<sub>7</sub> requires 543.1752.

### 2,3-Di-*O*-acetyl-4-azido-6-*O*-benzyl-1-*N*-4'-benzyl-cytosine- $\beta$ -D-glucopyranoside **123**



Chemical Formula: C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>  
Molecular Weight: 576,61

To a suspension of **103b** (100 mg, 0.21 mmol, 1 eq.) and triazole (425 mg, 6.15 mmol, 30 eq.) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL) was added distilled Et<sub>3</sub>N (0.85 mL, 6.15 mmol, 30 eq.), under argon atmosphere. The reaction was cooled to 0 °C and POCl<sub>3</sub> (76  $\mu$ L, 0.82 mmol, 4 eq.) was added. The resulting mixture was stirred at 0 °C for 10 min, then refluxed for 5 h. H<sub>2</sub>O was added dropwise (2 mL) then brine (2 mL) was added too. The diluted solution was stirred for

10 min, the layer were separated and the aqueous phase was extracted with AcOEt (3 x 8 mL). The organic phases were combined, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum pressure. The crude product **120b** was then diluted in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 mL) and benzylamine (56 μL, 0.51 mmol, 2.5 eq.) and DIPEA (87 μL, 0.512 mmol, 2.5 eq.) were added. The resulting mixture was stirred for 2 h at room temperature and then quenched with a solution of citric acid (5 % volume, 2 mL). After 10 min of stirring, the phases were separated and the aqueous phase was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 4 mL). The organic phase were combined and washed with brine (5 mL) and then dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum pressure. The crude product was purified by flash chromatography (Hept / AcOEt 5:5 to 2:8) to afford product **123** (55 mg, 0.095 mmol, 46 % over two steps) as white powder.

$[\alpha]_D^{25} + 18.7$  ( $c = 0.7$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.88-7.27 (m, 10H, H<sub>Ar</sub>), 7.14 (s, 1H, H<sub>Ar</sub>), 6.05 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz, H1), 5.31 (dd, 1H,  $J_{3,2} = 9.5$  Hz,  $J_{3,4} = 10.0$  Hz, H3), 5.12 (t, 1H,  $J_{NH,CH_2} = 5.0$  Hz, NH), 5.05 (t, 1H,  $J_{2,1} = J_{2,3} = 9.5$  Hz, H2), 4.77 (dd, 1H,  $J_{H,H} = 14.5$  Hz,  $J_{H,NH} = 5.0$  Hz, NCH<sub>2</sub>Ph), 4.61 (dd, 1H,  $J_{H,H} = 14.5$  Hz,  $J_{H,NH} = 5.0$  Hz, NCH<sub>2</sub>Ph), 4.53 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.50 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 3.91 (t, 1H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz, H4), 3.80-3.66 (m, 2H, H6), 3.58 (d, 1H,  $J_{5,4} = 10.0$  Hz, H5), 2.08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.94 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.88 (s, 3H, C<sub>Ar</sub>CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.3 (C=O), 169.7 (C=O), 163.0 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 156.3 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 137.7 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 137.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 129.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.7 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.4 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.2 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 102.9 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 81.1 (C1), 76.8 (C5), 73.9 (C3), 73.8 (OCH<sub>2</sub>Ph), 70.6 (C2), 68.4 (C6), 59.1 (C4), 45.5 (NCH<sub>2</sub>Ph), 20.8 (COCH<sub>3</sub>), 20.7 (COCH<sub>3</sub>), 13.3 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>3</sub>).

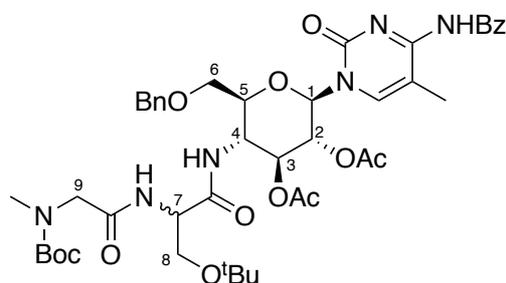
**ESIHRMS**  $m/z = 577.2416$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>29</sub>H<sub>33</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub> requires 577.2411.

**IR v (film, cm<sup>-1</sup>)** 3410 (N-H), 2108 (N<sub>3</sub>), 1747 (C=O), 1671 (-N-C=O).



IR  $\nu$  (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3280 (N-H), 2109 ( $\text{N}_3$ ), 1752 (C=O), 1671 (-NH-C=O).

### Peptidonucleoside **132**



Chemical Formula:  $\text{C}_{44}\text{H}_{58}\text{N}_6\text{O}_{13}$   
Molecular Weight: 878,98

Nucleoside **102c** (160 mg, 0.27 mmol, 1 eq.) was hydrogenated with a cartridge of Pd/C (100 mg) in AcOEt (2.7 mL) using a H-Cube apparatus to give the corresponding amine **127** (120 mg). Then, the peptide coupling was carried out with **127** (120 mg, 0.21 mmol, 1 eq.), **108a-D** (106 mg, 0.32 mmol, 1.5 eq.), DIPEA (73  $\mu\text{L}$ , 0.42 mmol, 2.0 eq.) and HATU (146 mg, 0.38 mmol, 1.8 eq.) in DMF (2.1 mL). The residue was purified by preparative HPLC, gradient from 30 to 100 % ACN, to afford product **132** as a mixture of two diastereoisomers  $\text{rd} = 1 / 1$  (115 mg, 0.131 mmol, 48 % over two steps).

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.31 (m, 2H,  $H_{\text{Ar}}$ ), 7.53 (t, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 7.5$  Hz,  $H_{\text{Ar}}$ ), 7.45 (t, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 7.5$  Hz  $H_{\text{Ar}}$ ), 7.35-7.25 (m, 6H,  $H_{\text{Ar}}$ ), 5.86 (d, 0.5H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz,  $H1$ ), 5.85 (d, 0.5H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz,  $H1'$ ), 5.35 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 10.0$  Hz,  $H3$ ), 5.11 (t, 0.5H,  $J_{2,1} = J_{2,3} = 9.5$  Hz,  $H2$ ), 5.08 (t, 0.5H,  $J_{2,1} = J_{2,3} = 9.5$  Hz,  $H2'$ ), 4.54 (d, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.48 (d, 1H,  $J_{\text{H,H}} = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.42 (bs, 0.5H,  $H9$ ), 4.38 (bs, 0.5H,  $H9'$ ), 4.31-4.16 (m, 1H,  $H4$ ), 4.14 (m, 0.5H,  $H7$ ), 4.03-3.78 (m, 3.5H,  $H5$ ,  $H7'$   $H8$  et  $H8'$ ,  $H9$  et  $H9'$ ), 3.70-3.57 (m, 2H,  $H6$ ), 3.43 (bs, 0.5H,  $H8$ ), 3.35 (bs, 0.5H,  $H8'$ ), 3.01 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 2.11 (s, 1.5H,  $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-CH}_3$ ), 2.10 (s, 1.5H,  $\text{C}_{\text{Ar}}\text{-CH}_3$ ), 2.02 (s, 1.5H,  $\text{COCH}_3$ ), 2.00 (s, 1.5H,  $\text{COCH}_3$ ), 1.97 (bs, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1.49 (bs, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.16 (s, 4.5H,  $\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.15 (s, 4.5H,  $\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ).

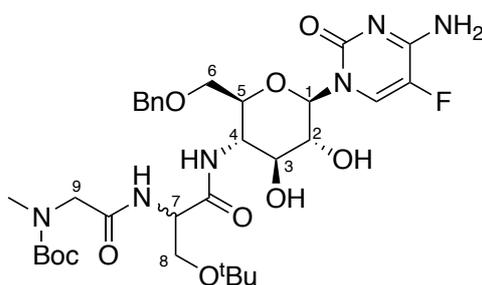
The  $^{13}\text{C}$  spectrum is described only for one diastereoisomer.

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  180.1 (C=O), 171.0 (C=O), 170.6 (C=O), 169.9 (C=O), 159.4 (Cq), 148.3 (Cq), 138.1 (Cq), 137.1 (Cq), 136.3 (CH,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 132.8 (CH,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 130.2 (CH,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ),

128.5 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.4 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 113.0 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>-CH<sub>3</sub>), 80.7 (C1), 77.5 (C5), 73.7 (CH<sub>2</sub>Ph), 71.9 (C3), 70.7 (C2), 69.4 (CH<sub>2</sub>, C6), 60.8 (CH<sub>2</sub>, C8), 53.8 (C7), 53.7 (CH<sub>2</sub>, C9), 50.4 (C4), 37.0 (NCH<sub>3</sub>), 28.7 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.7 (C(O)OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 20.8 (COCH<sub>3</sub>), 20.6 (COCH<sub>3</sub>), 13.9 (C<sub>Ar</sub>-CH<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 879.4139$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>44</sub>H<sub>59</sub>N<sub>6</sub>O<sub>13</sub> requires 879.4140

### Peptidonucleoside 133



Chemical Formula: C<sub>32</sub>H<sub>47</sub>FN<sub>6</sub>O<sub>10</sub>  
Molecular Weight: 694,76

To a stirred solution of the peptidonucleoside **131** (80 mg, 0.10 mmol, 1 eq.) in MeOH (1.5 mL) was added a solution of MeONa (39  $\mu$ L, C = 0.5 M, 0.2 eq.), under inert atmosphere. The resulting mixture was stirred at room temperature for 2 h and then neutralized with Amberlyst® 15 hydrogen form, filtered on celite® and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by preparative HPLC, gradient from 30 to 100 % ACN, to afford clean product **133** (13 mg, 0.02 mmol, 19 %) as a mixture of diastereoisomers (ratio 80: 20).

