



**HAL**  
open science

# Développement de nouvelles méthodologies pour accéder à des inhibiteurs de $\beta$ -lactamase de seconde génération de type diazabicyclooctanes

Flavie Bouchet

## ► To cite this version:

Flavie Bouchet. Développement de nouvelles méthodologies pour accéder à des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase de seconde génération de type diazabicyclooctanes. Chimie organique. Université Paris Cité, 2022. Français. NNT : 2022UNIP5004 . tel-04025730

**HAL Id: tel-04025730**

**<https://theses.hal.science/tel-04025730>**

Submitted on 13 Mar 2023

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

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

# Université de Paris

École doctorale n°563 : Médicament, Toxicologie, Chimie, Imageries

Laboratoire de Chimie et Biochimie Pharmacologiques et Toxicologiques

(Équipe : Chimie des ARN, Nucléosides, Peptides et Hétérocycles - CNRS UMR8601)

---

## **Développement de nouvelles méthodologies pour accéder à des inhibiteurs de $\beta$ -lactamase de seconde génération de type diazabicyclooctanes**

---

Par Flavie BOUCHET

Thèse de doctorat de Chimie Organique

Dirigée par le Pr. Mélanie Ethève-Quellejeu

Co-encadrée par le Dr. Laura Iannazzo

*Présentée et soutenue publiquement le 18 février 2022*

Devant un jury composé de :

<b>Dr. Kévin CARIOU</b> Directeur de Recherche - Université PSL, Chimie ParisTech	Rapporteur
<b>Dr. Marion FLIPO</b> Maître de conférences, HDR - Université de Lille	Rapporteur
<b>Pr. Philippe BELMONT</b> Professeur des Universités - Université de Paris	Examineur
<b>Dr. Olivier VENIER</b> Responsable de groupe chimie médicinale - Sanofi	Examineur
<b>Pr. Mélanie ETHEVE-QUELQUEJEU</b> Professeur des Universités - Université de Paris	Directrice de thèse
<b>Dr. Laura IANNAZZO</b> Chargé de Recherche, HDR - Université de Paris	Co-encadrante de thèse



## Remerciements

---

Ces travaux de recherche ont été effectués au sein du Laboratoire de Chimie et Biochimie Pharmacologiques et Toxicologiques (UMR8601) de la Faculté des Sciences Fondamentales et Biomédicales de l'Université de Paris. Je tiens tout d'abord à remercier son directeur, le Dr Laurent Micouin, de m'y avoir accueillie pour réaliser cette thèse.

Je souhaite ensuite remercier les différents membres de mon jury qui me font l'honneur d'évaluer mon travail. Je remercie particulièrement le Dr Marion Flipo ainsi que le Dr Kévin Cariou, de prendre de leur temps pour lire ce manuscrit et d'en être les rapporteurs. Je remercie aussi le Dr Olivier Venier et le Pr Philippe Belmont d'avoir accepté de participer à ce jury et d'examiner mes travaux de thèse.

Mes remerciements vont également à nos collaborateurs du Centre de recherche des Cordeliers, pour l'étude de l'activité biologique des composés que j'ai pu synthétiser au cours de ma thèse. Je remercie ainsi le Dr Heiner Atze, le Dr Zainab Edoe et le Dr Jean-Philippe Barnier pour nos différentes collaborations, ainsi que bien sûr le Dr Michel Arthur.

Je souhaite maintenant remercier ma directrice de thèse, le Pr Mélanie Ethève-Quellejeu. Merci de m'avoir accompagnée et guidée tout au long de cette thèse. Intégrer ton équipe a été très formateur et ce fut un réel plaisir pour moi de réaliser ce doctorat sous ta direction. Tu as su te montrer disponible pour discuter avec moi quand cela était nécessaire, tout en me faisant confiance pour mener à bien ce projet. Merci pour tes conseils, tes encouragements et ta compréhension de façon générale, ainsi que pour la bonne ambiance que tu as su instaurer au sein de l'équipe.

Je remercie ensuite très sincèrement le Dr Laura Iannazzo pour son encadrement tout au long de cette thèse. Tu t'es montrée d'une rare disponibilité, toujours là pour répondre à mes diverses interrogations, me guider, m'apprendre et me faire avancer. Je n'aurais pas pu souhaiter meilleure encadrante. J'ai beaucoup évolué à tes côtés. Je te remercie pour la confiance que tu m'as accordée pour reprendre tes travaux sur les DBOs après deux longues années à développer la synthèse de l'azido. Je te souhaite le meilleur pour la suite de ta carrière, tu resteras toujours pour moi un modèle d'efficacité. Tu m'as plusieurs fois dit que tu fondais beaucoup d'espoirs sur la rédaction de ma thèse, j'espère avoir été à la hauteur de tes attentes. Merci sincèrement d'avoir pris du temps pour corriger ce manuscrit pendant ton congé maternité. Un grand merci aussi à tes petits assistants d'avoir partagé leur maman. Au-delà de l'aspect professionnel tu as été une très belle rencontre et je sais que la fin de cette thèse n'est pas une fin en soi, je ne vais donc pas faire dans le sentimental, tu n'aimes pas ça, et m'arrêter sur un simple merci, pour tout.

Mes remerciements vont maintenant aux différents membres de l'équipe MEQ qui ont permis que cette thèse se déroule dans les meilleures conditions :

Merci tout d'abord au Dr Emmanuelle Braud pour sa gentillesse. Ta sérénité en toutes occasions m'a toujours impressionné, ce fut un plaisir de travailler avec toi.

Camélia, merci pour toutes ces années. On a traversé ensemble cette expérience enrichissante qu'est la thèse avec des moments forts, de joies mais aussi de galères ! Je te remercie pour tous les moments partagés dans notre petit bureau, les goûters, les fous rires et surtout les potins. Les repas du midi avec toi et Laura m'ont beaucoup manqué ces derniers mois. Comme tu me le dis, c'est fou la thèse ça crée des liens spéciaux. Sache que plus qu'une collègue, tu es devenue une amie et je te remercie d'avoir été là pour me soutenir après ton départ du labo. Cette dernière année a été particulièrement riche en événements pour toi, tu peux être sacrément fière de tout ce que tu as accompli ! Je te souhaite sincèrement le meilleur pour la suite de ta carrière et je serais là pour suivre tout ça. Une page se tourne pour moi aujourd'hui mais je n'ai aucun doute que tu auras ta place dans la suite de mes aventures.

Dylan, tu auras été mon voisin de paillasse pendant quasiment toute ma thèse et plus récemment mon compatriote de bureau. La tâche était ardue après le départ de Camélia, mais tu l'as plutôt bien relevée. Un merci tout particulier pour ta gentillesse et tes petites attentions lors de cette épreuve qu'est la rédaction de la thèse. J'espère quand même qu'on ne t'a pas trop martyrisé dans le petit labo avec Laura, je me souviendrais toujours du pendu... Je te souhaite d'avoir un bon compagnon de paillasse pour ta dernière année ainsi qu'une belle fin de thèse et surtout une douce rédaction !

Je remercie également les anciens membres de l'équipe que j'ai pu côtoyer plus ou moins longtemps et avec qui ce fut un réel plaisir de travailler. Merci Said, Bo, Colette, Karolina et Manon d'avoir contribué à une bonne ambiance au sein du labo. Je vous souhaite sincèrement le meilleur pour la suite de vos carrières respectives que ce soit dans la chimie ou dans un autre domaine.

Merci aussi aux autres membres de l'équipe, Louna, Du et Yusif. Je vous souhaite bon courage pour la suite de vos thèses, que celles-ci se déroulent dans les meilleures conditions.

Je remercie enfin toutes les personnes de l'UMR8601 qui ont contribué à une atmosphère chaleureuse durant toutes ces années. Ce fut un plaisir de vous côtoyer.

Mes remerciements vont ensuite à ma famille et mes amis qui m'ont soutenu tout au long de ces années. Merci aux flam's, la fine équipe qui perdure depuis les bancs de la fac de Montpellier et tout particulièrement à Ma'. Merci aussi à Aurélie avec qui le temps s'arrête à chaque fois que l'on arrive à se retrouver, pas assez souvent à mon goût. Anaïs et Clara, merci enfin pour votre soutien et votre compréhension, vous êtes les meilleures.

Merci à mes parents de m'avoir soutenu depuis toutes ces années et d'être toujours présents pour moi. Le chemin n'a pas toujours été évident mais j'espère que vous êtes fiers aujourd'hui de l'évolution de votre petite crevette. Merci pour votre amour. Merci aussi à ma petite sœur

pour savoir toujours me redonner le sourire et à mon grand frère d'être, entre autres, toujours disponible pour régler mes problèmes de logiciels. Tu m'as plus d'une fois sauvé la mise ! Et merci au reste de ma famille d'avoir toujours cru en moi.

Et pour finir je tiens à remercier celui qui m'a le plus soutenu durant ces dernières années. Cyril, je n'aurais pas pu souhaiter meilleur compagnon pour être à mes côtés durant ces années si particulières que constituent une thèse. Je te remercie tout particulièrement d'avoir pris soin de moi ces derniers mois, bien que tu le fasses au quotidien depuis longtemps et pour longtemps encore je l'espère. Merci de partager ma vie.



# Table des matières

---

<b>Liste des abréviations</b>	<b>13</b>
<b>Préambule</b>	<b>16</b>
<b>Introduction générale</b>	<b>19</b>
<b>I. Les antibiotiques <math>\beta</math>-lactame</b>	<b>21</b>
1. La paroi bactérienne, cible des antibiotiques $\beta$ -lactame	21
a. Composition de la paroi cellulaire chez différentes bactéries	21
b. Structure et biosynthèse du peptidoglycane bactérien	23
c. Réticulation des chaînes glycanes par transpeptidation	25
2. Structure et activité des antibiotiques $\beta$ -lactame	26
a. Mécanisme d'action des $\beta$ -lactamines	26
b. Classification des $\beta$ -lactamines	28
3. Résistances bactériennes aux antibiotiques $\beta$ -lactame	31
a. Les mécanismes de résistance	32
b. Inactivation des $\beta$ -lactamines par les $\beta$ -lactamases	33
i. Les $\beta$ -lactamases à sérine active	33
ii. Les métallo- $\beta$ -lactamases	34
c. Combattre la résistance aux antibiotiques $\beta$ -lactame	35
<b>II. Les inhibiteurs de <math>\beta</math>-lactamase</b>	<b>38</b>
1. Les BLIs de 1 <sup>ère</sup> génération	38
a. Découverte et mode d'action du premier BLI	38
b. Les BLIs de 1 <sup>ère</sup> génération utilisés en thérapeutique	39
2. Les BLIs de 2 <sup>nde</sup> génération	40
a. Les diazabicyclooctanes	41
i. Développement de l'avibactam, le premier BLI « non $\beta$ -lactame »	41
ii. Mécanisme d'inactivation des $\beta$ -lactamases par l'avibactam	42
iii. Les DBOs sur le marché et en cours de développement clinique	44
iv. Bilan du spectre d'activité des inhibiteurs DBOs	50

b. Les dérivés d'acide boronique	51
i. Mécanisme d'inhibition des $\beta$ -lactamases à sérine active	51
ii. Les BLIs acides boroniques en cours de développement	52
3. Conclusion	53
<b>III. Les DBOs, une famille d'inhibiteurs à la structure originale</b>	<b>55</b>
1. Voies d'accès à l'avibactam	56
a. Première synthèse de l'avibactam par Aventis Pharma	57
b. Améliorations successives apportées à la synthèse de l'avibactam	59
i. Seconde voie d'accès développée par Novexel	59
ii. Améliorations apportées par AstraZeneca et Forest Laboratories	61
iii. Voie d'accès alternative proposée par Zhejiang Medicine	64
c. Conclusion	65
2. Modifications réalisées autour du noyau DBO	66
a. Fonctionnalisation de la position C2 du cycle DBO	66
i. Synthèse du précurseur DBO-acide carboxylique	66
ii. Fonctionnalisation de la chaîne latérale	69
b. Modulation et substitution du cycle pipéridine	71
i. Introduction d'un motif pyrrolidone	71
ii. Développement de DBOs insaturés	72
iii. Développement de DBOs-pyrazole	77
c. Conclusion	79
<b>IV. Objectifs de la thèse</b>	<b>80</b>
<b>Chapitre I : Introduction d'un motif 1,2,3-triazole</b>	<b>83</b>
<hr/>	
<b>I. Réactions de cycloadditions azoture-alcyne</b>	<b>85</b>
1. La chimie « click », une nouvelle approche synthétique	85
a. Introduction et portée du concept	85
b. Les réactions de chimie « click »	85
2. Formation de 1,2,3-triazoles par cycloaddition azoture-alcyne	87
a. La cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen	87
b. CuAAC : catalyse par le cuivre (I)	88
i. Sources de cuivre (I)	88

ii. Mécanisme catalytique	89
iii. Atouts et limitations	90
c. RuAAC : catalyse par le ruthénium (II)	91
i. Complexes de ruthénium (II)	91
ii. Alcynes internes	93
iii. Mécanisme catalytique	93
iv. Atouts et limitations	95
d. NiAAC : catalyse par le nickel	95
i. Système catalytique	95
ii. Alcynes internes	96
iii. Mécanisme catalytique	96
iv. Atouts et limitations	98
e. Modulation de la régiosélectivité	98
3. Les 1,2,3-triazoles en chimie médicinale	99
a. Le lien 1,2,3-triazole, un bio-isostère d'amide	99
b. Applications de la AAC au développement d'inhibiteurs de $\beta$ -lactamase	100
4. Objectif	103
<b>II. Synthèse du précurseur DBO-azoture</b>	<b>104</b>
<b>III. Accès à des DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués et non-substitués</b>	<b>107</b>
1. Fonctionnalisation du dérivé DBO-azoture par CuAAC	107
a. Les partenaires alcynes	107
b. Cycloaddition azoture-alkyne catalysée par le cuivre (I)	109
c. Déprotection puis sulfation de l'hydroxylamine	110
d. Déprotection finale des DBOs protégés par un groupement Boc	114
2. Synthèse de 1,2,3-triazoles non-substitués	115
a. Accès au DBO 1,2,3-triazole non-substitué	115
b. Obtention des DBOs sous forme sulfate de sodium	116
3. Inhibition de $\beta$ -lactamases chez les entérobactéries	116
a. Synthèse d'un DBO de référence : le relebactam	117
b. Etude d'un panel de $\beta$ -lactamases de classe A, C et D	118
i. Classe A	120
ii. Classe C	121
iii. Classe D	122

c. Conclusion	122
<b>IV. Accès à des DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués et 1,4,5-trisubstitués</b>	<b>124</b>
1. Fonctionnalisation du dérivé DBO-azoture par RuAAC	124
a. Synthèse des alcynes	125
b. Mise au point des conditions de cycloaddition azoture-alcyne	127
c. Exemplification	131
d. Mise en évidence d'un complexe ruthénium-tétrazadiène	133
2. Obtention des DBOs sous forme sulfate de sodium	134
a. DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués	135
b. DBOs 1,2,3-triazoles 1,4,5-trisubstitués	136
<b>V. Conclusion</b>	<b>137</b>
<b>Chapitre II : Formation d'un lien amide par ligation de Staudinger traceless</b>	<b>139</b>
<hr/>	
<b>I. Introduction</b>	<b>141</b>
1. Fonctionnalisation du cycle DBO par couplage amide	141
a. A partir d'un DBO-acide carboxylique commercial	141
b. A partir d'un dérivé DBO-amidine	142
2. La ligation de Staudinger traceless	143
3. Objectif	145
<b>II. Fonctionnalisation du cycle DBO par LSt</b>	<b>146</b>
1. Synthèse des phosphines	146
2. Réactivité du DBO-azoture en présence de phosphines	148
3. Exemplification	150
<b>III. Inhibition de <math>\beta</math>-lactamases chez les Entérobactéries</b>	<b>151</b>
1. Synthèse d'un composé modèle final	151
2. Evaluation biologique	151
<b>IV. Conclusion</b>	<b>153</b>
<b>Chapitre III : Développement d'analogues DBO-thiourée</b>	<b>155</b>
<hr/>	
<b>I. Introduction</b>	<b>157</b>
<b>II. Synthèse d'un DBO-thiourée 1,2,3-triazole</b>	<b>158</b>
1. Conversion du DBO-urée en DBO-thiourée	158

2. Accès au DBO-thiourée 1,2,3-triazole par synthèse totale	161
a. Synthèse du précurseur pipéridine-hydroxylamine	161
b. Introduction du motif thiourée sur le cycle DBO	162
i. Travaux antérieurs du laboratoire	163
ii. Optimisation des conditions pour la formation du DBO-thiourée	165
c. Synthèse du précurseur DBO-thiourée-azoture	167
d. Fonctionnalisation du précurseur DBO-thiourée-azoture par CuAAC	168
e. Déprotection de l'hydroxylamine	169
f. Conclusion	170
<b>III. Synthèse d'analogues thiourée de DBOs de référence</b>	<b>171</b>
1. Synthèse du précurseur DBO-thiourée-acide carboxylique	171
a. Formation de la thiourée bicyclique	171
b. Déprotection de la fonction acide carboxylique	173
c. Conclusion	173
2. Développement d'un analogue thiourée de l'avibactam	174
a. Introduction de la fonction amide primaire	174
b. Essais de déprotection de l'hydroxylamine par hydrogénolyse	175
3. Synthèse du relabactam-thiourée	175
a. Stratégie de protection par un groupement Boc	176
i. Fonctionnalisation du DBO-thiourée-acide carboxylique	176
ii. Déprotection de l'hydroxylamine par le groupement benzyle	176
b. Stratégie de protection par un groupement Fmoc	178
i. Remplacement de la protection Boc par un groupement Fmoc	178
ii. Déprotection et sulfation de l'hydroxylamine	178
iii. Elimination du groupement protecteur Fmoc	179
4. Application des conditions de déprotection aux autres composés	180
a. Analogue thiourée de l'avibactam	180
b. DBO-thiourée 1,2,3-triazole	181
<b>IV. Conclusion</b>	<b>182</b>
<b>Conclusion générale et perspectives</b>	<b>185</b>

---

<b>Experimental part</b>	<b>193</b>
<hr/>	
<b>I. Materials and methods</b>	<b>195</b>
<b>II. Compounds from chapter I</b>	<b>196</b>
1. Synthesis of azido-DBO precursor	196
2. DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstituted and non-substituted	209
3. DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstituted and 1,4,5-trisubstituted	243
<b>III. Compounds from chapter II</b>	<b>269</b>
<b>IV. Compounds from chapter III</b>	<b>293</b>
<b>Annexes</b>	<b>313</b>
<hr/>	
<b>Bibliographie</b>	<b>318</b>
<hr/>	

## Liste des abréviations

<b>A</b>			
AAC	Azide-Alkyne Cycloaddition	Ac	Acétyle
ADN	Acide désoxyribonucléique	Ala	Alanine
AmpC	Ampicillin C	aq.	Aqueux
ARN	Acide ribonucléique	Asn	Asparagine
<b>B</b>			
BHR	Bactéries hautement résistantes	BLI	$\beta$ -lactamase inhibitor
BLSE	$\beta$ -lactamases à spectre élargi	BMR	Bactéries multi-résistantes
Bn	Benzyle	Boc	<i>tert</i> -butyloxycarbonyle
BOP	Benzotriazole-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium hexafluorophosphate		
<b>C</b>			
CALB	<i>Candida antarctica</i> lipase B	Cbz	Carboxybenzyle
CDI	Carbonyldiimidazole	CMI	Concentration minimale inhibitrice
COD	Cyclooctadiène		
CTX-M	Cefotaximase-Munich	Cp*	Pentaméthylcyclopentadiène
CRO	Contract Research Organization	CuAAC	Copper-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition
<b>D</b>			
DABCO	1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane	DAP	Acide diaminopimélique
DBO	Diazabicyclooctane	DCC	Dicyclohexylcarbodiimide
DCE	Dichloroéthane	DCM	Dichlorométhane
DEAD	Azodicarboxylate de diéthyle	DIEA	<i>N,N</i> -Diisopropyléthylamine
DMAc	Diméthylacétamide	DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -diméthylformamide	DMSO	Diméthylsulfoxyde
dppbz	1,2-bis(diphénylphosphino)benzène	dppf	1,1'-bis(diphénylphosphino)ferrocène
<b>E</b>			
EBLSE	Entérobactéries productrices de $\beta$ -lactamases à spectre élargi	EDC ou EDCI	1-éthyl-3-(3-diméthylamino-propyl)carbodiimide
ee	Excès énantiomérique	éq. / equiv.	Equivalents
ESI	ElectronSpray Ionisation	Et	Ethyle
<b>F</b>			
FDA	Food and Drug Administration	Fmoc	Fluorénylméthoxycarbonyle

**G**GlcNAc      *N*-acétylglucosamine**H**

HATU	Hexafluorophosphate Azabenzotriazole	HMR	Hoechst Marion Roussel
	Tetramethyl Uronium	HOBt	Hydroxybenzotriazole
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography	HRMS	High-Resolution Mass Spectrometry

**I**

<i>i</i> -Bu	Isobutyle	iGln	Isoglutamine
iGlu	Acide isoglutamique	IPA	Alcool isopropylique

**K**KPC      *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase**L**

LDA	Diisopropylamidure de lithium	Ldt	L,D-transpeptidase
LSt	Ligation de Staudinger traceless	Lys	Lysine

**M**

M	Mol/L	MBL	Métallo- $\beta$ -lactamase
<i>m</i> -CPBA	Acide <i>m</i> éta-chloroperbenzoïque	Me	Méthyle
min	Minutes	Ms	Méthansulfonyle
MS	Mass Spectrometry	MurNAc	<i>N</i> -acétylmuramique

**N**

NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide	NiAAC	Nickel-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition
NMR	Nuclear Magnetic Resonance		
Ns	4-nitrobenzènesulfonyle		

**O**

OMS      Organisation Mondiale de la Santé      OXA      Oxacillinase

**P**

PBP	Penicillin-Binding-Protein	piv	Pivaloyle
Ph	Phényle	Pyr	Pyridine

**Q**

QIDP      Qualified Infectious Disease Product      quant.      Quantitatif

<b>R</b>			
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire	RuAAC	Ruthenium-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition
<b>S</b>			
SBL	Sérine-β-lactamase	S <sub>N</sub> 2	Substitution nucléophile d'ordre 2
STAB	Triacétoxyborohydrure de sodium		
<b>T</b>			
ta	Température ambiante	TBAA	Tetrabutylammonium acetate
TBAF	Tetrabutylammonium fluoride	TBAHS	Tetrabutylammonium hydrogen sulfate
TBDMS / TBS	<i>tert</i> -butyldiméthylsilyle		
TBTA	Tris((1-benzyl-4-triazolyl)méthyl)amine	<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -butyle
TCDI	Thiocarbonyldiimidazole	Tf	Triflate
TFA	Acide trifluoroacétique	TFAA	Anhydride trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane	THPTA	Tris(3-hydroxypropyltriazolyl-méthyl)amine
TIPS	Triisopropylsilane		
TMS	Triméthylsilyle	Ts	4-toluènesulfonyle
TTTA	Tris((1- <i>tert</i> -butyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolyl)méthyl)amine		
<b>U</b>			
UV	Ultraviolet		

# Préambule

---

Les antibiotiques sont des médicaments utilisés pour traiter des infections bactériennes sévères, telles que les septicémies, les pneumonies, la tuberculose ou encore des infections plus anodines mais non moins nocives comme les angines ou les infections urinaires. Ces substances chimiques, naturelles ou synthétiques, permettent en effet de détruire ou d'empêcher le développement des bactéries, on parle alors d'antibiotiques bactéricides ou bactériostatiques.

Ayant permis de diminuer drastiquement le taux de mortalité dû aux maladies infectieuses, les antibiotiques figurent parmi les découvertes les plus importantes du XX<sup>ème</sup> siècle. La mise en évidence du pouvoir antibactérien d'une substance issue d'un champignon le *Penicillium notatum* en 1928 par A. Fleming,<sup>1</sup> a notamment été une découverte majeure dans l'histoire des antibiotiques. Il a cependant fallu attendre une dizaine d'années pour que E. Chain et H. W. Florey s'intéressent à ses travaux et parviennent alors à isoler cette substance antibactérienne aujourd'hui très connue : la pénicilline G.<sup>2</sup> Sa première utilisation clinique en 1941, suivie de sa production à grande échelle, a marqué le début de l'ère des antibiotiques qui a connu son apogée jusque dans les années 70. Pendant cet « âge d'or » de l'antibiothérapie, l'arsenal thérapeutique a été enrichi de nombreux composés, révolutionnant le traitement et l'impact des infections bactériennes. Les bactéries ont cependant commencé à évoluer naturellement en réponse à l'utilisation de ces médicaments, conduisant à l'apparition de souches résistantes. La remarquable efficacité des antibiotiques ayant de plus motivée une utilisation excessive et répétée en santé humaine et animale s'accompagnant de ce fait d'une large dissémination dans l'environnement, cela a particulièrement accéléré ce phénomène naturel.<sup>3</sup> Depuis la découverte de la pénicilline, chaque nouvelle génération d'antibiotiques a ainsi vu apparaître plus ou moins rapidement des phénomènes de résistance lui correspondant.<sup>4</sup> D'abord ponctuelles, ces résistances sont par la suite devenues massives et préoccupantes. On a notamment assisté dans les années 70 à une montée de l'antibiorésistance avec l'émergence de souches bactériennes multi-résistantes (BMR), renforcée dans les années 2000 par l'apparition de bactéries hautement résistantes (BHR) (Figure 1).

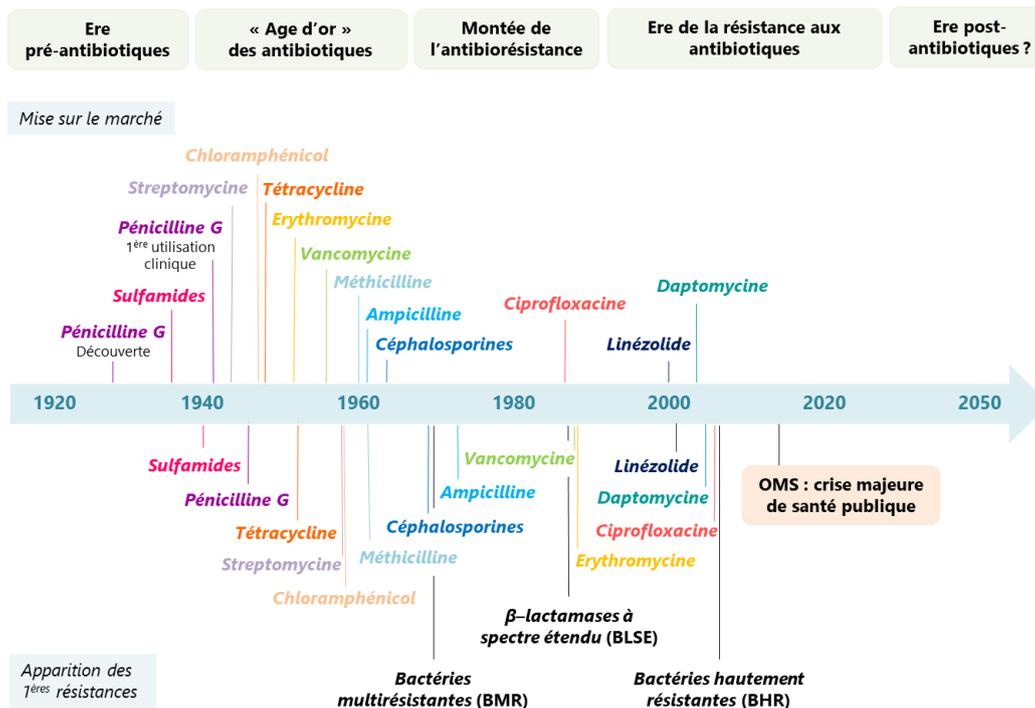
---

<sup>1</sup> A. Fleming, *Br. J. Exp. Pathol.* **1929**, 10, 226-236

<sup>2</sup> a) E. Chain, H.W. Florey, A.D. Gardner, N.G. Heatley, M.A. Jennings, J. Orr-Ewing, A.G. Sanders, *Lancet* **1940**, 236, 226-228 b) E.P. Abraham, E. Chain, C.M. Fletcher, A.D. Gardner, N.G. Heatley, M.A. Jennings, H.W. Florey, *Lancet* **1941**, 238, 177-189

<sup>3</sup> J. Davies, D. Davies, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2010**, 74, 417-433

<sup>4</sup> A. E. Clatworthy, E. Pierson, D. T. Hung, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, 3, 541-548



**Figure 1.** Amplification de l'antibiorésistance : frise chronologique relatant la mise sur le marché de certains antibiotiques (en haut) et l'apparition des premiers phénomènes de résistances leur correspondant (en bas) (Figure adaptée de la réf.<sup>4</sup>)

Cette capacité des bactéries à muter continuellement, assurant ainsi leur survie, a alors engendré une course perpétuelle pour le développement de nouveaux antibiotiques qui soient actifs contre les souches résistantes. Mais au fil du temps cela a aussi fini par entraîner un désintéressement de la part des grandes sociétés pharmaceutiques préférant investir sur des projets plus porteurs. Un nombre restreint de nouveaux antibiotiques arrivant alors sur le marché,<sup>5</sup> il est devenu parfois difficile, voire impossible de traiter certaines infections. En 2014, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a donc lancé un avertissement indiquant que sans action urgente à l'échelle mondiale, nous pourrions faire face à de grandes impasses thérapeutiques et que des maladies infectieuses courantes pourraient redevenir mortelles, nous faisant basculer dans une ère dite « post-antibiotiques ». Selon une estimation, d'ici 2050, l'antibiorésistance pourrait en effet devenir l'une des principales causes de mortalité dans le monde.<sup>6</sup> Aujourd'hui, la résistance aux antibiotiques est donc un problème de santé publique majeur et concerne l'ensemble des bactéries pathogènes. Et bien que l'on observe une légère augmentation du nombre de nouveaux médicaments antibactériens approuvés depuis une dizaine d'années,<sup>7</sup> il reste crucial de continuer à développer de nouvelles solutions pour contrer ces résistances bactériennes.

<sup>5</sup> M. I. Katz, L. V. Mueller, M. Polyakov, S. F. Weinstock, *Nat. Biotechnol.* **2006**, *24*, 1529-1531

<sup>6</sup> a) J. O'Neill, Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations, *The Review on Antimicrobial Resistance* **2014** b) J. O'Neill, Tackling Drug-Resistant Infections Globally: final report and recommendations, *The Review on Antimicrobial Resistance* **2016**

<sup>7</sup> D. G. Brown, H. J. Wobst, *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 2312-2338

Dans le cadre de ces travaux de thèse, nous allons ainsi nous intéresser au développement de nouvelles molécules permettant de lutter contre un mécanisme de résistance bactérien fréquent : la production de  $\beta$ -lactamases. Ces enzymes sont actuellement la cause majeure de résistance à la classe d'antibiotiques la plus largement employée en thérapeutique : les  $\beta$ -lactamines, aussi appelées antibiotiques  $\beta$ -lactame.

## **Introduction générale**

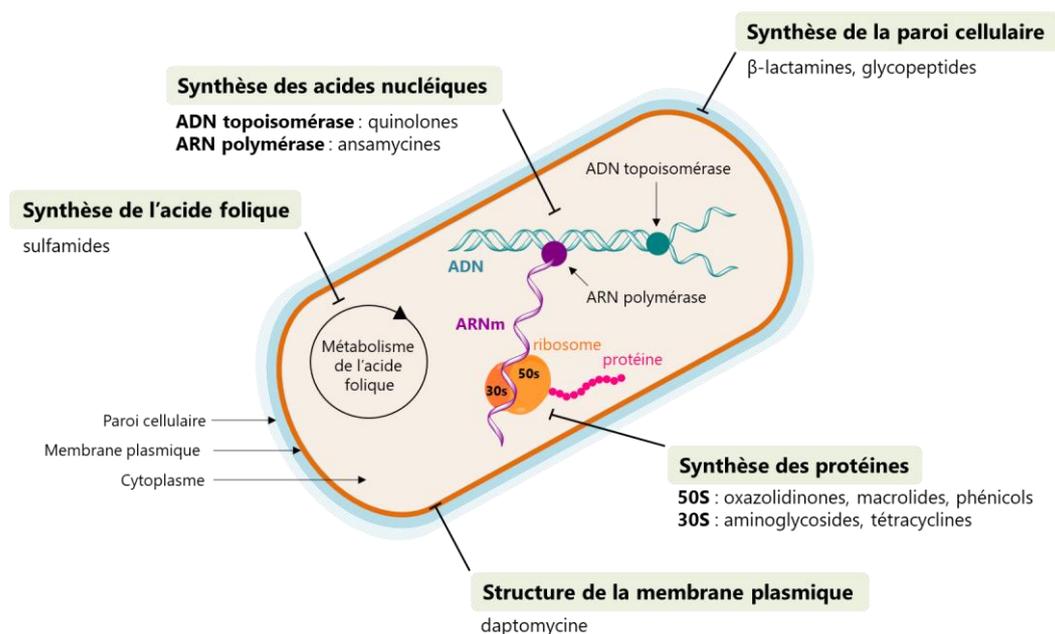
---



## I. Les antibiotiques $\beta$ -lactame

### 1. La paroi bactérienne, cible des antibiotiques $\beta$ -lactame

Il existe aujourd'hui une très large gamme d'antibiotiques présentant des modes d'action variés en fonction de leur cible au sein des cellules bactériennes.<sup>8</sup> Une majorité d'antibiotiques va ainsi détruire ou empêcher la croissance des bactéries en inhibant la synthèse de leur paroi cellulaire, de leur matériel génétique (ADN ou ARN) ou de protéines qui leur sont essentielles en ciblant les sous-unités ribosomiques.<sup>9</sup> Tandis que certains antibiotiques vont quant à eux agir sur la structure de la membrane plasmique ou encore bloquer certaines voies métaboliques tel que la synthèse de l'acide folique (Figure 2). Dans le cadre de ces travaux de thèse nous allons nous focaliser sur les antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi cellulaire.



**Figure 2.** Principales cibles des antibiotiques

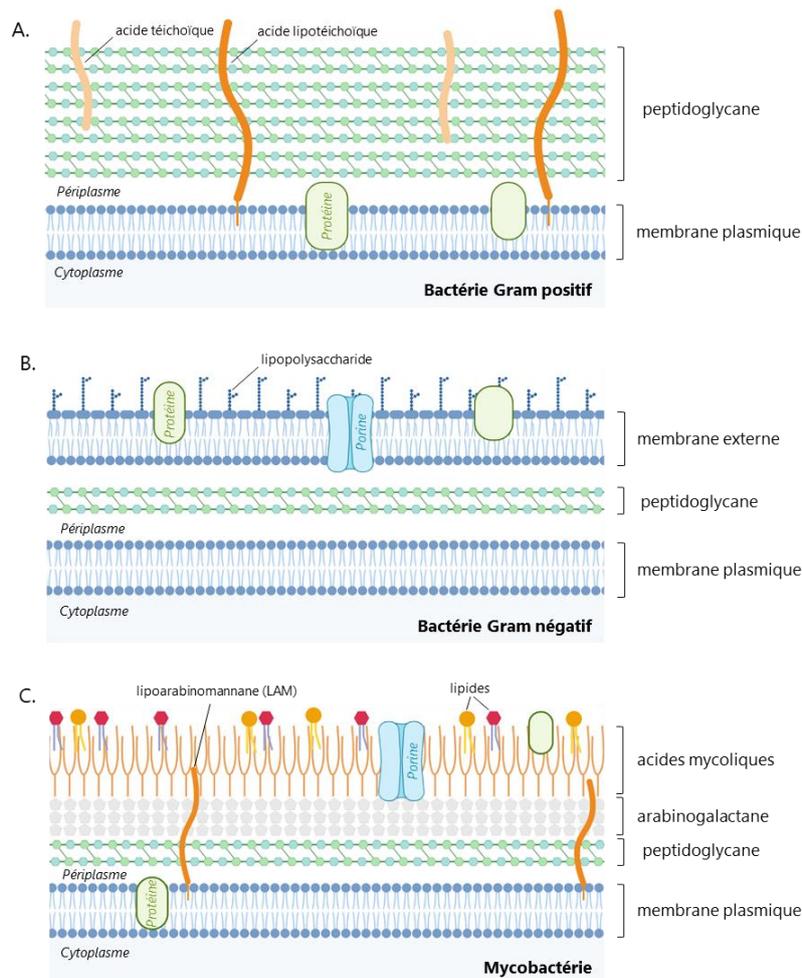
#### a. Composition de la paroi cellulaire chez différentes bactéries

L'enveloppe bactérienne assurant une protection contre les agressions extérieures est essentielle pour la croissance et la survie des bactéries, ce qui en fait une cible privilégiée de nombreux antibiotiques. Cette double enveloppe se compose d'une membrane plasmique et d'une paroi cellulaire dont la composition diffère selon les bactéries. On distingue ainsi les bactéries à Gram positif et Gram négatif.

<sup>8</sup> A. Coates, Y. Hu, R. Bax, C. Page, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, 1, 895-910

<sup>9</sup> M. A. Kohanski, D. J. Dwyer, J. J. Collins, *Nat. Rev. Microbiol.* **2010**, 8, 423-435

Dans le cas des bactéries Gram positif, la paroi cellulaire est composée d'une couche épaisse d'un bio-polymère réticulé, le peptidoglycane (ou muréine), attaché à la membrane plasmique *via* des acides lipotéichoïques (Figure 3A). Tandis que les bactéries Gram négatif présentent une couche de peptidoglycane plus fine, mais renforcée par la présence d'une membrane externe supplémentaire recouverte de lipopolysaccharides (Figure 3B). Certaines espèces bactériennes possèdent aussi une paroi cellulaire atypique, c'est le cas des mycobactéries. La paroi mycobactérienne est alors constituée d'une couche de peptidoglycane à laquelle sont liés des acides mycoliques *via* un polysaccharide, l'arabinogalactane (Figure 3C).<sup>10</sup>



**Figure 3.** Structure schématique de la paroi de bactéries Gram positif (A), Gram négatif (B) et de mycobactéries (C)

Le peptidoglycane est donc un composant essentiel de la paroi bactérienne et commun à toutes les bactéries, ce qui en fait une excellente cible pour de nombreux antibiotiques tel que les  $\beta$ -lactamines. Afin de comprendre leur mode d'action, nous allons au préalable détailler la structure et la formation de ce peptidoglycane bactérien.

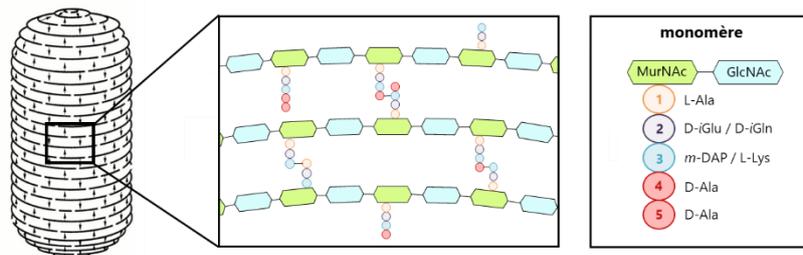
<sup>10</sup> L. Brown, J. M. Wolf, R. Prados-Rosales, A. Casadevall, *Nat. Rev. Microbiol.* **2015**, *13*, 620-630

Il est à noter que, bien qu'importante, ce n'est cependant pas la seule cible de la paroi cellulaire. Chez les mycobactéries notamment, en raison de leur composition plus complexe, on trouve aussi des antibiotiques qui vont inhiber les enzymes impliquées dans la biosynthèse de l'arabinogalactane ou encore celle des acides mycoliques.<sup>11</sup>

### b. Structure et biosynthèse du peptidoglycane bactérien

Le peptidoglycane est un réseau réticulé entourant la membrane plasmique, qui est à l'origine de la rigidité de la paroi cellulaire et donc de la morphologie des bactéries. De par sa structure résistante, à la fois rigide mais élastique, il offre une protection efficace contre les variations de pression osmotique exercées par le cytoplasme sur la membrane cytoplasmique, assurant ainsi l'intégrité de la bactérie.<sup>12</sup> Son absence ou sa détérioration va donc fragiliser cette intégrité cellulaire, entraînant alors généralement la mort de la bactérie, ce qui en fait une cible très intéressante pour traiter les infections bactériennes.