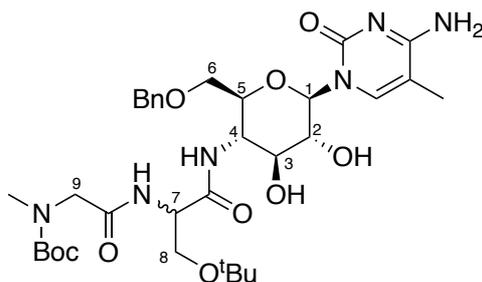
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.96 (d, 1H,  $J_{H,F} = 7.0$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 7.36-7.21 (m, 5H,  $H_{Ar}$ ), 5.42 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.0$  Hz,  $H1$ ), 4.41 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.37 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.33-4.23 (m, 1H,  $H4$ ), 3.94-3.73 (m, 2H), 3.69-3.57 (m, 2H), 3.56-3.44 (m, 4H), 3.44-3.33 (m, 2H), 2.77 (bs, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.41-1.29 (m, 9H), 1.12 (s, 7H, C(O)OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.10 (s, 2H, C(O)OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  169.9 (C<sub>q</sub>), 168.7 (C<sub>q</sub>), 168.6 (C<sub>q</sub>), 157.4 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar-F</sub>,  $J_{C,F} = 13.5$  Hz), 153.8 (C<sub>q</sub>), 138.4 (C<sub>q</sub>), 137.2 (C<sub>q</sub>), 135.2 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 128.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.5 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.3 (CH, C<sub>Ar</sub>), 126.4 (CH, C<sub>Ar</sub>), 83.2 (C1), 76.9 (CH), 74.0 (CH), 72.9 (C<sub>q</sub>), 72.3

(CH<sub>2</sub>Ph), 71.1 (CH), 69.9 (CH<sub>2</sub>), 61.9 (CH<sub>2</sub>), 54.1 (C<sub>4</sub>), 51.8 (CH), 51.4 (CH<sub>2</sub>), 35.1 (NCH<sub>3</sub>), 28.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.2 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

ESIMS  $m/z = 695.3400$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>32</sub>H<sub>48</sub>FN<sub>6</sub>O<sub>10</sub> requires 695.3416.

### Peptidonucleoside 134



Chemical Formula: C<sub>33</sub>H<sub>50</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>  
Molecular Weight: 690,80

To a stirred solution of the peptidonucléoside **132** (100 mg, 0.11 mmol, 1 eq.) in MeOH (2.0 mL) was added a solution of MeONa (44  $\mu$ L, C = 0.5 M, 0.2 eq.), under inert atmosphere. The resulting mixture was stirred at room temperature for 2 h and then neutralized with Amberyst® 15 hydrogen form, filtered on celite® and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by preparative HPLC, gradient from 30 to 100 % ACN, to afford clean product **134** (19 mg, 0.03 mmol, 25 %) as a mixture of two diastéréoisomère (dr 3:2).

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.46 (s, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.32-7.21 (m, 5H, H<sub>Ar</sub>), 5.48 (d, 0.6H,  $J_{1,2} = 9.0$  Hz, H1), 5.47 (d, 0.4H,  $J_{1,2} = 9.0$  Hz, H1'), 4.39 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.39 (s, 0.4H, H7'), 4.37 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.33-4.23 (m, 0.6H), 3.96-3.73 (m, 2H), 3.72-3.56 (m, 2H), 3.55-3.44 (m, 4H), 3.44-3.37 (m, 2H), 2.82-2.72 (m, 3H, NCH<sub>3</sub>), 1.85 (s, 3H, C<sub>Ar</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.43-1.30 (m, 9H), 1.12 (s, 5,4H), 1.10 (s, 3.6H).

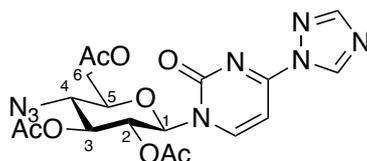
The <sup>13</sup>C spectrum is described only for one diastereoisomer.

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  169.9 (Cq), 169.5 (Cq), 165.2 (Cq), 155.5 (Cq), 138.9 (CH), 138.3 (Cq), 128.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.5 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.4 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.3 (CH, C<sub>Ar</sub>), 101.4 (Cq), 82.6 (C1), 78.7 (Cq), 77.2 (CH), 76.8 (CH), 74.3 (CH), 72.8 (Cq), 72.3 (CH<sub>2</sub>Ph), 71.3

(CH), 69.8 (CH<sub>2</sub>), 61.8 (CH<sub>2</sub>), 54.1 (CH), 51.8 (CH), 51.4 (CH<sub>2</sub>), 35.2 (NCH<sub>3</sub>), 28.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.2 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

ESIMS  $m/z = 691.3700$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>33</sub>H<sub>51</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub> requires 691.3667.

### 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-azido-1-[4'-(1,2,4-triazole)-cytosine]-β-D-glucopyranoside **135a**



Chemical Formula: C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>  
Molecular Weight: 476,41

To a suspension of **100a** (314 mg, 0.74 mmol, 1 eq.) and triazole (612 mg, 8.86 mmol, 12 eq.) in ACN (15 mL) was added distilled Et<sub>3</sub>N (1.23 mL, 8.86 mmol, 12 eq.), under argon atmosphere. The reaction was cooled to 0 °C and POCl<sub>3</sub> (0.34 mL, 3.70 mmol, 5 eq.) was added. The resulting mixture was stirred at 0 °C for 10 min, then refluxed for 5 h. H<sub>2</sub>O was added dropwise (8 mL) then brine (8 mL) was added too. The diluted solution was stirred for 10 min, the layers were separated and the aqueous phase was extracted with AcOEt (3 x 15 mL). The organic phases were combined, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum pressure. The crude product was purified by flash chromatography (Heptane/AcOEt 5/5 to 3/7) to afford product **135a** (193 mg, 0.41 mmol, 55 %) as a white powder.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> + 70.1 (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.22 (s, 1H, *H*<sub>triazole</sub>), 8.11 (s, 1H, *H*<sub>triazole</sub>), 7.90 (d, 1H, *J*<sub>*H*<sub>Ar</sub>,*H*<sub>Ar</sub></sub> = 7.5 Hz, *H*<sub>Ar</sub>), 7.10 (d, 1H, *J*<sub>*H*<sub>Ar</sub>,*H*<sub>Ar</sub></sub> = 7.5 Hz, *H*<sub>Ar</sub>), 6.09 (d, 1H, *J*<sub>1,2</sub> = 9.5 Hz, *H*<sub>1</sub>), 5.43 (t, 1H, *J*<sub>3,2</sub> = *J*<sub>3,4</sub> = 9.5 Hz, *H*<sub>3</sub>), 5.06 (t, 1H, *J*<sub>2,1</sub> = *J*<sub>2,3</sub> = 9.5 Hz, *H*<sub>2</sub>), 4.40 (dd, 1H, *J*<sub>6,6'</sub> = 12.5 Hz, *J*<sub>6,5</sub> = 1.5 Hz, *H*<sub>6</sub>), 4.29 (dd, 1H, *J*<sub>6',6</sub> = 12.5 Hz, *J*<sub>6',5</sub> = 4.5 Hz, *H*<sub>6'</sub>), 3.82-3.65 (m, 2H, *H*<sub>4</sub>, *H*<sub>5</sub>), 2.11 (s, 6H, CH<sub>3</sub>), 1.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

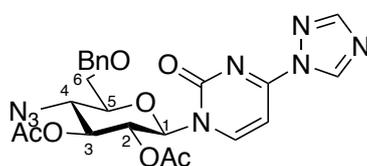
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.5 (C=O), 170.3 (C=O), 169.4 (C=O), 159.6 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 154.4 (CH, C<sub>triazole</sub>), 146.3 (CH, C<sub>Ar</sub>), 143.6 (CH, C<sub>triazole</sub>), 96.3 (CH, C<sub>Ar</sub>), 81.8 (C<sub>1</sub>), 75.8

(C5), 73.2 (C3), 71.1 (C2), 62.7 (C6), 60.1 (C4), 21.0 (COCH<sub>3</sub>), 20.8 (COCH<sub>3</sub>), 20.6 (COCH<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 477.1479$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub> requires 477.1482.

IR  $\nu$  (film, cm<sup>-1</sup>) 2925 (=C-H), 2111 (N<sub>3</sub>), 1745 (C=O), 1689 (NH-C=O).

**2,3-Di-O-acetyl-4-azido-6-O-benzyl-1-[4'-(1,2,4-triazole)-cytosine]- $\beta$ -D-glucopyranoside**  
**135b**



Chemical Formula: C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>  
Molecular Weight: 524,49

To a suspension of **100b** (37 mg, 0.08 mmol, 1 eq.) and triazole (162 mg, 2.35 mmol, 30 eq.) in DCM (0.8 mL) was added distilled Et<sub>3</sub>N (0.32 mL, 2.35 mmol, 30 eq.), under argon atmosphere. The reaction was cooled to 0 °C and POCl<sub>3</sub> (11  $\mu$ L, 0.12 mmol, 1.5 eq.) was added. The resulting mixture was stirred at 0 °C for 10 min, then refluxed for 5 h. H<sub>2</sub>O was added dropwise (0.5 mL) then brine (0.5 mL) was added too. The diluted solution was stirred for 10 min, the layers were separated and the aqueous phase was extracted with AcOEt (3 x 2 mL). The organic phases were combined, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum pressure. The crude product was purified by preparative TLC (Heptane/AcOEt 4/6) to afford product **135b** (28 mg, 0.05 mmol, 68 %) as a white powder.

$[\alpha]_D^{25} + 51.1$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

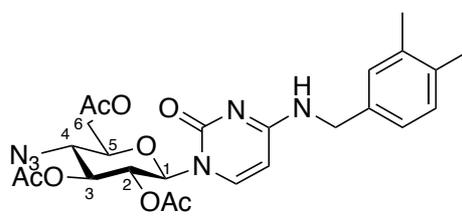
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9.20 (s, 1H, *H*<sub>triazole</sub>), 8.10 (s, 1H, *H*<sub>triazole</sub>), 7.94 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz, *H*<sub>Ar</sub>), 7.41-7.27 (m, 5H, *H*<sub>Ar</sub>), 7.08 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz, *H*<sub>Ar</sub>), 6.05 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz, *H*<sub>1</sub>), 5.36 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 10.0$  Hz, *H*<sub>3</sub>), 5.02 (dd, 1H,  $J_{2,1} = 9.5$  Hz,  $J_{2,3} = 10.0$  Hz, *H*<sub>2</sub>), 4.58 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, *CH*<sub>2</sub>Ph), 4.53 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, *CH*<sub>2</sub>Ph), 3.96 (t, 1H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz, *H*<sub>4</sub>), 3.82-3.69 (m, 2H, *H*<sub>6</sub>, *H*<sub>6'</sub>), 3.63 (ddd,  $J_{5,4} = 10.0$  Hz,  $J_{5,6} = 4.5$  Hz,  $J_{5,6'} = 2.0$  Hz, *H*<sub>5</sub>), 2.10 (s, 3H, *CH*<sub>3</sub>), 1.95 (s, 3H, *CH*<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.3 (C=O), 169.5 (C=O), 159.8 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 154.4 (CH, C<sub>triazole</sub>), 146.8 (CH, C<sub>Ar</sub>), 143.6 (CH, C<sub>triazole</sub>), 137.5 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 128.8 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.3 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 96.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 81.0 (C1), 77.4 (C5), 73.9 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.2 (C3), 71.3 (C2), 68.1 (C6), 59.6 (C4), 20.8 (COCH<sub>3</sub>), 20.6 (COCH<sub>3</sub>).

ESIHRMS *m/z* = 525.1846 [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub> requires 525.1846.

IR ν (film, cm<sup>-1</sup>) 2919 (=C-H), 2109 (N<sub>3</sub>), 1750 (C=O), 1685 (NH-C=O).

**2,3-Di-O-acetyl-4-azido-6-O-benzyl-1-N-4'-(3,4-dimethylbenzyl)-cytosine-β-D-glucopyranoside 136a**



Chemical Formula: C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>  
Molecular Weight: 542,55

To a stirred solution of **135a** (180 mg, 0.38 mmol, 1 eq.) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (7.5 mL) were added 3,4-dimethylbenzylamine (135 μL, 0.95 mmol, 2.5 eq.) and DIPEA (161 μL, 0.95 mmol). The resulting mixture was stirred for 2 h at room temperature and then quenched with a solution of citric acid (5 % volume, 5 mL). After 10 min of stirring, the phases were separated and the aqueous phase was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 8 mL). The organic phase were combined and washed with brine (10 mL) and then dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum pressure. The crude product was purified by flash chromatography (Hept / AcOEt 5:5 to 2:8) to afford product **136a** (194 mg, 0.36 mmol, 95 %) as white powder.

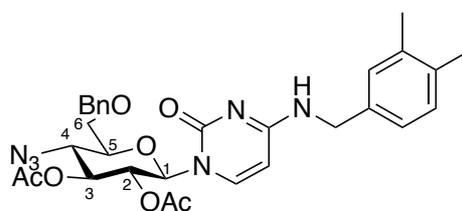
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.25- 7.21 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.14-6.98 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 6.08 (d, 1H, *J*<sub>1,2</sub> = 9.5 Hz, H1), 5.88 (d, 1H, *J*<sub>H<sub>Ar</sub>,H<sub>Ar</sub></sub> = 7.5 Hz, H<sub>Ar</sub>), 5.38 (t, 1H, *J*<sub>3,2</sub> = *J*<sub>3,4</sub> = 9.5 Hz, H3), 5.12-5.06 (m, 1H, NH), 5.05 (t, 1H, *J*<sub>2,1</sub> = *J*<sub>2,3</sub> = 9.5 Hz, H2), 4.64 (dd, 1H, *J*<sub>H,H</sub> = 14.5 Hz, *J*<sub>H,NH</sub> = 5.0 Hz, NCH<sub>2</sub>Ph), 4.50 (dd, 1H, *J*<sub>H,H</sub> = 14.5 Hz, *J*<sub>H,NH</sub> = 5.0 Hz, NCH<sub>2</sub>Ph), 4.41-4.30

(m, 1H, *H*6), 4.24 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 12.5$  Hz, *H*6'), 3.75-3.66 (m, 1H, *H*5), 3.63 (dd, 1H,  $J_{4,3} = 9.5$  Hz,  $J_{4,5} = 10.0$  Hz, *H*4), 2.23 (s, 6H,  $C_{Ar}CH_3$ ), 2.09 (s, 6H,  $CH_3$ ), 1.98 (s, 3H,  $CH_3$ ).

$^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  170.6 (C=O), 170.3 (C=O), 169.5 (C=O), 163.1 ( $C_q$ ,  $C_{Ar}$ ), 155.8 ( $C_q$ ,  $C_{Ar}$ ), 139.5 (CH,  $C_{Ar}$ ), 130.2 (CH,  $C_{Ar}$ ), 129.8 (CH,  $C_{Ar}$ ), 125.9 (CH,  $C_{Ar}$ ), 96.5 (CH,  $C_{Ar}$ ), 80.9 (*C*1), 75.1 (*C*4) 73.8 (*C*3), 70.3 (*C*2), 62.9 (*C*6), 60.4 (*C*5), 45.1 (NCH<sub>2</sub>Ph), 20.9 (COCH<sub>3</sub>), 20.7 (COCH<sub>3</sub>), 19.9 ( $C_{Ar}CH_3$ ), 19.6 ( $C_{Ar}CH_3$ ).

ESIHRMS  $m/z = 543.2203$  [M+H]<sup>+</sup>.  $C_{25}H_{31}N_6O_8$  requires 543.2201.

**2,3-Di-*O*-acetyl-4-azido-6-*O*-benzyl-1-*N*-4'-(3,4-dimethylbenzyl)-cytosine- $\beta$ -D-glucopyranoside **136b****



Chemical Formula:  $C_{30}H_{34}N_6O_7$   
Molecular Weight: 590,64

To a stirred solution of **135b** (883 mg, 1.67 mmol, 1 eq.) in  $CH_2Cl_2$  (16 mL) were added 3,4-dimethylbenzylamine (0.59 mL, 4.17 mmol, 2.5 eq.) and DIPEA (0.73 mL, 4.17 mmol, 2.5 eq.). The resulting mixture was stirred for 2 h at room temperature and then quenched with a solution of citric acid (5 % volume, 15 mL). After 10 min of stirring, the phases were separated and the aqueous phase was extracted with  $CH_2Cl_2$  (3 x 12 mL). The organic phase were combined and washed with brine (15 mL) and then dried over  $Na_2SO_4$ , filtered and concentrated under vacuum pressure. The crude product was purified by flash chromatography (Hept / AcOEt 5:5 to 2:8) to afford product **136b** (675 mg, 1.14 mmol, 68 %) as white powder.

$[\alpha]_D^{25} + 18.0$  ( $c = 1.0$ ,  $CDCl_3$ ).

$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7.41-7.27 (m, 6H,  $H_{Ar}$ ), 7.13-6.96 (m, 3H,  $H_{Ar}$ ), 6.04 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz, *H*1), 5.57 (d, 1H,  $J_{H_{Ar}, H_{Ar}} = 7.5$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 5.31 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.5$  Hz, *H*3),

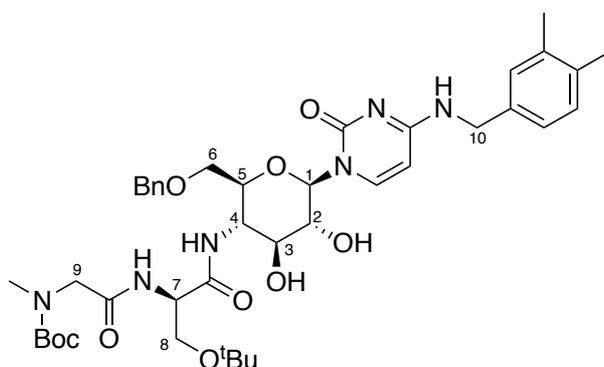
5.12-5.06 (m, 1H, NH), 5.02 (t, 1H,  $J_{2,1} = J_{2,3} = 9.5$  Hz, H2), 4.64 (dd, 1H,  $J_{H,H} = 14.5$  Hz,  $J_{H,NH} = 5.0$  Hz, NCH<sub>2</sub>Ph), 4.58 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.51 (dd, 1H,  $J_{H,H} = 14.5$  Hz,  $J_{H,NH} = 5.0$  Hz, NCH<sub>2</sub>Ph), 4.50 (d, 1H,  $J_{H,H} = 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 3.91 (t, 1H,  $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.0$  Hz, H4), 3.80-3.65 (m, 2H, H6, H6'), 3.62-3.52 (m, 1H, H5), 2.23 (s, 6H, C<sub>Ar</sub>CH<sub>3</sub>), 2.08 (s, 6H, CH<sub>3</sub>), 1.96 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.3 (C=O), 169.2 (C=O), 163.1 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 155.8 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 139.8 (CH, C<sub>Ar</sub>), 137.7 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 137.3 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 136.4 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 135.0 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 130.2 (CH, C<sub>Ar</sub>), 129.8 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.7 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.0 (CH, C<sub>Ar</sub>), 125.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 96.3 (CH, C<sub>Ar</sub>), 81.1 (C1), 76.8 (C5), 73.8 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.8 (C3), 70.5 (C2), 68.3 (C6), 59.9 (C4), 45.1 (NCH<sub>2</sub>Ph), 20.8 (COCH<sub>3</sub>), 20.7 (COCH<sub>3</sub>), 19.9 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>3</sub>), 19.6 (C<sub>Ar</sub>CH<sub>3</sub>).