Le peptidoglycane se compose de longues chaînes polysaccharidiques parallèles, reliées entre elles par de courts peptides *via* des ponts interpeptidiques (Figure 4).<sup>13</sup> La partie glycanes alterne des unités de N-acétylglucosamine (GlcNAc) et d'acide N-acétylmuramique (MurNAc) substitué par un pentapeptide dont la composition varie légèrement en fonction des bactéries. De façon générale, on retrouve principalement un enchaînement de type L-Ala-D-*i*Glu-*m*-DAP-D-Ala-D-Ala chez les bactéries à Gram négatif, tandis que les bactéries à Gram positif présentent plutôt des acides aminés D-*i*Gln et L-Lys en position 2 et 3 respectivement.<sup>14</sup> La formation de liaisons amide entre ces sous-unités peptidiques assure alors la connexion entre les différentes chaînes osidiques.



**Figure 4.** Représentation schématique de la réticulation du peptidoglycane et d'une unité monomère

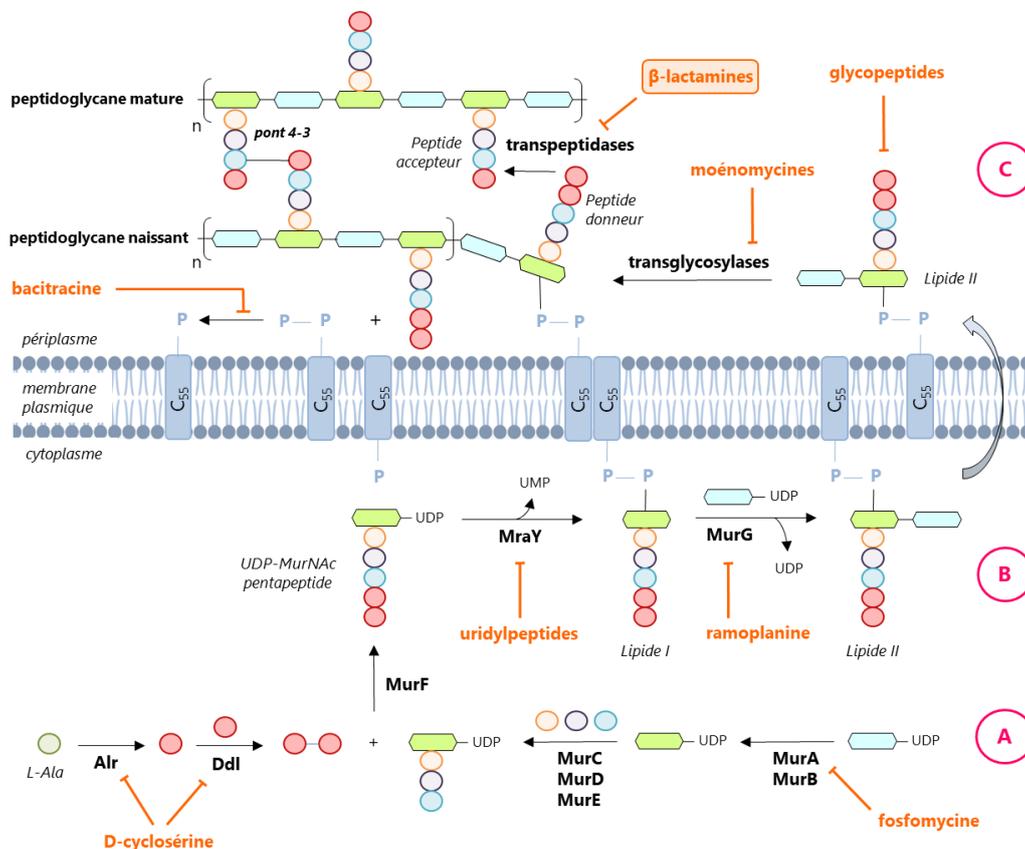
<sup>11</sup> a) M. Shaku, C. Ealand, B. D. Kana, *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2020**, *10*, 603382 b) L. Faïon, K. Djaout, R. Frita, C. Pintiala, F.-X. Cantrelle, M. Moune, A. Vandeputte, K. Bourbiaux, C. Piveteau, A. Herledan, A. Biela, F. Leroux, L. Kremer, M. Blaise, A. Tanina, R. Wintjens, X. Hanouille, B. Deprez, N. Willand, A. R. Baulard, M. Flipo, *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *200*, 112440

<sup>12</sup> J.-V. Høltje, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1998**, *62*, 181-203

<sup>13</sup> H. J. Rogers, *Bacteriol. Rev.* **1970**, *34*, 194-214

<sup>14</sup> W. Vollmer, D. Blanot, M. A. de Pedro, *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 149-167

La biosynthèse du peptidoglycane est un processus complexe, faisant intervenir de nombreuses enzymes, que l'on peut diviser en trois étapes principales en fonction de leur localisation. Tout d'abord, le précurseur UDP-MurNAc pentapeptide est assemblé au sein du cytoplasme (Schéma 1A).<sup>15,16</sup> Puis celui-ci se fixe à un transporteur lipidique membranaire dans la face interne de la membrane cytoplasmique et est alors glycosylé pour former le lipide II.<sup>15,17</sup> L'unité monomérique du peptidoglycane ainsi formée est alors transférée au sein du périplasma (Schéma 1B). Sa polymérisation va ensuite principalement être assurée par un groupe d'enzymes, les « Penicillin-Binding-Proteins » (PBP), qui vont catalyser l'élongation des chaînes glycanes et la formation des ponts interpeptidiques.<sup>18</sup> Leur activité de transglycosylase<sup>19</sup> va en effet permettre d'incorporer l'unité monomérique sur une chaîne de peptidoglycane naissante, liée au peptidoglycane mature par l'action de transpeptidases<sup>20</sup> (Schéma 1C).



**Schéma 1.** Biosynthèse du peptidoglycane et cibles de différents antibiotiques (en orange)

<sup>15</sup> J. van Heijenoort, *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 503-519

<sup>16</sup> H. Barreteau, A. Kovac, A. Boniface, M. Sova, S. Gobec, D. Blanot, *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 168-207

<sup>17</sup> A. Bouhss, A. E. Trunkfield, T. D. H. Bugg, D. Mengin-Lecreux, *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 208-233

<sup>18</sup> a) C. Goffin, J.-M. Ghuyssen, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1998**, *62*, 1079-1093 b) E. Sauvage, F. Kerff, M. Terrak, J. A. Ayala, P. Charlier, *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 234-258

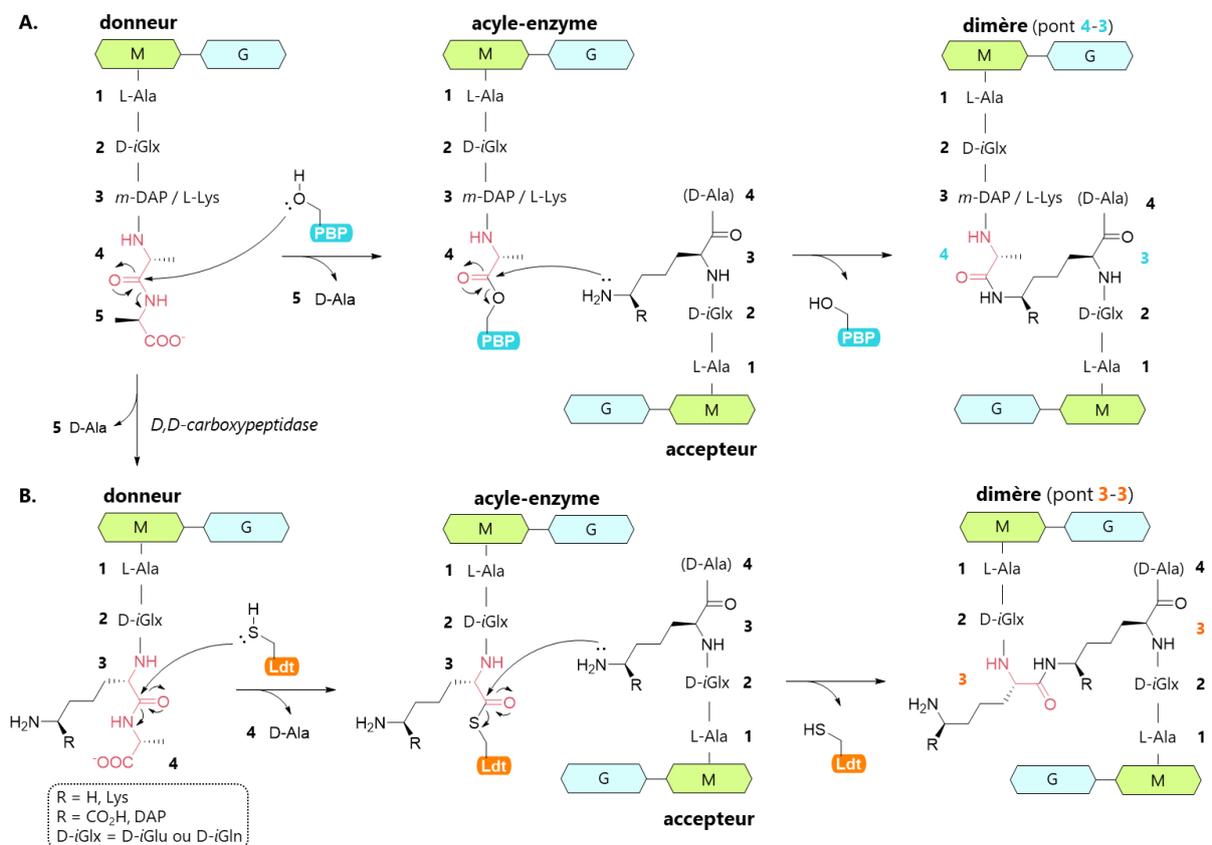
<sup>19</sup> J. van Heijenoort, *Glycobiology* **2001**, *11*, 25R-36R

<sup>20</sup> S. A. Cochrane, C. T. Lohans, *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *194*, 112262

Les antibiotiques ciblant le peptidoglycane bactérien interviennent à différents niveaux lors de sa biosynthèse (Schéma 1),<sup>21</sup> et nous allons nous intéresser en particulier à la famille des  $\beta$ -lactamines qui agissent sur la réticulation de ce dernier, en inhibant les enzymes transpeptidases.<sup>22</sup>

### c. Réticulation des chaînes glycanes par transpeptidation

Chez la plupart des bactéries, la voie de transpeptidation principale est catalysée par l'activité D,D-transpeptidase des PBP et entraîne la formation de ponts interpeptidiques de type 4 $\rightarrow$ 3, selon un mécanisme en deux étapes. Dans un premier temps, la sérine active de la PBP va réagir avec l'acide aminé D-Ala en position 4 d'un pentapeptide dit « donneur » selon une réaction d'addition/élimination. Cela va conduire à la libération de la D-Ala terminale et à la formation d'un acyle-enzyme présentant une fonction ester. Ce dernier va alors subir l'attaque nucléophile de la fonction amine libre de la chaîne latérale de l'acide aminé en position 3 du (penta-, tétra- ou tri-) peptide accepteur de la chaîne glycanne adjacente. Cette étape permet la création d'une nouvelle liaison amide entre les deux brins et assure ainsi la réticulation du peptidoglycane (Schéma 2A).



**Schéma 2.** Réactions de transpeptidation catalysées par les PBP (A) et les Ldts (B)

<sup>21</sup> T. D. H. Bugg, D. Braddick, C. G. Dowson, D. I. Roper, *Trends Biotechnol.* **2011**, 29, 167-173

<sup>22</sup> D. J. Waxman, J. L. Strominger, *Ann. Rev. Biochem.* **1983**, 52, 825-869

Les PBP ont longtemps été considérées comme les seules enzymes catalysant cette étape essentielle. Cependant, on peut mentionner qu'une autre voie de transpeptidation, majoritaire chez seulement quelques bactéries telle que *Mycobacterium tuberculosis* (~80%),<sup>23</sup> est assurée par une autre famille d'enzymes, non apparentée aux PBP, les L,D-transpeptidases (Ldts) qui possèdent un site actif de type cystéine.<sup>24</sup> Cette famille de transpeptidases, récemment découverte, présente un mécanisme d'action relativement similaire mais utilise un précurseur de peptidoglycane différent, aboutissant à la formation d'un lien amide entre les deux résidus en position 3 (Schéma 2B). Les ponts interpeptidiques de type 3→3 ainsi formés, sont présents chez de nombreuses bactéries mais en proportion très largement inférieure par rapport aux liens 4→3, de l'ordre d'environ 5% chez *Escherichia Coli* par exemple.<sup>25</sup>

Les antibiotiques β-lactame vont interférer sur la première voie de transpeptidation (Schéma 2A) en inhibant l'activité D,D-transpeptidase des PBP, empêchant ainsi l'étape essentielle de réticulation du peptidoglycane.<sup>26</sup> On peut noter qu'ils ne sont en revanche que peu actifs sur les Ldts, qui ne sont efficacement inactivées que par une seule classe de β-lactamines : les carbapénèmes.<sup>27</sup>

## 2. Structure et activité des antibiotiques β-lactame

### a. Mécanisme d'action des β-lactamines

Comme leur nom l'indique, les « Penicillin-Binding-Proteins » (PBP) ont été identifiées pour leur capacité à se lier de manière covalente aux pénicillines, première classe d'antibiotiques β-lactame à avoir été découverte. Leur mode d'action a été élucidé une quarantaine d'années plus tard par J. L. Strominger, qui a alors proposé une analogie structurale entre les pénicillines et la terminaison D-Ala-D-Ala des chaînons peptidiques du peptidoglycane (Figure 5).<sup>28</sup>

<sup>23</sup> M. Lavollay, M. Arthur, M. Fourgeaud, L. Dubost, A. Marie, N. Veziris, D. Blanot, L. Gutmann, J.-L. Mainardi, *J. Bacteriol.* **2008**, *190*, 4360-4366

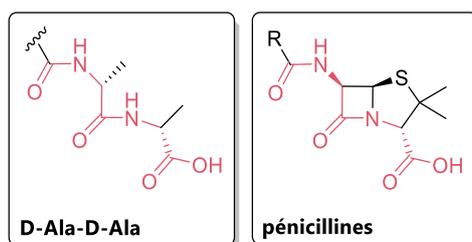
<sup>24</sup> J.-L. Mainardi, M. Fourgeaud, J.-E. Hugonnet, L. Dubost, J.-P. Brouard, J. Ouazzani, L. B. Rice, L. Gutmann, M. Arthur, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 38146-38152

<sup>25</sup> B. Glauner, J.-V. Hölting, U. Schwarz, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 10088-10095

<sup>26</sup> R. F. Pratt, *Cell. Mol. Life Sci.* **2008**, *65*, 2138-2155

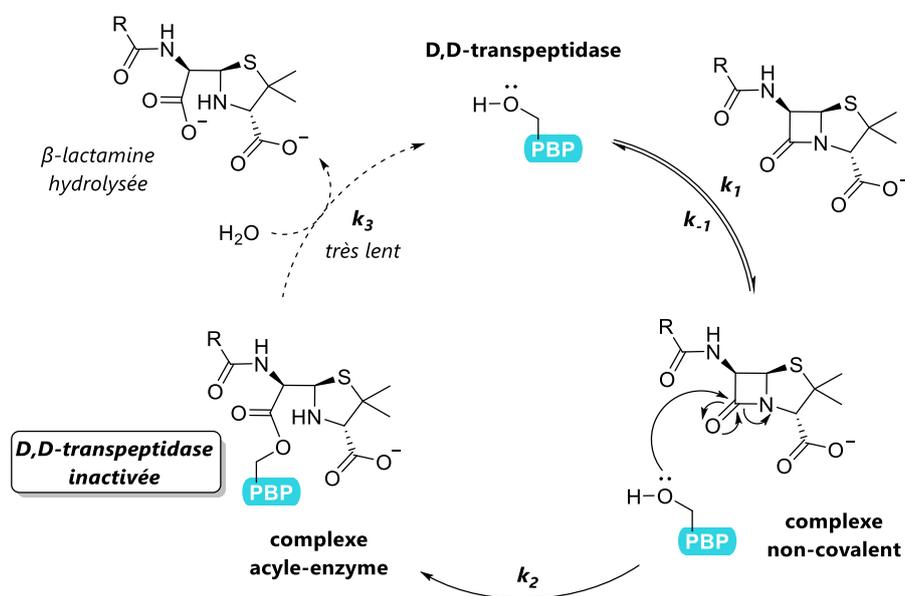
<sup>27</sup> a) J.-L. Mainardi, J.-E. Hugonnet, F. Rusconi, M. Fourgeaud, L. Dubost, A. N. Mouni, V. Delfosse, C. Mayer, L. Gutmann, L. B. Rice, M. Arthur, *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 30414-30422 b) V. Dubée, S. Triboulet, J.-L. Mainardi, M. Ethève-Quellejeu, L. Gutmann, A. Marie, L. Dubost, J.-E. Hugonnet, M. Arthur, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56*, 4189-4195

<sup>28</sup> a) J. T. Park, J. L. Strominger, *Science* **1957**, *125*, 99-101 b) D. J. Tipper, J. L. Strominger, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1965**, *54*, 1133-1141



**Figure 5.** Analogie structurale entre les pénicillines et la séquence terminale D-Ala-D-Ala du pentapeptide donneur, substrat naturel des PBP

Le noyau  $\beta$ -lactame, caractéristique de cette famille d'antibiotiques, permet en effet de mimer le substrat naturel des PBP, assurant ainsi la reconnaissance des  $\beta$ -lactamines par les D,D-transpeptidases. Ces antibiotiques vont alors agir comme des antagonistes compétitifs de ces enzymes.<sup>29</sup> Leur mécanisme d'action passe dans un premier temps, par la formation réversible d'un complexe non covalent avec l'enzyme transpeptidase. Puis l'attaque nucléophile de la sérine active de la PBP sur le carbonyle du cycle  $\beta$ -lactame, va entraîner la formation d'une liaison covalente entre la protéine et l'antibiotique, aboutissant à un acyle-enzyme stable. Cette étape étant irréversible en raison de l'ouverture du cycle  $\beta$ -lactame, les  $\beta$ -lactamines peuvent être qualifiées de substrats « suicides » du domaine D,D-transpeptidase des PBP. L'hydrolyse de l'acyle-enzyme ainsi formé est alors très lente ( $k_3$  faible), permettant donc une inactivation efficace de l'enzyme (Schéma 3).



**Schéma 3.** Mécanisme d'inhibition des PBP par les antibiotiques  $\beta$ -lactame de type pénicilline (adapté de la réf.<sup>29</sup>)

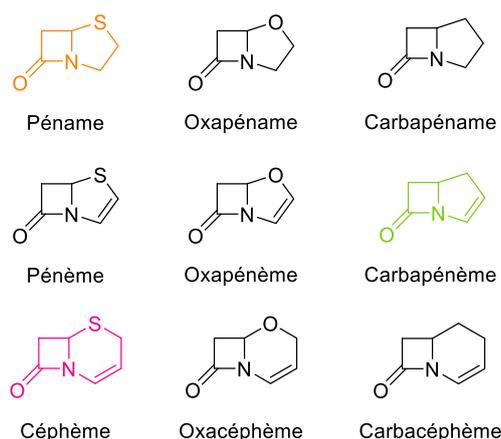
<sup>29</sup> M. F. Chellat, L. Raguz, R. Riedl, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 6600-6626

Les antibiotiques  $\beta$ -lactame, en se fixant aux PBP qui sont essentielles à la réticulation du peptidoglycane, entraînent ainsi une désorganisation dans la structure de celui-ci, qui ne peut alors plus assurer sa fonction protectrice, ce qui conduit finalement à la mort de la bactérie. En raison de ce mode d'action qui cible le peptidoglycane, qui présente l'avantage d'être une structure caractéristique des bactéries, absente des cellules humaines, les  $\beta$ -lactamines sont des antibiotiques d'une très grande efficacité et de faible toxicité.

Depuis la découverte et la commercialisation de la pénicilline G dans les années 1940, cette famille d'antibiotiques a été largement développée et compte aujourd'hui de nombreux composés répartis en différentes classes.

### b. Classification des $\beta$ -lactamines

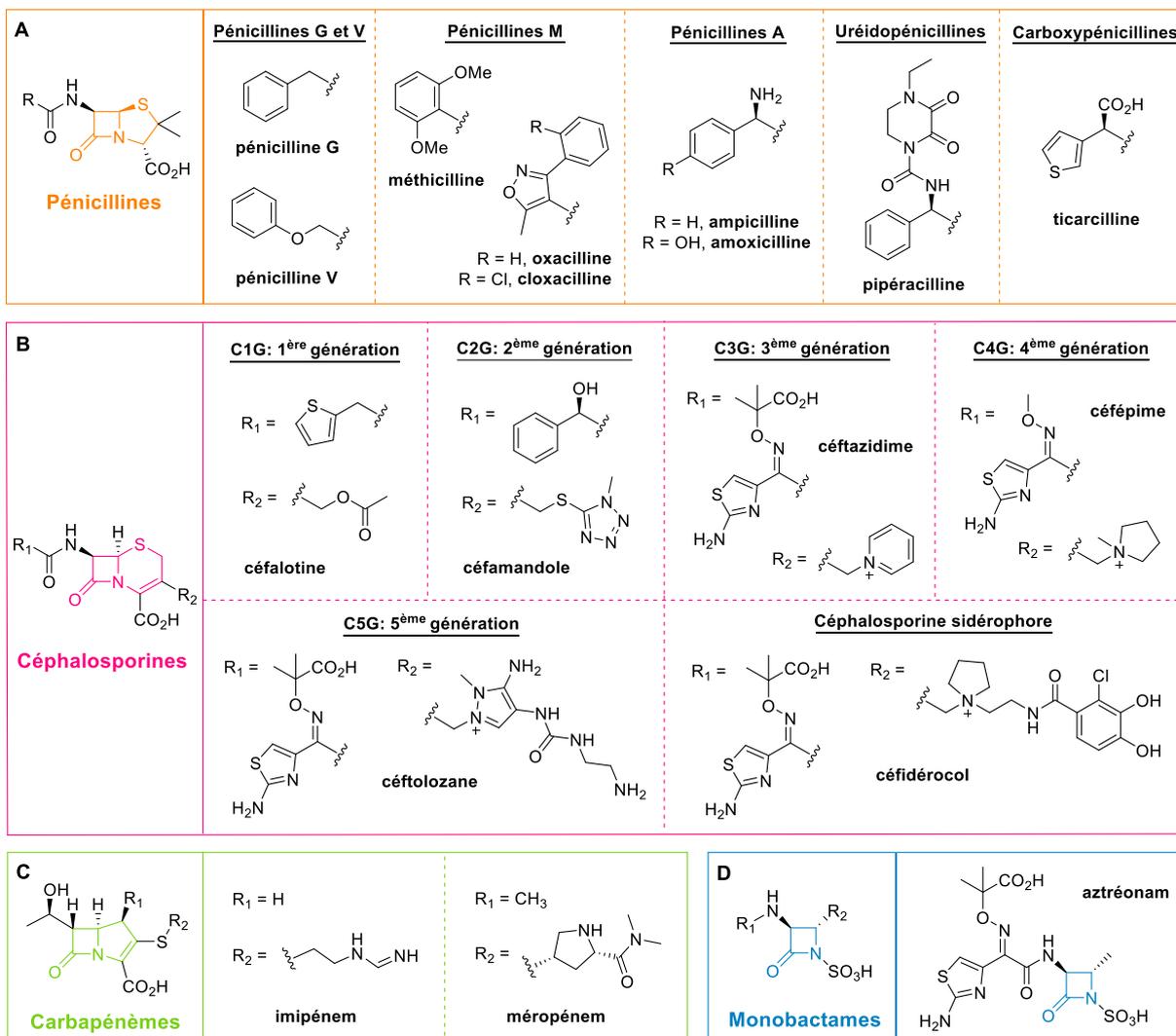
Les  $\beta$ -lactamines sont donc caractérisées par la présence d'un noyau  $\beta$ -lactame (2-azétidinone) qui correspond à la partie active de la molécule, indispensable à l'activité antibiotique. Elles sont alors classifiées en fonction de la nature du cycle qui leur est accolé (Figure 6).<sup>30</sup>



**Figure 6.** Classification des  $\beta$ -lactames selon leur structure

Parmi cette très large classe d'antibiotiques, on peut citer 4 grandes familles couramment utilisées en thérapeutique : les pénicillines qui possèdent un noyau de base de type péname, les céphalosporines présentant un motif céphème, les carbapénèmes et les monobactames dont le noyau est alors limité au cycle  $\beta$ -lactame (Figure 7).

<sup>30</sup> A. Dalhoff, C. J. Thomson, *Chemotherapy* **2003**, 49, 105-120



**Figure 7.** Structures génériques des principales classes de  $\beta$ -lactamines : les pénicillines (A), les céphalosporines (B), les carbapénèmes (C) et les monobactames (D), et exemples de composés représentatifs des différentes familles

Les pénicillines et les céphalosporines, initialement isolées de sources naturelles, présentent un noyau de base qui est facilement accessible par fermentation. Cette facilité d'accès à ces structures a ainsi permis de moduler aisément la nature des chaînes latérales portées par ces bicycles, rendant alors possible la production de nombreux composés semi-synthétiques aux propriétés antibactériennes variées.<sup>31</sup> La famille des pénicillines regroupe ainsi aujourd'hui un certain nombre de dérivés tel que les pénicillines des groupes M et A, les uréidopénicillines et les carboxypénicillines (Figure 7A).<sup>32</sup> Le cycle à 6 chaînons des céphalosporines a quant à lui permis une fonctionnalisation encore plus large, avec la modulation possible de deux chaînes latérales, faisant des céphèmes la classe de  $\beta$ -lactamines la plus abondante. Depuis leur introduction dans les années 1960, cinq générations de céphalosporines ont ainsi vu le jour (Figure 7B). Cette classe est toujours très étudiée aujourd'hui pour ses propriétés antibiotiques

<sup>31</sup> G. N. Rolinson, *J. Antimicrob. Chemother.* **1988**, 22, 5-14

<sup>32</sup> A. J. Wright, *Mayo Clin. Proc.* **1999**, 74, 290-307

et récemment en 2019, une nouvelle céphalosporine sidérophore, le céfidéocol<sup>33</sup> a été approuvée par la FDA (« Food and Drug Administration ») pour traiter les infections urinaires compliquées.

L'introduction des carbapénèmes dans les années 1980 a ensuite été une avancée majeure dans le développement des antibiotiques  $\beta$ -lactame. Leur noyau de base diffère alors des pénèmes et des céphèmes d'origine, puisque l'atome de soufre du cycle est remplacé par un atome de carbone, associant ainsi un cycle pyrrolidine au noyau  $\beta$ -lactame. Les carbapénèmes actuels dérivent également d'une molécule isolée d'une source naturelle, la thiénamycine, mais ils ne sont en revanche pas obtenus par fermentation et sont produits par synthèse totale. Leur coût de production est donc généralement bien plus élevé ce qui limite le développement de nouveaux composés et cette famille de  $\beta$ -lactamines est beaucoup plus réduite.<sup>34</sup> Tous les carbapénèmes actuellement sur le marché possèdent ainsi la même chaîne latérale hydroxyéthyle sur le noyau  $\beta$ -lactame. Le premier composé de cette famille à avoir été introduit en thérapeutique en 1987 est l'imipénèm, un analogue de la thiénamycine plus stable, où l'amine de la chaîne latérale est « masquée » par un groupement amidine empêchant ainsi l'ouverture du cycle  $\beta$ -lactame.<sup>35</sup> Il est cependant partiellement dégradé par des enzymes rénales et nécessite d'être co-administré avec la cilastatine, un inhibiteur de ces enzymes. Une seconde génération de carbapénèmes, tel que le méropénem, a alors été développée où une simple méthylation du motif pyrrolidine a permis de réduire drastiquement l'interaction avec les enzymes rénales (Figure 7C).<sup>36</sup> Du fait de leur très large spectre d'action contre les bactéries à Gram positif et Gram négatif, les carbapénèmes sont utilisés comme traitement de dernier recours pour soigner les infections bactériennes compliquées.<sup>37</sup>

Les monobactames se différencient des autres  $\beta$ -lactamines par leur structure monocyclique qui se limite au seul cycle  $\beta$ -lactame.<sup>38</sup> Le noyau azétidinone est alors substitué par un groupement sulfonate qui mime la fonction acide carboxylique présente chez les autres familles d'antibiotiques  $\beta$ -lactame (Figure 7D). Actuellement, un seul composé de cette classe est disponible pour une utilisation clinique, l'aztréonam.<sup>39</sup> Il possède un spectre antibactérien plus restreint et est utilisé pour le traitement de certaines infections dues à des bactéries à

<sup>33</sup> G. G. Zhanel, A. R. Golden, S. Zelenitsky, K. Wiebe, C. K. Lawrence, H. J. Adam, T. Idowu, R. Domalaon, F. Schweizer, M. A. Zhanel, P. R. S. Lagacé-Wiens, A. J. Walkty, A. Noreddin, J. P. Lynch, J. A. Karlowsky, *Drugs* **2019**, 79, 271-289

<sup>34</sup> D. Y. Wang, M. I. Abboud, M. S Markoulides, J. Brem, C. J Schofield, *Future Med. Chem.* **2016**, 8, 1063-1084

<sup>35</sup> F. M. Kahan, H. Kropp, J. G. Sundelof, J. Birnbaum, *J. Antimicrob. Chemother.* **1983**, 12, 1-35

<sup>36</sup> M. Fukasawa, Y. Sumita, E. T. Harabe, T. Tanio, H. Nouda, T. Kohzuki, T. Okuda, H. Matsumura, M. Sunagawa, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, 36, 1577-1579

<sup>37</sup> K. M. Papp-Wallace, A Endimiani, M. A. Taracila, R. A. Bonomo, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, 55, 4943-4960

<sup>38</sup> R. B. Sykes, C. M. Cimarusti, D.P. Bonner, K. Bush, D. M. Floyd, N.H. Georgopapadakou, W. H. Koster, W. C. Liu, W. L. Parker, P. A. Principe, M. L. Rathnum, W. A. Slusarchyk, W. H. Trejo, J. S. Wells, *Nature*, **1981**, 291, 489-491

<sup>39</sup> a) R. B. Sykes, D. P. Bonner, K. Bush, N. H. Georgopapadakou, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1982**, 21, 85-92 b) R. B. Sykes, D. P. Bonner, *Am. J. Med.* **1985**, 78, 2-10

Gram négatif. Un second monobactam, BOS-228 (ou LYS228),<sup>40</sup> est cependant actuellement en phase 2 d'essai clinique et pourrait venir agrandir cette classe originale.

Cette diversité structurale introduite autour du noyau  $\beta$ -lactame a conféré aux  $\beta$ -lactamines des propriétés physico-chimiques variées, influençant ainsi leur spectre d'activité, ce qui a permis d'accéder à un large arsenal thérapeutique. Mais cette recherche constante pour développer de nouveaux composés a principalement résulté d'une résistance croissante des bactéries aux antibiotiques  $\beta$ -lactame les plus anciens, nécessitant alors toujours plus d'innovation.

### 3. Résistances bactériennes aux antibiotiques $\beta$ -lactame

Bien que le développement de résistances de la part des bactéries face aux antibiotiques soit un phénomène naturel résultant des pressions de sélection qu'elles subissent.<sup>41</sup> Leur utilisation abusive ou inappropriée en médecine humaine et vétérinaire, ainsi que leur rejet dans l'environnement, les ont en effet forcés à évoluer rapidement ce qui a considérablement accéléré l'apparition de souches bactériennes résistantes.<sup>42</sup>

Aujourd'hui, pour limiter l'émergence de ces phénomènes de résistance il est donc nécessaire d'utiliser les antibiotiques à bon escient et de réduire leur dissémination dans l'environnement. L'OMS a ainsi commencé depuis plusieurs années à sensibiliser le corps médical et la population sur ce sujet. En parallèle, un plan d'action a été lancé pour motiver la recherche de nouveaux antibiotiques qui soient efficaces contre des souches bactériennes résistantes. En 2017, une liste d'agents pathogènes représentant une menace à l'échelle mondiale a ainsi été publiée.<sup>43</sup> Parmi ces bactéries jugées prioritaires, trois sont d'urgence critique et ce sont toutes des bactéries à Gram négatif résistantes à des  $\beta$ -lactamines :

- *Acinetobacter baumannii* (résistant aux carbapénèmes)
- *Pseudomonas aeruginosa* (résistant aux carbapénèmes)
- Entérobactéries (résistantes aux carbapénèmes et aux céphalosporines C3G)

---

<sup>40</sup> F. Reck, A. Bermingham, J. Blais, V. Capka, T. Cariaga, A. Casarez, R. Colvin, C. R. Dean, A. Fekete, W. Gong, E. Growcott, H. Guo, A. K. Jones, C. Li, F. Li, X. Lin, M. Lindvall, S. Lopez, D. McKenney, L. Metzger, H. E. Moser, R. Prathapam, D. Rasper, P. Rudewicz, V. Sethuraman, X. Shen, J. Shaul, R. L. Simmons, K. Tashiro, D. Tang, M. Tjandra, N. Turner, T. Uehara, C. Vitt, S. Whitebread, A. Yifru, X. Zang, Q. Zhu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 748-755

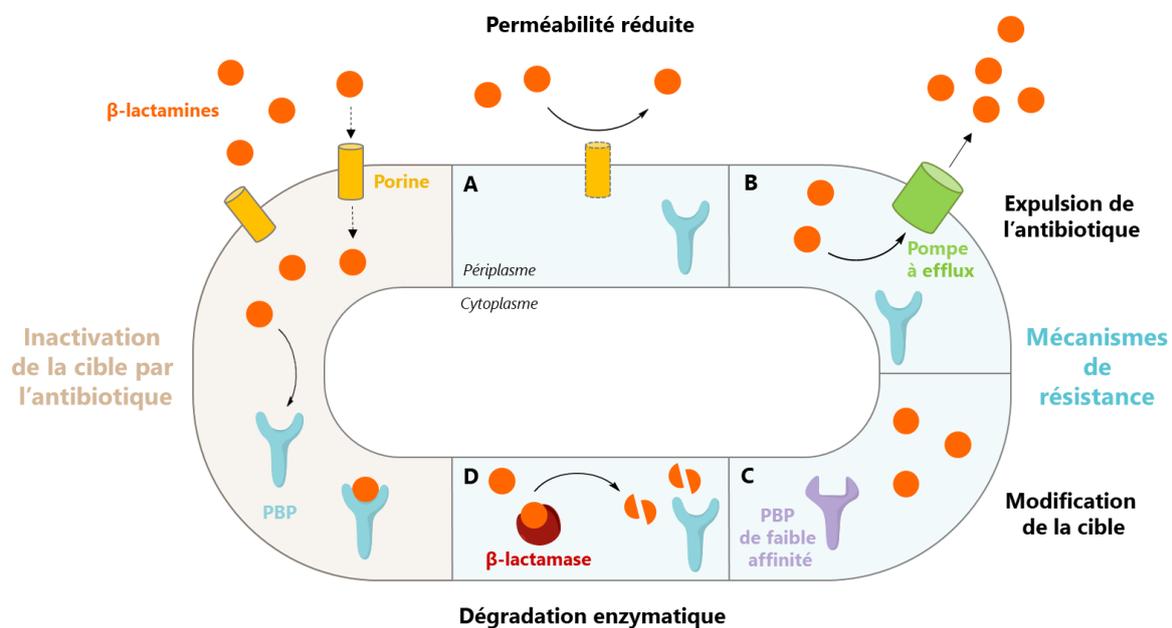
<sup>41</sup> G. D. Wright, *BMC Biol.* **2010**, *8*, 123

<sup>42</sup> A. A. Medeiros, *Clin. Infect. Dis.* **1997**, *24*, S19-S45

<sup>43</sup> E. Tacconelli, E. Carrara, A. Savoldi, S. Harbarth, M. Mendelson, D. L. Monnet, C. Pulcini, G. Kahlmeter, J. Kluytmans, Y. Carmeli, M. Oueltte, K. Outtersson, J. Patel, M. Cavaleri, E. M. Cox, C. R. Houchens, M. Lindsay Grayson, P. Hansen, N. Singh, U. Theuretzbacher, N. Magrini, WHO Pathogens Priority List Working Group, *Lancet Infect. Dis.* **2018**, *18*, 318-327

### a. Les mécanismes de résistance

La résistance aux antibiotiques  $\beta$ -lactame peut alors résulter de plusieurs mécanismes (Figure 8).<sup>44</sup> Chez les bactéries à Gram négatif, les  $\beta$ -lactamines vont devoir traverser la membrane externe *via* des porines pour accéder au périplasma afin d'aller inactiver les PBP. Une diminution de la perméabilité membranaire peut alors être observée suite à la modification de ces canaux empêchant ainsi l'antibiotique de pénétrer au sein de la bactérie (Figure 8A). Un second mécanisme de résistance lié à la présence de cette membrane externe chez les bactéries à Gram négatif est un phénomène d'efflux. L'antibiotique va alors être rejeté hors de la bactérie *via* une surexpression des pompes à efflux, avant même que celui-ci ne puisse remplir son rôle antibactérien (Figure 8B). Un troisième mode d'action, plus commun chez les bactéries à Gram positif, repose sur la modification de la cible PBP qui présente alors une faible affinité pour les antibiotiques  $\beta$ -lactame (Figure 8C). Enfin, on observe aussi le développement d'une résistance médiée par l'expression d'enzymes, les  $\beta$ -lactamases, qui vont inactiver l'antibiotique en catalysant l'hydrolyse du cycle  $\beta$ -lactame avant même que celui-ci ne puisse atteindre sa cible (Figure 8D). Bien que les bactéries à Gram positif produisent des  $\beta$ -lactamases, ce mode d'action leur permettant de résister aux  $\beta$ -lactamines est bien moins important que celui reposant sur la modification de la cible PBP.<sup>45</sup> C'est en revanche le mécanisme de résistance aux antibiotiques  $\beta$ -lactame le plus courant chez les bactéries à Gram négatif, et qui représente donc un grand défi pour la communauté scientifique.<sup>46</sup>



**Figure 8.** Mécanismes de résistance aux antibiotiques  $\beta$ -lactame observés chez les bactéries à Gram négatif : imperméabilité (A), efflux (B), cible modifiée (C) et production de  $\beta$ -lactamases (D)

<sup>44</sup> S. M. Drawz, R. A. Bonomo, *Clin. Microbiol. Rev.* **2010**, *23*, 160-201

<sup>45</sup> J. F. Fisher, S. Mobashery, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2016**, *6*, a025221

<sup>46</sup> C. Gonzalez-Bello, D. Rodríguez, M. Pernas, A. Rodríguez, E. Colchon, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 1859-1881

## b. Inactivation des $\beta$ -lactamines par les $\beta$ -lactamases

Depuis la découverte de la première  $\beta$ -lactamase en 1940 par E. P. Abraham et E. Chain,<sup>47</sup> avant même le début de l'utilisation clinique des  $\beta$ -lactamines, un très grand nombre de  $\beta$ -lactamases ont été reportées. Actuellement, la base de données des  $\beta$ -lactamases ([www.bldb.eu](http://www.bldb.eu))<sup>48</sup> dénombre en effet plus de 7000 enzymes plus ou moins caractérisées. Selon leur substrat de prédilection, on distingue notamment les pénicillinases, les céphalosporinases, les carbapénémases et les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE). Les bactéries productrices de carbapénémases et de BLSE sont particulièrement préoccupantes étant donné qu'elles sont soit résistantes aux carbapénèmes utilisés comme traitement de dernier recours, soit résistantes à une vaste gamme de  $\beta$ -lactamines.