ESIHRMS  $m/z = 591.2561$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>30</sub>H<sub>35</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub> requires 591.2567.

IR v (film, cm<sup>-1</sup>) 3265 (N-H), 3034 (=C-H), 2109 (N<sub>3</sub>), 1752 (C=O), 1643 (-N-C=O).

### Peptidonucleoside 140



Chemical Formula: C<sub>41</sub>H<sub>58</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>  
Molecular Weight: 794,95

The General Procedure (C) was followed using **136b** (570 mg, 0.97 mmol), solution 1 (0.39 mL, C = 0.5 M, 20 %mol) in MeOH (10 mL). The obtained product (355 mg) was hydrogenated with a cartridge of Pt/C (100 mg) in MeOH (15 mL) using a H-Cube apparatus to give the corresponding amine **138** (218 mg). Then, the peptide coupling was carried with **138** (218 mg, 0.45 mmol), **40-D** (194 mg, 0.58 mmol), DIPEA (0.16 mL, 0.92 mmol) and

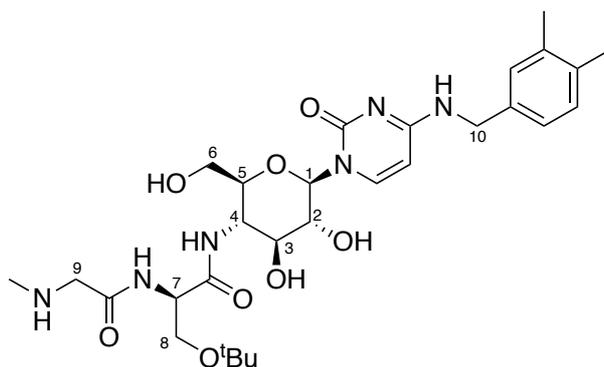
HATU (256 mg, 0.67 mmol) in DMF (4.5 mL). The residue was purified by preparative HPLC, gradient from 30 to 100 % ACN, to afford product **140** (100 mg, 0.126 mmol, 37 %).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.33-8.17 (m, 2H, NH), 8.08 (d, 1H,  $J_{NH,H} = 6.0$  Hz, NH), 7.56 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 7.33-7.20 (m, 5H,  $H_{Ar}$ ), 7.11-6.97 (m, 3H,  $H_{Ar}$ ), 5.81 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},H_{Ar}} = 7.5$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 5.46 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz, H1), 4.44-4.40 (m, 2H, 1  $CH_2$  : H9 or H10), 4.40-4.36 (m, 2H, 1  $CH_2$  : H9 or H10), 4.34-4.23 (m, 1H, H7), 3.92-3.66 (m, 2H, 1  $CH_2$  : H6 or H8), 3.67-3.59 (m, 1H, H5), 3.57-3.33 (m, 5H, H2, H3, H4, 1  $CH_2$  : H6 or H8), 2.76 (bs, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.18 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.42 (m, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.13 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  170.0 (C=O), 166.3 (C=O), 163.0 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 155.5 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 140.8 (CH, C<sub>Ar</sub>), 138.4 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 136.2 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 136.0 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 134.7 (Cq, C<sub>Ar</sub>), 129.4 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.7 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.1 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.5 (CH, C<sub>Ar</sub>), 127.3 (CH, C<sub>Ar</sub>), 124.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 94.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 82.8 (C1), 77.0 (C5), 74.1 (C3), 72.8 (Cq, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 72.3 (CH<sub>2</sub>), 71.4 (C2), 61.9 (CH<sub>2</sub>), 54.2 (C7), 52.0 (C4), 51.4 (CH<sub>2</sub>), 42.8 (CH<sub>2</sub>), 31.1 (NCH<sub>3</sub>), 28.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.2 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 19.4 (CH<sub>3</sub>), 19.0 (CH<sub>3</sub>).

**ESIHRMS**  $m/z = 795.4291$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>41</sub>H<sub>59</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub> requires 795.4293.

### Peptidonucleoside 141



Chemical Formula: C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>  
Molecular Weight: 604,71

The General Procedure (**D**) was followed using **139** (66 mg, 0.09 mmol), 4M HCl in dioxane (0.16 mL, 4.68 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (0.6 mL/0.3 mL). The crude product was purified by

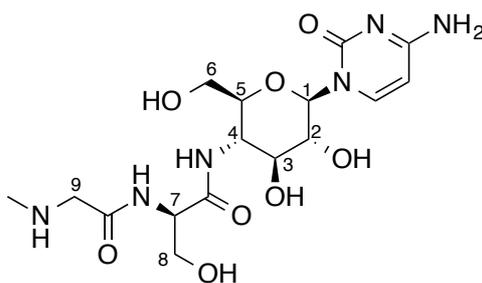
preparative TLC (H<sub>2</sub>O/EtOH/AcOEt 2/2/6, pH=9) to afford clean product **141** as a white powder (22 mg, 0.04 mmol, 39 %).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.32 (d, 1H,  $J_{NH,H} = 6.5$  Hz, NHCO), 8.16 (dd, 1H,  $J_{NH,10} = 6.0$  Hz,  $J_{NH,10} = 11.5$  Hz, NH), 8.06 (d, 1H,  $J_{NH,H} = 8.5$  Hz, NHCO), 7.57 (d, 1H,  $J_{HAr,HAr} = 7.5$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 7.12-7.04 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.01 (d, 1H,  $J_{HAr,HAr} = 7.5$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 5.82 (d, 1H,  $J_{HAr,HAr} = 7.5$  Hz, H<sub>Ar</sub>), 5.47 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz, H<sub>1</sub>), 5.26 (bs, 1H, NHCH<sub>3</sub>), 4.53-4.32 (m, 3H, H<sub>7</sub>, H<sub>10</sub>), 3.58 (m, 1H, H<sub>3</sub>) 3.55-3.47 (m, 5H, H<sub>4</sub>, 2 CH<sub>2</sub> (H<sub>6</sub> or H<sub>8</sub> or H<sub>9</sub>)), 3.47-3.38 (m, 4H, H<sub>2</sub>, H<sub>5</sub>, 1 CH<sub>2</sub> (H<sub>6</sub> or H<sub>8</sub> or H<sub>9</sub>)), 2.43 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.13 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  170.1 (C=O), 167.5 (C=O), 163.0 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 155.5 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 140.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 136.2 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 136.0 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 134.7 (C<sub>q</sub>, C<sub>Ar</sub>), 129.4 (CH, C<sub>Ar</sub>), 128.6 (CH, C<sub>Ar</sub>), 124.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 94.9 (CH, C<sub>Ar</sub>), 82.7 (C<sub>1</sub>), 78.5 (C<sub>5</sub>), 73.9 (C<sub>3</sub>), 72.9 (C<sub>q</sub>, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 71.7 (C<sub>2</sub>), 62.0 (CH<sub>2</sub>), 61.1 (CH<sub>2</sub>), 53.8 (C<sub>7</sub>), 51.9 (C<sub>4</sub>), 51.1 (CH<sub>2</sub>), 42.8 (CH<sub>2</sub>, C<sub>10</sub>), 33.0 (NCH<sub>3</sub>), 27.2 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 19.4 (CH<sub>3</sub>), 19.0 (CH<sub>3</sub>).

**ESIHRMS**  $m/z = 605.3291$  [M+H]<sup>+</sup>. C<sub>29</sub>H<sub>45</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub> requires 605.3299.

#### Analogue I-D



Chemical Formula: C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>  
Molecular Weight: 430,42

The General Procedure (**D**) was followed using **114a-D** (90 mg, 0.131 mmol), 4M HCl in dioxane (0.23 mL, 6.55 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (0.9 mL/0.4 mL). The crude product was purified by preparative TLC (H<sub>2</sub>O/EtOH/AcOEt 4/4/2, pH=9) to afford clean product **I-D** as a white powder (21 mg, 0.05 mmol, 37 %).

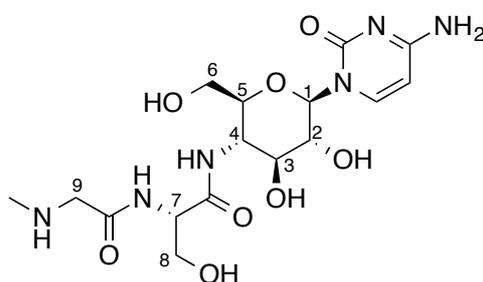
$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -31.3 ( $c = 1.1$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7.73 (d, 1H,  $J_{\text{H}_{\text{Ar}},\text{H}_{\text{Ar}}} = 7.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.07 (bs, 1H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 5.64 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.5$  Hz,  $\text{H1}$ ), 4.45 (t, 1H,  $J_{7,8} = J_{7,8'} = 5.5$  Hz,  $\text{H7}$ ), 3.94 (s, 2H,  $\text{H9}$ ), 3.91-3.80 (m, 1H,  $\text{H4}$ ), 3.86 (d, 2H,  $J_{8,7} = 5.5$  Hz,  $\text{H8}$ ), 3.80-3.71 (m, 3H,  $\text{H2}$ ,  $\text{H3}$ ,  $\text{H5}$ ), 3.68 (dd, 1H,  $J_{6,6'} = 12.5$  Hz,  $J_{6,5} = 1.5$  Hz,  $\text{H6}$ ), 3.57 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 12.5$  Hz,  $J_{6',5} = 5.5$  Hz,  $\text{H6'}$ ), 2.74 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  172.0 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 166.7 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 166.0 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 157.9 ( $\text{C}_{\text{q}}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 141.7 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 97.0 ( $\text{CH}$ ,  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 83.3 ( $\text{C1}$ ), 77.5 ( $\text{C5}$ ), 73.7 ( $\text{C3}$ ), 71.7 ( $\text{C2}$ ), 61.0 ( $\text{C8}$ ), 60.6 ( $\text{C6}$ ), 55.9 ( $\text{C7}$ ), 51.3 ( $\text{C4}$ ), 49.4 ( $\text{C9}$ ), 32.8 ( $\text{NCH}_3$ ).

**ESIHRMS**  $m/z = 431.3424$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_8$  requires 431.1890.

#### Analogue I-L



Chemical Formula:  $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_8$   
Molecular Weight: 430,42

The General Procedure (**D**) was followed using **114a-L** (90 mg, 0.131 mmol), 4M HCl in dioxane (0.23 mL, 6.55 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (0.6 mL/0.3 mL). The crude product was purified by preparative TLC ( $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}/\text{AcOEt}$  4/4/2, pH=9) to afford clean product **I-L** as a white powder (10.3 mg, 0.024 mmol, 28 %).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  +278.3 ( $c = 1.0$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ).

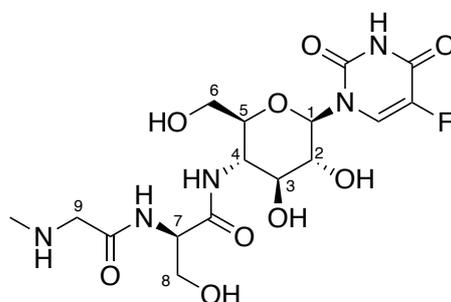
$^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7.80 (d, 1H,  $J_{\text{H}_{\text{Ar}},\text{H}_{\text{Ar}}} = 7.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.14 (d, 1H,  $J_{\text{H}_{\text{Ar}},\text{H}_{\text{Ar}}} = 7.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 5.71 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.0$  Hz,  $\text{H1}$ ), 4.52 (t, 1H,  $J_{7,8} = J_{7,8'} = 5.5$  Hz,  $\text{H7}$ ), 3.99 (t, 1H,  $J_{4,3} =$

$J_{4,5} = 10.0$  Hz,  $H4$ ), 3.92 (d, 2H,  $J_{8,7} = 5.5$  Hz,  $H8$ ), 3.85 (dd, 1H,  $J_{3,2} = 9.0$  Hz,  $J_{3,4} = 10.0$  Hz,  $H3$ ), 3.82 (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{2,1} = 9.0$  Hz,  $H2$ ), 3.80-3.70 (m, 2H,  $H5$ ,  $H6$ ), 3.66-3.60 (m, 3H,  $H6$ ,  $H9$ ), 2.54 (s, 3H,  $NCH_3$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  172.2 (C=O), 171.1 (C=O), 166.1 (C=O), 158.0 ( $\text{C}_q$ ,  $\text{C}_{Ar}$ ), 141.8 (CH,  $\text{C}_{Ar}$ ), 97.1 (CH,  $\text{C}_{Ar}$ ), 83.1 (C1), 77.5 (C5), 73.8 (C3), 71.7 (C2), 61.2 (C8), 60.7 (C6), 55.8 (C7), 51.4 (C4), 51.3 (C9), 33.8 ( $\text{NCH}_3$ ).

ESIHRMS  $m/z = 431.1890$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_8$  requires 431.1901.

### Analogue IV



Chemical Formula:  $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{FN}_5\text{O}_9$   
Molecular Weight: 449,39

The General Procedure (**D**) was followed using **115** (142 mg, 0.24 mmol), 4M HCl in dioxane (0.41 mL, 11.7 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (1.6 mL/0.7 mL). The crude product was purified by preparative TLC ( $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}/\text{AcOEt}$  2/2/6, pH=9) to afford clean product **IV** as a white powder (22 mg, 0.05 mmol, 21 %).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  8.01 (d, 1H,  $J_{H_{Ar},F} = 6.0$  Hz,  $H_{Ar}$ ), 5.60 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.0$  Hz,  $H1$ ), 4.54-4.38 (m, 1H,  $H7$ ), 3.95 (bs, 2H,  $H9$ ), 3.92-3.82 (m, 3H,  $H4$ ,  $H8$ ), 3.76 (t, 1H,  $J_{3,2} = J_{3,4} = 10.0$  Hz,  $H3$ ), 3.80-3.62 (m, 3H,  $H2$ ,  $H5$ ,  $H6$ ), 3.57 (dd, 1H,  $J_{6',6} = 12.0$  Hz,  $J_{6',5} = 5.0$  Hz,  $H6'$ ), 2.75 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  181.9 ( $\text{C}_q$ ), 180.7 ( $\text{C}_q$ ), 166.7 ( $\text{C}_q$ ), 160.5 ( $\text{C}_q$ ), 151.2 ( $\text{C}_q$ ), 125.6 (CH), 125.2 (CH), 82.9 (C1), 77.5 (C5), 73.4 (C3), 71.7 (C2), 61.1 ( $\text{CH}_2$ , C8), 60.6 ( $\text{CH}_2$ , C6), 56.0 (C7), 51.2 (C4), 49.4 ( $\text{CH}_2$ , C9), 32.9 ( $\text{NCH}_3$ ).

ESIHRMS  $m/z = 450.1653$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_9\text{F}$  requires 450.1636.

## Références bibliographiques

- 
- <sup>1</sup> <http://www.worldometers.info/fr/population-mondiale/>
- <sup>2</sup> Oliver, R. P.; Hewitt, H. G., *Fungicides in Crop Protection, 2nd Edition*. CABI Publishing: 2014.
- <sup>3</sup> Andersch, W.; Royalty Reed, N.; *Compositions comprising gougerotin and a biological control agent*, WO2014124375 : 2014.
- <sup>4</sup> (a) Iwasaki, H. *Yakugaku Zasshi* **1962**, 82, 1358-1361. (b) Clark, J. M.; Gunther, J. K. *Biochim. Biophys. Acta* **1963**, 76, 636-638. (c) Thiry, L. *J. Gen. Virol.* **1968**, 2, 143-153. (d) Kitano, N.; Kaneko, S.; Kayamori, H.; Takiguchi, Y.; Arai, M.; Haneishi, T., *Antibiotic having parasitocidal activity*. US Patent 3849398 A : 1974.
- <sup>5</sup> Burkett, A. R.; Schlender, K. K.; Sell, H. M. *Phytochemistry* **1970**, 9, 545-547.
- <sup>6</sup> Smith, I. M.; British Crop Protection, C., *Fungicides for Crop Protection: 100 Years of Progress*. BCPC: 1985.
- <sup>7</sup> Krämer, W.; Schirmer, U.; Jeschke, P.; Witschel, M., *Modern Crop Protection Compounds*. Wiley: 2012.
- <sup>8</sup> Comité qui réunit plusieurs groupes de travail dont l'objectif est d'anticiper et de résoudre les problèmes de résistance actuels et potentiels apparus avec l'utilisation des fongicides. [www.frac.info](http://www.frac.info)
- <sup>9</sup> Bartlett, D. W.; Clough, J. M.; Godwin, J. R.; Hall, A. A.; Hamer, M.; Parr-Dobrzanski, B. *Pest Manag. Sci.* **2002**, 58, 649-662.
- <sup>10</sup> Anke, T. ; Oberwinkler, F. ; Steglich, W. ; Schramm, G. *J. Antibiot.* **1977**, 30, 806.
- <sup>11</sup> Reuveni, M.; Cohen, H.; Zahavi, T.; Venezian, A. *Crop Protection* **2000**, 19, 393-399.
- <sup>12</sup> Murray, R.K.; Bender, D.A.; Kennelly, P.J.; Rodwell, V.W.; Weil, A.; Domenjoud, L., *Biochimie de Harper*. De Boeck Supérieur: 2013.
- <sup>13</sup> Image extraite de la publication : Garreau de Loubresse, N.; Prokhorova, I.; Holtkamp, W.; Rodnina, M. V.; Yusupova, G.; Yusupov, M. *Nature* **2014**, 513, 517-522.
- <sup>14</sup> Yamaguchi, H.; Tanaka, N. *J. Biochem.* **1966**, 60, 632-642.
- <sup>15</sup> Misato, T. ; Ishi, I. ; Asakawa, M. ; Okomoto, Y. ; Fukunaga, K. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* **1959**, 24, 302-306.
- <sup>16</sup> Svidritskiy, E.; Ling, C.; Ermolenko, D. N.; Korostelev, A. A. *Proc. Natl Acad Sci.* **2013**, 110, 12283-12288.
- <sup>17</sup> Garreau de Loubresse, N.; Prokhorova, I.; Holtkamp, W.; Rodnina, M. V.; Yusupova, G.;

---

Yusupov, M. *Nature* **2014**, *513*, 517-522.

<sup>18</sup> Matsuda, A.; Azuma, A.; Nakajima, Y.; Takenuki, K.; Dan, A.; Iino, T.; Yoshimura, Y.; Minakawa, N.; Tanaka, M.; Sasaki, T. *Nucleosides and Nucleotides as Antitumor and Antiviral Agents*, Chu, C. K.; Baker, D. C., Eds. Springer US: Boston, MA, **1993**; 1-22.