La classification d'Ambler,<sup>49</sup> basée sur l'homologie de séquence des acides aminés, est aujourd'hui une des méthodes les plus couramment utilisées pour répartir les  $\beta$ -lactamases selon quatre grandes classes : A, B, C et D. En fonction de la composition de leur site actif, on peut alors distinguer deux grandes familles : les  $\beta$ -lactamases à sérine active (classes A, C et D) et les métallo- $\beta$ -lactamases (classe B).<sup>50</sup>

### i. Les $\beta$ -lactamases à sérine active

Les  $\beta$ -lactamases à sérine active (SBLs) sont structurellement très similaires aux enzymes D,D-transpeptidases et présentent un mode d'action semblable (Schéma 4).<sup>44</sup> Leur interaction avec les  $\beta$ -lactamines conduit ainsi dans un premier temps à la formation d'un complexe non covalent entre l'enzyme et l'antibiotique. Puis l'attaque nucléophile du résidu sérine de la  $\beta$ -lactamase sur le carbonyle du cycle  $\beta$ -lactame, entraîne l'ouverture de celui-ci et conduit à la formation d'un complexe acyle-enzyme. En revanche, contrairement aux acyl-transpeptidases très lents à s'hydrolyser, les  $\beta$ -lactamases acylées présentent une vitesse d'hydrolyse beaucoup plus rapide ( $k_3$  élevée), ce qui permet d'inactiver efficacement l'antibiotique  $\beta$ -lactame tout en régénérant la  $\beta$ -lactamase.<sup>51</sup>

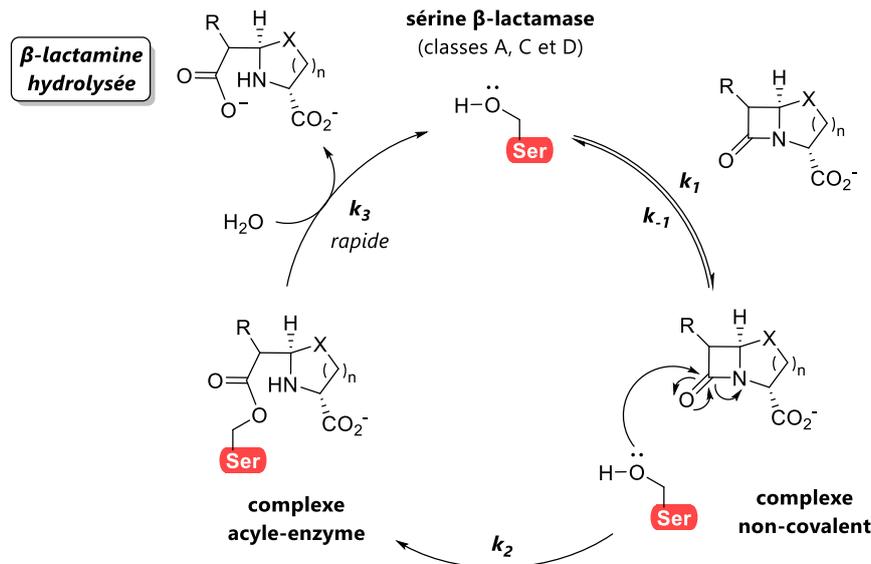
<sup>47</sup> E. P. Abraham, E. Chain, *Nature* **1940**, 146, 837

<sup>48</sup> T. Naas, S. Oueslati, R. A. Bonnin, M. L. Dabos, A. Zavala, L. Dortet, P. Retailleau, B. I. Iorga, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2017**, 32, 917-919

<sup>49</sup> R. P. Ambler, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **1980**, 289, 321-331

<sup>50</sup> J. F. Fisher, S. O. Meroueh, S. Mobashery, *Chem. Rev.* **2005**, 105, 395-424

<sup>51</sup> K. Bush, *Agents Chemother.* **2018**, 62, e01076-18



**Schéma 4.** Mécanisme d'inactivation des  $\beta$ -lactamines par des  $\beta$ -lactamases à sérine active (adapté de la réf.<sup>29</sup>)

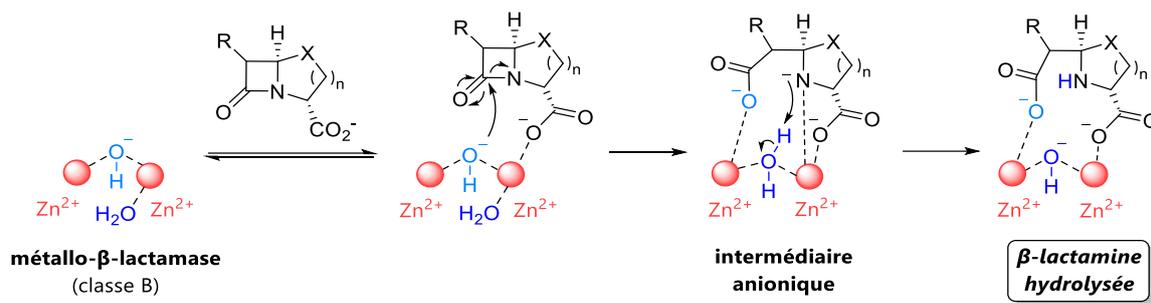
Les  $\beta$ -lactamases de classe A sont les plus répandues et les plus diverses.<sup>52</sup> Elles regroupent des pénicillinases, des céphalosporinases, des carbapénémases et des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu. On les retrouve chez les bactéries à Gram positif et Gram négatif. Les  $\beta$ -lactamases de classe C, aussi appelées enzymes AmpC, confèrent quant à elles principalement une résistance aux céphalosporines. Enfin, les  $\beta$ -lactamases de classe D présentent un large spectre d'activité et sont qualifiées d'oxacillinases (OXA) en raison de leur capacité à hydrolyser l'oxacilline (pénicilline du groupe M) plus efficacement que les enzymes de classes A et C.

## ii. Les métallo- $\beta$ -lactamases

Les métallo- $\beta$ -lactamases (MBLs) vont également inactiver les  $\beta$ -lactamines par hydrolyse du cycle  $\beta$ -lactame mais selon un mode d'action différent (Schéma 5). A la place d'un résidu sérine catalytique, le nucléophile est alors un ion hydroxyde  $\text{HO}^-$  provenant d'une molécule d'eau, activé par coordination à un ou deux ions  $\text{Zn}^{2+}$  (plus rarement  $\text{Co}^{2+}$  ou  $\text{Cd}^{2+}$ ) présents dans le site actif de ces métallo-enzymes.<sup>53</sup>

<sup>52</sup> B. G. Hall, M. Barlow, *Drug Resist. Updates* **2004**, 7, 111-123

<sup>53</sup> M.-R. Meini, L. I. Llarrull, A. J. Vila, *FEBS Lett.* **2015**, 589, 3419-3432



**Schéma 5.** Mécanisme général d'inactivation d'antibiotiques β-lactame par des métallo-β-lactamases (adapté de la réf.<sup>53</sup>)

Les métallo-β-lactamases présentent un très large spectre d'hydrolyse et sont capables d'inactiver toutes les classes d'antibiotiques β-lactame, à l'exception du monobactame aztréonam. Les bactéries productrices de MBLs sont ainsi résistantes à la plupart des β-lactamines utilisées en thérapeutique, y compris les carbapénèmes considérés pourtant comme des antibiotiques de dernier recours. Actuellement, aucun inhibiteur de ces enzymes n'est disponible sur le marché et ce manque d'options thérapeutiques pour lutter contre les β-lactamases de classe B est particulièrement préoccupant.<sup>54</sup>

### c. Combattre la résistance aux antibiotiques β-lactame

Bien que les β-lactamines soient actuellement la classe d'antibiotiques la plus utilisée pour soigner les maladies infectieuses, leur efficacité est donc menacée par plusieurs mécanismes de résistance dont le plus important résulte de la production de β-lactamases chez les bactéries à Gram négatif.<sup>55</sup>

Afin de lutter contre cette résistance bactérienne due à l'expression des différentes classes de β-lactamases, une première stratégie consiste à modifier les antibiotiques β-lactame connus. Ces modifications peuvent par exemple permettre de développer des composés plus stables vis-à-vis de l'hydrolyse par ces enzymes, et contribuer ainsi à vaincre les résistances émergentes. Cependant, ces modifications structurales ont été largement explorées et il est de plus en plus difficile de concevoir de nouveaux antibiotiques efficaces contre les souches bactériennes productrices de β-lactamases.

<sup>54</sup> M. F. Mojica, M.-A. Rossi, A. J. Vila, R. A. Bonomo, *Lancet Infect. Dis.* **2021**, 22, e28-e34

<sup>55</sup> K. Bush, P. A. Bradford, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2016**, 6, a025247

Notre équipe a par exemple été confrontée à cette problématique en s'intéressant à la modification d'antibiotiques  $\beta$ -lactame de type carbapénèmes. Il s'est en effet avéré difficile de concevoir de nouvelles structures présentant une bonne activité antibactérienne et qui soient également stables vis-à-vis de l'hydrolyse par les  $\beta$ -lactamases. La synthèse de ces carbapénèmes modifiés a été réalisée en collaboration avec l'équipe du Dr. Michel Arthur pour étudier l'inactivation des L,D-transpeptidases (Ldts). Pour rappel, ces enzymes catalysent la formation des ponts interpeptidiques de type 3 $\rightarrow$ 3 du peptidoglycane, voie de transpeptidation majoritaire chez les mycobactéries telles que *Mycobacterium tuberculosis*.<sup>23</sup> Les carbapénèmes sont les seuls composés de la classe des  $\beta$ -lactamines qui inhibent les Ldts,<sup>27</sup> mais ils sont cependant considérés comme inefficaces pour le traitement de la tuberculose puisque *M. tuberculosis* produit une  $\beta$ -lactamase de classe A à large spectre : BlaC, qui présente une activité carbapénémase modérée mais significative. Les carbapénèmes disponibles ont en effet été développés et optimisés pour traiter les infections dues à des bactéries à Gram négatif productrices de BLSE inactivant les céphalosporines 3G,<sup>37</sup> ils n'avaient alors jamais été optimisés pour inhiber les Ldts de *M. tuberculosis* ni pour limiter leur hydrolyse par BlaC.

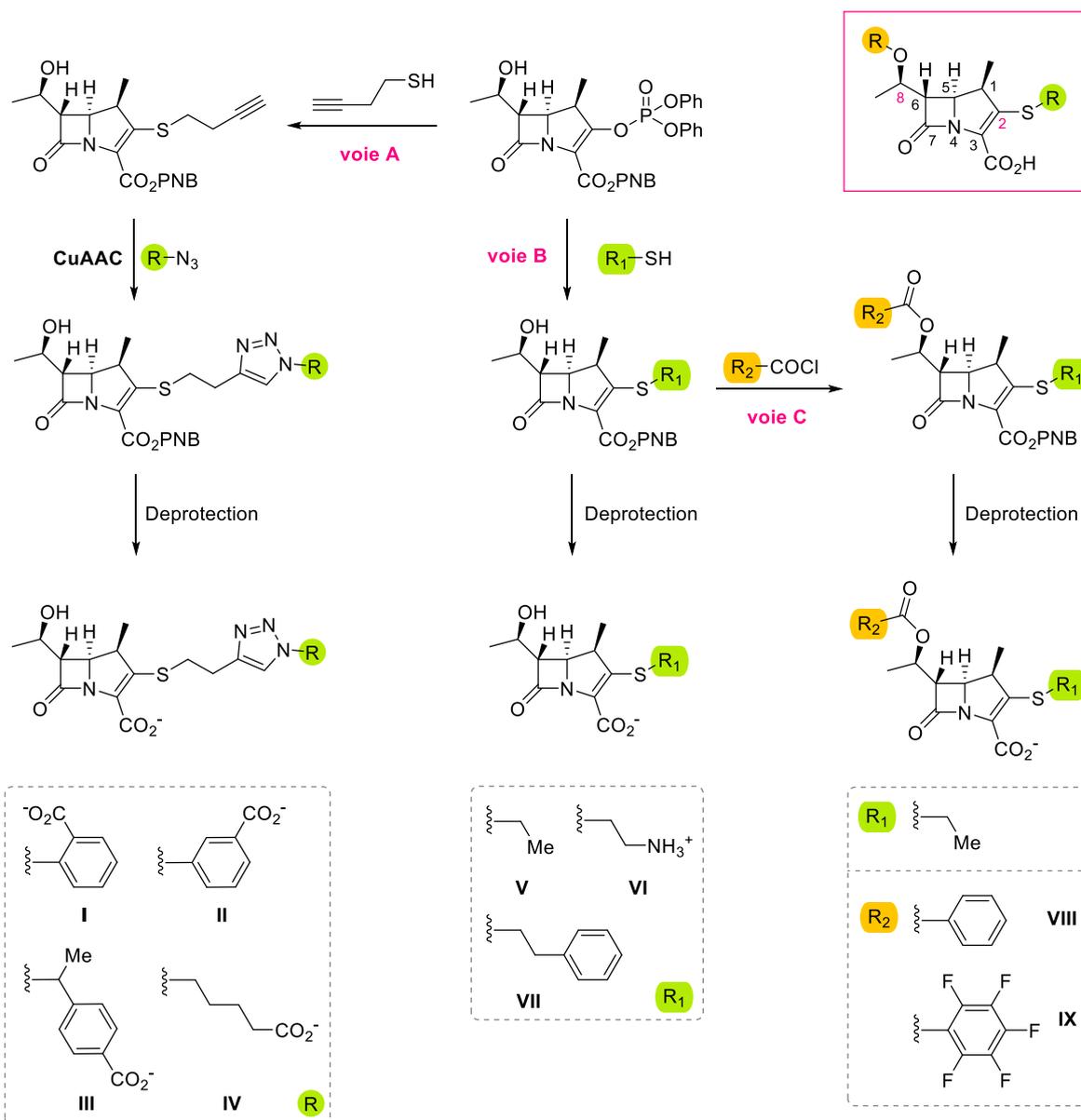
Trois voies synthétiques permettant la modification des chaînes latérales en position C2 et C8 ont ainsi été mises au point au sein de l'équipe pour tenter d'accéder à des carbapénèmes actifs sur les Ldts et résistants vis-à-vis de l'hydrolyse par BlaC.<sup>56</sup> La fonctionnalisation de la position C2 du carbapénème a alors été réalisée par cycloaddition azoture-alcyne catalysée au cuivre II (Schéma 6, voie A) ou *via* une addition directe d'un composé sulfhydryle (Schéma 6, voie B). La modification de la position C8 par estérification du groupe hydroxyle a également été explorée (Schéma 6, voie C).

Ces modulations structurales ont eu une influence sur l'activité inhibitrice des molécules mais également sur leur stabilité vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases. Tous les composés évalués biologiquement se sont en effet révélés supérieurs au méropénem en termes d'efficacité d'inactivation *in vitro* de Ldt<sub>Mt1</sub>, mais seuls certains carbapénèmes modifiés ont présenté une vitesse d'hydrolyse par BlaC réduite (composés **I**, **VI** et **VII**).

Cette étude a ainsi montré que les chaînes latérales des carbapénèmes pouvaient être modifiées pour améliorer à la fois l'inactivation de la cible ainsi que la stabilité du composé vis-à-vis de  $\beta$ -lactamases.

---

<sup>56</sup> L. Iannazzo, D. Soroka, S. Triboulet, M. Fonvielle, F. Compain, V. Dubée, J.-L. Mainardi, J.-E. Hugonnet, E. Braud, M. Arthur, M. Ethève-Quelquejeu, *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 3427-3438



**Schéma 6.** Voies d'accès à des carbapénèmes modifiés en position C2 et C8 et exemples de substituants introduits en ces deux positions

Pour parer à ces phénomènes de résistance dû à la production de  $\beta$ -lactamases, une autre stratégie consiste à inhiber leur action en utilisant des inhibiteurs de ces enzymes.<sup>57</sup> Ces inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (BLIs) utilisés en co-administration avec les antibiotiques  $\beta$ -lactame, restaurent leur activité antibactérienne en les protégeant de l'inactivation enzymatique. Cette stratégie, très efficace, permet ainsi de préserver l'arsenal thérapeutique existant et de prolonger l'utilité d'antibiotiques  $\beta$ -lactame sinon obsolètes. Actuellement, deux générations d'inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase, qui diffèrent par leurs structures, sont disponibles pour une utilisation clinique en association avec diverses  $\beta$ -lactamines.

<sup>57</sup> K. Bush, P. A. Bradford, *Nat. Rev. Microbiol.* **2019**, 17, 295-306

## II. Les inhibiteurs de $\beta$ -lactamase

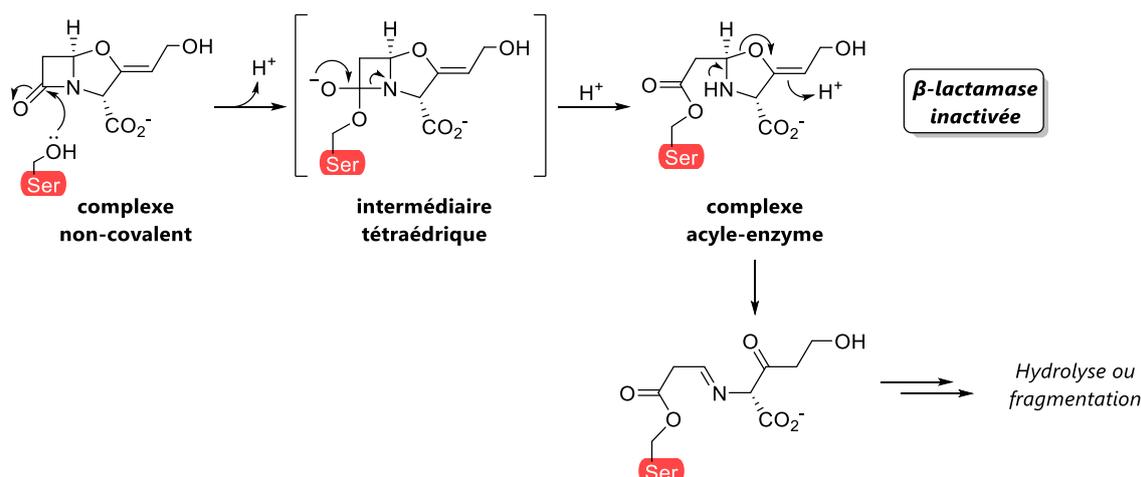
### 1. Les BLIs de 1<sup>ère</sup> génération

Les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase de 1<sup>ère</sup> génération ont été développés à la fin des années 1970. Ils contiennent tous un cycle  $\beta$ -lactame et possèdent ainsi une structure similaire aux  $\beta$ -lactamines. Ils ne présentent en revanche qu'une faible activité antibactérienne intrinsèque, c'est pourquoi ils ne sont pas administrés seuls et sont utilisés en combinaison avec un antibiotique  $\beta$ -lactame.

#### a. Découverte et mode d'action du premier BLI

L'acide clavulanique fut le premier inhibiteur de  $\beta$ -lactamase à avoir été identifié en 1976 par Beecham Pharmaceuticals.<sup>58</sup> Ce composé d'origine naturelle, isolé de *Streptomyces clavuligerus*, appartient alors à la famille des oxapénames (ou clavames). L'absence de chaîne latérale sur le noyau  $\beta$ -lactame lui confère une faible activité antibactérienne mais en fait en revanche un excellent substrat pour les  $\beta$ -lactamases.<sup>59</sup>

L'acide clavulanique agit comme un inhibiteur « suicide » en formant un adduit covalent stable avec les  $\beta$ -lactamases à sérine active. L'attaque du carbone électrophile du cycle  $\beta$ -lactame de l'acide clavulanique par le résidu sérine des  $\beta$ -lactamases conduit à la formation d'un complexe acyle-enzyme *via* un intermédiaire tétraédrique. Cependant, ce complexe se réarrange ensuite en un adduit de type imine, qui peut alors soit s'hydrolyser soit se dégrader en subissant différents réarrangements et fragmentations (Schéma 7).



**Schéma 7.** Mécanisme d'inhibition de  $\beta$ -lactamases à site actif sérine par l'acide clavulanique

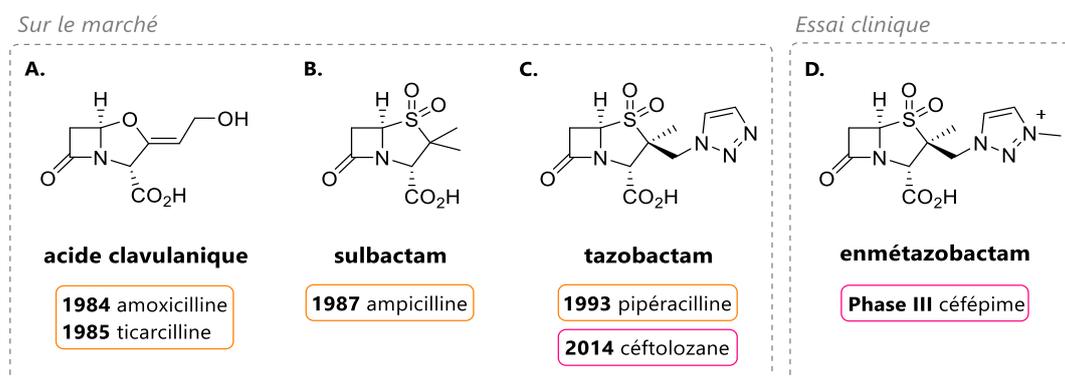
<sup>58</sup> a) A. G. Brown, D. Butterworth, M. Cole, G. Hanscomb, J. D. Hood, C. Reading, G. N. Rolinson, *J. Antibiot.* **1976**, 29, 668-669 b) C. Reading, M. Cole, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1977**, 11, 852-857

<sup>59</sup> L. Moreira Lima, B. Nascimento Monteiro da Silva, G. Barbosa, E. J. Barreiro, *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, 208, 112829

## b. Les BLIs de 1<sup>ère</sup> génération utilisés en thérapeutique

L'association de l'acide clavulanique avec un antibiotique de la famille des pénicillines, l'amoxicilline, a alors conduit au développement de l'Augmentin<sup>®</sup>,<sup>60</sup> approuvé par la FDA en 1984 (Figure 9A). Cette première combinaison d'une  $\beta$ -lactamine et d'un inhibiteur de  $\beta$ -lactamase a été un ajout majeur à l'arsenal thérapeutique disponible pour traiter diverses infections bactériennes résistantes. On peut noter, qu'aujourd'hui encore, c'est la seule association qui soit administrable par voie orale. Deux autres composés semi-synthétiques, présentant une structure légèrement différente, sont ensuite venus compléter cette première génération de BLIs : le sulbactam<sup>61</sup> (Figure 9B) et le tazobactam<sup>62</sup> (Figure 9C). Le noyau de base oxapénème a alors été remplacé par un motif péname sulfone. Ces deux composés ont également été développés en combinaison avec des pénicillines et présentent un spectre d'activité relativement similaire à celui de l'acide clavulanique.<sup>62,63</sup>

Depuis leur introduction en clinique, ces différentes associations BLI / pénicilline (Figure 9A, B, C) ont été largement employées et se montrent efficaces contre la plupart des bactéries productrices de  $\beta$ -lactamases de classe A, à l'exception des carbapénémases. En revanche, elles ne sont pas ou peu actives sur les autres classes d'enzymes ce qui limite leur efficacité.



**Figure 9.** Structures, associations et dates d'approbation par la FDA des BLIs de 1<sup>ère</sup> génération utilisés en thérapeutique ou en cours de développement clinique

<sup>60</sup> D. A. Leigh, K. Bradnock, J. M. Marriner, *J. Antimicrob. Chemother.* **1981**, 7, 229-236

<sup>61</sup> A. R. English, J. A. Retsema, A. E. Girard, J. E. Lynch, W. E. Barth, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1978**, 14, 414-419

<sup>62</sup> S. C. Aronoff, M. R. Jacobs, S. Johenning, S. Yamabe, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1984**, 26, 580-582

<sup>63</sup> R. Wise, J. M. Andrews, K. A. Bedford, *J. Antimicrob. Chemother.* **1980**, 6, 197-206

L'émergence et la dissémination de nouvelles  $\beta$ -lactamases devenues insensibles à ces combinaisons, a alors motivé le développement de nouveaux composés qui soient efficaces contre les souches bactériennes résistantes. C'est ainsi, qu'une nouvelle céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération, le ceftolozane, a été approuvée par la FDA en 2014 pour une utilisation en association avec le tazobactam (Figure 9C).<sup>64</sup> Cette nouvelle combinaison développée par Cubist Pharmaceuticals, présente alors un spectre d'activité plus large mais qui n'inclut cependant toujours pas les carbapénémases.

Actuellement, l'enmétazobactam (AAI101), un nouvel inhibiteur de  $\beta$ -lactamase analogue au tazobactam, est également en phase III de développement clinique en combinaison avec une céphalosporine de 4<sup>ème</sup> génération (Figure 9D).<sup>65</sup> Cette association, développée par Allegra Therapeutics pour le traitement d'infections urinaires compliquées, montre alors une efficacité améliorée par rapport à la combinaison pipéracilline/ tazobactam. L'addition d'un groupement méthyle sur le noyau triazole confère une charge neutre globale à l'inhibiteur *in vivo* ce qui favorise sa pénétration au travers de la paroi bactérienne. Cette modification lui permet également de former plus de liaisons hydrogènes dans le site actif de l'enzyme augmentant ainsi son affinité et sa stabilité. Il présente alors un plus large spectre d'action que les autres BLIs  $\beta$ -lactame puisqu'il inhibe efficacement les  $\beta$ -lactamases de classe A et D et est actif contre les BLSE et les entérobactéries productrices de carbapénémases de type KPC.

Cette première génération de BLIs comprenant l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam a joué un rôle important dans la lutte antibactérienne, en permettant de restaurer efficacement l'activité de diverses pénicillines vis-à-vis de la plupart des  $\beta$ -lactamases de classe A. Mais leur spectre d'inhibition limité, couplé à l'évolution et la dissémination rapide des  $\beta$ -lactamases, a rapidement nécessité la mise au point de nouveaux inhibiteurs présentant un spectre d'activité plus étendu.

## 2. Les BLIs de 2<sup>nde</sup> génération

Les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase de 2<sup>nde</sup> génération diffèrent alors par leurs structures puisqu'ils ne possèdent plus de cycle  $\beta$ -lactame. Actuellement, deux familles ont été approuvées pour une utilisation clinique en association avec des  $\beta$ -lactamines : les diazabicyclooctanes et les dérivés d'acides boroniques. Dans le cadre de ces travaux de thèse, nous allons nous intéresser à cette première famille d'inhibiteurs, celle-ci sera donc abordée ici de façon plus approfondie que la seconde classe de BLIs présentée par la suite.

<sup>64</sup> G. G. Zhanel, P. Chung, H. Adam, S. Zelenitsky, A. Denisuik, F. Schweizer, P. R. S. Lagacé-Wiens, E. Rubinstein, A. S. Gin, A. Walkty, D. J. Hoban, J. P. Lynch 3<sup>rd</sup>, J. A. Karlowsky, *Drugs* **2014**, *74*, 31-51

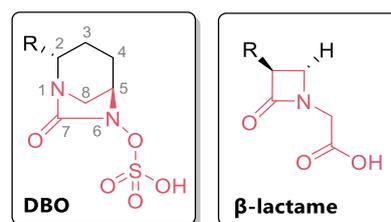
<sup>65</sup> K. M. Papp-Wallace, C. R. Bethel, J. Caillon, M. D. Barnes, G. Potel, S. Bajaksouzian, J. D. Rutter, A. Reghal, S. Shapiro, M. A. Taracila, M. R. Jacobs, R. A. Bonomo, C. Jacqueline, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2019**, *63*, e00105-19

## a. Les diazabicyclooctanes

Les BLIs de 2<sup>nd</sup>e génération de type diazabicyclooctanes (DBOs) présentent une structure originale dans laquelle une urée bicyclique remplace le noyau  $\beta$ -lactame. Ces inhibiteurs sont plus puissants que ceux de 1<sup>ère</sup> génération et présentent un spectre d'activité plus étendu leur permettant d'inhiber un panel plus large de  $\beta$ -lactamases.

### i. Développement de l'avibactam, le premier BLI « non $\beta$ -lactame »

C'est au milieu des années 1990, que des chimistes de chez Hoechst Marion Roussel (HMR) ont proposés pour la première fois que les composés diazabicyclooctanes pourraient, de par leur structure, « mimer » les antibiotiques  $\beta$ -lactame (Figure 10).<sup>66</sup> Les premiers DBOs synthétiques ne présentaient cependant pas d'activité antibactérienne intéressante, mais ils sont en revanche apparus comme des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase prometteurs.



**Figure 10.** Similitudes entre les DBOs et le noyau  $\beta$ -lactame

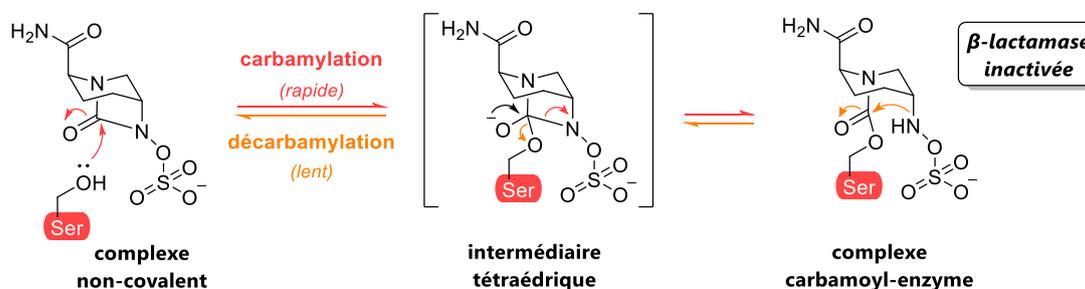
Cette découverte a été le point de départ du développement de plusieurs analogues DBOs au début des années 2000, dans le cadre d'un programme de recherche de nouveaux BLIs porté par Aventis Pharma, qui résulte alors de la fusion entre HMR et Rhône-Poulenc. Celui-ci a ainsi permis d'identifier, le composé qui deviendra plus tard le premier inhibiteur de  $\beta$ -lactamase « non  $\beta$ -lactame » autorisé pour une utilisation clinique : l'avibactam,<sup>34</sup> alors connu en tant que AVE1330A. En 2004, Aventis Pharma fusionne avec Sanofi-Synthélabo pour devenir Sanofi-Aventis et crée quelques mois plus tard Novexel. Cette « spin-off » française de Sanofi-Aventis, hérite des activités de recherche et développement du groupe dans le domaine des anti-infectieux et AVE1330A est alors renommé NX104. Novexel sera finalement acquise par AstraZeneca en 2010 et l'avibactam finira d'être développé en association avec une céphalosporine de troisième génération, la céftazidime, conjointement par AstraZeneca et Forest Laboratories (racheté en 2014 par Actavis qui a ensuite pris le nom Allergan en 2015). Cette combinaison fut d'abord approuvée par la FDA en 2015 et commercialisée aux Etats-Unis sous le nom d'Avycaz®, puis elle reçut l'autorisation de mise sur le marché par l'agence européenne des médicaments (EMA) en 2016 pour une commercialisation sous le nom de Zavicefta®. Elle est utilisée dans le traitement d'infections intra-abdominales et urinaires compliquées, ainsi que pour le traitement des pneumonies nosocomiales.<sup>67</sup> Son intérêt potentiel repose sur son efficacité contre certaines bactéries à Gram négatif résistantes, telles que des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (EBLSE) et des bactéries résistantes aux carbapénèmes.

<sup>66</sup> K. Coleman, *Curr. Opin. Microbiol.* **2011**, 14, 550-555

<sup>67</sup> Y. Mawal, I. A. Critchley, T. A. Riccobene, A. K. Talley, *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* **2015**, 8, 691-707

## ii. Mécanisme d'inactivation des $\beta$ -lactamases par l'avibactam

L'avibactam diffère des BLIs de 1<sup>ère</sup> génération par son mode d'action original, puisqu'il est capable d'inactiver de façon réversible les  $\beta$ -lactamases à sérine active (Schéma 8).<sup>68</sup>



**Schéma 8.** Mécanisme d'inhibition réversible des  $\beta$ -lactamases à sérine active par l'avibactam

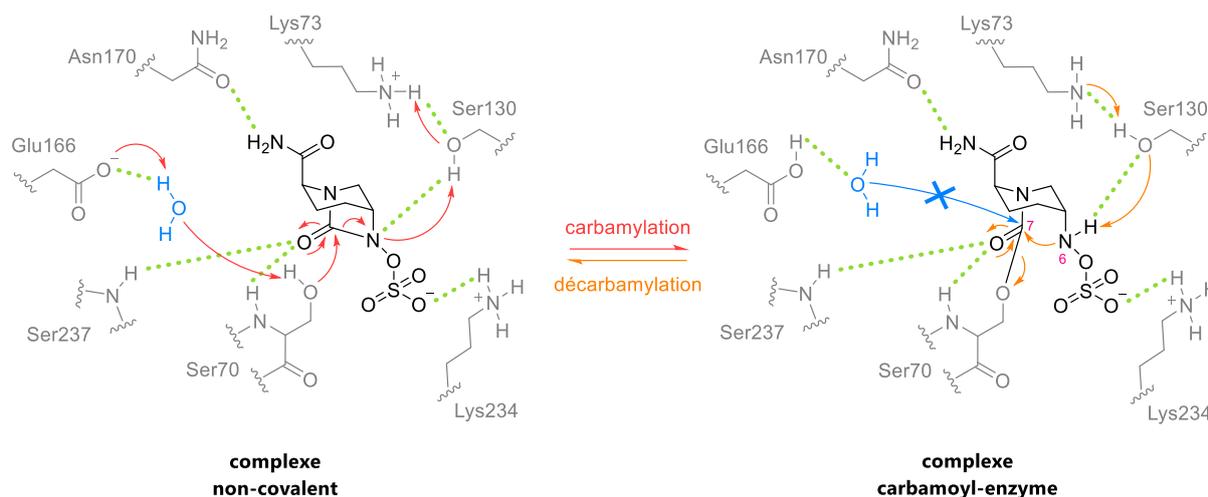
L'attaque nucléophile de la fonction carbonyle du cycle DBO par le résidu sérine de la  $\beta$ -lactamase, va ici conduire à l'ouverture de l'urée bicyclique et à la formation d'une liaison carbamate, aboutissant ainsi à un complexe covalent de type carbamoyl-enzyme, plus stable qu'un acyle-enzyme, qui va alors bloquer efficacement le site actif. En revanche, contrairement aux inhibiteurs  $\beta$ -lactame qui agissent comme des substrats « suicides », la formation de cet adduit covalent avec la  $\beta$ -lactamase est réversible, ce qui permet de régénérer l'inhibiteur DBO intact qui peut alors initier un nouveau cycle d'inhibition. La libération de la  $\beta$ -lactamase ne va donc dans ce cas pas se produire par hydrolyse du complexe carbamoyl-enzyme mais plutôt *via* un lent processus de décarbamoylation. On peut noter que l'hydrolyse de l'adduit est cependant observée chez les carbapénémases de type KPC, en raison d'une désulfonation de celui-ci qui empêche alors la régénération de l'urée.<sup>69</sup>

Cette réversibilité peut notamment s'expliquer par une stabilisation du complexe carbamoyl-enzyme au sein du site actif des  $\beta$ -lactamases, par le biais d'un réseau de liaisons hydrogènes entre l'avibactam et certains résidus conservés du site actif. Cette stabilisation permet alors que l'inhibiteur DBO ne subisse pas de changement de conformation après l'étape de carbamoylation. En effet, la structure cristalline du complexe avibactam-CTX-M-15, une  $\beta$ -lactamase de classe A, a montré que l'atome d'azote N6 reste proche du carbonyl C7 suite à l'ouverture de l'urée bicyclique (Schéma 9).<sup>70</sup> Cet arrangement géométrique de l'adduit enzymatique va ainsi favoriser la recyclisation du cycle à 5 chaînons et la réaction de décarbamoylation plutôt que l'hydrolyse de l'adduit.

<sup>68</sup> D. E. Ehmann, H. Jahic, P. L. Ross, R.-F. Gu, J. Hu, G. Kern, G. K. Walkup, S. L. Fisher, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2012**, *109*, 11663-11668

<sup>69</sup> N. P. Krishnan, N. Q. Nguyen, K. M. Papp-Wallace, R. A. Bonomo, F. van den Akker, *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0136813

<sup>70</sup> S. D. Lahiri, S. Mangani, T. Durand-Reville, M. Benvenuti, F. De Luca, G. Sanyal, J.-D. Docquier, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, *57*, 2496-2505



**Schéma 9.** Recyclisation de l'avibactam, stabilisé dans le site actif de CTX-M-15 (Schéma adapté de la réf.<sup>70</sup>)

Cette régénération de l'inhibiteur est cependant très lente, justement en raison de l'importante stabilisation du complexe carbamoyl-enzyme qui déplace l'équilibre en faveur de celui-ci. Dans le cas des  $\beta$ -lactamases TEM-1 et P99 par exemple, sept jours sont nécessaires pour restaurer 50 % de l'activité des enzymes en présence d'avibactam, contre seulement 7 min avec l'acide clavulanique chez TEM-1 et 5h avec le tazobactam chez P-99 dont les adduits sont assez rapidement hydrolysés.<sup>71,72</sup> Cet inhibiteur DBO inhibe ainsi les  $\beta$ -lactamases à sérine active beaucoup plus efficacement que les BLIs de première génération présentant un motif  $\beta$ -lactame. On constate en effet que pour inhiber une  $\beta$ -lactamase, seulement 2 à 5 molécules d'avibactam suffisent tandis que 55 et 214 molécules de tazobactam et d'acide clavulanique respectivement sont nécessaires.<sup>71</sup>

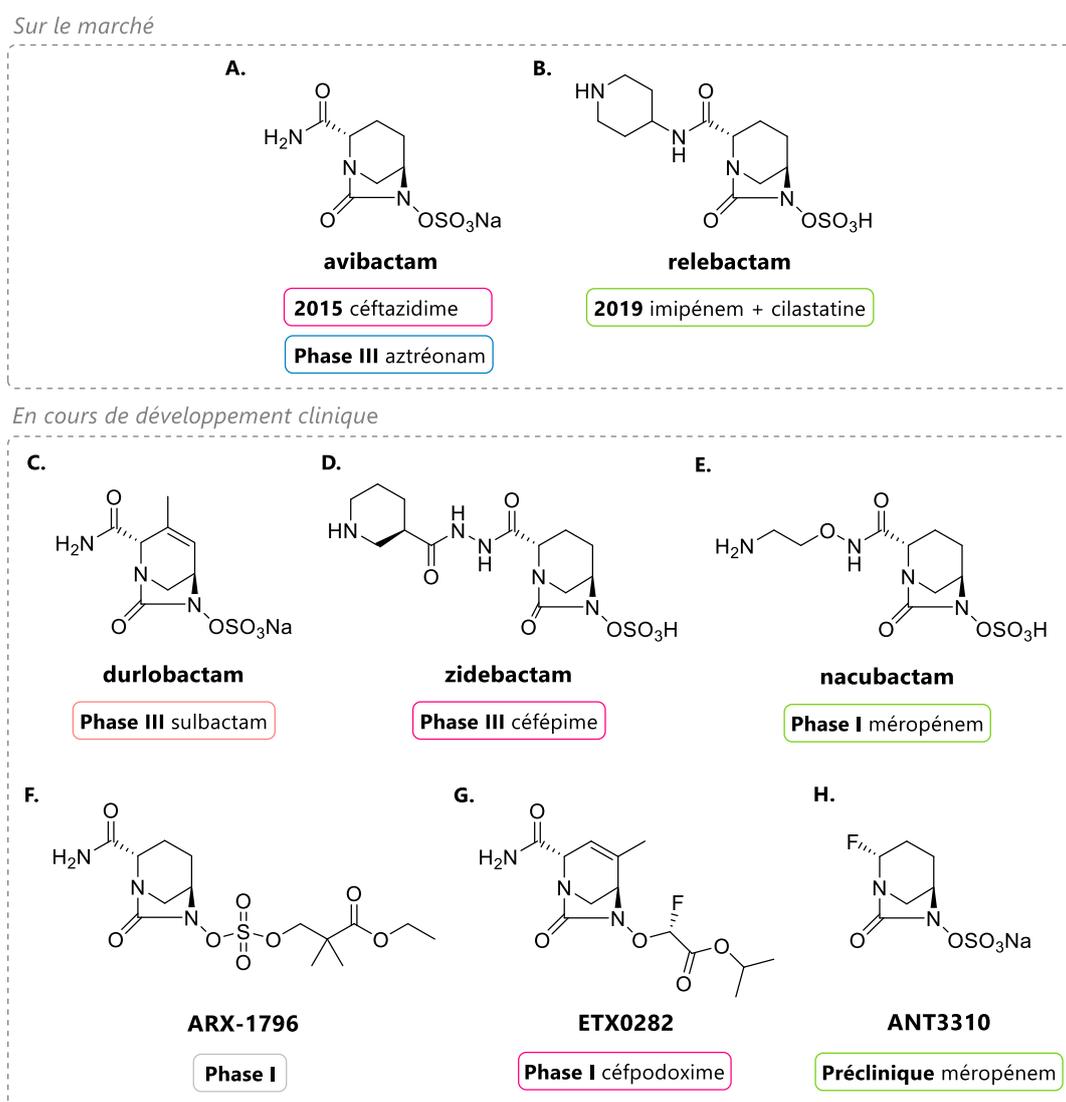
L'avibactam possède ainsi un mode d'action unique d'inhibition des  $\beta$ -lactamases, en agissant par acylation covalente puis déacylation réversible par recyclisation. La découverte de ce premier inhibiteur « non  $\beta$ -lactame » a représenté une avancée considérable pour la recherche de nouveaux BLIs, et de nombreux composés possédant cette structure originale ont depuis été développés par divers laboratoires pharmaceutiques.

<sup>71</sup> A. Bonnefoy, C. Dupuis-Hamelin, V. Steier, C. Delachaume, C. Seys, T. Stachyra, M. Fairley, M. Guitton, M. Lampilas, *J. Antimicrob. Chemother.* **2004**, *54*, 410-417

<sup>72</sup> T. Stachyra, M.-C. Péchereau, J.-M. Bruneau, M. Claudon, J.-M. Frère, C. Miossec, K. Coleman, M. T. Black, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 5132-5138

### iii. Les DBOs sur le marché et en cours de développement clinique

Plusieurs inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase de type DBOs sont aujourd'hui disponibles sur le marché ou en cours de développement clinique en association avec diverses  $\beta$ -lactamines (Figure 11). Afin d'appréhender le potentiel de ces nouvelles structures, une brève description de ces composés et de leur spectre d'activité vont être exposées.



**Figure 11.** Structures et dates d'approbation par la FDA des DBOs disponibles sur le marché et en cours de développement clinique

### ❖ Avibactam (AVE1330A, NXL104)

L'avibactam est un puissant inhibiteur de  $\beta$ -lactamases à sérine active des classes A et C et également de certaines enzymes de classe D.<sup>73</sup> Son spectre d'activité inclut notamment les BLSE mais surtout les carbapénémases de type KPC et OXA-48, contrairement aux BLIS de 1<sup>ère</sup> génération. Il n'est en revanche pas actif contre les métallo- $\beta$ -lactamases (classe B). L'affinité plus faible de l'avibactam pour les  $\beta$ -lactamases de classe D peut en partie s'expliquer par la présence de résidus plus hydrophobes dans le site actif de ces enzymes conduisant généralement à une plus faible stabilisation du groupement amide de l'inhibiteur.<sup>74</sup>

Comme il a été mentionné plus tôt, l'avibactam a été le premier BLI « non  $\beta$ -lactame » à être approuvé pour une utilisation clinique par la FDA en 2015, en association avec une céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération : la céftazidime (Figure 11A).<sup>75</sup> Grâce au large spectre d'action de l'avibactam, cette combinaison est ainsi efficace contre la plupart des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à sérine active.

L'avibactam est également en phase III d'essai clinique en association avec le monobactame aztréonam.<sup>76</sup> Cette combinaison est étudiée par Pfizer dans l'optique d'assurer une efficacité sur l'ensemble des entérobactéries, y compris celles productrices de métallo- $\beta$ -lactamases. L'aztréonam, le seul monobactam autorisé pour une utilisation clinique, est en effet stable vis-à-vis des métallo- $\beta$ -lactamases (MBL) mais sensible à de nombreuses sérine  $\beta$ -lactamases (SBL) ce qui limite son utilisation puisque celles-ci sont fréquemment coexprimées. La co-administration de cet antibiotique  $\beta$ -lactame avec l'avibactam pourrait ainsi fournir une option thérapeutique intéressante pour traiter les infections dues à des bactéries productrices de SBL et de MBL.

### ❖ Relebactam (MK-7655)

Le second BLI de la famille des diazabicyclooctanes à avoir été introduit sur le marché est le relebactam (Figure 11B). Ce nouvel inhibiteur a alors été modifié au niveau de la position C2 du cycle DBO avec l'introduction d'un motif pipéridine sur la fonction amide.<sup>77</sup> Contrairement à l'avibactam, il n'inhibe efficacement que les  $\beta$ -lactamases de classe A et C mais comprend aussi les BLSE et les carbapénémases de type KPC.

<sup>73</sup> D. E. Ehmann, H. Jahic, P. L. Ross, R.-F. Gu, J. Hu, T. F. Durand-Réville, S. Lahiri, J. Thresher, S. Livchak, N. Gao, T. Palmer, G. K. Walkup, S. L. Fisher, *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 27960-27971

<sup>74</sup> J.-D. Docquier, S. Mangani, *Drug Resist. Updat.* **2018**, *36*, 13-29

<sup>75</sup> G. G. Zhanel, C. D. Lawson, H. Adam, F. Schweizer, S. Zelenitsky, P. R. S. Lagacé-Wiens, A. Denisuik, E. Rubinstein, A. S. Gin, D. J. Hoban, J. P. Lynch 3<sup>rd</sup>, J. A. Karlowsky, *Drugs* **2013**, *73*, 159-177

<sup>76</sup> C. Mauri, A. E. Maraolo, S. Di Bella, F. Luzzaro, L. Principe, *Antibiotics* **2021**, *10*, 1012

<sup>77</sup> T. A. Blizzard, H. Chen, S. Kim, J. Wu, R. Bodner, C. Gude, J. Imbriglio, K. Young, Y.-W. Park, A. Ogawa, S. Raghoobar, N. Hairston, R. E. Painter, D. Wisniewski, G. Scapin, P. Fitzgerald, N. Sharma, J. Lu, S. Ha, J. Hermes, M. L. Hammond, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 780-785

Le relebactam a été approuvé par la FDA en 2019 pour une utilisation clinique en co-administration avec l'imipénem et la cilastatine. Cette combinaison DBO/carbapénème développée par Merck & Co. a reçu l'autorisation de mise sur le marché en 2020 et a été commercialisée sous le nom de Recarbrio®. Elle est notamment indiquée pour soigner les pneumonies nosocomiales et en traitement de dernier recours pour des infections dues à des bactéries à Gram négatif résistantes aux carbapénèmes principalement.

Parmi les DBOs actuellement en cours de développement clinique, le durlobactam, le zidebactam et le nacubactam sont particulièrement intéressants puisqu'ils présentent un double mode d'action. En plus d'inhiber efficacement les  $\beta$ -lactamases de classe A et C similairement à l'avibactam et au relebactam, ils montrent également une activité antibactérienne intrinsèque en ciblant les PBP2 d'entérobactéries. Cela se traduit alors par une action bactéricide renforcée lorsqu'ils sont utilisés en combinaison avec des  $\beta$ -lactamines, qui vont, elles, principalement se lier à des PBP autres que les PBP2.

#### ❖ Durlobactam (ETX2514)

Le durlobactam présente une modification structurale différente des composés précédents avec l'incorporation d'une insaturation sur le cycle à 6 chaînons qui augmente la rigidité de la structure DBO (Figure 11C). Il est alors capable de restaurer l'activité des  $\beta$ -lactamines non seulement contre les  $\beta$ -lactamases de classe A et C mais surtout contre un éventail encore plus large de  $\beta$ -lactamase de classe D que l'avibactam.<sup>78</sup> Ce très large spectre d'inhibition combiné à une activité antibactérienne intrinsèque contre les entérobactéries se traduit alors par une activité efficace contre de nombreux agents pathogènes à Gram négatif. Il restaure notamment l'activité des carbapénèmes contre les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes et les bactéries multi-résistantes *P. Aeruginosa* et *A. baumannii*. Etant donné sa capacité à se lier à des PBP essentielles chez certaines bactéries, le durlobactam est développé en combinaison avec le BLI sulbactam par Entasis Therapeutics et se trouve actuellement en phase III d'essai clinique.

#### ❖ Zidebactam (WCK-5107)

Le zidebactam,<sup>79</sup> analogiquement au relebactam, a également été modifié au niveau de la position C2 du cycle DBO avec l'introduction d'une pipéridine portée par un lien hydrazide (Figure 11D). Il démontre alors une puissance accrue contre les  $\beta$ -lactamases de classe C en

<sup>78</sup> T. F. Durand-Réville, S. Guler, J. Comita-Prevoir, B. Chen, N. Bifulco, H. Huynh, S. Lahiri, A. B. Shapiro, S. M. McLeod, N. M. Carter, S. H. Moussa, C. Velez-Vega, N. B. Olivier, R. McLaughlin, N. Gao, J. Thresher, T. Palmer, B. Andrews, R. A. Giacobbe, J. V. Newman, D. E. Ehmann, B. de Jonge, J. O'Donnell, J. P. Mueller, R. A. Tommasi, A. A. Miller, *Nat. Microbiol.* **2017**, 2 (17104), 1-10

<sup>79</sup> K. M. Papp-Wallace, N. Q. Nguyen, M. R. Jacobs, C. R. Bethel, M. D. Barnes, V. Kumar, S. Bajaksouzian, S. D. Rudin, P. N. Rather, S. Bhavsar, T. Ravikumar, P. K. Deshpande, V. Patil, R. Yeole, S. S. Bhagwat, M. V. Patel, F. van den Akker, R. A. Bonomo, *J. Med. Chem.* **2018**, 61, 4067-4086

comparaison de l'avibactam et du relebactam et est actuellement en phase III de développement clinique en association avec une céphalosporine, la céfépime. Cette combinaison nommée WCK-5222 et développée par Wockhardt Ltd. montre ainsi une puissante activité contre *P. aeruginosa* et les entérobactéries productrices de diverses  $\beta$ -lactamases de classe A et C.<sup>80</sup>

#### ❖ **Nacubactam** (OP0595, FPI-1459, RG6080)

Le nacubactam, découvert indépendamment par Naeja Pharmaceutical et Meiji Seika Pharma Co., est aussi modifié en position C2 du cycle DBO par un lien alkoxyamide (Figure 11E).<sup>81</sup> Il est actuellement en phase I de développement clinique par NacuGen Therapeutics en association avec le méropénem. Il inhibe efficacement les  $\beta$ -lactamases de classe A et C et présente une activité antibactérienne intrinsèque contre les PBP2 d'entérobactéries.<sup>82</sup>

Deux autres DBOs sont également en phase I d'essai clinique : ARX-1796 et ETX0282. Ces inhibiteurs ont été développés dans l'optique d'être administré par voie orale. En effet, parmi les combinaisons BLI/ $\beta$ -lactamine disponibles sur le marché, l'Augmentin® qui associe l'acide clavulanique et l'amoxicilline est le seul antibiotique oral et il présente un spectre d'activité limité aux  $\beta$ -lactamases de classe A (hormis les carbapénémases). Une nouvelle combinaison administrable par voie orale serait alors une grande avancée pour soigner des patients atteints d'infections compliquées dont le seul recours est actuellement un traitement par voie intraveineuse. Les DBOs présentent en effet dans leur structure un groupement sulfate qui est essentiel pour leur reconnaissance par les  $\beta$ -lactamases mais qui limite cependant leur absorption orale. Pour parer à cette limitation une stratégie consiste alors à synthétiser des prodrogues de DBOs qui vont temporairement masquer la fonction sulfate.

#### ❖ **ARX-1796** (prodrogue de l'avibactam)

E. M. Gordon et ses collaborateurs ont notamment développer une approche élégante pour la conception de prodrogues d'avibactam.<sup>83</sup> Ces chimistes de chez Arixa Pharmaceuticals ont ainsi combiné la stabilité d'un motif néopentyle, utilisé comme groupement protecteur de la fonction sulfate, avec la labilité métabolique d'un groupement ester judicieusement positionné (Schéma 10). Le clivage *in vivo* de cet ester par des estérases fournit en effet un carboxylate

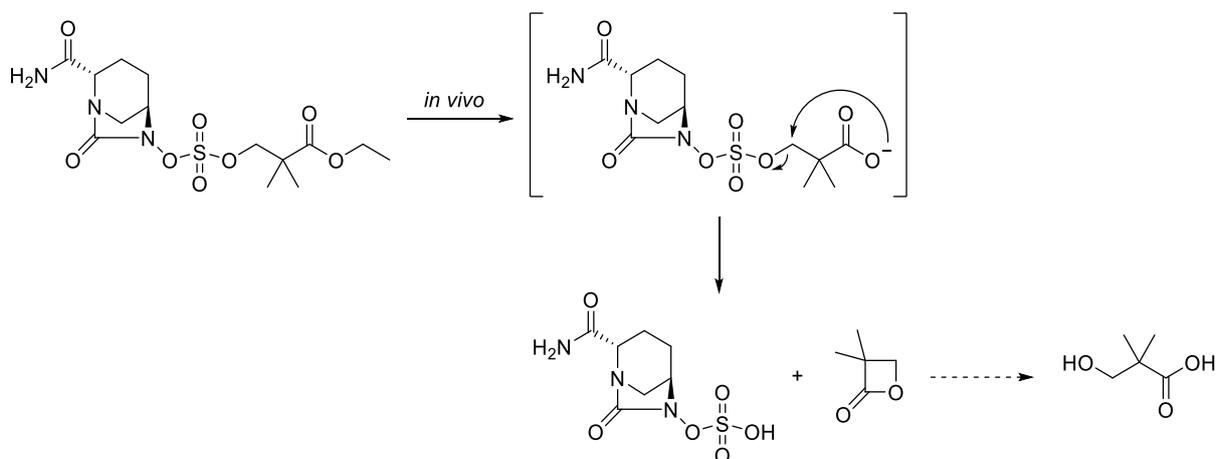
<sup>80</sup> D. M. Livermore, S. Mushtaq, M. Warner, A. Vickers, N. Woodford, *J. Antimicrob. Chemother.* **2017**, *72*, 1373-1385

<sup>81</sup> a) S. N. Maiti, D. Nguyen, J. Khan, R. Ling, Naeja Pharmaceutical, US20130225554, **2013** b) T. Abe, T. Furuuchi, Y. Sakamaki, S. Inamura, A. Morinaka, Meiji Seika Pharma Co., JPWO2013180197, **2013**

<sup>82</sup> A. Morinaka, Y. Tsutsumi, M. Yamada, K. Suzuki, T. Watanabe, T. Abe, T. Furuuchi, S. Inamura, Y. Sakamaki, N. Mitsuhashi, T. Ida, D. M. Livermore, *J. Antimicrob. Chemother.* **2015**, *70*, 2779-2786

<sup>83</sup> E. M. Gordon, M. A. J. Duncton, M. A. Gallop, *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 10340-10344

qui peut attaquer intramoléculairement le groupement électrophile néopentyle méthylène, libérant alors l'avibactam actif.



**Schéma 10.** Mécanisme de libération de l'avibactam à partir de la prodrogue ARX-1796

Cette stratégie a conduit au développement de la prodrogue ARX-1796 qui présente une biodisponibilité orale élevée (Figure 11F). Celle-ci a été rachetée par Pfizer en 2020 et est actuellement en phase I de développement clinique en combinaison avec une  $\beta$ -lactamine dont la structure n'est pas communiquée.

#### ❖ ETX0282 (prodrogue de ETX1317)

ETX1317 est un autre BLI de type DBO développé par Entasis Therapeutics qui présente une insaturation au niveau du cycle à 6 chaîsons et dans lequel la fonction sulfonate commune aux autres composés a été remplacée par un groupement fluoroacétate.<sup>84</sup> Cet inhibiteur possède un large spectre d'activité incluant les  $\beta$ -lactamases des classes A, C et D,<sup>85</sup> et montre également une certaine activité antibactérienne en se liant aux PBP2 des entérobactéries.<sup>86</sup> La prodrogue ester de ce composé actif, l'ETX0282, présente une bonne biodisponibilité orale et est actuellement en phase I d'essai clinique en association avec une céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération, le céfpodoxime proxétile (Figure 11G).<sup>87</sup> Cette combinaison est étudiée dans le but de fournir une thérapie orale pour traiter les infections urinaires compliquées dues à des entérobactéries résistantes.

<sup>84</sup> T. F. Durand-Réville, J. Comita-Prevoir, J. Zhang, X. Wu, T. L. May-Dracka, J. A. C. Romero, F. Wu, A. Chen, A. B. Shapiro, N. M. Carter, S. M. McLeod, R. A. Giacobbe, J. C. Verheijen, S. D. Lahiri, M. D. Sacco, Y. Chen, J. P. O'Donnell, A. A. Miller, J. P. Mueller, R. A. Tommasi, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 12511-12525

<sup>85</sup> A. B. Shapiro, N. Gao, *ACS Infect. Dis.* **2021**, *7*, 114-122

<sup>86</sup> A. A. Miller, A. B. Shapiro, S. M. McLeod, N. M. Carter, S. H. Moussa, R. Tommasi, J. P. Mueller, *ACS Infect. Dis.* **2020**, *6*, 1389-1397

<sup>87</sup> J. O'Donnell, A. Tanudra, A. Chen, D. Hines, R. Tommasi, J. Mueller, *ACS Infect. Dis.* **2020**, *6*, 1378-1388

## ❖ ANT3310

On peut également citer un dernier DBO cliniquement intéressant, ANT3310,<sup>88</sup> actuellement en cours de développement préclinique en association avec le méropénem (Figure 11H). Cette toute nouvelle thérapie à large spectre développée par Antabio et nommée MEM-ANT3310, cible alors des agents pathogènes multi-résistants jugés critiques par l'OMS et a déjà reçu par la FDA en mai 2020 le label QIDP : « Qualified Infectious Disease Product ». Ce statut est attribué depuis 2012 aux potentiels médicaments traitant d'infections prioritaires pour faire face à l'urgence sanitaire de l'antibiorésistance et motiver la recherche de nouveaux antibiotiques. Il offre alors une extension de 5 ans d'exclusivité sur le marché à compter de son homologation ainsi qu'un processus d'examen prioritaire et d'approbation accélérée (« Fast Track designation and Priority Review »).

Ce nouveau BLI affiche une substitution innovante de la position C2 du cycle DBO puisque la fonction amide, présente chez tous les composés précédemment mentionnés, est en effet remplacée par un atome de fluor. L'idée de cette modification tire son origine de l'étude structurale de l'avibactam dans le site actif d'OXA-48, une  $\beta$ -lactamase de classe D, qui a montré que la fonction amide primaire de celui-ci est située dans une petite poche plutôt lipophile.<sup>89</sup> L'introduction d'un simple atome de fluor a ainsi permis de développer un DBO avec un très large spectre d'activité contre les  $\beta$ -lactamases à sérine active et qui se montre particulièrement puissant contre les carbapénémases de type OXA et KPC.<sup>88</sup>

---

<sup>88</sup> D. T. Davies, S. Leiris, M. Zalacain, N. Sprynski, J. Castandet, J. Bousquet, C. Lozano, A. Llanos, L. Alibaud, S. Vasa, R. Pattipati, R. Valige, B. Kummari, S. Pothukanuri, C. De Piano, I. Morrissey, K. Holden, P. Warn, F. Marcocchia, M. Benvenuti, C. Pozzi, G. Tassone, S. Mangani, J.-D. Docquier, D. Pallin, R. Elliot, M. Lemonnier, M. Everett, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 15802-15820

<sup>89</sup> D. T. Davies, M. Everett, *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54*, 2055-2064

#### iv. Bilan du spectre d'activité des inhibiteurs DBOs

Ces nouveaux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase de la famille des diazabicyclooctanes présentent ainsi un spectre d'inhibition plus étendu que les BLIs de 1<sup>ère</sup> génération possédant un cycle  $\beta$ -lactame. Ils sont capables d'inactiver efficacement les  $\beta$ -lactamases à sérine active des classes A et C mais également certaines enzymes de classe D pour une partie des DBOs présentés ci-avant. Un récapitulatif des différents spectres d'activité est ainsi exposé dans le Tableau 1.

DBO	A		B	C	D
	<i>BLSE</i>	<i>KPC</i>	<i>MBLs</i>	<i>AmpC</i>	<i>OXA</i>
avibactam	✓	✓	-	✓	✓
relebactam	✓	✓	-	✓	-
durlobactam	✓	✓	-	✓	✓
zidebactam	✓	✓	-	✓	-
nacubactam	✓	✓	-	✓	-
ARX-1796	✓	✓	-	✓	✓
ETX0282	✓	✓	-	✓	✓
ANT3310	✓	✓	-	✓	✓

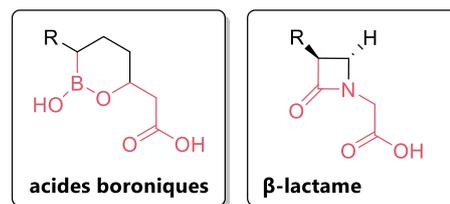
**Tableau 1.** Récapitulatif du spectre d'activité des inhibiteurs DBOs présentés dans cette partie

En raison de ce large spectre d'activité et de son mode d'action réversible, cette classe d'inhibiteurs est particulièrement prometteuse pour lutter efficacement contre les bactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à sérine active. Deux composés sont déjà disponibles sur le marché et plusieurs sont actuellement en cours d'essai clinique et présentent des résultats très encourageants. On peut cependant souligner que la synthèse de ces inhibiteurs DBOs reste plus complexe que celle des BLIs de 1<sup>ère</sup> génération qui sont eux facilement accessibles par fermentation ou héli-synthèse, analogiquement aux  $\beta$ -lactamines de type pénicilline et céphalosporine. Plusieurs synthèses totales ont donc dû être mises au point pour accéder à ces différentes structures de type diazabicyclooctanes. Un aperçu de celles-ci ainsi que des diverses modifications réalisées autour de ce noyau DBO sera donc présenté dans la prochaine partie de ce manuscrit.

Avant cela, on peut évoquer qu'à la fin des années 2010, un troisième inhibiteur de  $\beta$ -lactamases de 2<sup>nde</sup> génération a également été approuvé pour une utilisation clinique : le vaborbactam. Ce composé présente une structure encore différente des deux autres familles de BLIs développées jusqu'à ce jour et arbore un motif acide boronique.

## b. Les dérivés d'acide boronique

Les acides boroniques sont connus depuis les années 1970 pour leur capacité à se lier de manière covalente au résidu sérine du site actif de certaines enzymes,<sup>90</sup> telles que les  $\beta$ -lactamases à sérine active,<sup>91</sup> grâce au caractère oxophile de l'atome de bore. Celui-ci peut en effet agir comme un électrophile et permet ainsi de mimer l'atome de carbone de la fonction carbonyle du cycle  $\beta$ -lactame des  $\beta$ -lactamines (Figure 12).

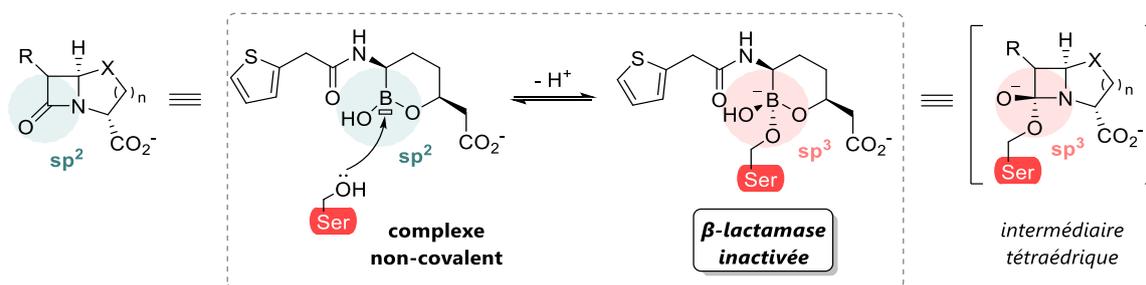


**Figure 12.** Similitudes entre les dérivés d'acides boroniques et le noyau  $\beta$ -lactame

Cependant, ce n'est que très récemment en 2017, que le premier BLI dérivé d'acide boronique a été introduit en thérapeutique.

### i. Mécanisme d'inhibition des $\beta$ -lactamases à sérine active

Cette seconde classe d'inhibiteur de 2<sup>ème</sup> génération inactive également les  $\beta$ -lactamases à sérine active *via* la formation d'un complexe covalent réversible avec l'enzyme (Schéma 11).<sup>92</sup> En revanche, contrairement aux inhibiteurs précédemment décrits, le site électrophile subissant l'attaque nucléophile du résidu sérine de la  $\beta$ -lactamase n'est plus le carbone d'une fonction carbonyle mais l'atome de bore du noyau acide boronique. La géométrie de l'adduit boronate alors obtenu, mime l'intermédiaire tétraédrique observé lors de l'étape d'acylation avec les composés de type  $\beta$ -lactame. Ces inhibiteurs se comportent ainsi comme des analogues de cet état de transition en formant une liaison réversible et non hydrolysable avec la sérine catalytique des  $\beta$ -lactamases.



**Schéma 11.** Inactivation de  $\beta$ -lactamases à sérine active par le vaborbactam

<sup>90</sup> H. Fu, H. Fang, J. Sun, H. Wang, A. Liu, J. Sun, Z. Wu, *Curr. Med. Chem.* **2014**, *21*, 3271-3280

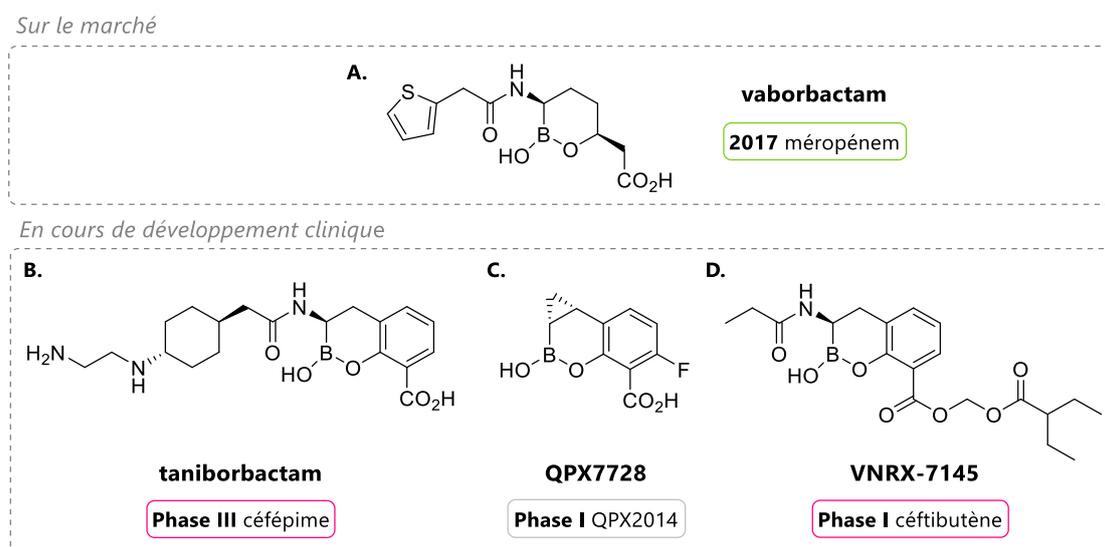
<sup>91</sup> P. A. Kiener, S. G. Waley, *Biochem. J.* **1978**, *169*, 197-204

<sup>92</sup> A. Krajnc, P. A. Lang, T. D. Panduwawala, J. Brem, C. J. Schofield, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2019**, *50*, 101-110

## ii. Les BLIs acides boroniques en cours de développement

Le vaborbactam (RPX7009),<sup>93</sup> qui présente un motif acide boronique monocyclique, est actuellement le seul inhibiteur de  $\beta$ -lactamase de cette famille à être disponible sur le marché (Figure 13A). Il a été spécifiquement développé pour inhiber les carbapénémases de type KPC mais se montre également efficace contre les  $\beta$ -lactamases des classes A et C.<sup>94</sup> Il n'est en revanche pas actif contre les enzymes de classe D et ne présente qu'une faible activité contre les métallo- $\beta$ -lactamases.<sup>95</sup>

Le vaborbactam a été approuvé par la FDA en 2017 pour une utilisation clinique en combinaison avec le méropénem. Cette association développée par The Medicines Company puis rachetée par Melinta Therapeutics est commercialisée sous le nom Vaborem® (anciennement Vabomere®) et est notamment indiquée dans le traitement de dernier recours d'infections urinaires compliquées.<sup>96</sup>



**Figure 13.** Structures et dates d'approbation par la FDA des acides boroniques disponibles sur le marché et en cours de développement clinique en association avec des  $\beta$ -lactamines

<sup>93</sup> S. J. Hecker, K. R. Reddy, M. Totrov, G. C. Hirst, O. Lomovskaya, D. C. Griffith, P. King, R. Tsivkovski, D. Sun, M. Sabet, Z. Tarazi, M. C. Clifton, K. Atkins, A. Raymond, K. T. Potts, J. Abendroth, S. H. Boyer, J. S. Loutit, E. E. Morgan, S. Durso, M. N. Dudley, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 3682-3692

<sup>94</sup> O. Lomovskaya, D. Sun, D. Rubio-Aparicio, K. Nelson, R. Tsivkovski, D. C. Griffith, M. N. Dudley, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2017**, *61*, e01443-17

<sup>95</sup> G. W. Langley, R. Cain, J. M. Tyrrell, P. Hinchliffe, K. Calvopina, C. L. Tooke, E. Widlake, C. G. Dowson, J. Spencer, T. R. Walsh, C. J. Schofield, J. Brem, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29*, 1981-1984

<sup>96</sup> S. Dhillon, *Drugs* **2018**, *78*, 1259-1270

On peut également citer trois autres composés en cours de développement clinique et qui diffèrent du vaborbactam par leur structure bicyclique : le taniborbactam, QPX7728 et VNRX-7145 (Figure 13).<sup>97</sup>

Le taniborbactam (VNRX-5133)<sup>98</sup> développé par Venatorx Pharmaceuticals (Figure 13B) et QPX7728<sup>99</sup> développé par Opex Biopharma (Figure 13C), sont particulièrement intéressants et prometteurs en raison de leur capacité à inhiber les 4 classes de  $\beta$ -lactamases. Etant donné que de nombreuses bactéries co-expriment actuellement des SBL et des MBL, il existe en effet un réel besoin de BLIs à large spectre qui soient à la fois actifs sur les  $\beta$ -lactamases à sérine active mais aussi sur les métallo- $\beta$ -lactamases.

VNRX-7145,<sup>100</sup> également développé par Venatorx Pharmaceuticals, est quant à lui un composé de type « prodrogue » permettant ainsi son utilisation par voie orale (Figure 13D). *In vivo*, il subit en effet une biotransformation en un inhibiteur actif présentant un motif acide carboxylique, le VNRX-5236, qui présente alors une puissante activité inhibitrice des  $\beta$ -lactamases de classe A, C et D.

### 3. Conclusion

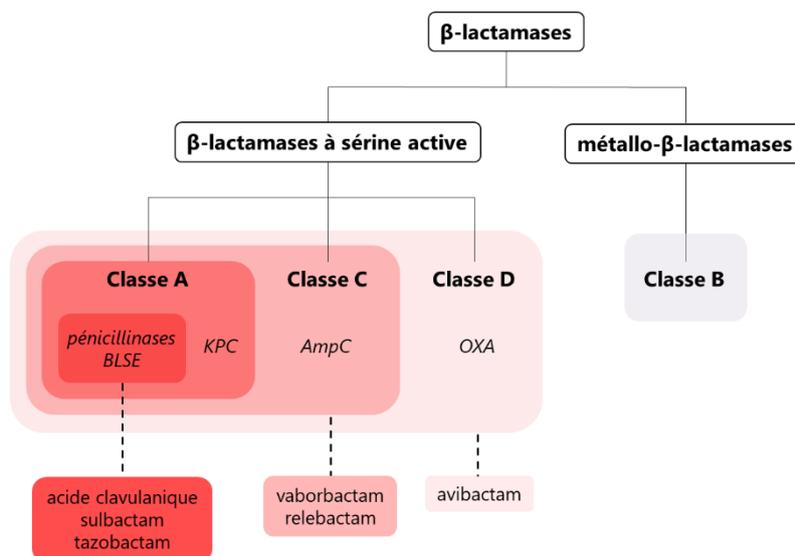
L'introduction de cette 2<sup>nd</sup>e génération de BLIs a ainsi contribué de manière significative à fournir de nouvelles options thérapeutiques pour traiter les infections dues à des bactéries à Gram négatif résistantes *via* la production de diverses  $\beta$ -lactamases. Ces deux nouvelles classes de BLIs comprenant les DBOs et les dérivés d'acides boroniques présentent en effet un spectre d'inhibition plus large que les inhibiteurs de 1<sup>ère</sup> génération (Figure 14), leur permettant ainsi de restaurer l'activité antibactérienne des  $\beta$ -lactamines contre un plus grand nombre de souches résistantes.

<sup>97</sup> E. Lence, C. González-Bello, *Adv. Therap.* **2021**, *4*, 2000246

<sup>98</sup> a) A. Krajnc, J. Brem, P. Hinchliffe, K. Calvopina, T. D. Panduwawala, P. A. Lang, J. J. A. G. Kamps, J. M. Tyrrell, E. Widlake, B. G. Saward, T. R. Walsh, J. Spencer, C. J. Schofield, *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 8544-8556 b) B. Liu, R. E. L. Trout, G.-H. Chu, D. McGarry, R. W. Jackson, J. C. Hamrick, D. M. Daigle, S. M. Cusick, C. Pozzi, F. De Luca, M. Benvenuti, S. Mangani, J.-D. Docquier, W. J. Weiss, D. C. Pevear, L. Xerri, C. J. Burns, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 2789-2801

<sup>99</sup> a) S. J. Hecker, K. R. Reddy, O. Lomovskaya, D. C. Griffith, D. Rubio-Aparicio, K. Nelson, R. Tsivkovski, D. Sun, M. Sabet, Z. Tarazi, J. Parkinson, M. Totrov, S. H. Boyer, T. W. Glinka, O. A. Pemberton, Y. Chen, M. N. Dudley, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 7491-7507 b) O. Lomovskaya, R. Tsivkovski, D. Sun, R. Reddy, M. Totrov, S. Hecker, D. Griffith, J. Loutit, M. Dudley, *Front. Microbiol.* **2021**, *12*, 697180

<sup>100</sup> R. E. Trout, A. Zulli, E. Mesaros, R. W. Jackson, S. Boyd, B. Liu, J. Hamrick, D. Daigle, C. L. Chatwin, K. John, L. McLaughlin, S. M. Cusick, W. J. Weiss, M. E. Pulse, D. C. Pevear, G. Moeck, L. Xerri, C. J. Burns, *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 10155-10166



**Figure 14.** Récapitulatif du spectre d'inhibition des BLIs actuellement disponibles sur le marché

Depuis 2015, soit 22 ans après l'introduction du tazobactam, trois nouveaux BLIs appartenant à ces deux classes ont été approuvés pour une utilisation clinique ce qui a représenté une avancée considérable dans la lutte antibactérienne. Cependant, parmi ces composés, seul l'avibactam peut inhiber certaines  $\beta$ -lactamases de type OXA et aucun n'est actif contre les enzymes de classe B, limitant donc les options thérapeutiques disponibles pour traiter les infections dues à des bactéries productrices de ces  $\beta$ -lactamases. De plus, il est inévitable qu'au fur et à mesure de l'utilisation de ces nouvelles combinaisons BLI/ $\beta$ -lactamine des résistances émergent. C'est d'ailleurs le cas avec l'association ceftazidime-avibactam pour laquelle des cas de résistance ont déjà été rapportés.<sup>57</sup> Il est donc nécessaire de continuer à développer de nouveaux inhibiteurs pour améliorer leur spectre d'inhibition et contrer des agents pathogènes de plus en plus résistants. Plusieurs composés prometteurs sont en cours de développement clinique dont certains présentent notamment une activité contre les métallo- $\beta$ -lactamases ou bien un panel plus étendu que l'avibactam d'enzymes de classe D.

Dans cette partie nous nous sommes concentrés sur les BLIs approuvés pour une utilisation en thérapeutique ou bien en cours d'essai clinique. On peut cependant noter que les efforts pour développer de nouveaux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase ne se limitent pas à ces trois classes de BLIs qui comprennent les  $\beta$ -lactames, les diazabicyclooctanes et les acides boroniques. En effet, plusieurs groupes de recherche ont montré que des composés à la structure originale pouvaient également présenter une activité inhibitrice de  $\beta$ -lactamases. On peut citer par exemple les dérivés d'acide 5-sulfonamido-thiazole-4-carboxylique développés par Antabio :

ANT431<sup>101</sup> et ANT2681<sup>102</sup> qui sont actifs sur les métallo- $\beta$ -lactamases.<sup>89</sup> K. Cariou et ses collaborateurs ont également décrit en 2021 la synthèse d'azétidinimines en tant qu'inhibiteurs de SBL (classes A et D) et de MBL.<sup>103</sup> Des chercheurs japonais ont aussi rapportés très récemment la découverte de JBIR-155, un inhibiteur de  $\beta$ -lactamase de classe D d'origine microbienne possédant un noyau de type 6-oxabicyclo[3.2.0]heptan-7-one.<sup>104</sup>

La recherche d'inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases « non  $\beta$ -lactame » a donc connu une expansion rapide ces dernières années et de nombreux efforts ont notamment été consacrés à élargir le spectre d'activité de l'avibactam. Le développement de BLIs de type diazabicyclooctane représente en effet une stratégie encourageante pour lutter contre la résistance aux  $\beta$ -lactamines chez les bactéries à Gram négatif, puisque depuis l'introduction de l'avibactam en 2015, un autre DBO a déjà été mis sur le marché et cinq autres sont en cours d'essai clinique.

### III. Les DBOs, une famille d'inhibiteurs à la structure originale

Bien que de nombreuses sociétés pharmaceutiques se soient intéressées au développement d'inhibiteurs DBOs et que diverses améliorations aient été apportées, leur chimie s'avère difficile et nécessite de nombreuses étapes de synthèse. Parmi les différentes stratégies qui ont été mises en œuvre pour accéder à ces composés bicycliques complexes,<sup>105</sup> nous allons nous concentrer sur le développement du premier composé de cette famille, l'avibactam.