<sup>19</sup> Tavitian, S. C. *et al. Biochim. Biophys. Acta* **1968**, *157*, 33-36.

<sup>20</sup> Horwitz, J. P.; Chua, J.; Noel, M. *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 2076-2078.

<sup>21</sup> Niu, G.; Tan, H. *Trends Microbiol.* **2015**, *23*, 110-119.

<sup>22</sup> (a) Mydock, L. K.; Demchenko, A. V. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 497-510. (b) Bohé, L.; Crich, D. *Carbohydr. Res.* **2015**, *403*, 48-59.

<sup>23</sup> Martin, A.; Arda, A.; Désiré, J.; Martin Mingot, A.; Probst, N.; Sinaÿ P.; Jiménez Barbero, J.; Thibaudeau S.; Blériot Y. *Nat Chem* **2016**, *8*, 186-191.

<sup>24</sup> Olah, G. A.; Baker, E. B.; Evans, J. C.; Tolgyesi, W. S.; McIntyre, J. S.; Bastien, I. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 1360-1373.

<sup>25</sup> (a) Bohe, L.; Crich, D. *Nat Chem* **2016**, *8*, 99-100. (b) Walvoort, M. T. C.; Dinkelaar, J.; van den Bos, L. J.; Lodder, G.; Overkleeft, H. S.; Codée, J. D. C.; van der Marel, G. A. *Carbohydr. Res.* **2010**, *345*, 1252-1263. (c) Smith, D. M.; Woerpel, K. A. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1195-1201.

<sup>26</sup> R. U. Lemieux, in *Pure Appl. Chem., Vol. 25*, **1971**, 527-548.

<sup>27</sup> Fischer, E.; Helferich, B. *Chem. Ber.* **1914**, *47*, 210-235.

<sup>28</sup> Fischer, E. *Chem. Ber.* **1914**, *47*, 1377-1393.

<sup>29</sup> (a) Koenigs, W., Knorr, E. *Chem. Ber.* **1901**, *34*, 957 (b) Igarashi, K. The Koenigs-Knorr Reaction in *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, Stuart Tipson, R.; Horton, D., Eds. Academic Press: 1977; Vol. 34, p 243-283.

<sup>30</sup> Hilbert, G. E.; Johnson, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, *52*, 4489-4494.

<sup>31</sup> Fox, J. J.; Yung, N.; Davoll, J.; Brown, G. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 2117-2122.

<sup>32</sup> Helferich, B.; Weis, K. *Chem. Ber.* **1956**, *89*, 314-321.

<sup>33</sup> Vorbrüggen, H.; Strehlke, P.; Schulz, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1969**, *8*, 976-977.

<sup>34</sup> Wittenburg, E. *Zeitschrift für Chemie* **1964**, *4*, 303-304.

<sup>35</sup> Niedballa, U.; Vorbrüggen, H. *Angew. Chem.* **1970**, *82*, 449-450.

<sup>36</sup> Vorbrüggen, H.; Krolikiewicz, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1975**, *14*, 421-422.

<sup>37</sup> Vorbrüggen, H.; Höfle, G. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1256-1268.

<sup>38</sup> Vorbrüggen, H.; Krolikiewicz, K.; Bennua, B. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1234-1255.

<sup>39</sup> (a) Maguire, M. P.; Feldman, P. L.; Rapoport, H. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 948-955. (b)

- 
- Danishefsky, S. J.; Hungate, R.; Schulte, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7434-7440.
- <sup>40</sup> Danishefsky, S. J.; Barbachyn, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 7761-7762.
- <sup>41</sup> Kappe, C. O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6250-6284.
- <sup>42</sup> (a) Bookser, B. C.; Raffaele, N. B. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 173-179. (b) Andrzejewska, M.; Kamiński, J.; Kazimierczuk, Z. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2002**, *21*, 73-78. (c) Xavier, N. M.; Schwarz, S.; Vaz, P. D.; Csuk, R.; Rauter, A. P. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 2770-2779.
- <sup>43</sup> Garegg, P. J., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, Derek, H., Ed. Academic Press: **1997**, *52*, 179-205.
- <sup>44</sup> Veeneman, G. H.; van Leeuwen, S. H.; van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1331-1334.
- <sup>45</sup> (a) Mitsudo, K.; Kawaguchi, T.; Miyahara, S.; Matsuda, W.; Kuroboshi, M.; Tanaka, H. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4649-4652. Mata, G.; Luedtke, N. W. (b) *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 9006-9017. (c) Nokami, J.; Osafune, M.; Ito, Y.; Miyake, F.; Sumida, S.-i.; Torii, S. *Chem. Lett.* **1999**, *28*, 1053-1054.
- <sup>46</sup> Knapp, S.; Shieh, W.-C. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 3627-3630.
- <sup>47</sup> Mukhopadhyay, B.; Collet, B.; Field, R. A. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5923-5925.
- <sup>48</sup> Liu, G.-j.; Zhang, X.-t.; Xing, G.-w. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 12803-12806.
- <sup>49</sup> Kahne, D.; Walker, S.; Cheng, Y.; Van Engen, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6881-6882.
- <sup>50</sup> (a) Crich, D.; Sun, S. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 8321-8348. (b) Crich, D.; Sun, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11217-11223.
- <sup>51</sup> Chanteloup, L.; Beau, J.-M. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5347-5350.
- <sup>52</sup> Bomholt, N.; Jørgensen, P. T.; Pedersen, E. B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 7376-7378.
- <sup>53</sup> (a) Schmidt, R. R.; Reichrath, M. *Angew. Chem.* **1979**, *91*, 497-499. (b) Schmidt, R. R.; Michel, J. *J. Carbohydr. Chem.* **1985**, *4*, 141-169.
- <sup>54</sup> Chanteloup, L.; Thuong, N. t. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 877-880.
- <sup>55</sup> Stauffer, C. S.; Datta, A. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4166-4174.
- <sup>56</sup> Yu, B.; Tao, H. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2405-2407.
- <sup>57</sup> Liao, J.; Sun, J.; Yu, B. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5036-5038.
- <sup>58</sup> (a) Komsta, Z.; Mayes, B.; Moussa, A.; Shelbourne, M.; Stewart, A.; Tyrrell, A. J.; Wallis, L. L.; Weymouth-Wilson, A. C.; Yurek-George, A. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 6216-6219.

- 
- (b) Pradeepkumar, P. I.; Cheruku, P.; Plashkevych, O.; Acharya, P.; Gohil, S.; Chattopadhyaya, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11484-11499.
- <sup>59</sup> Noyori, R.; Hayashi, M. *Chem. Lett.* **1987**, *16*, 57-60.
- <sup>60</sup> Seela, F.; Winkeler, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1979**, *18*, 536.
- <sup>61</sup> Winkeler, H. D.; Seela, F. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3119-3122.
- <sup>62</sup> Montgomery, J. A.; Hewson, K. *J. Med. Chem.* **1966**, *9*, 354-357.
- <sup>63</sup> Sniady, A.; Bedore, M. W.; Jamison, T. F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 2155-2158.
- <sup>64</sup> Shen, B.; Jamison, T. F. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3348-3351.
- <sup>65</sup> Basu, N.; Oyama, K.-i.; Tsukamoto, M. *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 1921-1924.
- <sup>66</sup> Hotha, S.; Kashyap, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9620-9621.
- <sup>67</sup> Li, Y.; Yang, Y.; Yu, B. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3604-3608.
- <sup>68</sup> Zhang, Q.; Sun, J.; Zhu, Y.; Zhang, F.; Yu, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 4933-4936.
- <sup>69</sup> Mézailles, N.; Ricard, L.; Gagosz, F. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4133-4136.
- <sup>70</sup> Li, J.; Yu, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 6618-6621.
- <sup>71</sup> Matthies, S.; McQuade, D. T.; Seeberger, P. H. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 3670-3673.
- <sup>72</sup> Vidadala, S. R.; Hotha, S. *Chem. Commun.* **2009**, 2505-2507.
- <sup>73</sup> Roy, R.; Rajasekaran, P.; Mallick, A.; Vankar, Y. D. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 5564-5573.
- <sup>74</sup> Roy, R.; Palanivel, A. K.; Mallick, A.; Vankar, Y. D. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 4000-4005.
- <sup>75</sup> Vibhute, A. M.; Dhaka, A.; Athiyarath, V.; Sureshan, K. M. *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 4259-4263.
- <sup>76</sup> Palanivel, A.; Chennaiah, A.; Dubbu, S.; Mallick, A.; Vankar, Y. D. *Carbohydr. Res.* **2017**, *437*, 43-49.
- <sup>77</sup> Gryniewicz, G. *Pol. J. Chem.* **1979**, *53*, 1571.
- <sup>78</sup> Schmalisch, S.; Mahrwald, R. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 5854-5857.
- <sup>79</sup> Downey, A. M.; Richter, C.; Pohl, R.; Mahrwald, R.; Hocek, M. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4604-4607.
- <sup>80</sup> Downey, A. M.; Pohl, R.; Roithová, J.; Hocek, M. *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 3910-3917.
- <sup>81</sup> Ozaki, S.; Watanabe, Y.; Hoshiko, T.; Fujisawa, H.; Uemura, A.; Ohrai, K. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 5061-5062.
- <sup>82</sup> Ichikawa, Y.; Hirata, K.; Ohbayashi, M.; Isobe, M. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 3241-3251.