<sup>101</sup> a) M. Everett, N. Sprynski, A. Coelho, J. Castandet, M. Bayet, J. Bougnon, C. Lozano, D. T. Davies, S. Leiris, M. Zalacain, I. Morrissey, S. Magnet, K. Holden, P. Warn, F. De Luca, J.-D. Docquier, M. Lemonnier, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2018**, 62, e00074-18 b) S. Leiris, A. Coelho, J. Castandet, M. Bayet, C. Lozano, J. Bougnon, J. Bousquet, M. Everett, M. Lemonnier, N. Sprynski, M. Zalacain, T. D. Pallin, M. C. Cramp, N. Jennings, G. Raphy, M. W. Jones, R. Pattipati, B. Shankar, R. Sivasubrahmanyam, A. K. Soodhagani, R. R. Juventhala, N. Pottabathini, S. Pothukanuri, M. Benvenuti, C. Pozzi, S. Mangani, F. De Luca, G. Cerboni, J.-D. Docquier, D. T. Davies, *ACS Infect. Dis.* **2019**, 5, 131-140

<sup>102</sup> a) D. T. Davies, S. Leiris, N. Sprynski, J. Castandet, C. Lozano, J. Bousquet, M. Zalacain, S. Vasa, P. K. Dasari, R. Pattipati, N. Vempala, S. Gujjewar, S. Godi, R. Jallala, R. R. Sathyap, N. A. Darshanoju, V. R. Ravu, R. R. Juventhala, N. Pottabathini, S. Sharma, S. Pothukanuri, K. Holden, P. Warn, F. Marcocchia, M. Benvenuti, C. Pozzi, S. Mangani, J.-D. Docquier, M. Lemonnier, M. Everett, *ACS Infect. Dis.* **2020**, 6, 2419-2430 b) S. Das, A. Johnson, L. McEntee, N. Farrington, A. Kirby, J. Unsworth, A. Jimenez-Valverde, R. Kolamunnage-Dona, J. Bousquet, L. Alibaud, C. Sable, M. Zalacain, M. Everett, W. Hopea, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2020**, 64, e01076-20

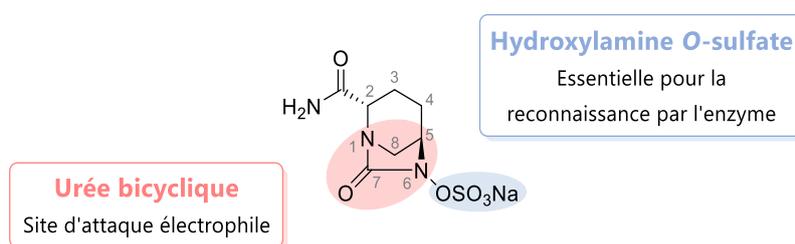
<sup>103</sup> E. Romero, S. Oueslati, M. Benchekroun, A. C. A. D'Hollander, S. Ventre, K. Vijayakumar, C. Minard, C. Exilie, L. Tlili, P. Retailleau, A. Zavala, E. Elisée, E. Selwa, L. A. Nguyen, A. Pruvost, T. Naas, B. I. Iorga, R. H. Dodd, K. Cariou, *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, 219, 113418

<sup>104</sup> T. Nishimura, T. Kawahara, N. Kagaya, Y. Ogura, H. Takikawa, H. Suenaga, M. Adachi, T. Hirokawa, T. Doi, K. Shinya, *Org. Lett.* **2021**, 23, 4415-4419

<sup>105</sup> L. Peilleron, K. Cariou, *Org. Biomol. Chem.*, **2020**, 18, 830-844

## 1. Voies d'accès à l'avibactam

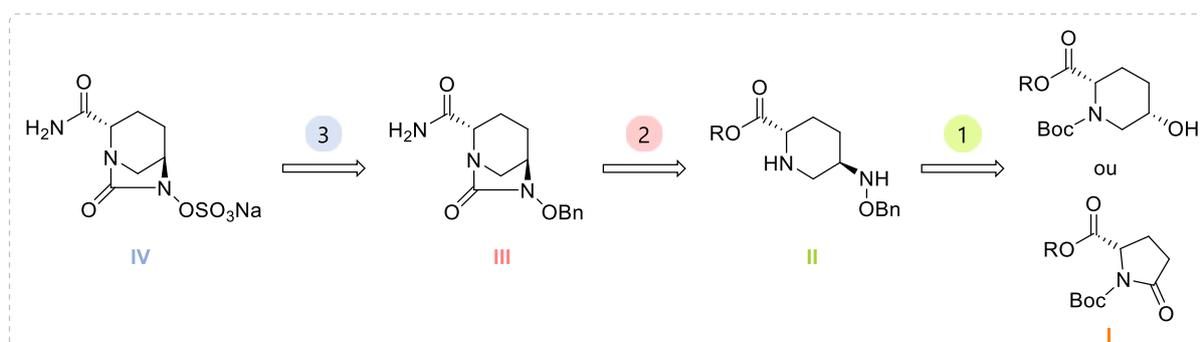
Si on s'intéresse de plus près à la structure de l'avibactam, deux fonctions clés sont nécessaires à son activité inhibitrice de  $\beta$ -lactamases (Figure 15). Tout d'abord, par analogie avec l'acide carboxylique des  $\beta$ -lactamines, l'hydroxylamine O-sulfate est essentielle pour la reconnaissance par l'enzyme et permet également la stabilisation de l'avibactam au sein du site actif. Ensuite, le carbonyle de l'urée bicyclique est le site d'attaque électrophile de la sérine active des  $\beta$ -lactamases. La formation de ce noyau diazabicyclo[3.2.1]octanone est alors l'étape limitante pour la synthèse d'inhibiteurs DBOs, puisque la géométrie contrainte de l'urée bicyclique accroît l'électrophilie du carbonyle et donc l'instabilité de ce motif face à des nucléophiles.



**Figure 15.** Eléments clés dans la structure de l'avibactam

Une description des différentes voies d'accès à l'avibactam va ainsi être réalisée en se focalisant particulièrement sur l'introduction de ces deux éléments clés. De façon générale, les synthèses développées pour accéder aux inhibiteurs DBOs suivent alors le même enchaînement d'étapes (Schéma 12) :

- 1 Introduction de la fonction hydroxylamine sur le cycle pipéridine
- 2 Formation de l'urée bicyclique
- 3 Sulfation de l'hydroxylamine

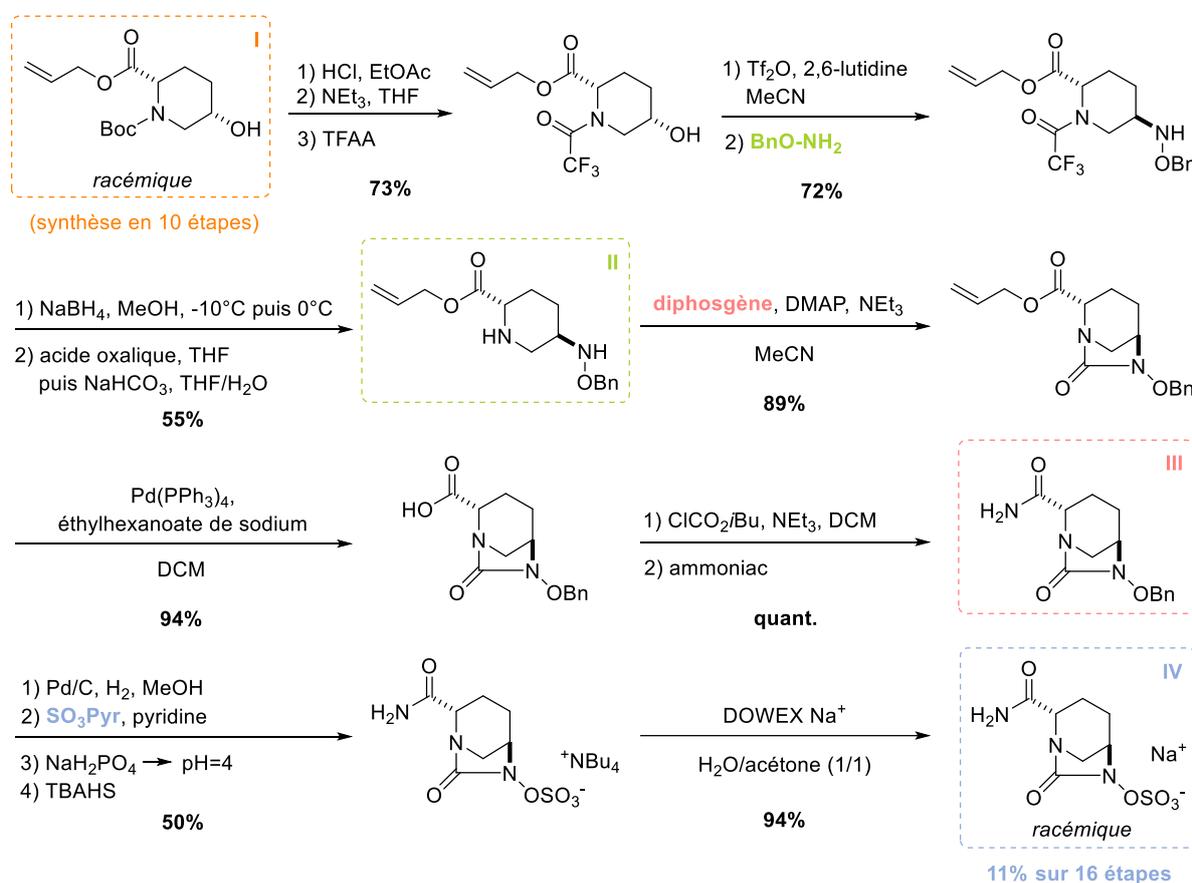


**Schéma 12.** Schéma rétrosynthétique pour la synthèse de l'avibactam

### a. Première synthèse de l'avibactam par Aventis Pharma

Les premiers brevets décrivant la synthèse de l'avibactam (AVE1330A) ont été publiés au début des années 2000 par les chimistes d'Aventis Pharma.<sup>106</sup> Celle-ci est supposée racémique en raison du manque d'informations communiquées autour de la configuration absolue des composés obtenus, où seule la nature des isomères *cis* et *trans* est indiquée.<sup>105</sup>

Cette première voie a permis d'accéder à l'avibactam sous forme de sel de sodium avec un rendement global de 11% sur 16 étapes (Schéma 13). Il faut cependant noter que la synthèse de la pipéridine de départ n'est pas décrite dans ces brevets et qu'elle renvoie aux travaux de H. C. Beyerman et P. Boeke,<sup>107</sup> qui nécessitent alors une dizaine d'étapes supplémentaires pour accéder à ce composé à partir du glutamate de diéthyle commercial.



**Schéma 13.** Première synthèse racémique de l'avibactam par Aventis Pharma

<sup>106</sup> a) M. Lampilas, J. Aszodi, D. A. Rowlands, C. Fromentin, Aventis Pharma, WO0210172, **2002** b) J. Aszodi, M. Lampilas, C. Fromentin, D. A. Rowlands, Aventis Pharma, FR2835186, **2003** c) M. Lampilas, J. Aszodi, D. A. Rowlands, C. Fromentin, Aventis Pharma, US20030199541, **2003**

<sup>107</sup> H. C. Beyerman, P. Boeke, *Rec. Trav. Chim.* **1959**, 78, 648-658.

### 1 Introduction de la fonction hydroxylamine sur le cycle pipéridine

La *N*-Boc-hydroxypipéridine **I** est dans un premier temps déprotégée en présence d'acide chlorhydrique. Un traitement basique avec de la triéthylamine, suivi de l'ajout d'anhydride trifluoroacétique, permet ensuite d'introduire un nouveau groupement protecteur trifluoroacétate. L'introduction de la fonction hydroxylamine se fait alors par activation de l'alcool sous forme de triflate, suivie d'une substitution nucléophile par la *O*-benzylhydroxylamine. Cette réaction de type  $S_N2$  permet alors d'obtenir l'isomère *trans* souhaité avec un rendement global de 72% sur 2 étapes. Dans l'objectif de former par la suite l'urée cyclique, l'amine de la pipéridine est ensuite déprotégée sélectivement à froid en présence de  $\text{NaBH}_4$ . L'ajout d'une solution d'acide oxalique dans du THF permet alors une cristallisation sélective des sels d'oxalate et l'amine libre **II** est obtenue suite à un traitement basique au  $\text{NaHCO}_3$ .

### 2 Formation de l'urée bicyclique et introduction du motif amide primaire

L'étape clé de formation de l'urée bicyclique est ensuite réalisée en présence de diphosgène en milieu basique avec un très bon rendement de 89%. Une fois le cycle DBO formé, la modification de la position C2 permet alors d'introduire la fonction amide caractéristique de l'avibactam. L'acide carboxylique a alors été déprotégé en présence de palladium tétrakis-triphénylphosphine puis converti en amide primaire **III** *via* la formation d'un anhydride mixte et l'ajout d'ammoniac au milieu réactionnel.

### 3 Sulfation de l'hydroxylamine

Afin d'introduire le motif sulfate sur l'hydroxylamine, le groupement benzyle est tout d'abord éliminé par hydrogénolyse en présence de Pd/C. L'alcool correspondant ainsi généré, est mis en présence d'un complexe de trioxyde de soufre-pyridine ce qui permet la sulfation de l'hydroxylamine. L'avibactam, alors obtenu sous forme sel de pyridinium, est ensuite acidifié puis transformé en sel de tétrabutylammonium avec un rendement total de 50%. Une élution du composé sur colonne DOWEX  $\text{Na}^+$  permet enfin de réaliser un dernier échange d'ions et générer l'avibactam sous forme de sulfate de sodium **IV**.

Cette première voie pour accéder à l'avibactam requiert ainsi au total plus de 26 étapes si l'on prend en compte la synthèse de l'hydroxypipéridine de départ. De plus, comme il a été mentionné précédemment, le composé DBO semble être obtenu en mélange racémique. Diverses améliorations successives ont donc été réalisées par Novexel puis AstraZeneca et Forest Laboratories, afin de développer une méthodologie plus rapide et plus efficace pour accéder à l'avibactam.

## b. Améliorations successives apportées à la synthèse de l'avibactam

### i. Seconde voie d'accès développée par Novoxel

La plus grande amélioration a sans doute été celle apportée par des chimistes de Novoxel, qui ont décrit dans un brevet paru en 2009, une voie de synthèse plus courte pour accéder au premier intermédiaire clé pipéridine-hydroxylamine à partir d'un composé commercial.<sup>108</sup> Cette approche permet alors de s'affranchir de la dizaine d'étapes auparavant nécessaires pour synthétiser le produit de départ précédent, la *N*-Boc-hydroxypipéridine.

La synthèse totale de l'avibactam (NXL104), *via* l'utilisation de cette méthodologie, a alors pu être réalisée en seulement 15 étapes avec un rendement global de 8% à partir d'un l'acide L-pyroglytamique spécifiquement protégé (schéma 14).<sup>109</sup>

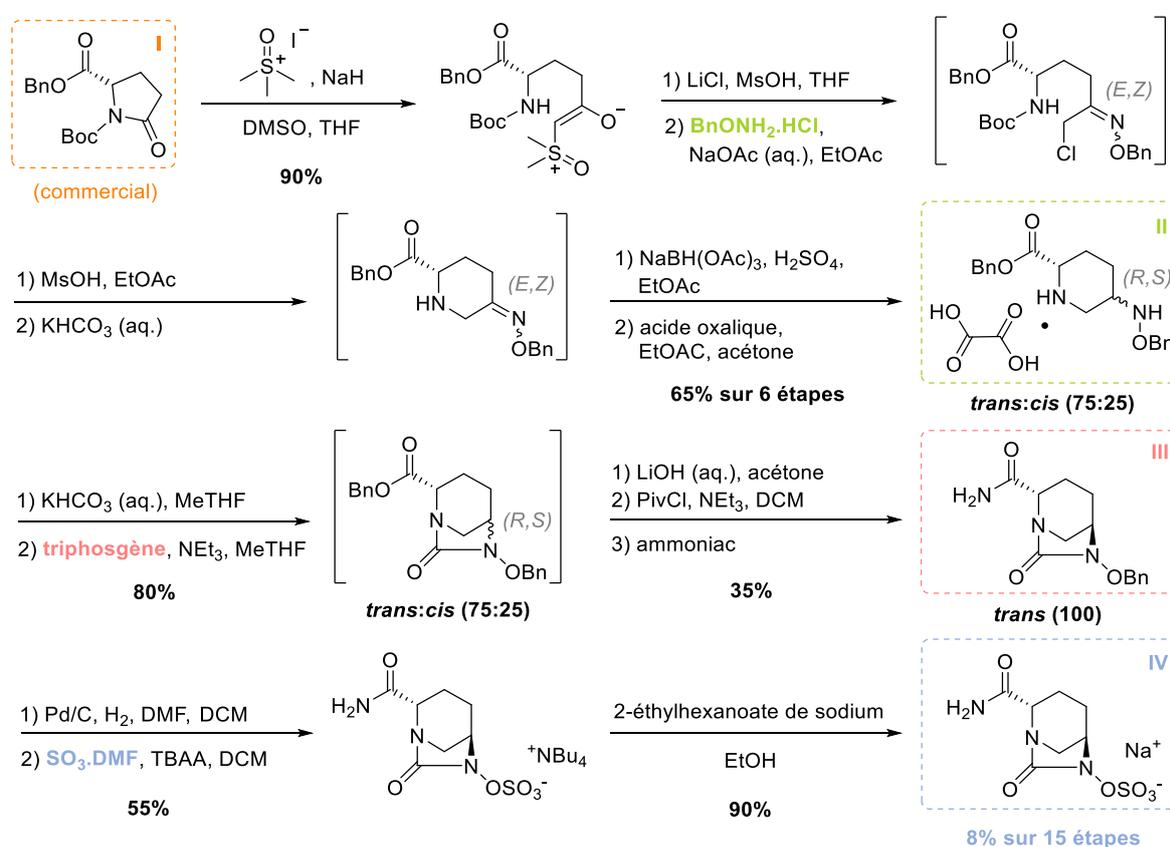


Schéma 14. Synthèse améliorée de l'avibactam par Novoxel

<sup>108</sup> a) A. Priour, A. Bonnet, G. Odden, A. Mazurie, Novoxel, WO2009090320, **2009** b) A. Priour, A. Bonnet, G. Odden, A. Mazurie, Novoxel, FR2921060, **2009**

<sup>109</sup> M. Ball, A. Boyd, G. J. Ensor, M. Evans, M. Golden, S. R. Linke, D. Milne, R. Murphy, A. Telford, Y. Kalyan, G. R. Lawton, S. Racha, M. Ronsheim, S. Hong Zhou, *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20*, 1799-1805

### 1 Introduction de la fonction hydroxylamine sur le cycle pipéridine

En partant de la 2-pyrrolidinone commerciale à 5 chaînons **I**, il faut donc dans un premier temps effectuer l'homologation d'un carbone afin d'accéder au cycle pipéridine. Pour cela, l'iodure de triméthylsulfoxonium en présence d'hydrure de sodium conduit à la formation d'un ylure de sulfoxonium, qui va entraîner l'ouverture du cycle  $\gamma$ -lactame et l'obtention d'un énolate zwitterionique.<sup>110</sup> La réaction de celui-ci avec le chlorure de lithium en condition acide va alors permettre la formation d'un intermédiaire de type chloro-cétone qui va ensuite réagir par condensation avec la *O*-benzyl-hydroxylamine. La chloro-oxime ainsi obtenue se présente alors sous la forme d'un mélange d'isomères *E* et *Z*. Un traitement acide va enfin permettre la recyclisation ainsi que la déprotection du groupement Boc, générant alors la pipéridine-oxime souhaitée après neutralisation. Suite à la réduction de l'oxime en hydroxylamine en présence de triacétoxyborohydride de sodium (STAB), le premier intermédiaire clé **II** est finalement obtenu en mélange de deux isomères *trans:cis* sous la forme d'un sel d'oxalate avec un bon rendement global de 65% sur 6 étapes.

### 2 Formation de l'urée bicyclique et introduction du motif amide primaire

La formation du cycle DBO est ensuite réalisée en présence de triphosgène en milieu basique avec un très bon rendement de 80%. L'introduction de la fonction amide passe alors dans un premier temps par une hydrolyse contrôlée de l'ester benzylique, *via* l'utilisation d'hydroxyde de lithium et un strict contrôle des conditions réactionnelles (température, durée et pH), permettant ainsi la saponification sélective de l'isomère *trans*. Analogiquement à la stratégie précédente, l'acide carboxylique alors obtenu est ensuite converti en amide primaire **III** *via* la formation d'un anhydride mixte et l'ajout d'ammoniac au milieu réactionnel.

### 3 Sulfation de l'hydroxylamine

Les dernières étapes permettant l'introduction du groupement sulfate sont alors relativement similaires à celles précédemment décrites. Ainsi, après déprotection de l'hydroxylamine puis sulfation en présence d'un complexe trioxyde de soufre-DMF, l'avibactam énantiopur **IV** a été isolé sous forme de sel de sodium avec un rendement de 50% sur 3 étapes.

<sup>110</sup> J. E. Baldwin, R. M. Adlington, C. R. A. Godfrey, D. W. Gollins, J. G. Vaughan, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1434-1435

Cette nouvelle stratégie, développée par des chimistes de Novexel, a été une bonne amélioration par rapport à l'approche précédente et a permis de produire une quantité suffisante d'avibactam pour soutenir les essais cliniques de phase II. La transposition de cette voie de synthèse à l'échelle industrielle n'était toutefois pas envisageable. En effet, en raison du faible rendement global, l'impact environnemental et le coût de ce procédé sont très élevés puisque l'intensité massique de celui-ci a été calculé à 6480, signifiant que 6480 kg de matières premières sont nécessaires pour produire 1kg d'avibactam. De plus, cette approche nécessite l'emploi de certains réactifs toxiques et de solvants non respectueux de l'environnement tels que le triphosgène, le DCM et le DMF. En outre, le danger que représente la combinaison DMSO/NaH<sup>111</sup> dans la première étape est risquée à plus grande échelle. Enfin, la conversion de l'ester benzylique en amide primaire nécessite une étape d'hydrolyse sélective très minutieuse due à la présence d'un mélange des deux isomères *cis* et *trans*. Cette étape limitante se montre alors difficilement contrôlable avec une montée en échelle et conduit à de faibles rendements.

Diverses améliorations étaient donc encore nécessaires afin d'aboutir à une méthodologie efficace qui permette la production d'avibactam en grande quantité en vue de sa future commercialisation.

## ii. Améliorations apportées par AstraZeneca et Forest Laboratories

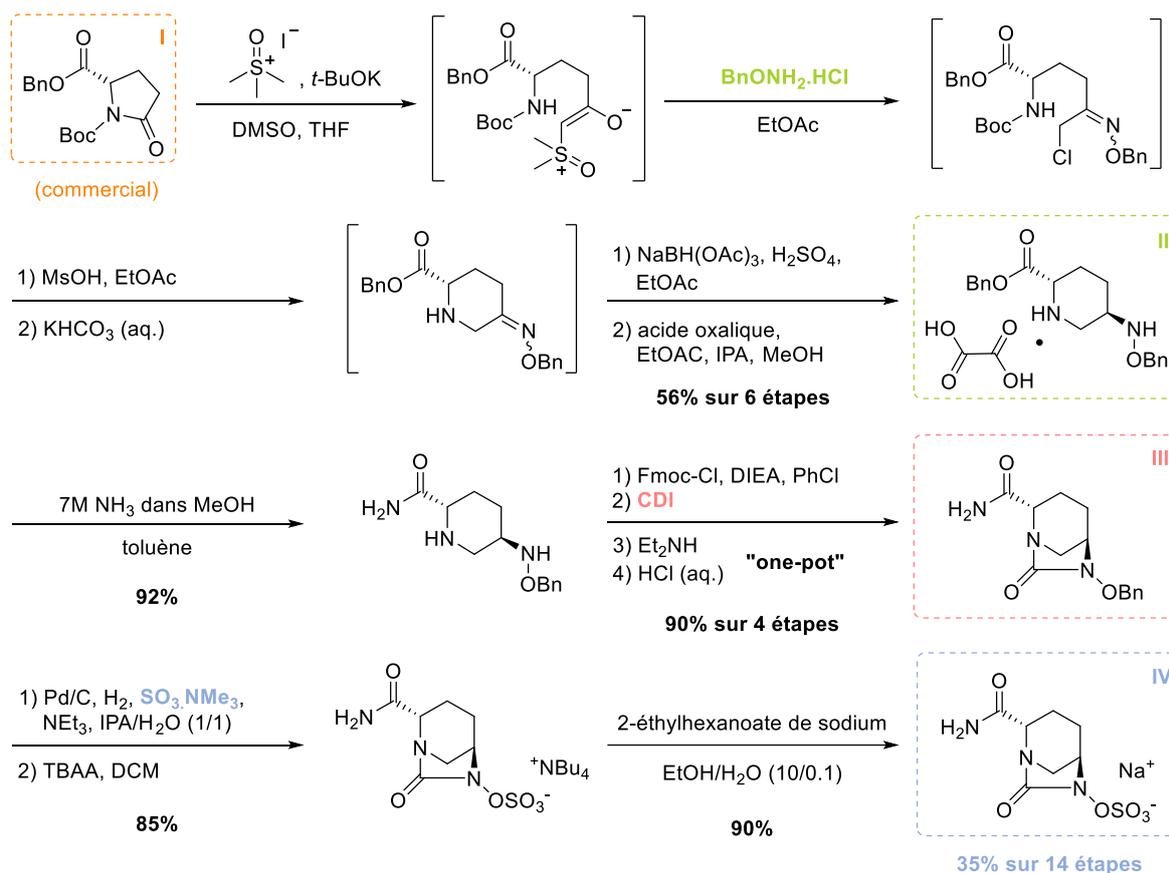
En se basant sur cette dernière approche, les chimistes d'AstraZeneca et Forest Laboratories ont alors développé en collaboration une synthèse améliorée pour accéder à l'avibactam en s'affranchissant de la plupart des limitations listées ci-dessus. Cette synthèse, premièrement décrite dans un brevet paru en 2012,<sup>112</sup> a par la suite été utilisée pour produire l'avibactam à grande échelle.

La synthèse industrielle de l'avibactam publiée en 2016,<sup>109</sup> permet alors d'accéder au composé avec un rendement, bien meilleur en comparaison de la stratégie précédente, de 35% sur 14 étapes (Schéma 15). Comme nous allons le voir, la modification majeure apportée à cette synthèse a alors été le développement d'une nouvelle méthodologie permettant la formation du cycle diazabicyclooctane en s'affranchissant de l'utilisation d'un dérivé du phosgène toxique.

---

<sup>111</sup> Q. Yang, M. Sheng, J. J. Henkelis, S. Tu, E. Wiensch, H. Zhang, Y. Zhang, C. Tucker, D. E. Ejeh, *Org. Process Res. Dev.* **2019**, *23*, 2210-2217

<sup>112</sup> J. A. Boyd, J. H. Cherryman, M. Golden, Y. B. Kalyan, G. R. Lawton, D. Milne, A. J. Phillips, S. Racha, M. S. Ronsheim, A. Telford, S. H. Zhou, M. G. Dedhiya, AstraZeneca, WO2012172368, **2012**



**Schéma 15.** Synthèse à grande échelle de l'avibactam par AstraZeneca et Forest Laboratories

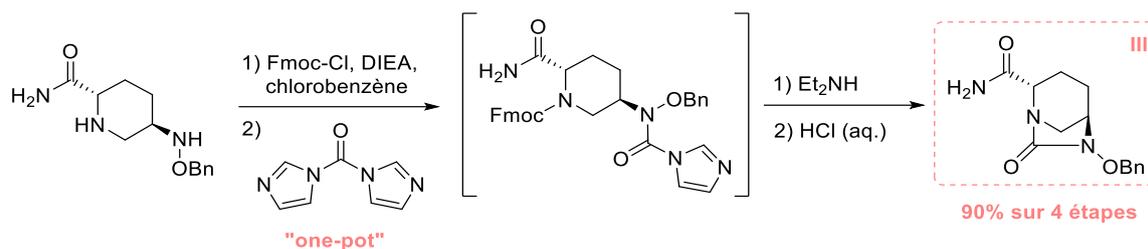
## 1 Introduction de la fonction hydroxylamine sur le cycle pipéridine

Analogiquement à la voie de synthèse développée par Novoxel, le premier intermédiaire clé pipéridine-hydroxylamine **II** est obtenu à partir d'une 2-pyrrolidinone commerciale **I** par ouverture de cycle puis recyclisation. On note cependant certaines améliorations. Tout d'abord, l'hydruide de sodium a été remplacé par du *tert*-butylate de potassium lors de la première étape et l'énolate zwitterionique alors obtenu n'a pas été isolé. L'utilisation d'*O*-benzylhydroxylamine sous forme chlorhydrate a ensuite permis d'effectuer en une seule étape la chloration et la formation de l'oxime. Après cyclisation, élimination du groupement Boc et réduction de l'oxime, dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment, l'isomère *trans* de l'hydroxylamine **II** (~250kg) a alors pu être isolé par cristallisation sous la forme d'un sel d'oxalate avec un rendement global de 56% sur 6 étapes.

## 2 Formation de l'urée bicyclique et introduction du motif amide primaire

L'hydrolyse sélective de l'ester benzylique, étape limitante dans la stratégie précédente, n'est alors plus nécessaire puisque seul l'isomère *trans* **II** a été isolé selon cette méthodologie. Sa conversion en amide primaire a alors pu être effectuée en une seule étape, en présence d'une solution d'ammoniac dans le méthanol, avec un excellent rendement de 92%.

Une nouvelle méthodologie utilisant une stratégie de protection/déprotection « one-pot » pour former l'urée cyclique a ensuite été mise au point (Schéma 16). Dans un premier temps, la protection préalable de la pipéridine par un groupement Fmoc permet d'acyler spécifiquement l'azote de l'hydroxylamine en présence de CDI. Puis, l'ajout de diéthylamine va entraîner la déprotection de l'azote de la pipéridine et conduire spontanément à l'attaque nucléophile de celle-ci sur le carbonyle de l'urée, ce qui induit alors la cyclisation du composé. Finalement, un traitement acide va faciliter l'élimination des espèces basiques en solution et favoriser la cristallisation du DBO-amide **III** (~100kg), alors obtenu avec un excellent rendement de 90%.



**Schéma 16.** Formation de l'urée bicyclique en procédé « one-pot » en présence de carbonyldiimidazole

Le développement de cette nouvelle méthodologie passant par la conversion de l'ester benzylique en amide primaire en une seule étape suivie de la formation « one-pot » de l'urée bicyclique, a ainsi permis d'améliorer considérablement l'efficacité et l'opérabilité du procédé par rapport à la synthèse développée par Novexel. En effet, le DBO-amide **III** a pu être obtenu avec un très bon rendement global de 83% contre seulement 28% auparavant.

### 3 Sulfation de l'hydroxylamine

Les dernières étapes liées à l'introduction du groupement sulfate ont également été optimisées et une variation des conditions réactionnelles a notamment permis la réalisation « one-pot » du processus de débenzylation et de sulfation de l'hydroxylamine. Le mélange de solvants d'hydrogénolyse DCM/DMF a en effet été remplacé par un mélange IPA/H<sub>2</sub>O, ce qui a permis d'abaisser le pKa de l'hydroxylamine obtenue après élimination du groupement benzyle. La présence d'une quantité catalytique de triéthylamine dans le milieu réactionnel a alors conduit à la formation de l'anion alcoolate correspondant, qui s'est avéré suffisamment nucléophile pour réagir avec un complexe trioxyde de soufre-triméthylamine stable dans l'eau. Après deux étapes d'échanges d'ions, l'avibactam **IV** (~50kg) a finalement été isolé sous forme sulfate de sodium avec un rendement global de 77% sur 3 étapes, contre 50% pour la synthèse précédente.

En conclusion, les diverses améliorations apportées par AstraZeneca et Forest Laboratories ont permis de développer un procédé plus rapide et plus efficace pour accéder à l'avibactam à partir de l'acide L-pyroglutamique protégé commercial. En effet, celui-ci est désormais produit industriellement en seulement 5 étapes isolées avec un rendement global de 35%. L'intensité massique de ce procédé a ainsi été réduit de 6480 à seulement 526, ce qui représente tout de même une amélioration de 92% de l'efficacité et a permis de diviser par 4 les coûts de production. De plus, tout en étant plus efficace, ce procédé est également plus respectueux de l'environnement puisque des réactifs et solvants toxiques ont pu être éliminés tels que le DMF et le triphosgène. L'étape limitante de formation de l'urée bicyclique fait alors intervenir une nouvelle méthodologie utilisant du CDI comme agent de phosgénation.

### iii. Voie d'accès alternative proposée par Zhejiang Medicine

Une dernière voie d'accès à l'avibactam a également été publiée en 2018 par des chercheurs de Zhejiang Medicine, une compagnie pharmaceutique chinoise, qui proposent alors une synthèse chimio-enzymatique pour accéder à un précurseur pipéridine clé à partir de chlorhydrate d'éthyle 5-hydroxypicolinate (Schéma 17).<sup>113</sup> Dans un premier temps, le cycle pyridine est converti en pipéridine par hydrogénation en présence de Rh/C avec un excellent ratio isomérique de 97:3 (*cis:trans*). L'isomère *trans* est alors facilement éliminé par filtration, puis la résolution énantiomérique de l'isomère *cis* est assurée par une enzyme, la lipase Lipozyme CALB. Une dernière étape de protection par un groupement Boc permet finalement d'obtenir l'hydroxypipéridine **I** énantiomériquement pure avec un rendement total de 43% sur 3 étapes.

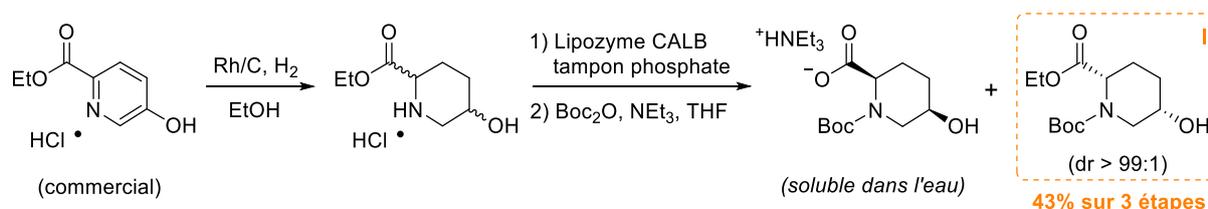
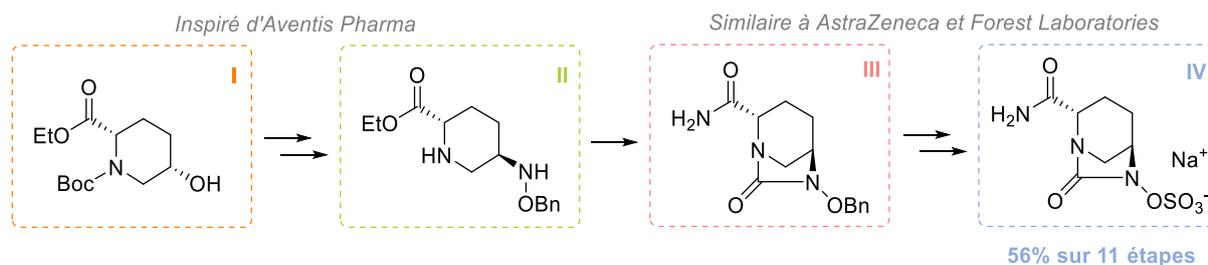


Schéma 17. Obtention du précurseur clé hydroxypipéridine par voie chimio-enzymatique

Bien que cette méthodologie fournisse une alternative pour la construction du cycle pipéridine, les étapes suivantes en revanche ne présentent pas d'innovation particulière. L'introduction de l'hydroxylamine sur le cycle pipéridine s'inspire en effet de la voie développée par Aventis Pharma, tandis que la suite de la synthèse est strictement identique à celle mise au point par AstraZeneca et Forest Laboratories (Schéma 18). Cette voie de synthèse a finalement permis d'obtenir l'avibactam sel de sodium (~400g) avec un rendement global de 24% sur 14 étapes, ce qui reste inférieur à la synthèse industrielle précédemment décrite.

<sup>113</sup> T. Wang, L.-D. Du, D.-J. Wan, X. Li, X.-Z. Chen, G.-F. Wu, *Org. Process Res. Dev.* **2018**, 22, 1738-1744



**Schéma 18.** Synthèse de l'avibactam par Zhejiang Medicine basée sur les méthodologies développées par Aventis Pharma, AstraZeneca et Forest Laboratories

### c. Conclusion

Ainsi, bien que diverses améliorations aient été apportées à la synthèse de l'avibactam, celle-ci demeure tout de même relativement longue et linéaire étant donné qu'elle repose sur des séquences réactionnelles similaires. C'est également le cas du relebactam, le deuxième BLI diazabicyclooctane à avoir été approuvé pour une utilisation clinique. La première voie d'accès à ce composé, décrite en 2011 par I. K. Mangion, nécessitait en effet 13 étapes de synthèse et présentait un rendement global de seulement 10%.<sup>114</sup> Une seconde synthèse en 11 étapes développée par S. P. Miller et ses collaborateurs en 2014 a ensuite permis une amélioration du rendement total à 42% et la production à grande échelle du relebactam.<sup>115</sup> Aujourd'hui, bien que les chimistes de chez Merck & Co. aient continué à optimiser la synthèse de cet inhibiteur de  $\beta$ -lactamase,<sup>116</sup> la production industrielle du relebactam nécessite toujours un certain nombre d'étapes.<sup>117</sup>

De manière générale, la préparation de composés DBOs reste un challenge synthétique et la formation de l'urée bicyclique est notamment une contrainte importante. Bien que les méthodologies pour accéder à l'avibactam et au relebactam aient été optimisées et permettent aujourd'hui une synthèse, certes relativement longue, mais avec des rendements plutôt corrects ; cela limite tout de même le développement de nouveaux composés DBOs. Cette famille d'inhibiteurs se révélant cependant très efficace avec un large spectre d'activité contre les  $\beta$ -lactamases à sérine active, elle est particulièrement étudiée depuis quelques années par diverses compagnies pharmaceutiques et biotechnologiques.

<sup>114</sup> I. K. Mangion, R. T. Ruck, N. Rivera, M. A. Huffman, M. Shevlin, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5480-5483

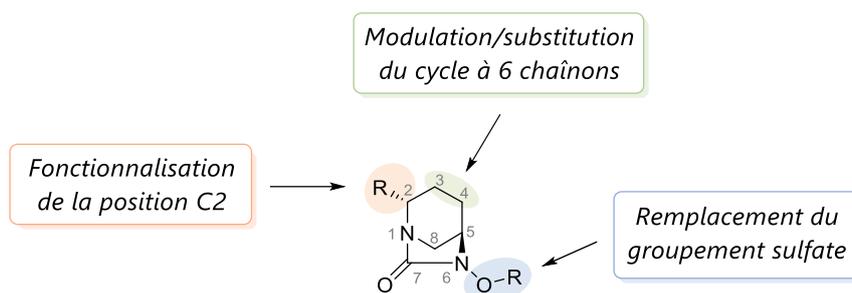
<sup>115</sup> S. P. Miller, Y.-L. Zhong, Z. Liu, M. Simeone, N. Yasuda, J. Limanto, Z. Chen, J. Lynch, V. Capodanno, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 174-177

<sup>116</sup> a) Z. Liu, N. Yasuda, L. Yang, A. Klapars, K. R. Campos, Merck & Co., WO2016089718, **2016** b) J. Yin, M. Weisel, Y. Ji, Z. Liu, J. Liu, D. J. Wallace, F. Xu, B. D. Sherry, N. Yasuda, *Org. Process Res. Dev.* **2018**, *22*, 273-277 c) J. Y. L. Chung, D. Meng, M. Shevlin, V. Gudipati, Q. Chen, Y. Liu, Y.-H. Lam, A. Dumas, J. Scott, Q. Tu, F. Xu, *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 994-1000

<sup>117</sup> J. Kim, T. Itoh, F. Xu, Z. E. X. Dance, J. H. Waldman, D. J. Wallace, F. Wu, R. Kats-Kagan, A. R. Ekkati, A. P. J. Brunskill, F. Peng, P. S. Fier, J. V. Obligation, B. D. Sherry, Z. Liu, K. M. Emerson, A. J. Fine, A. V. Jenks, M. E. Armenante, *Org. Process Res. Dev.* **2021**, *25*, 2249-2259

## 2. Modifications réalisées autour du noyau DBO

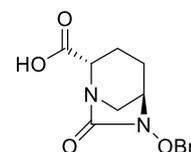
La découverte de cette nouvelle famille d'inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase suscite en effet un vif intérêt pour l'exploration de la structure diazabicyclooctane. Trois stratégies sont alors employées pour moduler le noyau DBO dans l'optique d'améliorer notamment le spectre d'inhibition de ces composés (Figure 16). La première consiste à diversifier fonctionnaliser la position C2 du cycle DBO, tandis qu'une seconde stratégie repose sur la modulation et la substitution du cycle pipéridine. Le remplacement du groupement sulfate essentiel à l'activité est aussi une autre modification étudiée.



**Figure 16.** Modifications réalisées autour du noyau diazabicyclooctane

### a. Fonctionnalisation de la position C2 du cycle DBO

La classe d'inhibiteurs DBOs s'est élargie avec le développement de nouveaux composés, généralement après modification de la chaîne latérale. La fonctionnalisation de cette position est alors réalisée sur le cycle DBO déjà formé et peut être décrite à partir d'un intermédiaire commun substitué par une fonction acide carboxylique, dont la synthèse va préalablement être présentée (Figure 17).



**Figure 17.** Structure du DBO-acide carboxylique

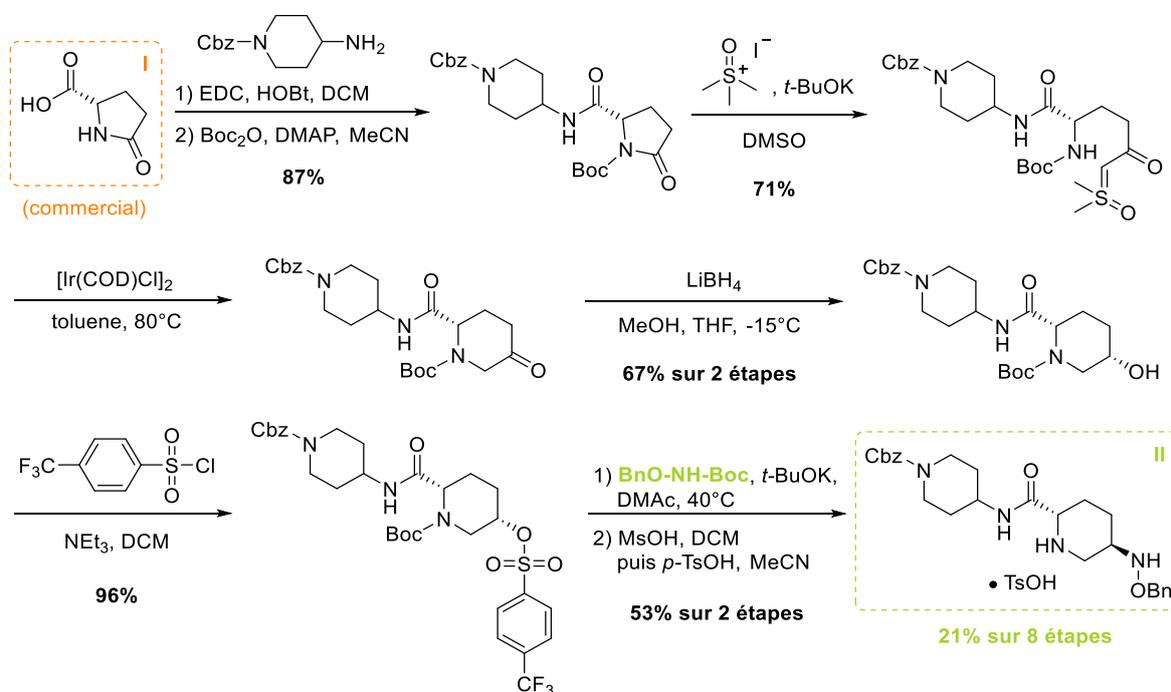
#### i. Synthèse du précurseur DBO-acide carboxylique

L'accès à ce précurseur clé DBO-acide carboxylique a initialement été décrit par les chimistes d'Aventis Pharma lors de la première synthèse de l'avibactam (Schéma 13).<sup>106</sup> Pour rappel, cet intermédiaire était alors obtenu après 9 étapes avec un rendement global de 24%, à partir d'une pipéridine de départ accessible après 10 étapes de synthèse.

En 2017, J. Su et ses collaborateurs ont proposé une nouvelle voie d'accès à ce précurseur, à partir d'un intermédiaire synthétique obtenu lors du développement du relebactam par une autre équipe de chez Merck & Co.<sup>118</sup> La synthèse de cet intermédiaire va donc au préalable être présentée et l'accès au précurseur DBO-acide carboxylique sera décrit par la suite.

<sup>118</sup> S.-W. Yang, X. Linghu, E. Smith, J. Pan, V. Sprague, J. Su, *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 2838-2841

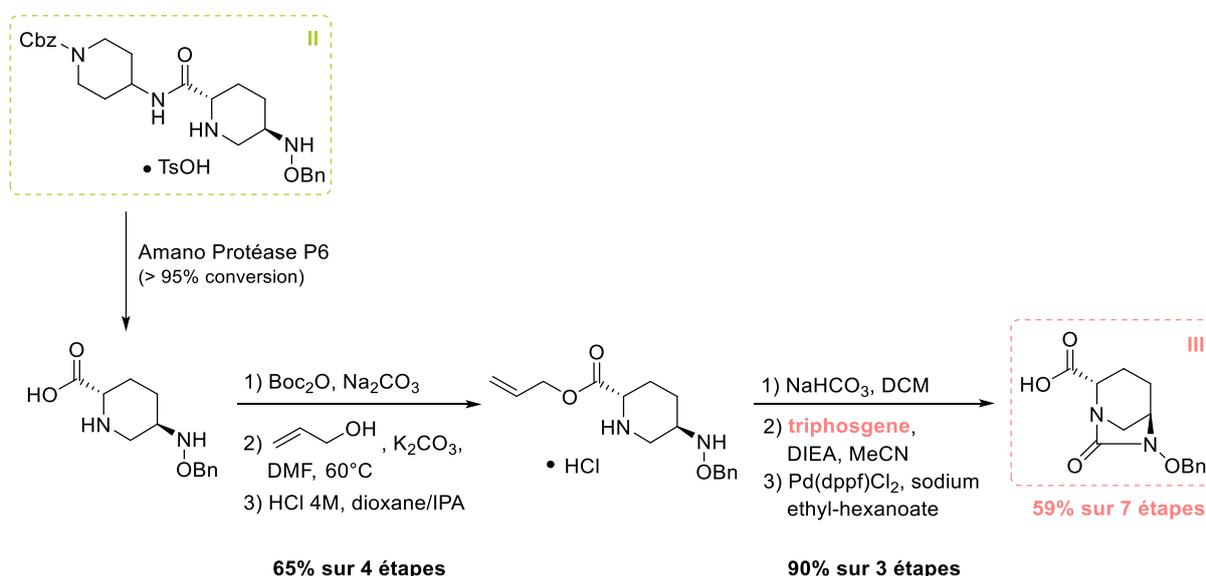
La synthèse en 8 étapes de l'intermédiaire **II** a été décrite par I. K. Mangion et son équipe en 2011 à partir de l'acide L-pyrroglutamique commercial avec un rendement global de 21% (Schéma 19).<sup>114</sup>



**Schéma 19.** Synthèse de l'intermédiaire pipéridine hydroxylamine selon la voie développée par I. K. Mangion *et al.*

Cet intermédiaire ayant été synthétisé dans le cadre du développement du relebactam, la fonction pipéridine caractéristique de celui-ci a tout d'abord été introduite sur la chaîne latérale par couplage avec la *N*-Cbz-aminopipéridine. La pyrrolidinone fonctionnalisée obtenue a alors été protégée par un groupement Boc. L'homologation d'un carbone a ensuite été réalisée *via* l'utilisation d'ylure de triméthylsulfoxonium en présence de *t*BuOK conduisant à la formation d'un yluire de sulfoxonium, analogiquement à la synthèse de l'avibactam développée par Novexel (Schéma 14). L'originalité de cette synthèse repose alors sur la mise au point d'une nouvelle méthodologie pour former le cycle pipéridine à 6 chaînons qui s'appuie sur les travaux de J. E. Baldwin,<sup>110</sup> et où l'ylure de  $\beta$ -céto sulfoxonium sert de source alternative de carbène pour réaliser une étape de N-H insertion catalysée par un complexe d'iridium. La pipéridinone obtenue est ensuite réduite en présence de LiBH<sub>4</sub> fournissant majoritairement l'alcool *cis* avec un ratio diastéréoisomérique de 12 : 1. L'introduction de la fonction hydroxylamine se fait alors par activation de l'alcool sous la forme d'un sulfonate de trifluorométhylbenzène qui favorise une substitution nucléophile de type S<sub>N</sub>2 par la *N*-Boc-*O*-benzyl-hydroxylamine. Cela permet ainsi d'inverser la configuration du centre stéréogène et de générer l'isomère *trans* souhaité. Après déprotection en milieu acide des deux groupements Boc, le composé **II** est finalement isolé par cristallisation sous forme de sel de tosylate.

Cet intermédiaire **II**, disponible en très grande quantité chez Merck & Co., a alors été utilisé par une autre équipe de chimistes pour accéder, par synthèse chimio-enzymatique, au précurseur DBO-acide carboxylique **III** avec un bon rendement de 59% sur 7 étapes (Schéma 20).<sup>118</sup> Une étape de clivage enzymatique de la liaison amide par l'Amano Protéase P6 permet tout d'abord d'accéder à un premier précurseur clé pour la synthèse d'analogues DBOs. L'amine de la pipéridine de celui-ci est ensuite protégée temporairement par un groupement Boc afin de pouvoir masquer la fonction acide carboxylique par un groupement allylique. Les étapes finales pour accéder au précurseur DBO-acide carboxylique **III** sont alors sensiblement identiques à celles décrites dans la synthèse initiale de l'avibactam (Schéma 13). Selon cette méthodologie, la synthèse du précurseur DBO-acide carboxylique n'est donc facilitée que grâce à la disposition en grande quantité de l'intermédiaire **II**, le clivage enzymatique de la liaison amide reste cependant une méthode intéressante pour accéder au premier précurseur.



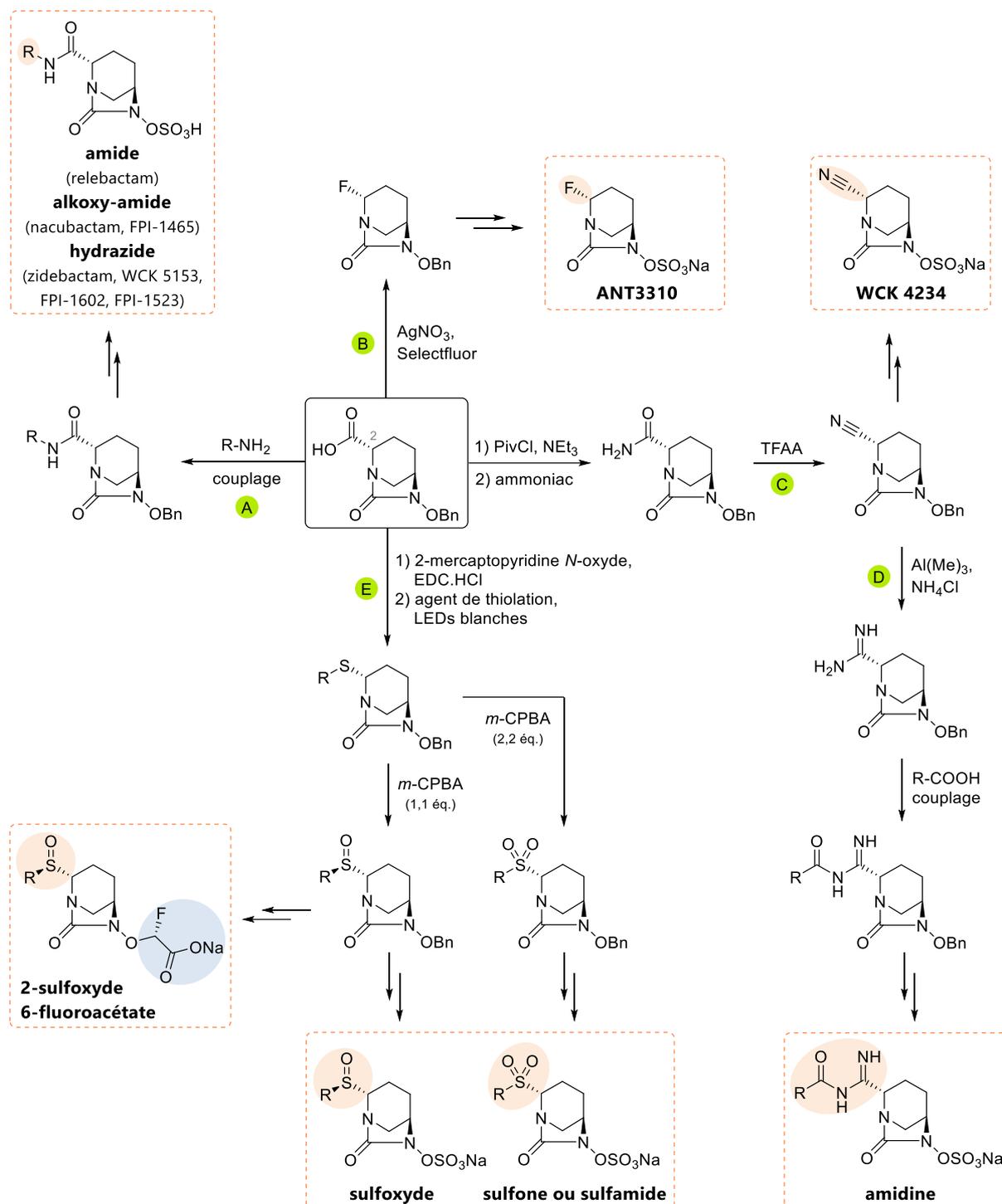
**Schéma 20.** Synthèse du précurseur DBO-acide carboxylique par J. Su *et al.*

Grâce aux différents progrès réalisés autour de la synthèse de composés diazabicyclooctanes, l'accès à cet intermédiaire clé peut toutefois être réalisé selon des voies synthétiques plus courtes s'inspirant par exemple de la synthèse à grande échelle de l'avibactam (Schéma 15).<sup>119</sup> De plus, ce DBO-acide carboxylique ainsi que plusieurs intermédiaires synthétiques sont à présent commercialisés suite à l'intérêt suscité par ces structures, facilitant ainsi le développement de nouveaux analogues DBOs modifiés en position C2.

<sup>119</sup> M. Furegati, S. Nocito, F. Reck, A. Casarez, R. Simmons, H. Schuetz, G. Koch, *Org. Process Res. Dev.* **2020**, *24*, 1244-1253

## ii. Fonctionnalisation de la chaîne latérale

La fonctionnalisation de la position C2 du cycle DBO a conduit au développement de plusieurs composés diazabicyclooctanes diversement substitués, à partir de cet intermédiaire DBO-acide carboxylique (Schéma 21).



**Schéma 21.** Voies de fonctionnalisation de la position C2 du cycle DBO à partir d'un intermédiaire commun

La première stratégie employée par différents groupes a consisté à introduire de la diversité moléculaire sur la chaîne latérale *via* un couplage entre le précurseur DBO-acide carboxylique et des amines diversement substituées (Schéma 21, **voie A**). Cette modification a notamment conduit à la formation de liens amide (relebactam),<sup>77</sup> alkoxy-amide (nacubactam et FPI-1465)<sup>81,120</sup> ou encore hydrazide (zidebactam, WCK 5153, FPI-1602 et FPI-1523).<sup>79,120</sup>

Une autre stratégie a été d'introduire différents groupements électroattracteurs en position C2 du cycle DBO. En 2020, Antabio a ainsi décrit la synthèse d'une série de composés diversement substitués par des halogènes (F et Cl).<sup>88</sup> Le précurseur du dérivé fluoré ANT3310, abordé précédemment, a notamment été obtenu par décarboxylation du DBO-acide carboxylique et traitement radicalaire en présence de Selectfluor™ et de nitrate d'argent (Schéma 21, **voie B**).

Wockhardt Ltd. avait également décrit en 2018 l'introduction d'un groupement électroattracteur de type nitrile sur le cycle DBO, *via* la déshydratation de la fonction amide primaire du précurseur de l'avibactam en présence d'anhydride trifluoroacétique (Schéma 21, **voie C**).<sup>79</sup> En 2021, des chercheurs chinois ont par la suite synthétisé une série d'amidines fonctionnalisées à partir de ce même précurseur DBO-nitrile.<sup>121,122</sup> Le traitement de ce dérivé cyano avec du triméthylaluminium et du chlorure d'ammonium a en effet permis d'obtenir un DBO-amidine facilement fonctionnalisable par couplage avec divers acides carboxyliques (Schéma 21, **voie D**).

La dernière modification de la chaîne latérale a finalement été réalisée par M. Fujiu et ses collaborateurs de Shionogi Pharmaceutical, avec le développement en 2020 de nouveaux analogues DBOs 2-thio-substitués.<sup>123</sup> Le précurseur DBO-acide carboxylique subit alors une thiolation décarboxylative de Barton photo-induite, générant des dérivés thioesters diversement substitués selon l'agent de thiolation utilisé (Schéma 21, **voie E**). L'oxydation de ces composés en présence d'acide métachloroperbenzoïque permet alors d'accéder à des structures de type sulfone et sulfoxyde. Après plusieurs étapes, cette stratégie permet finalement d'aboutir à divers DBOs substitués par de puissants groupements électroattracteurs. Cela inclut notamment des composés de type sulfone et sulfamide ainsi que sulfoxyde sous forme sulfate ou bien également modifiés en position C6 par l'introduction d'une fonction fluoroacétate sur l'hydroxylamine.<sup>124,125</sup>

<sup>120</sup> A. M. King, D. T. King, S. French, E. Brouillette, A. Asli, J. A. N. Alexander, M. Vuckovic, S. N. Maiti, T. R. Parr Jr., E. D. Brown, F. Malouin, N. C. J. Strynadka, G. D. Wright, *ACS Chem. Biol.* **2016**, *11*, 864-868

<sup>121</sup> Z. Iqbal, L. Zhai, Y. Gao, D. Tang, X. Ma, J. Ji, J. Sun, J. Ji, Y. Liu, R. Jiang, Y. Mu, L. He, H. Yang, Z. Yang, *Beilstein J. Org. Chem.* **2021**, *17*, 711-718

<sup>122</sup> Y. Gao, Y. Liu, Z. Iqbal, J. Sun, J. Ji, L. Zhai, D. Tang, J. Ji, L. He, Y. Mu, H. Yang, Z. Yang, *ChemistrySelect* **2021**, *6*, 1174-1178

<sup>123</sup> M. Fujiu, K. Yokoo, T. Aoki, S. Shibuya, J. Sato, K. Komano, H. Kusano, S. Sato, M. Ogawa, K. Yamawaki, *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 9650-9660

<sup>124</sup> M. Fujiu, K. Yokoo, J. Sato, S. Shibuya, K. Komano, H. Kusano, S. Sato, T. Aoki, N. Kohira, S. Kanazawa, R. Watari, T. Kawachi, Y. Hirakawa, D. Nagamatsu, E. Kashiwagi, H. Maki, K. Yamawaki, *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 9496-9512

<sup>125</sup> M. Fujiu, K. Yokoo, J. Sato, S. Shibuya, K. Komano, H. Kusano, S. Sato, T. Aoki, N. Kohira, S. Miyagawa, T. Kawachi, K. Yamawaki, *ACS Infect. Dis.* **2020**, *6*, 3034-3047

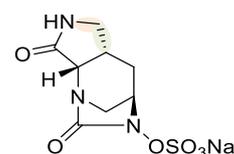
Les différentes modifications réalisées autour de la position C2 du cycle DBO ont permis de moduler le spectre d'activité des composés vis-à-vis de l'inhibition de  $\beta$ -lactamases. Certains d'entre eux présentent aussi une activité antibactérienne intrinsèque grâce à leur capacité à inhiber les PBP2 des entérobactéries, voire même plusieurs PBP pour certains DBOs 2-thio-substitués.<sup>125</sup>

Cette fonctionnalisation de la position C2 a récemment été facilitée par la commercialisation d'intermédiaires, tels que le DBO-acide carboxylique, qui permettent d'accéder plus rapidement à des séries de composés. Ce n'est en revanche généralement pas le cas pour la modulation et la substitution du cycle pipéridine qui nécessite alors de passer par le développement de voies de synthèse longues et complexes.

## b. Modulation et substitution du cycle pipéridine

### i. Introduction d'un motif pyrrolidone

Un premier composé substitué sur le cycle pipéridine développé par Novartis en 2019 fait toutefois exception et peut être synthétisé à partir du précurseur DBO-acide carboxylique présenté précédemment. Ce DBO tricyclique nommé IID572 incorpore alors un motif pyrrolidone qui remplace le groupement amide primaire de l'avibactam (Figure 18).<sup>119,126</sup>



**Figure 18.** Structure du DBO tricyclique IID572

Une synthèse en 8 étapes permet d'accéder au composé IID572 avec un rendement global de 1% à partir du dérivé acide carboxylique (Schéma 22). Celui-ci est tout d'abord estérifié en présence d'agents de couplage classiques, puis une séquence d' $\alpha$ -sélélation/oxydation/élimination permet la formation d'une double liaison sur le cycle pipéridine avec un rendement de 21% sur 3 étapes. Une réaction d'addition de type Giese utilisant un processus de catalyse photoredox à lumière fluorescente en présence d'un complexe d'iridium,<sup>127</sup> permet ensuite d'incorporer le fragment souhaité en position 3 du cycle DBO. Un mélange des 4 diastéréoisomères possibles est alors obtenu conduisant à un rendement isolé de seulement 10% du diastéréoisomère désiré. Après déprotection du groupement Boc en milieu acide, l'amine primaire cyclise spontanément en conditions basiques pour conduire au composé tricyclique, qui après plusieurs étapes d'introduction de la fonction sulfate sur la molécule permet d'accéder au DBO attendu : IID572.

<sup>126</sup> F. Reck, A. Bermingham, J. Blais, A. Casarez, R. Colvin, C. R. Dean, M. Furegati, L. Gamboa, E. Growcott, C. Li, S. Lopez, L. Metzger, S. Nocito, F. Ossola, K. Phizackerley, D. Rasper, J. Shaul, X. Shen, R. L. Simmons, D. Tang, K. Tashiro, Q. Yue, *ACS Infect. Dis.* **2019**, *5*, 1045-1051

<sup>127</sup> L. Chu, C. Ohta, Z. Zuo, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 10886-10889

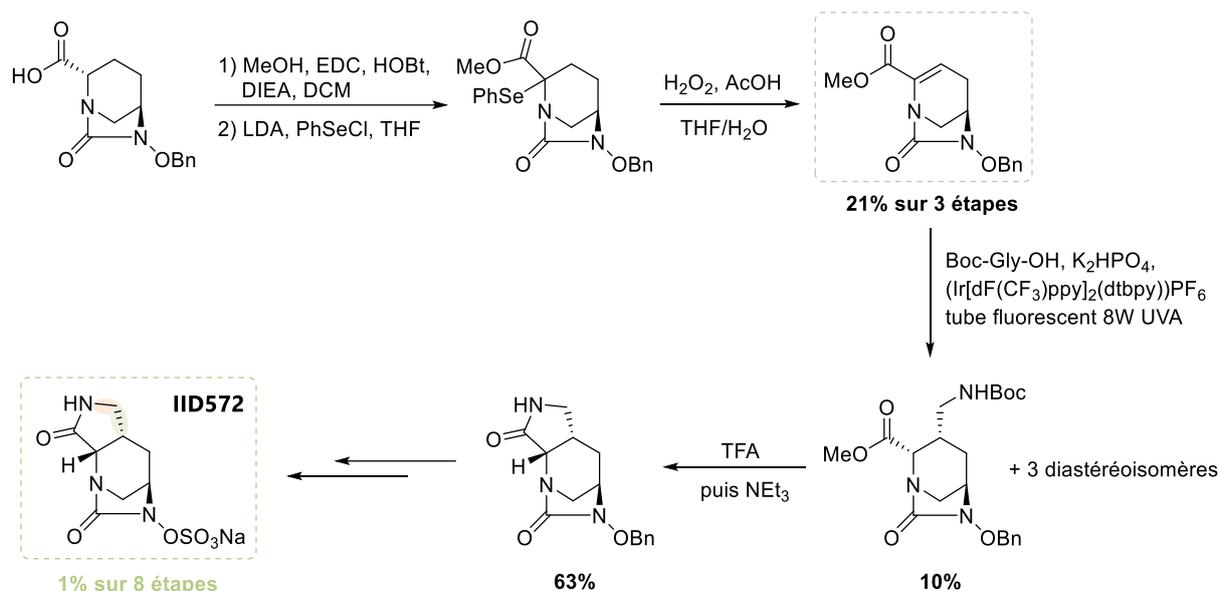


Schéma 22. Synthèse du composé IID572

Ce composé ne possède aucune activité antibactérienne intrinsèque mais présente un large spectre d'inhibition des SBLs et peut restaurer la sensibilité à la pipéracilline chez certaines souches cliniques résistantes à la combinaison pipéracilline-tazobactam.

## ii. Développement de DBOs insaturés

Le groupe de T. F. Durand-Réville (AstraZeneca puis Entasis Therapeutics) s'intéresse depuis plusieurs années à la rigidification de la structure diazabicyclooctane *via* la modulation/substitution du cycle pipéridine.

Dans cet objectif, ils ont premièrement rapporté en 2014, la synthèse énantiosélective de deux nouveaux analogues DBOs possédant une structure tricyclique (Figure 19).<sup>128</sup> La fusion du noyau diazabicyclooctane avec un cyclopropane visait alors à déterminer si l'ajout d'une contrainte cyclique supplémentaire pouvait augmenter la réactivité du carbonyle de l'urée, et ainsi étendre le spectre d'activité de ces inhibiteurs vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases. Ces composés se sont finalement révélés actifs contre plusieurs enzymes de classe A, C et D.

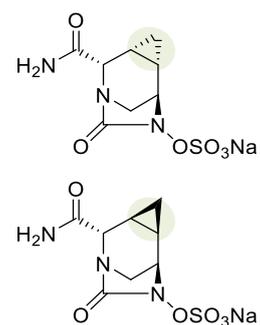
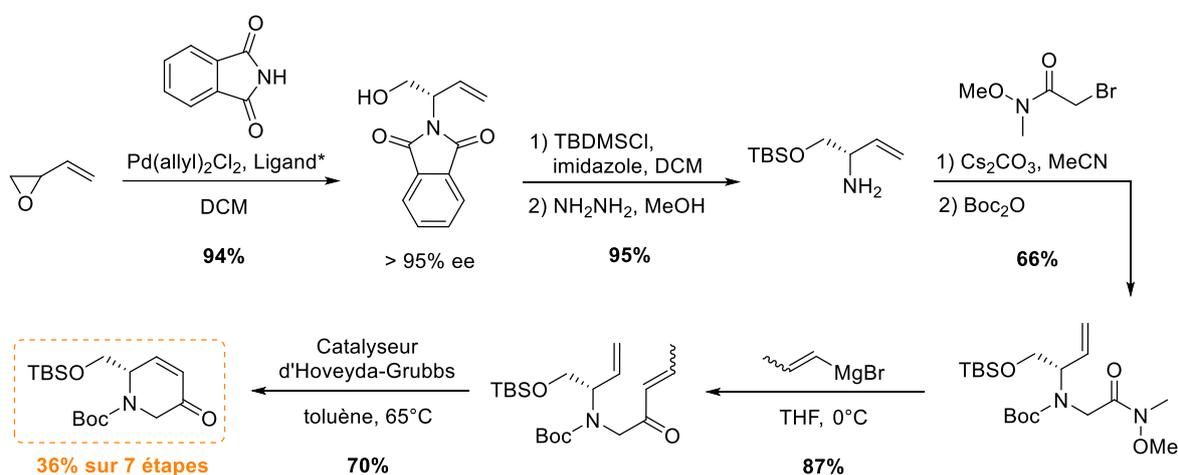


Figure 19. Structures des premiers DBOs tricycliques

<sup>128</sup> H. Xiong, B. Chen, T. F. Durand-Réville, C. Joubran, Y. W. Alelyunas, D. Wu, H. Huynh, *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, 5, 1143-1147

Pour accéder à ces deux composés tricycliques, une nouvelle approche synthétique reposant sur la formation d'un intermédiaire énone cyclique clé a été mise au point (Schéma 23). La synthèse en 7 étapes de cet intermédiaire à partir de monoxyde de butadiène racémique fait tout d'abord intervenir une réaction DYKAT (« Dynamic Kinetic Asymmetric Transformation ») développée par le groupe de B. M. Trost,<sup>129</sup> qui repose sur l'ouverture asymétrique de la fonction époxyde de celui-ci par du phtalimide en présence d'un catalyseur de palladium. La protection de la fonction alcool résultante par un groupement TBS, suivie d'un traitement avec de l'hydrazine pour cliver le phtalimide, conduit alors à l'obtention d'une amine primaire qui est ensuite monoalkylée puis protégée par un groupement Boc afin d'accéder à un amide de Weinreb. L'addition de bromure de propynylmagnésium sur cet amide de Weinreb conduit alors à la formation d'une vinyle cétone qui permet d'accéder à l'intermédiaire énone cyclique souhaité, après une réaction de fermeture de cycle par métathèse en présence du catalyseur d'Hoveyda-Grubbs de 2<sup>ème</sup> génération.<sup>130</sup>



\* (*R,R*)-DACH-naphthyl Trost ligand

**Schéma 23.** Synthèse de l'intermédiaire énone cyclique par métathèse

La synthèse des deux DBOs tricycliques à partir de cet intermédiaire énone est alors relativement similaire, seules les deux premières étapes permettant d'introduire le motif cyclopropane différent. L'accès au diastéréoisomère *trans* se fait *via* une réaction de cyclopropanation de type Corey-Chaykovsky en présence d'un ylure de sulfoxonium,<sup>131</sup> suivie de la réduction stéréosélective de l'énone cyclique en alcool dans les conditions de Luche<sup>132</sup> (Schéma 24, **voie A**). Le diastéréoisomère *cis* est lui obtenu en effectuant la réduction de la

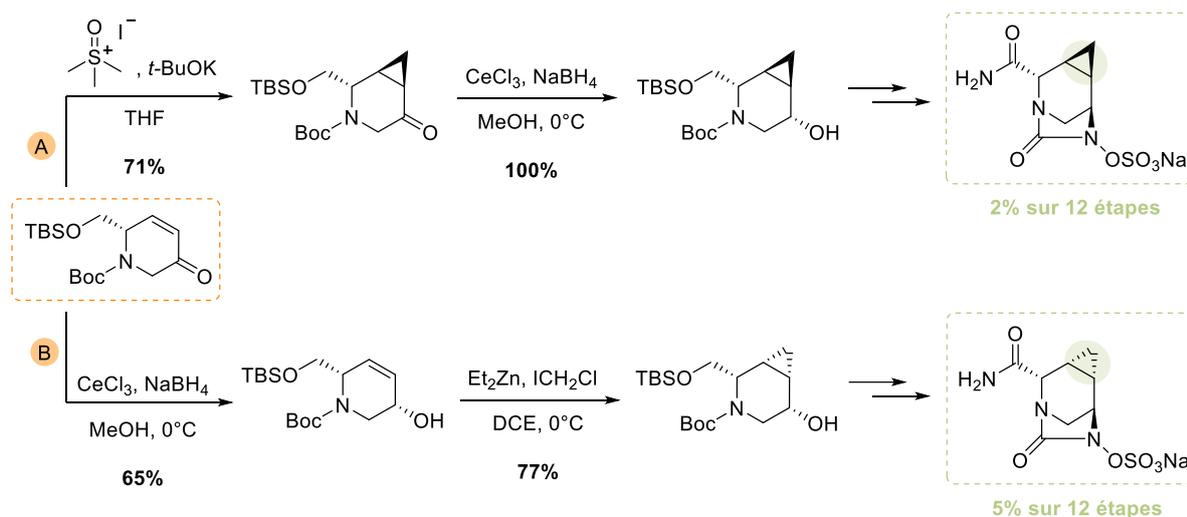
<sup>129</sup> B. M. Trost, D. B. Horne, M. J. Woltering, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5987-5990

<sup>130</sup> S. B. Garber, J. S. Kingsbury, B. L. Gray, A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8168-8179

<sup>131</sup> a) E. J. Corey, M. Chaykovsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1353-1364 b) Y. G. Gololobov, A. N. Nesmeyanov, V. P. Iysenko, I. E. Boldeskul, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 2609-2651

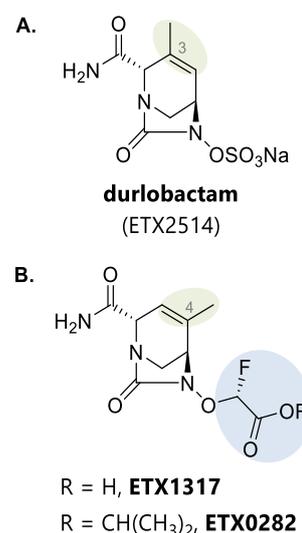
<sup>132</sup> A. L. Gemal, J.-L. Luche, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5454-5459

fonction cétone au préalable, afin de permettre une cyclopropanation de l'alcool allylique dirigée par le groupement hydroxyle lors d'une réaction de Simmons-Smith utilisant les conditions modifiées de Denmark<sup>133</sup> (Schéma 24, **voie B**). Après diverses étapes permettant l'introduction de la fonction hydroxylamine, la formation de l'urée cyclique, la modification de la chaîne latérale et finalement l'installation de la fonction sulfate, ces deux diastéréoisomères sont finalement obtenus après 12 étapes de synthèse à partir de l'intermédiaire clé énone cyclique, soit un total global de 19 étapes à partir du monoxyde de butadiène commercial.



**Schéma 24.** Synthèse énantiosélective des deux analogues DBO-cyclopropane à partir de l'intermédiaire énone

Dans un second temps, c'est l'introduction d'une insaturation sur le cycle pipéridine qui a permis à T. F. Durand-Réville et son équipe de rigidifier la structure DBO. Cette stratégie a alors conduit au développement du durlobactam<sup>78,134</sup> (Figure 20A) et de ETX1317<sup>84</sup> (Figure 20B), tous deux substitués par un groupement méthyle en position C3 ou C4. Comme cela a été évoqué précédemment, ces deux composés sont actuellement en phase d'essai clinique (sous la forme prodrogue ester ETX0282 pour l'ETX1317) et présentent un large spectre d'inhibition des SBLs. La rigidification de la structure DBO suite à l'incorporation d'une insaturation a en effet permis d'améliorer le pouvoir inhibiteur de ces composés contre certaines  $\beta$ -lactamases, de type OXA notamment, sur lesquelles l'avibactam se montre inefficace. De plus, ils ont également démontré une activité antibactérienne intrinsèque en ciblant les PBP2 d'entérobactéries.

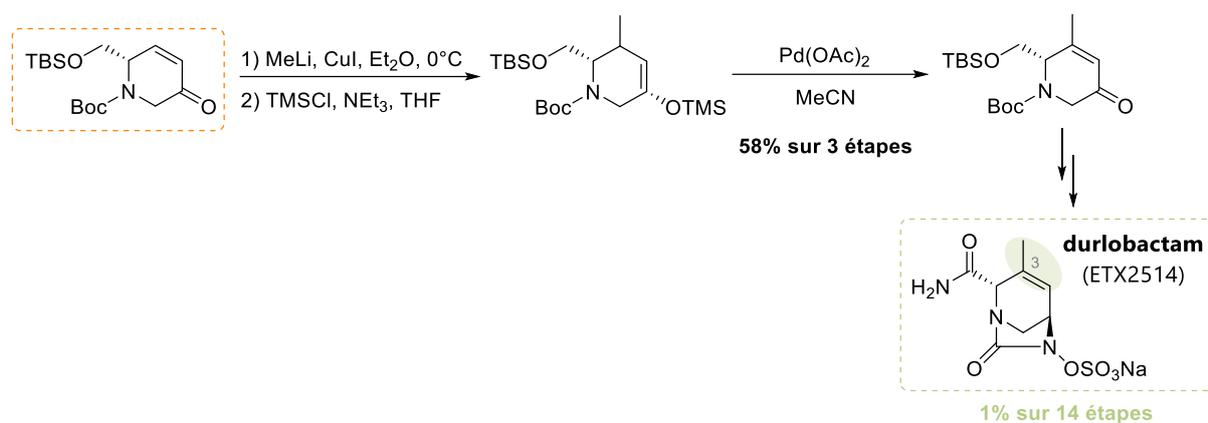


**Figure 20.** Structures de deux DBOs insaturés

<sup>133</sup> S. E. Denmark, J. P. Edwards, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6974-6981

<sup>134</sup> H. McGuire, S. Bist, N. Bifulco, L. Zhao, Y. Wu, H. Huynh, H. Xiong, J. Comita-Prevoir, D. Dussault, B. Geng, B. Chen, T. F. Durand-Réville, S. Guler, *Entasis Therapeutics*, US9309245, **2016**

La synthèse du durlobactam, décrite en 2017, repose sur une méthodologie similaire à celle développée précédemment pour accéder au DBO-cyclopropane.<sup>78</sup> L'introduction du groupement méthyle en position C3 a alors été réalisée *via* l'addition conjuguée de diméthylcuprate de lithium sur le précurseur clé énone cyclique précédemment décrit, permettant d'accéder à un éther d'énol silylé après ajout de chlorure de triméthylsilyle. Celui-ci a alors été mis en présence d'acétate de palladium afin de régénérer la double liaison *via* une oxydation de type Saegusa-Ito.<sup>135</sup> Le composé obtenu subit ensuite différentes modifications pour aboutir à l'obtention du durlobactam avec un rendement global de 1% sur 14 étapes à partir du précurseur énone cyclique (Schéma 25).

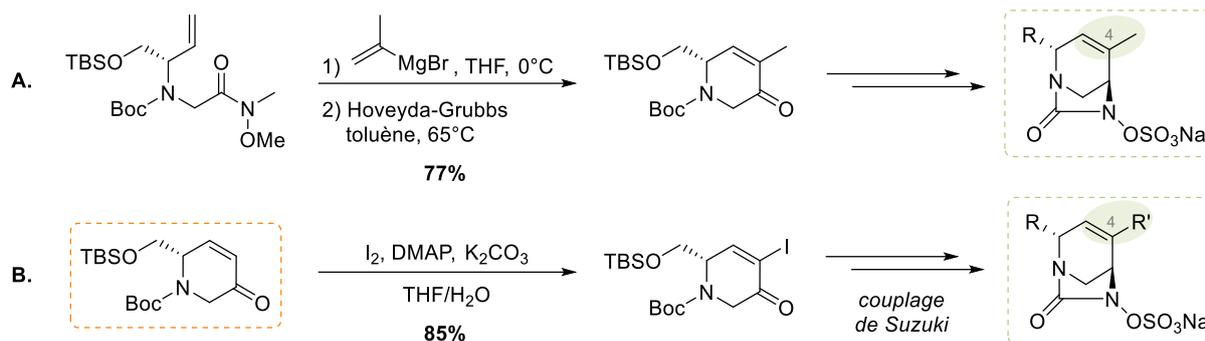


**Schéma 25.** Synthèse du durlobactam à partir du précurseur énone cyclique

Plusieurs autres analogues DBOs insaturés présentant une substitution en position C3 ou C4 ont également été synthétisés au cours de cette étude, à partir notamment de cet intermédiaire clé énone cyclique ou bien à partir d'un autre précurseur également obtenu par métathèse.<sup>78</sup>

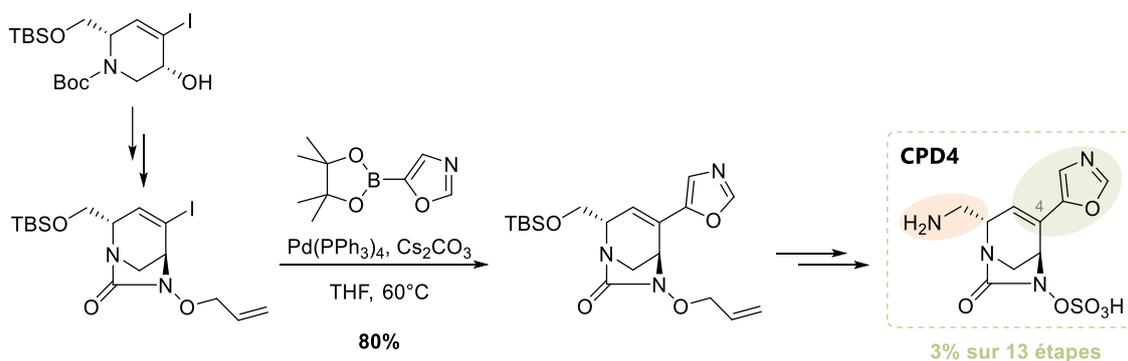
L'accès aux composés substitués en position C4 est alors possible selon différentes voies de synthèse. L'introduction d'un groupement méthyle en cette position peut par exemple provenir de l'addition de bromure d'isopropénylmagnésium sur l'amide de Weinreb décrite précédemment dans le schéma 23, suivie de la fermeture de cycle par métathèse (Schéma 26A). Une autre possibilité pour introduire un substituant en position C4 repose sur une réaction d'iodation du précurseur cyclique énone (Schéma 26B). Cette position pourra alors facilement être fonctionnalisée par couplage de Suzuki dans la suite de la synthèse afin d'introduire le substituant souhaité.<sup>78</sup>

<sup>135</sup> Y. Ito, T. Hirao, T. Saegusa, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 1011-1013



**Schéma 26.** Voies d'accès à des DBOs insaturés substitués en position C4

Cette dernière méthodologie a d'ailleurs été utilisée par les chimistes de chez Mutabilis en 2019 pour synthétiser un nouvel analogue DBO, nommé CPD4, qui incorpore un motif oxazole sur la double liaison en position C4 (Schéma 27).<sup>136</sup> Une voie de synthèse en 13 étapes permet alors d'accéder à ce composé avec un rendement global de 3% à partir de l'alcool allylique iodé développé par les chercheurs de chez AstraZeneca. La fonctionnalisation de la position C4 par couplage de Suzuki est alors réalisée sur le cycle DBO déjà formé.