- 
- <sup>83</sup> Stauffer, C. S.; Bhaket, P.; Fothergill, A. W.; Rinaldi, M. G.; Datta, A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9991-9997.
- <sup>84</sup> Bhaket, P.; Stauffer, C. S.; Datta, A. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 8594-8601.
- <sup>85</sup> (a) Fox, J. J.; Kuwada, Y.; Watanabe, K. A.; Ueda, T.; Whipple, E. B. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1964**, 518. (b) Fox, J. J.; Kuwada, Y.; Watanabe, K. A. *Tetrahedron Lett.* **1968**, *9*, 6029-6032.
- <sup>86</sup> Shiyunichi, H.; Akiyoshi, U.; Meiki, A. *Preparation of miticide gougerotin*. JPS 53109998 (A) : 1978.
- <sup>87</sup> Casjens, S. R.; Morris, A. J. *Biochim. Biophys. Acta* **1965**, *108*, 677-686.
- <sup>88</sup> Černá, J.; Lichtenthaler, F. W.; Rychlík, I. *FEBS Lett.* **1971**, *14*, 45-48.
- <sup>89</sup> (a) Watanabe, K. A.; Kotick, M. P.; Fox, J. J. *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 231-236. (b) Watanabe, K. A.; Falco, E. A.; Fox, J. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 3272-3274.
- <sup>90</sup> Helferich, B.; Weis, K. *Chem. Ber.* **1956**, *89*, 314-321.
- <sup>91</sup> Lichtenthaler, F. W.; Morino, T.; Winterfeldt, W.; Sanemitsu, Y. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 3527-3530.
- <sup>92</sup> Coutsogeorgopoulos, C.; Bloch, A.; Watanabe, K. A.; Fox, J. J. *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 771-776.
- <sup>93</sup> Migawa, M. T.; Risen, L. M.; Griffey, R. H.; Swayze, E. E. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3429-3432.
- <sup>94</sup> Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *46*, 3-26.
- <sup>95</sup> *La biodisponibilité correspond à la capacité d'un composé à être assimilé par l'hôte et à atteindre sa cible biologique.*
- <sup>96</sup> (a) Tice, C. M. *Pest Manage. Sci.* **2001**, *57*, 3-16. (b) Hao, G.; Dong, Q.; Yang, G. *Molecular Informatics* **2011**, *30*, 614-622.
- <sup>97</sup> Buchholz, A. *J. Exp. Bot.* **2006**, *57*, 2501-2513.
- <sup>98</sup> Purser, S.; Moore, P. R.; Swallow, S.; Gouverneur, V. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 320-330.
- <sup>99</sup> Theodoridis, G., Chapter 4 Fluorine-Containing Agrochemicals: An Overview of Recent Developments. In *Advances in Fluorine Science*, Tressaud, A., Ed. Elsevier: 2006; Vol. 2, pp 121-175.
- <sup>100</sup> Seeman, N. C.; Rosenberg, J. M.; Rich, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1976**, *73*, 804-808.
- <sup>101</sup> Luscombe, N. M.; Laskowski, R. A.; Thornton, J. M. *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 2860-2874.

- 
- <sup>102</sup> Migawa, M. T.; Swayze, E. E.; Griffey, R. H., Novel pyranosyl cytosines: pharmaceutical formulations and methods. WO03/066633: 2003.
- <sup>103</sup> Swart, M.; Fonseca Guerra, C.; Bickelhaupt, F. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16718-16719.
- <sup>104</sup> Pathak, T. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1623-1668.
- <sup>105</sup> Sztaricskai, F.; Dinya, Z.; Batta, G.; Gergely, L.; Szabó, B. *Nucleosides Nucleotides* **1992**, *11*, 11-21.
- <sup>106</sup> Xavier, N. M.; Schwarz, S.; Vaz, P. D.; Csuk, R.; Rauter, A. P. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 2770-2779.
- <sup>107</sup> Ikemoto, N.; Schreiber, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 2524-2536.
- <sup>108</sup> Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1895**, *28*, 1145-1167.
- <sup>109</sup> Protecting Groups, 3rd ed. ; Kocienski, P.J. ; Ed. ; Georg Thieme Verlag : Stuttgart, **2005** et référence citées.
- <sup>110</sup> Tanaka, N.; Ogawa, I.; Yoshigase, S.; Nokami, J. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 2675-2679.
- <sup>111</sup> Garegg, P. J.; Hultberg, H. *Carbohydr. Res.* **1981**, *93*, C10-C11.
- <sup>112</sup> Rao, K. V.; Patil, P. R.; Atmakuri, S.; Kartha, K. P. R. *Carbohydr. Res.* **2010**, *345*, 2709-2713.
- <sup>113</sup> Sakagami, M.; Hamana, H. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5547-5551.
- <sup>114</sup> Haines, A. H. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1976**, *33*, 11-109.
- <sup>115</sup> Français, A.; Urban, D.; Beau, J.-M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8662-8665.
- <sup>116</sup> Bourdreux, Y.; Lemetais, A.; Urban, D.; Beau, J. M. *Chem Commun* **2011**, *47*, 2146-2148.
- <sup>117</sup> Wang, C.-C.; Lee, J.-C.; Luo, S.-Y.; Kulkarni, S. S.; Huang, Y.-W.; Lee, C.-C.; Chang, K.-L.; Hung, S.-C. *Nature* **2007**, *446*, 896-899.
- <sup>118</sup> Despras, G.; Urban, D.; Vauzeilles, B.; Beau, J. M. *Chem Commun* **2014**, *50*, 1067-1069.
- <sup>119</sup> (a) Bolm, C.; Legros, J.; Le Paih, J.; Zani, L. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 6217-6254. (b) Beau, J.-M. *et al.* Chapter 7 Recent results in synthetic glycochemistry with iron salts at Orsay-Gif. In *Carbohydrate Chemistry: Volume 40*, The Royal Society of Chemistry: 2014; Vol. 40, pp 118-139.
- <sup>120</sup> Lowary, T. L.; Eichler, E.; Bundle, D. R. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7316-7327.
- <sup>121</sup> Mintz, C. S.; Kogan, N. A.; Kakarla, R.; Axelrod, H. R.; Sofia, M. J., Polyamine conjugates for treatment of infection. US574453 : 1998.
- <sup>122</sup> Yang, G.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* **1998**, *312*, 77-83.

---

<sup>123</sup> Les conditions de réaction sont décrites p 97 pour la glycosylation et p 114 pour la protection par le groupement Boc.

<sup>124</sup> (a) Iversen, T.; Bundle, D. R. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 1240-1241. (b) Eckenberg, P.; Groth, U.; Huhn, T.; Richter, N.; Schmeck, C. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1619-1624.

<sup>125</sup> Poon, K. W.; Dudley, G. B. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3923-3927.

<sup>126</sup> Wang, T.-w.; Intaranukulkit, T.; Rosana, M. R.; Slegers, R.; Simon, J.; Dudley, G. B. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 248-250.

<sup>127</sup> Liu, Y.; Wang, X.; Wang, Y.; Du, C.; Shi, H.; Jin, S.; Jiang, C.; Xiao, J.; Cheng, M. *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 1029-1036.

<sup>128</sup> Meerwein, H.; Battenberg, E.; Gold, H. *J. Prakt. Chem.* **1939**, *154*, 83-156.

<sup>129</sup> Aoyama, T.; Shioiri, T. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5507-5508.

<sup>130</sup> Ferrier, R. J.; Furneaux, R. H. *Carbohydr. Res.* **1976**, *52*, 63-68.

<sup>131</sup> Wang, Z., Zemplén Deacetylation. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, John Wiley & Sons, Inc.: 2010.

<sup>132</sup> Tran, A.-T.; Jones, R. A.; Pastor, J.; Boisson, J.; Smith, N.; Galan, M. C. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 2593-2598.

<sup>133</sup> Asao, N.; Aikawa, H.; Tago, S.; Umetsu, K. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4299-4302.

<sup>134</sup> Ma, Y.; Lian, G.; Li, Y.; Yu, B. *Chem. Comm.* **2011**, *47*, 7515-7517.

<sup>135</sup> Lors de travaux réalisés par les équipes de Bayer, il a été montré que les groupements Bz présents sur les positions 2 et 3 posaient des problèmes d'épimérisation au niveau du dipeptide lors des étapes finales de déprotections en milieu basique. C'est pourquoi la synthèse n'a pas été poursuivie avec les donneurs concernés.

<sup>136</sup> Lors de l'étude de la glycosylation de la thymine il a été vérifié que cela n'avait pas d'influence (voir p. 103).

<sup>137</sup> De même, la différence de rendement n'est pas significative lorsque la glycosylation est réalisée avec un mélange de diastéréoisomères ou avec un composé diastéréopur (voir p. 103).

<sup>138</sup> (a) Liu, G.-j.; Zhang, X.-t.; Xing, G.-w. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 12803-12806. (b) Liao, J.; Sun, J.; Yu, B. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5036-5038. (c) Zhang, Q.; Sun, J.; Zhu, Y.; Zhang, F.; Yu, B. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2011**, *50*, 4933-4936.

<sup>139</sup> Buchini, S.; Leumann, C. J. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 3152-3168.

<sup>140</sup> Matsuda, A.; Kurasawa, Y.; Watanabe, K. A. *Synthesis* **1981**, *1981*, 748-748.