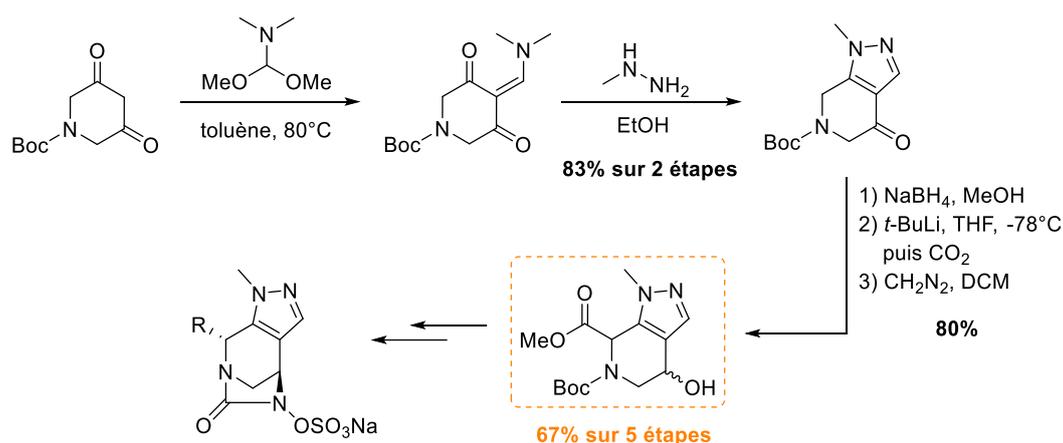
**Schéma 27.** Synthèse du composé CPD4 par couplage de Suzuki

CPD4 possède une excellente activité antibactérienne en raison de l'inhibition efficace des PBP2 et est également un bon inhibiteur de  $\beta$ -lactamases de certaines enzymes de classe D (OXA-48 et OXA-15). En revanche, il ne présente qu'une inhibition modeste des  $\beta$ -lactamases de classe A et n'est que très peu efficace sur celles de classe C. Sa combinaison avec un antibiotique  $\beta$ -lactame n'a donc pas été envisagée en raison de son faible profil d'inhibition vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases.

<sup>136</sup> N. Levy, J.-M. Bruneau, E. Le Rouzic, D. Bonnard, F. Le Strat, A. Caravano, F. Chevreuil, J. Barbion, S. Chasset, B. Ledoussal, F. Moreau, M. Ruff, *J. Med. Chem.* **2019**, 62, 4742-4754

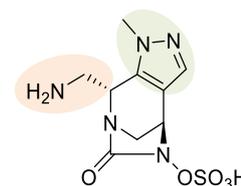
### iii. Développement de DBOs-pyrazole

Les chimistes de chez Aventis Pharma ont été les premiers à décrire dans un brevet paru en 2002 la synthèse d'analogues DBOs diversement substitués sur le cycle pipéridine avec le développement d'une série de plusieurs composés tricycliques.<sup>137</sup> Ils ont notamment rapportés la synthèse de composés présentant un motif 1-méthyl-1*H*-pyrazole accolé au cycle diazabicyclooctane (Schéma 28). L'introduction de ce motif est alors réalisée *via* la condensation de Knœvenagel d'une dioxopipéridine protégée avec le 1,1-diméthoxy-*N,N*-diméthyl-méthanamine, suivie d'une seconde condensation avec la méthylhydrazine. Cette méthodologie permet ainsi de former le cycle pyrazole avec un rendement de 83% sur 2 étapes. La cétone de ce composé bicyclique est alors réduite en alcool en présence de NaBH<sub>4</sub> dans l'objectif d'introduire par la suite la fonction hydroxylamine en cette position. Puis afin d'accéder à des DBOs présentant une chaîne latérale en position C2, une fonction acide carboxylique est introduite après déprotonation en présence de *tert*-butyllithium et addition de dioxyde de carbone. Celle-ci est alors protégée sous la forme d'un ester méthylique *via* l'utilisation de diazométhane. Le précurseur bicyclique obtenu va alors subir diverses modifications pour accéder à des analogues DBOs présentant un motif 1-méthyl-1*H*-pyrazole.



**Schéma 28.** Premières étapes de synthèse permettant d'accéder à des DBOs 1-méthyl-1*H*-pyrazole

Ces travaux ont notamment conduit quelques années plus tard au développement du composé NXL-105 par les chercheurs de chez Novexel, une « spin-off » de Sanofi-Aventis (Figure 21). Ce composé est alors synthétisé en 13 étapes à partir du précurseur bicyclique précédemment décrit avec un rendement global de 18%.<sup>138</sup> Bien que ce DBO-pyrazole n'inhibe efficacement que les β-lactamases de classe A, il s'est cependant avéré présenter des propriétés antibiotiques contre *P. aeruginosa* vraisemblablement dues à l'inhibition de certaines PBP.<sup>66</sup>

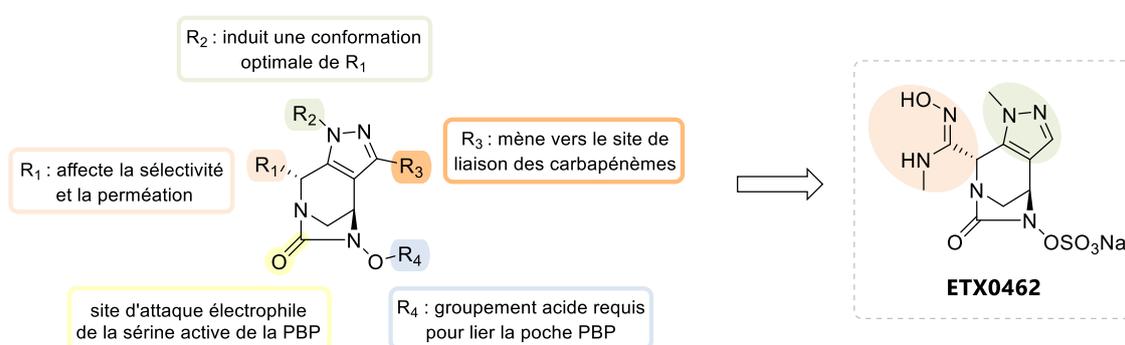


**Figure 21.** Structure du composé NXL-105

<sup>137</sup> J. Aszodi, M. Lampilas, B. Musicki, A. D. Rowlands, P. Collette, Aventis Pharma, WO02100860, **2002**

<sup>138</sup> P. Levasseur, J. L. Pace, K. Coleman, J. Lowther, Novexel, US20100092443, **2010**

Cette capacité de différents composés DBOs à inhiber certaines PBP, conduisant ainsi à une activité antibactérienne *in vitro*, a incité T. F. Durand-Réville et ses collaborateurs à mettre au point une stratégie pour concevoir rationnellement un DBO capable d'inhiber plusieurs PBP. L'optimisation réalisée autour du système tricyclique DBO-pyrazole a alors abouti à la découverte récente du composé ETX0462, qui présente une puissante activité inhibitrice de PBP, *in vitro* mais surtout *in vivo*, contre divers agents pathogènes à Gram négatif (Figure 22).<sup>139</sup> La modification de la chaîne latérale en position C2 du cycle DBO a notamment été essentielle pour améliorer la perméation du composé. La synthèse de ce DBO-pyrazole ETX0462 repose alors sur une méthodologie relativement similaire à celle employée pour accéder au composé NXL-105 et requiert 17 étapes à partir de la dioxopipéridine protégée pour un rendement global de 5%.<sup>140</sup>



**Figure 22.** Résumé de la conception rationnelle de DBOs pour l'inhibition de multiples PBP qui a abouti à la découverte du composé ETX0462 (Figure inspirée de la Réf.<sup>139</sup>)

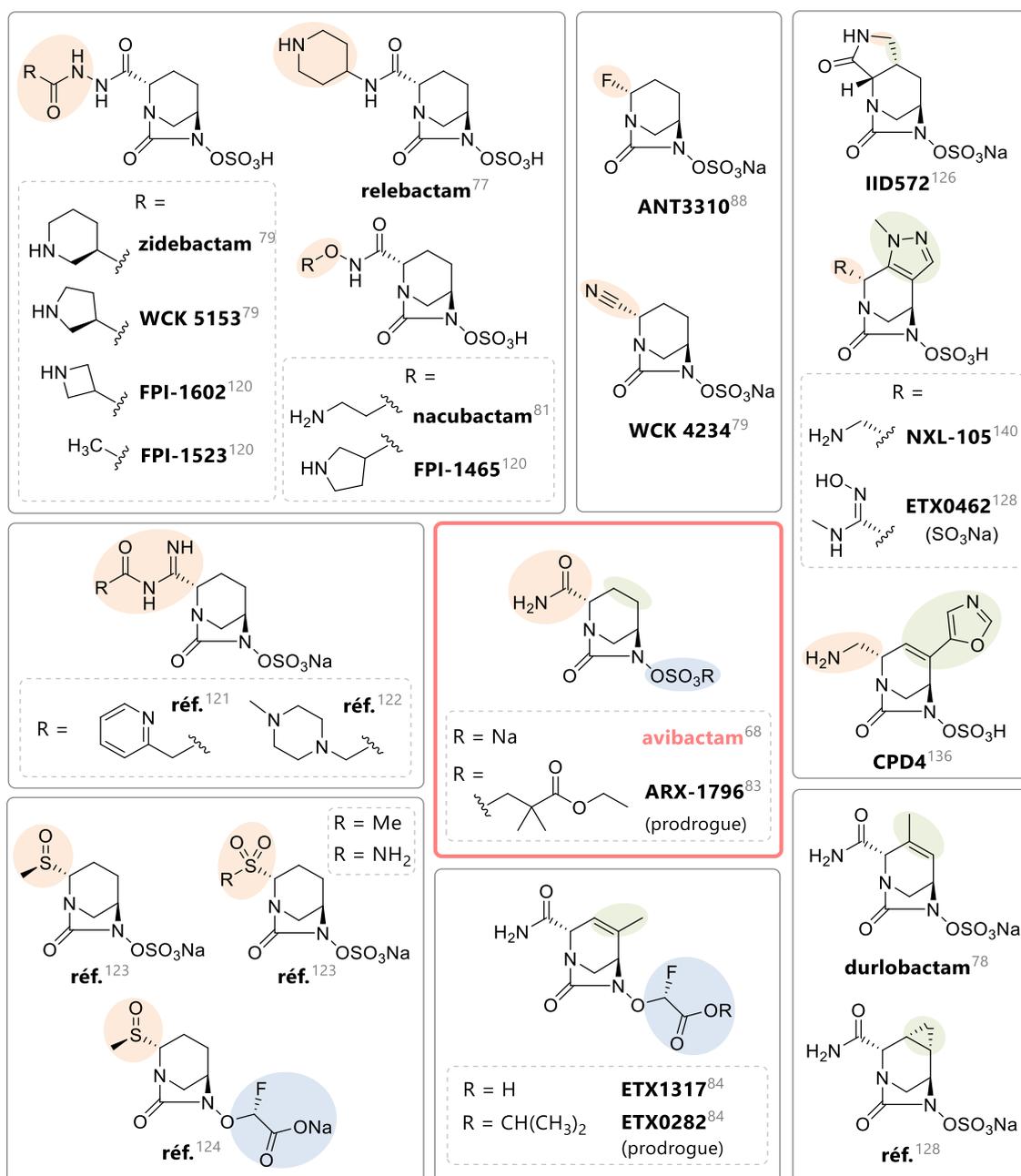
Grâce à sa structure diazabicyclooctane, cet inhibiteur covalent à large spectre de multiples PBP, n'est pas inactivé par les  $\beta$ -lactamases et conserve ainsi son activité en présence d'un panel très étendu d'enzymes de classes A, B, C et D. En raison de sa puissante activité antibactérienne, il n'a alors pas besoin d'être associé à un antibiotique  $\beta$ -lactame et peut donc être utilisé en monothérapie. Cette nouvelle approche représente ainsi une avancée considérable dans la lutte antibactérienne puisque s'il est développé avec succès, l'ETX0462 pourrait être le point de départ au développement d'une toute nouvelle classe d'antibiotiques ciblant les pathogènes à Gram négatifs multi-résistants.

<sup>139</sup> T. F. Durand-Réville, A. A. Miller, J. P. O'Donnell, X. Wu, M. A. Sylvester, S. Guler, R. Iyer, A. B. Shapiro, N. M. Carter, C. Velez-Vega, S. H. Moussa, S. M. McLeod, A. Chen, A. M. Tanudra, J. Zhang, J. Comita-Prevoir, J. A. Romero, H. Huynh, A. D. Ferguson, P. S. Horanyi, S. J. Mayclin, H. S. Heine, G. L. Drusano, J. E. Cummings, R. A. Slayden, R. A. Tommasi, *Nature* **2021**, 597, 698-702

<sup>140</sup> J. Comita-Prevoir, T. F. Durand-Réville, S. Guler, J. Romero, M. Sylvester, R. Tommasi, C. Velez-Vega, X. Wu, J. Zhang, Entasis Therapeutics, WO2018208769, **2018**

### c. Conclusion

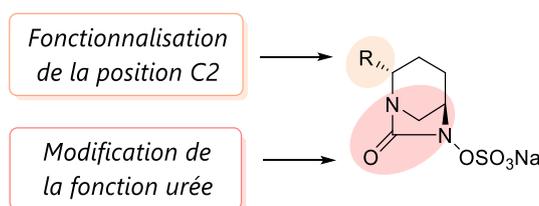
L'avibactam, premier représentant de cette classe d'inhibiteurs, a ainsi servi de point de départ au développement de nombreux composés diazabicyclooctanes (Figure 23). Certains ont d'ailleurs montré une très bonne activité inhibitrice de  $\beta$ -lactamases et sont en cours d'essais clinique. Quelques composés possèdent même une activité antibactérienne intrinsèque *via* l'inhibition de certaines PBP voire de multiples PBP. Le développement de nouvelles méthodologies pour accéder à des composés DBOs diversement substitués est donc particulièrement intéressant pour continuer à explorer ces structures diazabicyclooctanes.



**Figure 23.** Résumé des diverses modulations effectuées autour du cycle DBO depuis l'introduction de l'avibactam, illustrées par des composés pertinents de chaque famille

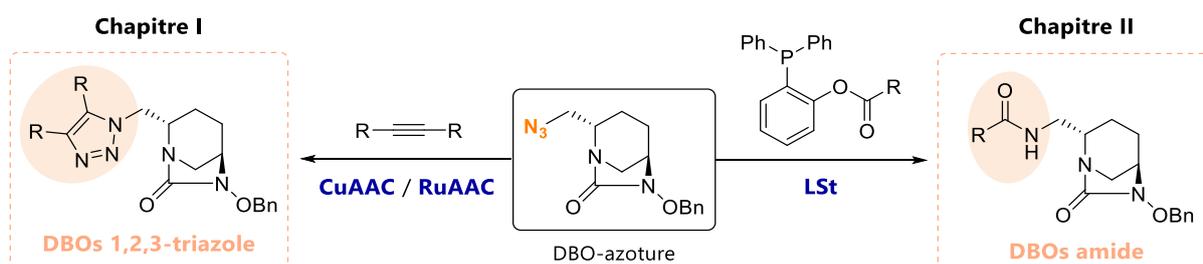
## IV. Objectifs de la thèse

Dans le cadre de ces travaux de thèse nous allons nous intéresser au développement de nouveaux analogues DBOs dans l'objectif d'étudier l'impact de l'introduction de diverses modifications vis-à-vis de l'inhibition de  $\beta$ -lactamases. Deux stratégies vont alors être employées afin d'accéder à de potentiels inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase de 2<sup>nde</sup> génération. La première repose sur la fonctionnalisation de la position C2 du cycle DBO tandis que la seconde consiste à modifier la fonction urée (Figure 24).



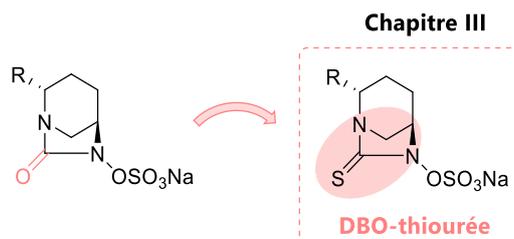
**Figure 24.** Modifications explorées autour de la structure DBO

La première partie de ce manuscrit sera ainsi consacrée à la mise au point de nouvelles méthodologies permettant d'accéder à des DBOs fonctionnalisés à partir d'un précurseur DBO-azoture, afin d'apporter facilement de la diversité moléculaire en position C2 (Schéma 29). L'introduction d'un motif 1,2,3-triazole *via* des réactions de cycloadditions azoture-alcyne métallo-catalysées sera tout d'abord abordée dans le chapitre I. Puis le second chapitre traitera quant à lui de la synthèse de nouveaux composés DBOs fonctionnalisés par ligation de Staudinger traceless.



**Schéma 29.** Fonctionnalisation de la position C2

Le troisième chapitre de ce manuscrit couvrira finalement une modification qui n'a encore jamais été étudiée lors de l'exploration de la structure diazabicyclooctane pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases, et sera focalisée sur la modification de la fonction urée avec le développement d'analogues DBOs-thiourée (Schéma 30).



**Schéma 30.** Remplacement du motif urée par une fonction thiourée

L'activité biologique de ces nouveaux DBOs vis-à-vis de l'inhibition de  $\beta$ -lactamases sera étudiée par nos collaborateurs microbiologistes du Centre de recherche des Cordeliers, l'équipe du Dr Michel Arthur. L'objectif sera alors d'évaluer, sur un panel de plusieurs  $\beta$ -lactamases cliniquement pertinentes, l'impact de l'introduction de ces différents motifs sur le cycle DBO en comparaison avec deux composés de référence : l'avibactam et le relebactam.



## **Chapitre I : Introduction d'un motif 1,2,3-triazole**

---



## I. Réactions de cycloadditions azoture-alcyne

### 1. La chimie « click », une nouvelle approche synthétique

#### a. Introduction et portée du concept

Le concept de chimie « click » a été introduit pour la première fois en 2001 par K. B. Sharpless et ses collaborateurs.<sup>141</sup> Il fait alors référence à un ensemble de réactions permettant de « clipper » facilement deux molécules d'intérêt ensemble. Dans un contexte de recherche où la pharmacomodulation occupait une place importante dans la découverte de principes actifs innovants, K. B. Sharpless a présenté ce concept dans l'optique d'accélérer la mise au point de nouveaux médicaments. Son objectif visait à fournir une méthodologie efficace donnant facilement accès à une grande diversité de composés. Pour cela, il s'est intéressé à la possibilité de générer sélectivement et rapidement de nouvelles molécules, *via* la formation de liaisons carbone-hétéroatome énergétiquement très favorables entre de petites entités moléculaires.

Cette nouvelle approche synthétique a simplifié la mise au point de nouveaux composés et fournit un accès rapide pour la découverte et l'optimisation de hits. Elle n'a pas remplacé les méthodes existantes de découverte de médicaments mais les a complétées. Au côté de nouvelles technologies comme la synthèse sur support solide, les réactions assistées par micro-ondes, la chimie en flux, la chimie combinatoire et d'autres approches synthétiques comme les réactions multi-composantes et l'ouverture de cycle par métathèse, elle a révolutionné les techniques de synthèse en chimie médicinale.<sup>142</sup>

#### b. Les réactions de chimie « click »

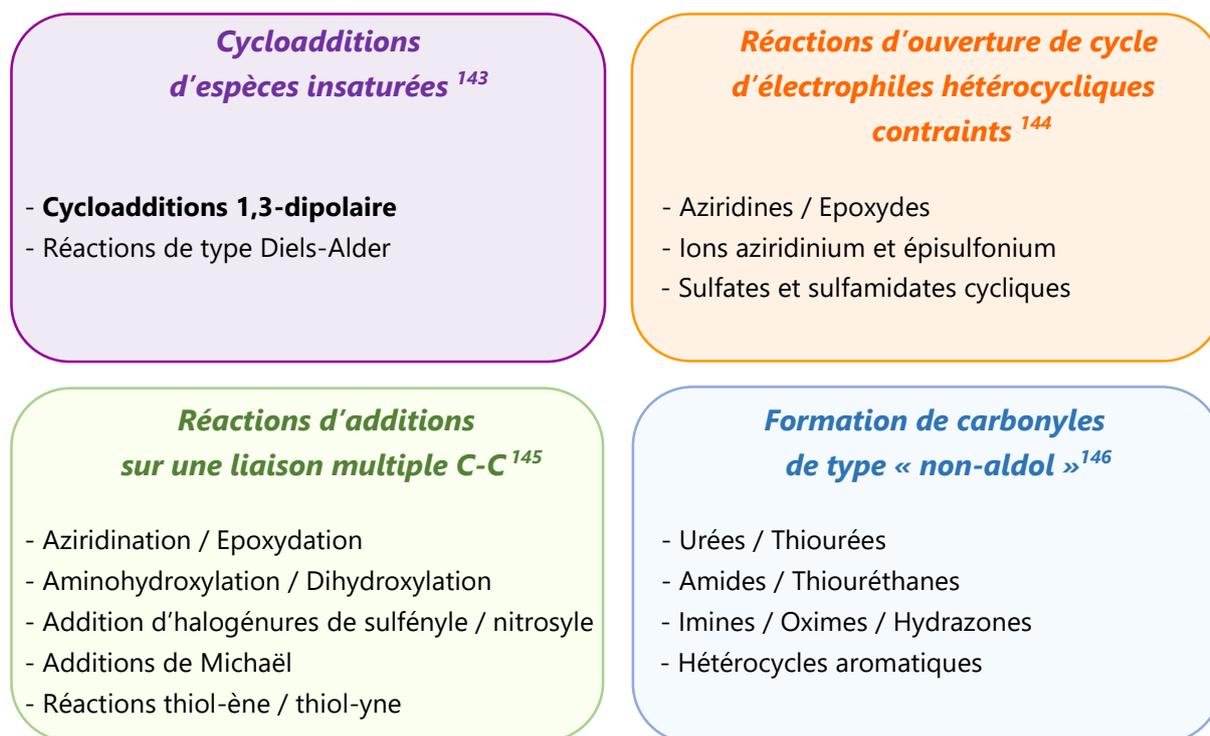
Différents critères ont été établis afin d'encadrer cette notion de chimie « click ». La réaction doit notamment présenter des rendements élevés et des conditions réactionnelles simples à mettre en œuvre ainsi qu'être régio/stéréo-spécifique. Facilement modulable, elle permet aussi une grande diversité moléculaire. La réaction doit également pouvoir être conduite à température ambiante et pression atmosphérique en utilisant des réactifs facilement disponibles. Idéalement, celle-ci doit aussi pouvoir être réalisée dans l'eau ou sans solvants ; l'emploi de solvants protiques rentrant également dans ce cadre. De plus, la formation d'un produit stable et facilement isolable doit être observée en ne générant que des sous-produits inertes. Enfin, il est nécessaire qu'elle soit thermodynamiquement favorisée et conduite spécifiquement à un seul produit.

Un aperçu de grandes réactions pouvant adhérer à ces principes est présenté sur la Figure 25.

---

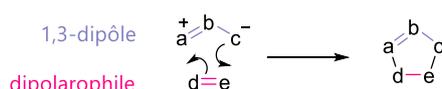
<sup>141</sup> H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021

<sup>142</sup> M. Colombo, I. Peretto, *Drug Discov. Today* **2008**, *13*, 677-684



**Figure 25.** Exemples de réactions de chimie « click »

Dans le cadre de cette thèse, nous allons nous intéresser plus particulièrement à des réactions de cycloadditions d'espèces insaturées impliquant des hétéroatomes, les cycloadditions 1,3-dipolaires, qui sont de parfaits exemples de chimie « click ». <sup>147</sup> Elles permettent un accès rapide à une très grande variété d'hétérocycles à 5 chaînons non chargés, par cycloaddition [3+2] d'un composé 1,3 dipolaire avec un dipolarophile (Schéma 31).



**Schéma 31.** Modèle de cycloaddition 1,3-dipolaire

<sup>143</sup> U. Chiacchio, A. Padwa, G. Romeo, *Curr. Org. Chem.* **2009**, 13, 422-447

<sup>144</sup> a) V. V. Fokin, P. Wu, *Aziridines and Epoxydes in Organic Synthesis* **2006**, 443-477 b) A. Megia-Fernandez, M. Ortega-Munoz, F. Hernandez-Mateo, F. Santoyo-Gonzalez, *Adv. Synth. Catal.* **2012**, 354, 1797-1803

<sup>145</sup> a) H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Transition Met. Org. Synth.* **2004**, 2, 275-336 b) C. E. Hoyle, A. B. Lowe, C. N. Bowman, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 1355-1387 c) Y. Zhu, Q. Wang, R. G. Cornwall, Y. Shi, *Chem. Rev.* **2014**, 114, 8199-8256 d) D. P. Nair, M. Podgorski, S. Chatani, T. Gong, W. Xi, C. R. Fenoli, C. N. Bowman, *Chem. Mater.* **2014**, 26, 724-744

<sup>146</sup> a) J. Collins, Z. Xiao, M. Müllner, L. A. Connal, *Polym. Chem.* **2016**, 7, 3812-3826 b) P. Elías-Rodríguez, V. Pingitore, A. T. Carmona, A. J. Moreno-Vargas, D. Ide, S. Miyawaki, A. Kato, E. Á lvarez, I. Robina, *J. Org. Chem.* **2018**, 83, 8863-8873

<sup>147</sup> M. S. Singh, S. Chowdhury, S. Koley, *Tetrahedron* **2016**, 72, 1603-1644

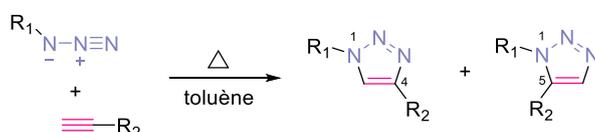
Ce type de cycloaddition péricyclique concertée a été introduit pour la première fois par L. I. Smith en 1938,<sup>148</sup> mais n'a été développé qu'au début des années 1960 par R. Huisgen.<sup>149</sup> Il fut le premier à s'intéresser à cette réaction en faisant varier la nature des 1-3-dipôles et des dipolarophiles. Il a d'ailleurs conduit la plupart des études sur ce sujet jusqu'à son décès en mars 2020.

L'une d'entre elles a notamment été rendue très populaire grâce à l'introduction de la chimie « click » : la cycloaddition 1,3-dipolaire entre un azoture et un alcyne terminal (AAC).<sup>150</sup>

## 2. Formation de 1,2,3-triazoles par cycloaddition azoture-alcyne

### a. La cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen

Une première réaction de cycloaddition thermique entre un azoture et un alcyne a été décrite en 1893 par A. Michael.<sup>151</sup> Mais il a fallu attendre 1965, qu'au cours de ses recherches sur les cycloadditions 1,3-dipolaires, R. Huisgen s'intéresse à ces travaux et réalise une nouvelle étude de cette réaction.<sup>152</sup> Il est alors apparu que l'utilisation d'un alcyne terminal, en présence d'un azoture au reflux du toluène, conduit à la formation de 1,2,3-triazoles sous la forme d'un mélange de deux régioisomères 1,4 et 1,5-disubstitués (Schéma 32).



**Schéma 32.** Réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen

Les azotures sont des composés peu réactifs du fait de leur grande stabilité cinétique. Leur réactivité en présence d'alcynes nécessite donc des températures élevées et sont relativement longues, mais présente tout de même l'avantage d'être quasiment exempt de réactions secondaires. Ces conditions limitant cependant l'utilisation de cette réaction comme technique de conjugaison efficace, cette réaction de cycloaddition à fort potentiel a été assez peu employée. C'est la découverte d'une variante catalysée au cuivre (I) qui a alors relancé l'intérêt de la formation de 1,2,3-triazoles par cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen.

<sup>148</sup> L. I. Smith, *Chem. Rev.* **1938**, 23, 193-285

<sup>149</sup> a) R. Huisgen, *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 357-369 b) R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, 2, 565-598 c) R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, 2, 633-645

<sup>150</sup> H.C. Kolb, K. B. Sharpless, *Drug Discov. Today* **2003**, 8, 1128-1137

<sup>151</sup> A. Michael, *J. Prakt. Chem.* **1893**, 48, 94-95

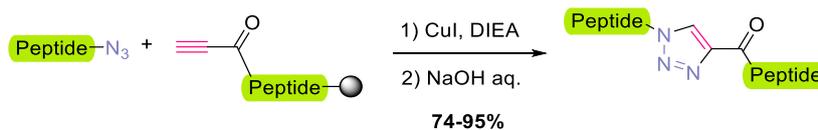
<sup>152</sup> R. Huisgen, R. Knorr, L. Möbius, G. Szeimies, *Chem. Ber.* **1965**, 98, 4014-4021

## b. CuAAC : catalyse par le cuivre (I)

La cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le cuivre (I) (CuAAC) a été introduite simultanément par M. Meldal<sup>153</sup> et K. B. Sharpless<sup>154</sup> en 2002. Son principal atout par rapport à la réaction originale non catalysée se trouve dans le contrôle de la régiosélectivité, avec une sélectivité complète en faveur du composé 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué.

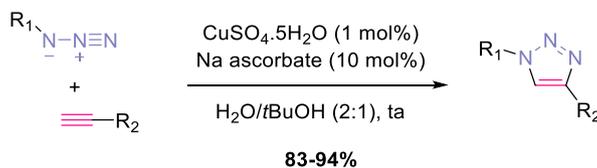
### i. Sources de cuivre (I)

M. Meldal et son équipe ont tout d'abord rapporté une version de la CuAAC sur support solide pour la synthèse de peptidotriazoles. L'utilisation de sels de cuivre (I) comme catalyseur de la réaction, a alors permis la préparation de composés 1,4-disubstitués variés, dans des conditions réactionnelles douces avec des rendements élevés (Schéma 33). Des résultats comparables ont été obtenus avec d'autres sources de cuivre (I) tels que CuCl et le complexe [CuBr.Me<sub>2</sub>S].



**Schéma 33.** Synthèse de peptidotriazoles par CuAAC sur support solide

Parallèlement, K. B. Sharpless et ses collaborateurs ont quant à eux rapporté l'utilisation d'un système Cu (II) / Na ascorbate pour la formation de 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués. Leur approche, moins coûteuse, repose sur la génération *in situ* de l'espèce catalytique de cuivre (I), par réduction des sels de cuivre (II) en présence d'ascorbate de sodium. Dans ces conditions, ils ont décrit de manière régiosélective, la synthèse en milieu aqueux et à température ambiante, de composés diversement substitués avec d'excellents rendements (Schéma 34).



**Schéma 34.** Synthèse catalysée au cuivre (I) de 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués

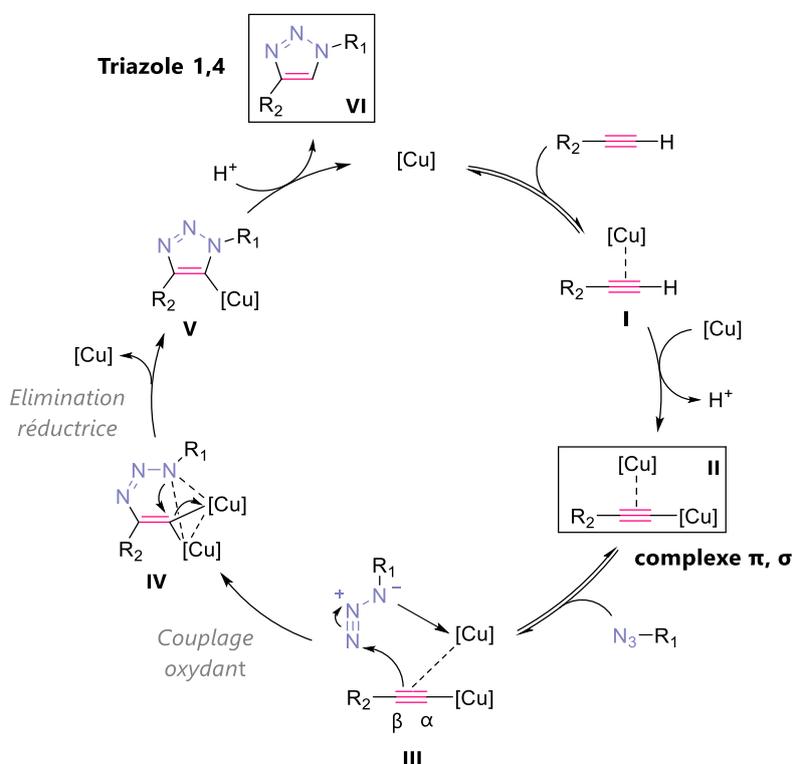
<sup>153</sup> C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064

<sup>154</sup> V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599

Cette dernière approche impliquant la réduction des sels de cuivre (II), plus stables et moins chers, est de plus compatible à l'eau et à l'air ce qui en fait la méthode de CuAAC la plus largement utilisée.

## ii. Mécanisme catalytique

Cette réaction a fait l'objet de nombreuses études mécanistiques pour expliquer cette régiosélectivité et différents mécanismes sont proposés dans la littérature. Les travaux menés par V. V. Fokin<sup>155</sup> et G. Bertrand<sup>156</sup> suggèrent notamment une voie cinétiquement favorisée qui passe par la formation d'un intermédiaire de cuivre dinucléaire (Schéma 35).



**Schéma 35.** Mécanisme proposé pour la formation de 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués par CuAAC

Dans un premier temps, le cuivre va former un complexe  $\pi$ -coordiné **I** avec l'alcyne terminal. Cela va entraîner la déprotonation de ce dernier et la formation *in situ* d'un acétylure de cuivre  $\sigma$ -coordiné, qui peut alors créer une nouvelle liaison  $\pi$  avec un second atome de cuivre. Ce mécanisme implique ainsi un acétylure  $\pi, \sigma$ -coordiné à deux atomes de cuivre **II**, qui va activer la fonction azoture et permettre par couplage oxydant, la formation du métallacycle à 6 chaînons **IV** stabilisé par une coordination bimétallique. La régiosélectivité observée en faveur

<sup>155</sup> B. T. Worrell, J. A. Malik, V. V. Fokin, *Science* **2013**, 340, 457-460

<sup>156</sup> L. Jin, D. R. Tolentino, M. Melaimi, G. Bertrand, *Sci. Adv.* **2015**, 1, e1500304

du composé 1,4-disubstitué pourrait s'expliquer par une coordination du second atome de cuivre au niveau du carbone  $\alpha$  de l'acétylure qui entraîne l'attaque nucléophile du carbone  $\beta$  sur l'azote terminal de l'azoture.<sup>157</sup> La contraction de ce métallacycle **IV** va alors conduire au dérivé cuprate de triazole **V**, qui par protonation libère le composé 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué **VI** tout en régénérant le catalyseur à base de cuivre.

### iii. Atouts et limitations

#### Avantages

- **Cinétiquement favorable** :  $\sim 10^7$  à  $10^8$  fois plus rapide que la version non-catalysée<sup>158</sup>
  - **Excellente régiosélectivité** : isomère 1,4-disubstitué comme seul produit de la réaction
  - **Conditions réactionnelles douces** et **rendements élevés**
  - **Facilités d'utilisation** :
    - Conditions opérationnelles simples
    - Grande stabilité à l'eau et à l'air
    - Compatible avec une large gamme de solvants
    - Nombreuses sources de cuivre possibles comme pré-catalyseur
    - Alcyne et azoture facilement accessibles
  - Grande tolérance dans la **nature des substituants** : ne nécessite pas de groupements protecteurs
  - Introduction aisée de **diversité moléculaire**
- ➔ Ajout majeur à la famille des réactions de **chimie « click »**

<sup>157</sup> B. Schulze, U. S. Schubert, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 2522-2571

<sup>158</sup> F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V. V. Rostovtsev, L. Noodleman, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210-216

## Limitations

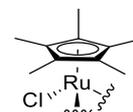
- Sécurité de manipulation des azotures en raison de leur caractère explosif
- **Toxicité du cuivre** pour son application en milieu biologique<sup>159</sup>  
Alternative : Utilisation de ligands pour coordonner le cuivre tels que TBTA<sup>160</sup> ou THPTA<sup>161</sup>
- Ne s'applique pas aux **alcynes internes**  
Alternative : Pour accéder à des 1,2,3-triazoles trisubstitués, il est possible d'utiliser un système catalytique CuI-TTTA<sup>162</sup> pour accéder à des 5-iodo 1,2,3-triazoles facilement fonctionnalisables à partir de 1-iodoalcynes.

## c. RuAAC : catalyse par le ruthénium (II)

L'introduction de la CuAAC a mis en évidence l'intérêt de développer une voie de synthèse tout aussi efficace pour l'obtention du régioisomère 1,5-disubstitué. V. V. Fokin et ses collaborateurs ont ainsi développé en 2005 la RuAAC, qui repose sur l'utilisation de complexes de ruthénium (II) comme catalyseurs de la réaction de cycloaddition azoture-alcyne.<sup>163</sup>

## i. Complexes de ruthénium (II)

L'étude de divers complexes a montré que l'efficacité et la régiosélectivité de celle-ci sont dépendantes de la nature du ligand autour du centre métallique. Ainsi, l'emploi de  $\text{Ru}(\text{OAc})_2(\text{PPh}_3)_2$  donne lieu uniquement à la formation du 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué, tandis qu'un mélange des deux régioisomères est obtenu avec  $\text{CpRuCl}(\text{PPh}_3)_2$ . En revanche, l'utilisation de complexes de type «  $\text{Cp}^*\text{RuCl}$  » (Figure 26), stériquement plus encombrés, aboutit à la synthèse sélective du régioisomère 1,5-disubstitué.



**Figure 26.**  
Complexe de type  
«  $\text{Cp}^*\text{RuCl}$  »

<sup>159</sup> D. C. Kennedy, C. S. McKay, M. C. B. Legault, D. C. Danielson, J. A. Blake, A. F. Pegoraro, A. Stolow, Z. Mester, J. P. Pezacki, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 17993-18001

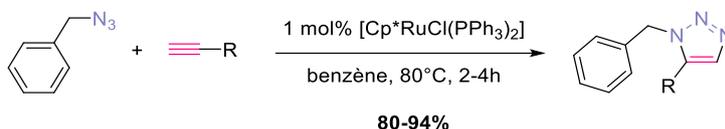
<sup>160</sup> T. R. Chan, R. Hilgraf, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2853-2855

<sup>161</sup> V. Hong, S. I. Presolski, C. Ma, M. G. Finn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9879-9883

<sup>162</sup> a) J. E. Hein, J. C. Tripp, L. B. Krasnova, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 8018-8021 b) C. Spiteri, J. E. Moses, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 31-33

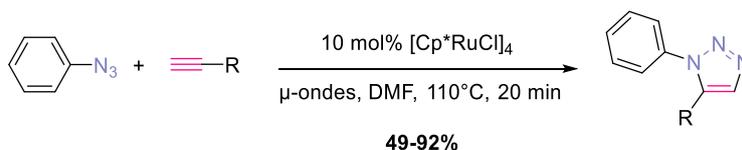
<sup>163</sup> L. Zhang, X. Chen, P. Xue, H. H. Y. Sun, I. D. Williams, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, G. Jia, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998-15999

$\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$  a notamment été identifié comme un catalyseur efficace, peu sensible à l'air et à l'humidité. En présence de ce complexe, l'azoture de benzyle et divers alcynes terminaux, au reflux du benzène, ont ainsi conduit à la formation du composé 1,5-disubstitué avec de très bons rendements allant de 80 à 94% (Schéma 36).



**Schéma 36.** RuAAC entre l'azoture de benzyle et des alcynes diversement substitués

La nature de l'azoture joue un rôle essentiel dans cette réaction de cycloaddition et l'emploi d'azotures d'aryle conduit généralement à de faibles rendements et à la formation de sous-produits. Cet inconvénient a été pallié par la même équipe en 2007, avec la mise au point d'un système catalytique amélioré. L'utilisation de  $[\text{Cp}^*\text{RuCl}]_4$  dans du DMF sous irradiations micro-ondes à 110°C, permet alors un accès facile aux 1,2,3-triazoles 1-arylsustitués (Schéma 37).<sup>164</sup>



**Schéma 37.** Synthèse de 1,2,3-triazoles 1-arylsustitués par RuAAC sous irradiation micro-ondes

Bien que la RuAAC ne nécessite pas forcément d'activation thermique, des températures élevées sont nécessaires dans la plupart des cas pour améliorer son efficacité. Un autre complexe très utilisé, le  $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{COD})$  (Figure 27), plus réactif bien que sensible à la dégradation en présence d'oxygène, est alors plus adapté aux cycloadditions à température ambiante.<sup>165</sup>



**Figure 27.**  $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{COD})$

<sup>164</sup> L. K. Rasmussen, B. C. Boren, V. V. Fokin, *Org. Lett.* **2007**, 9, 5337-5339

<sup>165</sup> B. C. Boren, S. Narayan, L. K. Rasmussen, L. Zhang, H. Zhao, Z. Lin, G. Jia, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 8923-8930

## ii. Alcynes internes

Le système « Cp\*RuCl » présente l'avantage de s'appliquer également aux alcynes internes donnant accès à des dérivés 1,2,3-triazoles trisubstitués.<sup>25</sup> Le produit de la réaction est alors très dépendant de la nature des substituants de ces alcynes asymétriques. Une haute régiosélectivité peut être observée en présence de certains groupes directeurs. Ainsi, l'utilisation d'un groupement acyl<sup>166</sup> ou cyano<sup>167</sup> donne lieu à des composés 1,4,5-trisubstitués portant ces substituants en position 4. Tandis que les thio-alcynes<sup>168</sup> et ynamides<sup>169,165</sup> ou encore un groupement donneur de liaison hydrogène en position propargylique<sup>26</sup> (alcool ou amine), présentent une régiosélectivité inverse avec les substituants correspondants en position 5 (Schéma 38).