- 
- <sup>141</sup> Caso, M. F.; D'Alonzo, D.; D'Errico, S.; Palumbo, G.; Guaragna, A. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 2626-2629.
- <sup>142</sup> Kiritsis, C.; Manta, S.; Parmenopoulou, V.; Balzarini, J.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5668-5674.
- <sup>143</sup> Bruynes, C. A.; Jurriens, T. K. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 3966-3969.
- <sup>144</sup> Staudinger, H.; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635-646.
- <sup>145</sup> Liu, S.; Edgar, K. J. *Biomacromolecules* **2015**, *16*, 2556-2571.
- <sup>146</sup> Beckmann, H. S. G.; Wittmann, V., Azides in Carbohydrate Chemistry. In *Organic Azides*, John Wiley & Sons, Ltd: 2010; pp 469-490.
- <sup>147</sup> Carpino, L. A.; Imazumi, H.; Foxman, B. M.; Vela, M. J.; Henklein, P.; El-Faham, A.; Klose, J.; Bienert, M. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2253-2256.
- <sup>148</sup> Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed., John Wiley & Sons, 1999 and references cited therein.
- <sup>149</sup> Zinelaabidine, C.; Souad, O.; Zoubir, J.; Malika, B.; Nour-Eddine, A. *Int. J. Chem.* **2012**, *4*, 73-79.
- <sup>150</sup> Verbrüggen, H.; Krolkiewicz, K.; Niedballa, U. *Liebigs Ann. Chem.* **1975**, *1975*, 988-1002.
- <sup>151</sup> Kaneko, M.; Shimizu, B. *Chem. Pharm. Bull* **1972**, *20*, 1050-1053.
- <sup>152</sup> Fox, J. J.; Van Praag, D.; Wempen, I.; Doerr, I. L.; Cheong, L.; Knoll, J. E.; Eidinoff, M. L.; Bendich, A.; Brown, G. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 178-187.
- <sup>153</sup> Divakar, K. J.; Reese, C. B. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1982**, 1171-1176.
- <sup>154</sup> Rahman, S. M.; Seki, S.; Obika, S.; Haitani, S.; Miyashita, K.; Imanishi, T. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2007**, *46*, 4306-4309.
- <sup>155</sup> *Suites aux résultats biologiques montrant que la stéréochimie du dipeptide influe peu sur l'activité de la molécule (chapitre IV), il a été décidé de synthétiser les analogues futurs avec le dipeptide naturel de la gougérotine.*
- <sup>156</sup> (a) Felix, A. M.; Heimer, E. P.; Lambros, T. J.; Tzougraki, C.; Meienhofer, J. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4194-4196. (b) Forbes, I. T.; Johnson, C. N.; Thompson, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 275-281.
- <sup>157</sup> Gigg, R.; Conant, R. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1983**, 465-466.
- <sup>158</sup> Kroutil, J.; Trnka, T.; Černý, M. *Synthesis* **2004**, *2004*, 446-450.
- <sup>159</sup> Holletz, T.; Cech, D. *Synthesis* **1994**, *1994*, 789-791.

- 
- <sup>160</sup> *La réaction a été suivie par spectrométrie de masse et la structure du produit secondaire est une hypothèse. La réaction n'ayant pas été purifiée, les produits n'ont pas été isolés.*
- <sup>161</sup> (a) Greenberg, M. M.; Barvian, M. R.; Cook, G. P.; Goodman, B. K.; Matray, T. J.; Tronche, C.; Venkatesan, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1828-1839. (b) Kim, S. J.; Lester, C.; Begley, T. P. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6256-6257.
- <sup>162</sup> Cohn, W. E.; Doherty, D. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 2863-2866.
- <sup>163</sup> Frankel, M.; Wagner, D.; Gertner, D.; Zilkha, A. *J. Organomet. Chem.* **1967**, *7*, 518-520.
- <sup>164</sup> Reddy, G. V.; Rao, G. V.; Iyengar, D. S. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3937-3938.
- <sup>165</sup> Benati, L.; Bencivenni, G.; Leardini, R.; Nanni, D.; Minozzi, M.; Spagnolo, P.; Scialpi, R.; Zanardi, G. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2499-2502.
- <sup>166</sup> Johnstone, R. A. W.; Wilby, A. H.; Entwistle, I. D. *Chem. Rev.* **1985**, *85*, 129-170.
- <sup>167</sup> Gartiser, T.; Selve, C.; Delpuech, J. J. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1609-1610.
- <sup>168</sup> Lucio Anelli, P.; Biffi, C.; Montanari, F.; Quici, S. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2559-2562.
- <sup>169</sup> Ying, L.; Gervay-Hague, J. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 835-841.
- <sup>170</sup> Garcia, J.; Urpí, F.; Vilarrasa, J. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4841-4844.
- <sup>171</sup> Charafeddine, A.; Chapuis, H.; Strazewski, P. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2787-2790.
- <sup>172</sup> *Pour des raisons de confidentialités, le nom des pathogènes utilisés pour les tests ne sont pas mentionnés ici. Chaque pathogène a été désigné par son sigle à 6 lettres dans les tableaux de résultats (code EPPO).*
- <sup>173</sup> *Photo utilisée avec l'accord de Bayer, division CropScience. Image colorisée obtenue au microscope électronique.*
- <sup>174</sup> *Pour des raisons de confidentialité, le temps d'incubation, l'âge des plantes et les symptômes observés ne sont pas communiqués ici.*
- <sup>175</sup> *Les logP sont calculés à pH physiologique grâce au logiciel PYTHIA (logiciel Bayer).*
- <sup>176</sup> (a) Whipps, J. M. *Canadian Journal of Botany* **2004**, *82*, 1198-1227. (b) Li, H.-Y.; Yang, G.-D.; Shu, H.-R.; Yang, Y.-T.; Ye, B.-X.; Nishida, I.; Zheng, C.-C. *Plant and Cell Physiology* **2006**, *47*, 154-163. (c) Pozo, M. J.; Azcón-Aguilar, C. *Current Opinion in Plant Biology* **2007**, *10*, 393-398.
- <sup>177</sup> Shalom, Y.; Blum, J.; Harvey, R. G. *J. Heterocycl. Chem.* **1996**, *33*, 681.
- <sup>178</sup> Tamiya, M.; Ohmori, K.; Kitamura, M.; Kato, H.; Arai, T.; Oorui, M.; Suzuki, K. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 9791-9823.
- <sup>179</sup> Pádár, P.; Bokros, A.; Paragi, G.; Forgó, P.; Kele, Z.; Howarth, N. M.; Kovács, L. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8669-8672.

- 
- <sup>180</sup> Nokami, T.; Werz, D. B.; Seeberger, P. H. *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 2823-2831.
- <sup>181</sup> Lei, Z.; Wang, J.; Mao, G.; Wen, Y.; Tian, Y.; Wu, H.; Li, Y.; Xu, H. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 6065-6071.
- <sup>182</sup> Wahler, D.; Boujard, O.; Lefèvre, F.; Reymond, J.-L. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 703-710.
- <sup>183</sup> Kumar, V.; Taxak, N.; Jangir, R.; Bharatam, P. V.; Kartha, K. P. R. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 3427-3439.
- <sup>184</sup> Tiwari, P.; Misra, A. K. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 339-350.
- <sup>185</sup> Dara, S.; Saikam, V.; Yadav, M.; Singh, P. P.; Vishwakarma, R. A. *Carbohydr. Res.* **2014**, *391*, 93-96.
- <sup>186</sup> Ma, Y.; Lian, G.; Li, Y.; Yu, B. *Chem. Comm.* **2011**, *47*, 7515.
- <sup>187</sup> Buchini, S.; Leumann, C. J. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 3152-3168.
- <sup>188</sup> Caso, M. F.; D'Alonzo, D.; D'Errico, S.; Palumbo, G.; Guaragna, A. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 2626-2629.
- <sup>189</sup> Novachek, K. A.; Meyers, A. I. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1743.



**Titre :** Synthèse d'analogues de la gougérotine à visée antifongique

**Mots clés :** glycochimie, nucléoside, peptide, fongicides

**Résumé :** Face à l'explosion démographique mondiale actuelle, les rendements agricoles se doivent d'être les plus élevés possible. Afin de relever ce défi, l'utilisation de pesticides efficaces et éco-compatibles est devenue indispensable. Dans le cadre de la recherche de nouveaux composés répondant à ces objectifs, les produits naturels continuent de retenir l'attention des chercheurs. Parmi eux, nous nous sommes intéressés à la gougérotine, un peptidonucléoside découvert au sein d'une bactérie dans les années 60 et possédant un large spectre d'activités biologiques. Dans le but d'optimiser l'activité antifongique et de diminuer la toxicité de la molécule, plusieurs analogues ont été synthétisés en jouant notamment sur la nature de la base nucléique. Une des réactions clé au cœur de la synthèse de nucléosides est la N-glycosylation permettant la liaison glycosidique entre la base nucléique et un donneur de glycosyle. Au cours de la voie de synthèse des analogues peptidonucléosidiques, une étude méthodologique de la N-glycosylation a été réalisée mettant en jeu différents donneurs de glycosyle et bases nucléiques. Des tests préventifs ont ensuite été réalisés sur les composés obtenus afin d'évaluer leur potentiel antifongique. Grâce aux analogues de la gougérotine et aux intermédiaires synthétisés, une étude de relation structure-activité a été menée.

**Title :** Synthesis of gougerotin analogues and evaluation of their antifungal activity

**Keywords :** glycochemistry, nucleosides, peptides, fungicides

**Abstract :** In the current context of the world demographic explosion, agricultural yields need to be as high as possible. The use of efficient and environmentally friendly pesticides has therefore become essential. In the framework of the discovery of new compounds, natural products remain an important source of inspiration. Among them, we focused on gougerotin, a peptidyl nucleoside isolated from a bacteria in the 60's which possess a broad spectrum of biological activities. In order to improve the antifungal properties and decrease the phytotoxicity of gougerotin, several analogues have been synthesized by replacing the natural nucleobase. N-glycosylation is one of the key-reaction in peptidyl nucleoside synthesis. During the synthesis of the analogues, a study of the N-glycosylation was carried out with three different donors and several bases. Protective tests were conducted with many pathogens to evaluate the antifungal activity of our compounds and a structure-activity relationship was established.