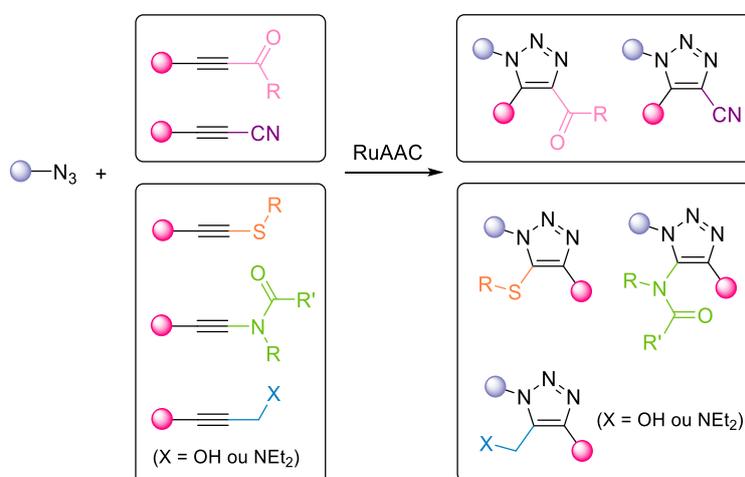


Schéma 38. Régiosélectivité de la RuAAC avec des alcynes internes

## iii. Mécanisme catalytique

Cette réaction de cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le ruthénium (II) a également fait l'objet de plusieurs études. Un premier mécanisme a notamment été postulé par l'équipe de V. V. Fokin<sup>165</sup> en 2008 puis conforté et approfondi par l'équipe de S. P. Nolan<sup>170</sup> en 2012. Un mécanisme recoupant ces données est proposé ci-dessous (Schéma 39).<sup>157</sup>

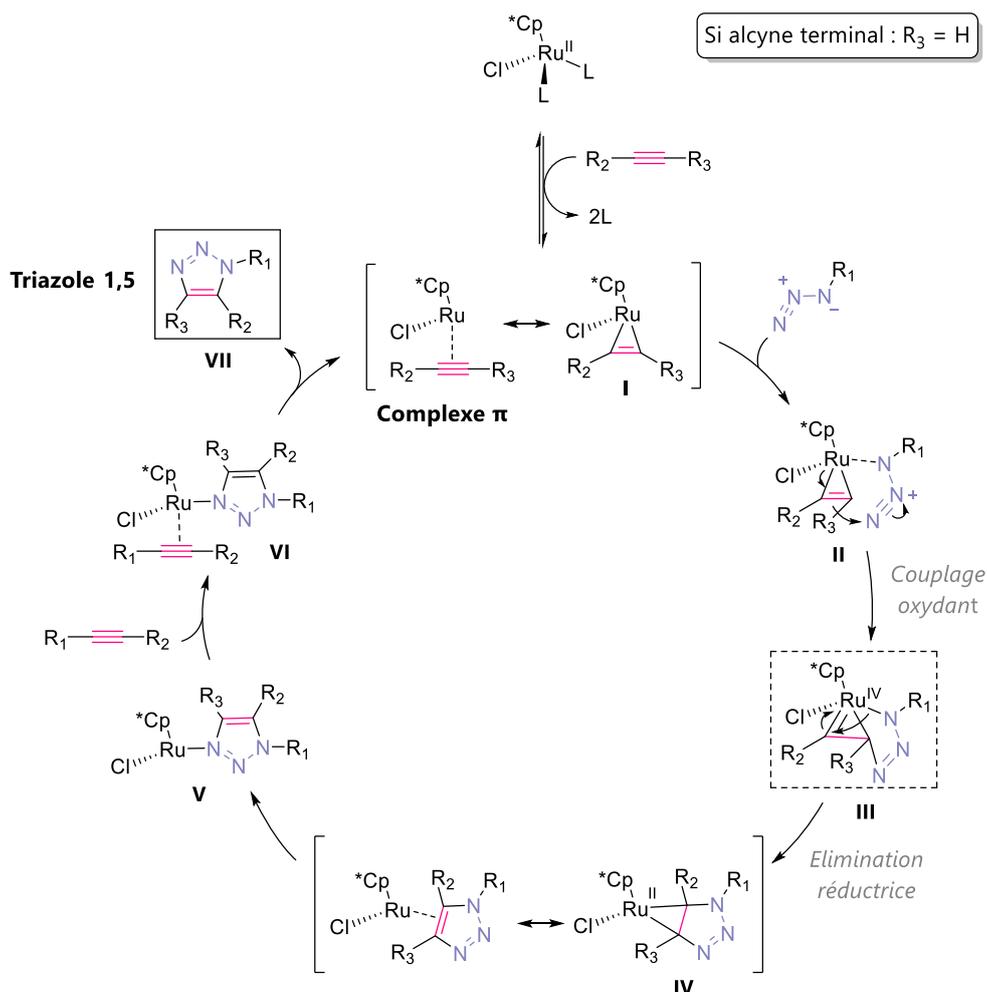
<sup>166</sup> M. M. Majireck, S. M. Weinreb, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8680-8683

<sup>167</sup> P. Liu, R. J. Clark, L. Zhu, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 5092-5103

<sup>168</sup> P. Destito, J. R. Couceiro, H. Faustino, F. Lopez, J. L. Mascarenas, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 10766-10770

<sup>169</sup> S. Ferrini, J. Z. Chandanshive, S. Lena, M. C. Franchini, G. Giannini, A. Tafi, M. Taddei, *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 2562-2572

<sup>170</sup> M. Lamberti, G. C. Fortman, A. Poater, J. Broggi, A. M. Z. Slawin, L. Cavallo, S. P. Nolan, *Organometallics* **2012**, *31*, 756-767



**Schéma 39.** Mécanisme proposé pour l'obtention de 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués et 1,4,5-trisubstitués par RuAAC

Contrairement à la CuAAC l'alcyne n'est pas activé sous forme d'acétylure de cuivre, mais par une nucléophilie accrue qui provient d'une interaction  $\pi$  avec le noyau métallique du complexe de ruthénium, générant l'espèce catalytique active **I**. C'est pour cette raison que la RuAAC s'applique également aux alcyne internes. L'azoture se coordine alors au complexe métallique, puis un couplage oxydant de l'alcyne et de l'azoture permet la formation d'un ruthénacycle à 6 chaînons **III**. C'est l'étape clé de ce cycle catalytique. En effet, la création de cette liaison C-N entre le carbone le moins encombré et le plus électro-négatif de l'alcyne ( $R_3$  dans le cas d'un alcyne terminal), et l'azote terminal de l'azoture commande la régiosélectivité de la réaction. La formation de cet intermédiaire est facilitée par le ligand pentaméthylcyclopentadiényle ( $Cp^*$ ), riche en électrons, qui stabilise le ruthénacycle. Ce ligand  $Cp^*$ , stériquement très encombré, va ensuite également favoriser l'étape d'élimination réductrice conduisant à la formation d'un intermédiaire métallacyclopropane **IV**. Après isomérisation, on accède alors à un complexe métallo-triazole **V**. Un nouvel alcyne va ensuite se coordonner au complexe métallique et entraîner la libération du composé 1,2,3-triazole 1,5-disubstitué ou 1,4,5-trisubstitué **VII**, tout en régénérant l'espèce catalytique active **I**.

#### iv. Atouts et limitations

##### Avantages

- **Très bonne régiosélectivité** : isomère 1,5-disubstitué comme produit de la réaction
- **Catalyseur stable à l'air** (excepté Cp<sup>\*</sup>RuCl(COD))
- Applicable aux alcynes terminaux et **alcynes internes**

##### Limitations

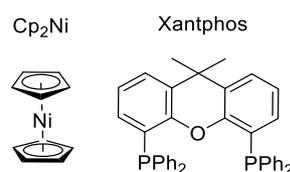
- **Températures élevées** en règle générale (60-120°C)
- Efficacité très dépendante de la **nature des substituants**
- Solvants protiques : néfastes en termes de régiosélectivité et d'efficacité catalytique<sup>171</sup>

#### d. NiAAC : catalyse par le nickel

Le développement d'une version hydro-compatible pour la synthèse de régioisomères 1,5-disubstitués, s'est alors révélée intéressante. C'est dans ce contexte que la cycloaddition alcyne-azoture catalysée par le nickel (NiAAC) a vu le jour.

##### i. Système catalytique

En 2017, S. Y. Hong et ses collaborateurs ont mis au point un nouvel accès aux 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués *via* l'utilisation d'un catalyseur à base de nickel.<sup>172</sup> Cette approche repose sur la génération *in situ* de Ni(Xantphos)<sub>2</sub> par réaction du nickelocène avec un ligand diphosphine bidenté (Figure 28).

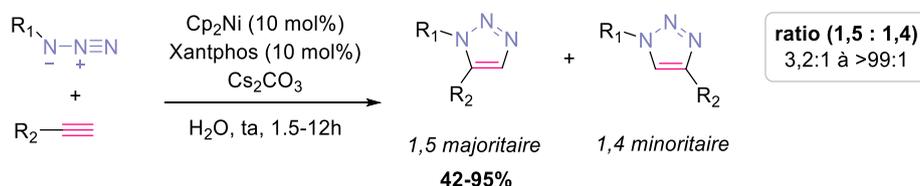


**Figure 28.** Système catalytique Cp<sub>2</sub>Ni/Xantphos

<sup>171</sup> J. R. Johansson, T. Beke-Somfai, A. S. Stalsmeden, N. Kann, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 14726-14768

<sup>172</sup> W. G. Kim, M. E. Kang, J. B. Lee, M. H. Jeon, S. Lee, J. Lee, B. Choi, P. M. S. D. Cal, S. Kang, J-M. Kee, G. J. L. Bernardes, J-U. Rohde, W. Choe, S. Y. Hong, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 12121-12124

Ce système catalytique, compatible à l'eau et à l'air, conduit à la formation d'un mélange des deux régioisomères avec une sélectivité prépondérante pour le composé 1,5-disubstitué. Cette régiosélectivité, bien que toujours observée, est très dépendante de la nature des substituants. La cycloaddition entre divers azotures et alcynes terminaux, en milieu aqueux et à température ambiante, donne alors lieu à des rendements modérés à excellents (Schéma 40).



**Schéma 40.** Cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le nickel

## ii. Alcynes internes

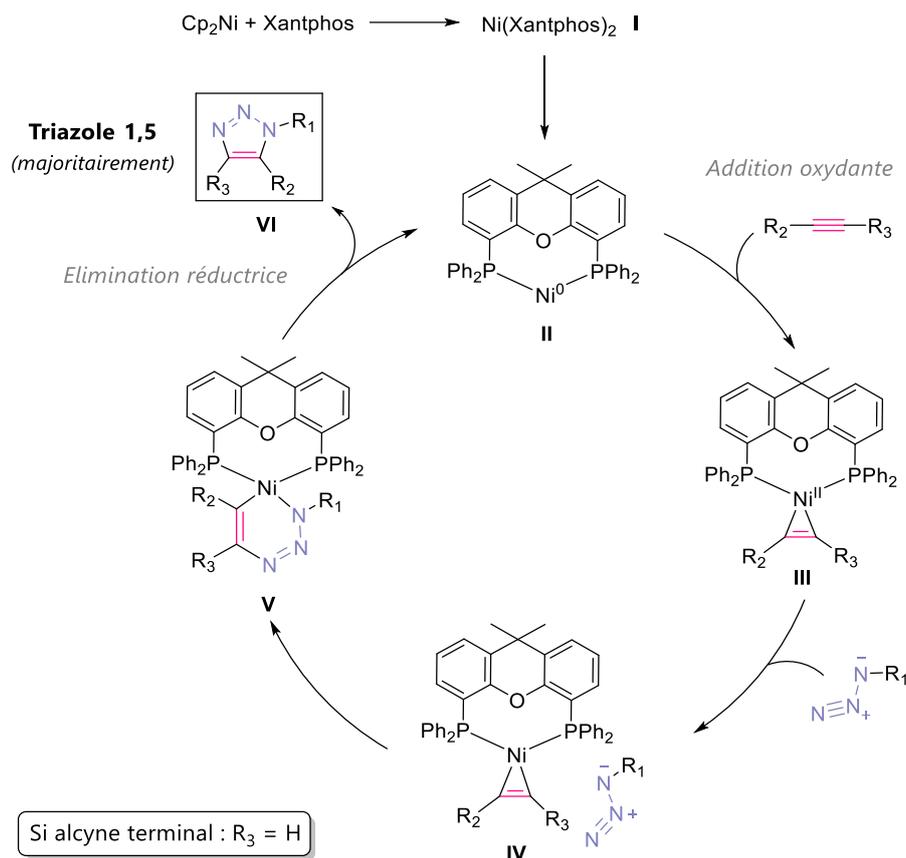
En 2020, les mêmes auteurs ont appliqué la NiAAC à des alcynes internes asymétriques.<sup>173</sup> Similairement à la RuAAC, les cyano-alcynes, thio-alcynes et ynamides permettent l'obtention de 1,2,3-triazoles trisubstitués avec un excellent contrôle de la régio et chimiosélectivité aboutissant aux composés 4-cyano, 5-thiol et 5-amide.

Dans cette étude, un nouveau ligand, le 1,2-bis(diphénylphosphino)benzène (dppbz) a notamment été mis en évidence pour promouvoir efficacement la NiAAC d'ynamides.

## iii. Mécanisme catalytique

Plus récemment développée, cette réaction de NiAAC n'a pas encore fait l'objet d'études très approfondies. S. Y. Hong et ses collaborateurs ont fait une première proposition de mécanisme dans leur publication initiale,<sup>172</sup> puis l'ont complétée lors de leur étude sur les alcynes internes.<sup>173</sup> Un mécanisme assez similaire à celui de la RuAAC est ainsi proposé (Schéma 41).

<sup>173</sup> W. G. Kim, S-Y. Baek, S. Y. Jeong, D. Nam, J. H. Jeon, W. Choe, M-H. Baik, S. Y. Hong, *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 3374-3381



**Schéma 41.** Mécanisme proposé de NiAAC en présence de  $\text{Cp}_2\text{Ni}$  et Xantphos

Dans un premier temps,  $\text{Ni}(\text{Xantphos})_2$  **I** est généré *in situ* à partir de nickelocène et de Xantphos. Un ligand Xantphos peut ensuite être facilement dissocié pour former l'espèce catalytique active  $\text{Ni}(0)\text{-Xantphos}$  **II**. Une étape d'addition oxydante de l'alcyne sur le catalyseur aboutit alors à un intermédiaire  $\text{Ni}(II)\text{-cyclopropène}$  **III**. Cette réaction de cycloaddition s'appliquant également aux alcynes internes, l'activation de l'alcyne par un intermédiaire de type acétylure de nickel n'est pas envisageable. L'adduit **IV** formé avec l'azote engagé dans la réaction, conduit alors à la formation d'un nickelacycle à 6 chaînons **V** par cycloaddition et création d'une liaison C-N entre l'alcyne et l'azote. Cette étape détermine la régiosélectivité de la réaction en faveur du composé 1,5-disubstitué en présence d'un alcyne terminal. Le nickelacycle est alors soumis à une élimination réductrice libérant le composé 1,2,3-triazole **VI** tout en régénérant l'espèce catalytique  $\text{Ni}(0)\text{-Xantphos}$  **II**. Il est à noter que le ligand Xantphos, analogiquement au  $\text{Cp}^*$ , semble jouer un rôle essentiel dans la réactivité de la NiAAC, certainement en raison de contraintes géométriques telle que sa rigidité.

## iv. Atouts et limitations

## Avantages

- **Régiosélectivité prépondérante** en faveur de l'isomère 1,5-disubstitué
- **Conditions réactionnelles douces** (température ambiante)
- Compatible à l'**air** et à une **large gamme de solvants** ( $\text{H}_2\text{O}$ , DMF, DCM, THF, toluène...)
- Applicable aux alcyne terminaux et **alcynes internes**

## Limitations

- Régiosélectivité très dépendante de la **nature des substituants** sur l'alcyne et l'azoture
- Efficacité grandement diminuée en présence d'une quantité plus faible de catalyseur

## e. Modulation de la régiosélectivité

Ces trois variantes catalysées de la réaction de cycloaddition azoture-alcyne de Huisgen, permettent ainsi de moduler facilement la régiosélectivité du procédé par simple sélection du catalyseur métallique (Tableau 2).

Réaction	Partenaire 1	Partenaire 2	Catalyseur	Produit
<b>CuAAC</b>	$\text{R}_1\text{-N}_3$	$\text{R}_2\text{-}\equiv$	Cu(I)	
<b>RuAAC</b>	$\text{R}_1\text{-N}_3$	$\text{R}_2\text{-}\equiv\text{-R}_3$	Ru(II)	
<b>NiAAC</b>	$\text{R}_1\text{-N}_3$	$\text{R}_2\text{-}\equiv\text{-R}_3$	Ni	

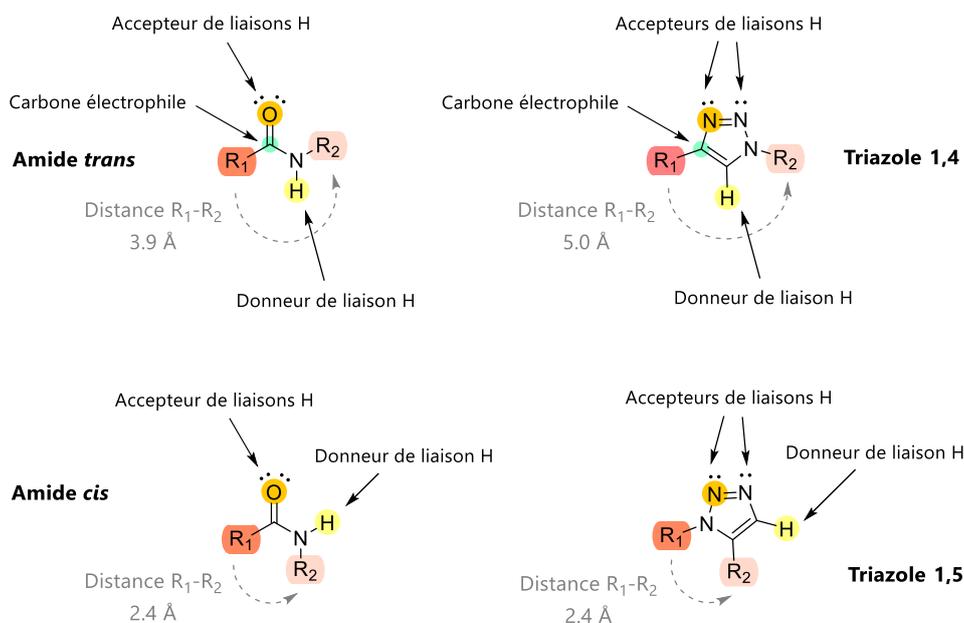
**Tableau 2.** Résumé des cycloadditions azoture-alcyne métallo-catalysées présentées dans cette partie

Les réactions de cycloadditions azoture-alcyne et notamment la CuAAC, sont les voies de synthèse les plus utilisées pour accéder aux composés 1,2,3-triazoles.

### 3. Les 1,2,3-triazoles en chimie médicinale

#### a. Le lien 1,2,3-triazole, un bio-isostère d'amide

Les 1,2,3-triazoles sont de petites unités de liaisons rigides et planes, mimant les propriétés électroniques et le placement d'atomes d'un lien amide (Figure 29).<sup>174</sup>



**Figure 29.** Similarités structurales entre le lien amide et les liens triazoles 1,4 et 1,5-disubstitués

Le motif 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué peut en effet mimer un amide de configuration *trans* tandis que le 1,5-disubstitué présente des similitudes avec l'isomère *cis*.

Les trois atomes d'azote du cycle induisant une forte polarisation du système, ils ont la capacité de former plusieurs interactions faibles. Ils peuvent intervenir dans des interactions dipolaires, les atomes d'azotes N2 et N3 étant partiellement chargés négativement, tandis que l'azote N1 et les carbones du cycle sont partiellement chargés positivement. La liaison C-H est ainsi fortement polarisée ce qui fait également du triazole un donneur potentiel de liaison hydrogène. De plus, le doublet non liant porté par les atomes d'azote N2 et N3 n'est pas délocalisable sur le cycle, leur permettant de former des liaisons hydrogène. On peut d'ailleurs noter que le moment dipolaire global d'un 1,2,3-triazole étant d'environ 5 Debyes,<sup>175</sup> il est supérieur à celui d'une fonction amide qui avoisine 4 Debyes, augmentant son caractère donneur/accepteur de liaisons hydrogènes.

<sup>174</sup> G. C. Tron, T. Pirali, R. A. Billington, P. L. Canonico, G. Sorba, A. A. Genazzani, *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 278-308

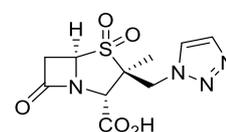
<sup>175</sup> Y. Bourne, H. C. Kolb, Z. Radic, K. B. Sharpless, P. Taylor, P. Marchot, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 1449-1454

Cependant, une différence structurale notable entre le triazole 1,4-disubstitué et l'amide *trans*, est la distance séparant les deux substituants, deux atomes (3,9 Å) contre trois atomes (5,0 Å). Cette différence étant encore plus grande entre des 1,2,3-triazoles 1,4 (5,0 Å) et 1,5-disubstitués (2,4 Å) cela permet aussi la formation d'interactions différentes.

De plus, le lien 1,2,3-triazole est chimiquement stable, très peu sensible à l'hydrolyse, l'oxydation et la réduction. Ces différentes propriétés additionnées à sa facilité d'introduction en font donc un « linker » de choix. Il a d'ailleurs été largement utilisé en chimie médicinale où il trouve de nombreuses applications. Nous allons ici nous concentrer sur des exemples de 1,2,3-triazoles introduits par cycloaddition azoture-alcyne, pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases.

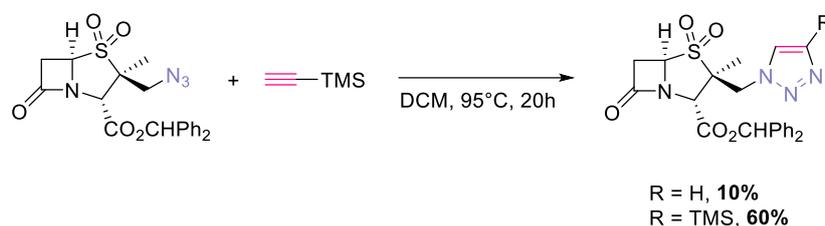
### b. Applications de la AAC au développement d'inhibiteurs de $\beta$ -lactamase

Parmi les exemples les plus connus de structures sur le marché contenant un motif 1,2,3-triazole, on retrouve le tazobactam (Figure 30). Pour rappel, cet inhibiteur de  $\beta$ -lactamase de 1<sup>ère</sup> génération se montre actif contre certaines enzymes de classe A et est commercialisé en association soit avec un antibiotique à large spectre, la pipéracilline, ou bien avec une céphalosporine, le ceftolozane.<sup>62</sup>



**Figure 30.** Structure du tazobactam

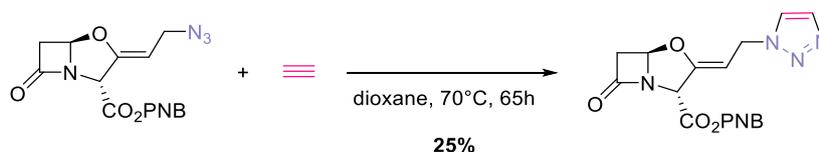
La synthèse du tazobactam a été développée en 1987 par K. Ogawa et ses collaborateurs.<sup>176</sup> L'étape clé de formation du cycle 1,2,3-triazole se fait alors par cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen, à partir du dérivé azoture en présence de triméthylsilyléthyne à 95°C (Schéma 42). Deux composés séparables par chromatographie sur silice sont alors obtenus, l'un non-substitué (précurseur du tazobactam) et l'autre substitué par un groupement triméthylsilyle en position 4.



**Schéma 42.** Synthèse du Tazobactam par cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen

<sup>176</sup> R. G. Micetich, S. N. Maiti, P. Spevak, T. W. Hall, S. Yamabe, N. Ishida, M. Tanaka, T. Yamazaki, A. Nakai, K. Ogawa, *J. Med. Chem.* **1987**, 30, 1469-1474

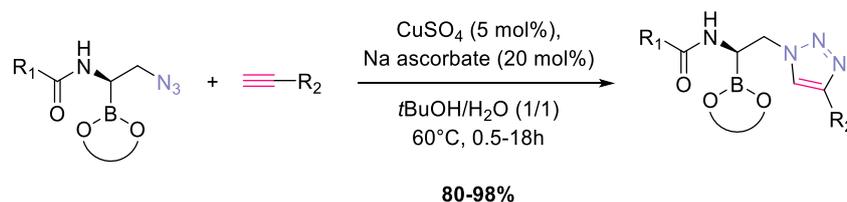
Cette méthodologie avait déjà été appliquée quelques années plus tôt par l'équipe de A. P. Tonge sur un autre inhibiteur de  $\beta$ -lactamase de 1<sup>ère</sup> génération, l'acide clavulanique.<sup>177</sup> La synthèse d'une série d'analogues présentant un cycle 1,2,3-triazole à la place de l'hydroxyle exocyclique de l'acide clavulanique a ainsi été décrite. Par cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen, il a notamment été possible d'accéder à un analogue 1,2,3-triazole non-substitué, par réaction du dérivé azoture avec de l'acétylène à 70°C pendant 65h (Schéma 43). Une série de triazoles 1,4-disubstitués a aussi été obtenue dans des conditions semblables, mais elle a été très limitée en raison de la mauvaise régiosélectivité de cette réaction. De faibles rendements ont été observés suite aux temps réactionnels très longs et à l'instabilité thermique du dérivé azoture à haute température.



**Schéma 43.** Synthèse d'un analogue 1,2,3-triazole de l'acide clavulanique

Le développement de la CuAAC une vingtaine d'années plus tard, a alors permis de réaliser les réactions de cycloadditions azoture-alcyne dans des conditions douces, pour accéder facilement et rapidement à de grandes séries de composés.

Elle a récemment été appliquée pour la synthèse d'une autre famille d'inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase de 2<sup>nde</sup> génération, les acides boroniques. En 2015, F. Prati et ses collaborateurs ont ainsi développé une série de 14 composés esters  $\alpha$ -amido- $\beta$ -triazolyléthaneboroniques. La fonctionnalisation du dérivé azoture par CuAAC, a alors permis d'apporter facilement de la diversité moléculaire avec de très bons rendements (Schéma 44).<sup>178</sup>

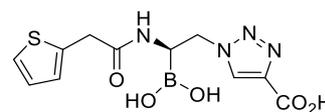


**Schéma 44.** Formation d'esters  $\alpha$ -amido- $\beta$ -triazolylethaneboroniques par CuAAC

<sup>177</sup> R. C. Mearman, C. E. Newall, A. P. Tonge, *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 885-891

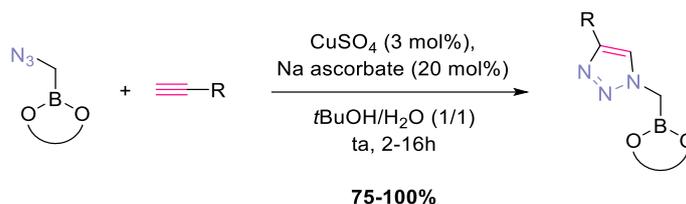
<sup>178</sup> E. Caselli, C. Romagnoli, R. Vahabi, M. A. Taracila, R. A. Bonomo, F. Prati, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 5445-5458

Un composé de cette série, le S02030 (Figure 31), a notamment présenté une très bonne activité d'inhibiteur de  $\beta$ -lactamase. Utilisé en combinaison avec la cefotaxime, il inhibe ainsi efficacement KPC-2 et SHV-1 chez *K. pneumoniae*.<sup>179</sup> Selon son positionnement, le noyau 1,2,3-triazole peut alors former différentes interactions avec le site actif de KPC-2 se révélant dans ce cas essentiel à la liaison de l'inhibiteur au site actif de la  $\beta$ -lactamase.



**Figure 31.** Structure du S02030

Ce même groupe a également étudié le remplacement de la liaison amide, présente chez les inhibiteurs de type acides boroniques, par un lien 1,2,3-triazole.<sup>180</sup> Une large série d'acides  $\alpha$ -triazolylméthaneboroniques a ainsi été synthétisée. De la même façon, l'étape clé de formation du 1,2,3-triazole se fait par CuAAC, entre un dérivé ester boronique présentant une fonction azoture et un large panel d'alcynes terminaux, en présence d'ascorbate de sodium et de sulfate de cuivre à température ambiante (Schéma 45). Cette série a présenté une très bonne inhibition de KPC-2 chez *K. pneumoniae*, suggérant une structure prometteuse pour le développement d'inhibiteurs efficaces contre cette carbapénémase.



**Schéma 45.** Synthèse d'esters  $\alpha$ -triazolylméthaneboroniques par CuAAC

L'utilisation de la cycloaddition azoture-alcyne, notamment catalysée au cuivre (I), est ainsi une bonne méthode pour développer facilement et rapidement de nouveaux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase. La diversité moléculaire apportée aux structures déjà connues, facilite l'exploration des différentes cibles et augmente la probabilité de trouver un composé présentant une bonne activité. De plus, le noyau 1,2,3-triazole en lui-même semble pouvoir créer certaines interactions intéressantes avec le site actif des  $\beta$ -lactamases, en faisant un « linker » de choix.

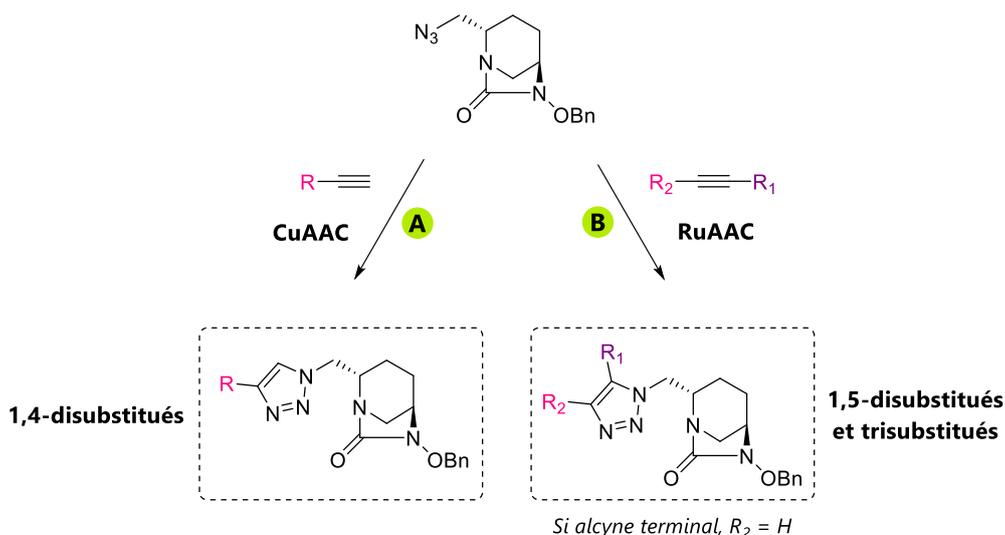
<sup>179</sup> N. Q. Nguyen, N. P. Krishnan, L. J. Rojas, F. Prati, E. Caselli, C. Romagnoli, R. A. Bonomo, F. van den Akker, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2016**, *60*, 1760-1766

<sup>180</sup> a) E. Caselli, F. Fini, M. L. Introvigne, M. Stucchi, M. A. Taracila, E. R. Fish, K. A. Smolen, P. N. Rather, R. A. Powers, B. J. Wallar, R. A. Bonomo, F. Prati, *ACS Infect. Dis.* **2020**, *6*, 1965-1975 b) M. L. Introvigne, M. A. Taracila, F. Prati, E. Caselli, R. A. Bonomo, *ChemMedChem* **2020**, *15*, 1283-1288

## 4. Objectif

Dans ce chapitre, nous allons nous intéresser à la fonctionnalisation de la position C2 du cycle DBO par des réactions de cycloadditions azoture-alcyne métallo-catalysées. L'introduction d'un motif 1,2,3-triazole sur la chaîne latérale, va alors nous permettre d'accéder facilement à toute une série de composés diversement substitués. Ce lien étant un bon isostère de la fonction amide, il semble intéressant à étudier dans le cadre du développement d'analogues de l'avibactam.

Dans un premier temps, nous allons présenter la synthèse d'un précurseur DBO-azoture. Puis ce dérivé sera fonctionnalisé par CuAAC, en présence de divers alcynes terminaux, aboutissant à une première série de DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués (Schéma 46, **voie A**). Dans un second temps, afin d'explorer tout le potentiel de cette modification, le composé DBO-azoture sera soumis à des réactions de RuAAC avec des alcynes terminaux mais également des alcynes internes. Cette méthodologie nous fournira alors une voie d'accès à des composés DBOs 1,2,3-triazoles 1,5 et trisubstitués (Schéma 46, **voie B**).

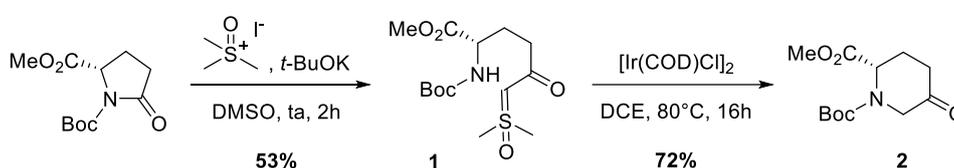


**Schéma 46.** Stratégies d'accès à des DBOs 1,2,3-triazoles diversement substitués

## II. Synthèse du précurseur DBO-azoture

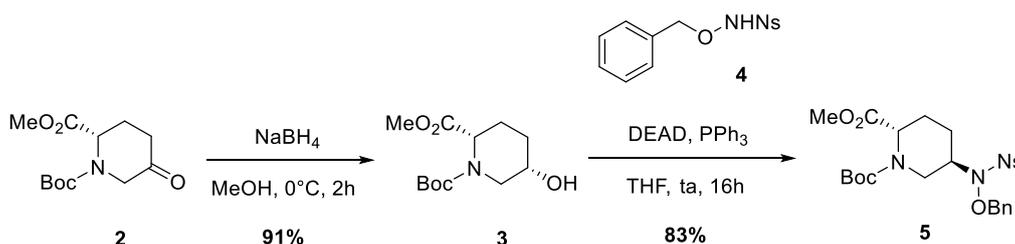
Afin d'accéder au précurseur DBO-azoture, j'ai dans un premier temps utilisé une méthodologie développée au sein de l'équipe, qui repose sur une voie de synthèse en 12 étapes à partir d'une oxopyrrolidine commerciale.<sup>181</sup>

Tout d'abord, il faut effectuer l'homologation d'un carbone afin d'accéder au cycle à 6 chaînons (Schéma 47). Pour cela, le (S)-méthyl-*N*-Boc-pyrroglutamate est mis en présence d'un mélange d'iodure de triméthylsulfoxonium et de *tert*-butylate de potassium, dans le DMSO pendant 2h, conduisant à la formation de l'ylure de sulfoxonium **1** avec un rendement de 53%. Une étape de N-H insertion catalysée par un complexe d'iridium, dans le DCE à 80°C pendant 16h, va alors permettre la recyclisation et l'obtention de la pipéridinone **2** avec un rendement de 72%.<sup>114</sup>



**Schéma 47.** Homologation d'un carbone par NH-insertion catalysée à l'iridium

Afin d'introduire la fonction hydroxylamine (Schéma 48), la cétone cyclique **2** est tout d'abord sélectivement réduite en alcool **3** avec un rendement de 91%, en utilisant du NaBH<sub>4</sub> dans du MeOH à 0°C pendant 2h. Une réaction de Mitsunobu avec l'hydroxylamine protégée **4**, dans du THF pendant 16h, permet alors une inversion de configuration et l'obtention du composé **5** avec un rendement de 83%.<sup>182</sup>

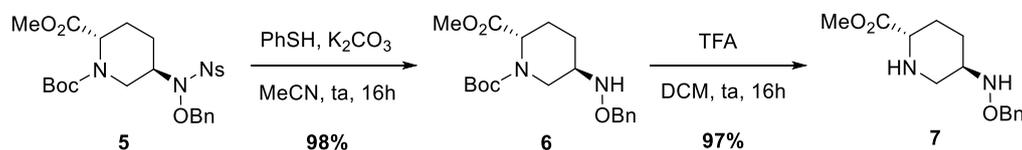


**Schéma 48.** Introduction de l'hydroxylamine

<sup>181</sup> Z. Edo, L. Iannazzo, F. Compain, I. L. de la Sierra-Gallay, H. van Tilbeurgh, M. Fonvielle, F. Bouchet, E. Le Run, J.-L. Mainardi, M. Arthur, M. Ethève-Quellejeu, J.-E. Hugonnet, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 8081-8086

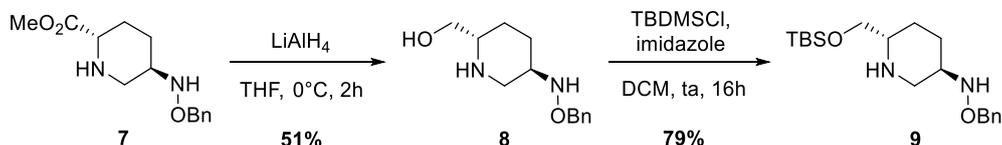
<sup>182</sup> Y. S. Hwang, J.-Q. Gu, A. Jain, S. Garad, J. P. Sizemore, Cubist Pharmaceuticals, US9120795 B2, **2015**

Dans l'optique de former l'urée cyclique, il faut commencer par déprotéger les fonctions amines (Schéma 49). Pour cela, le composé **5** est traité par du thiophénol, entraînant la déprotection de l'hydroxylamine par le groupement nosyle et l'obtention du composé **6** avec un rendement de 98%. Puis l'utilisation d'acide trifluoroacétique permet de cliver le groupement Boc de la pipéridine et conduit au composé **7** avec un rendement de 97%.



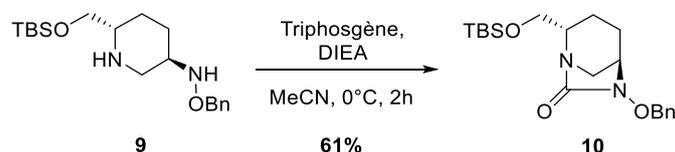
**Schéma 49.** Déprotection des fonctions amines

Dans le but d'introduire la fonction azoture sur la chaîne latérale, l'ester méthylique est tout d'abord réduit en alcool. L'utilisation de  $\text{LiAlH}_4$  dans du THF à  $0^\circ\text{C}$  pendant 2h permet alors d'obtenir le composé **8** avec 51% de rendement. L'alcool généré est alors protégé par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyle afin d'empêcher qu'il ne réagisse lors de l'étape de formation de l'urée. Le composé **9** est ainsi obtenu après réaction en présence de TBDMSCl et d'imidazole dans le DCM pendant 16h avec un rendement de 79% (Schéma 50).



**Schéma 50.** Introduction d'un hydroxyle protégé sur la chaîne latérale

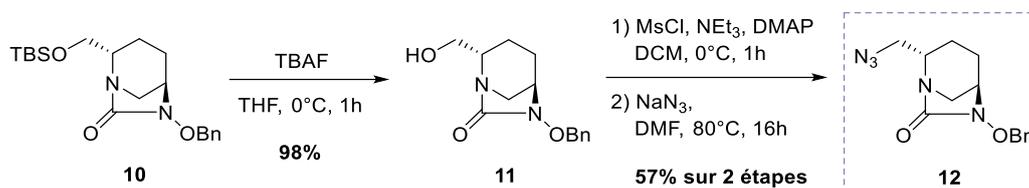
Une étape clé au triphosgène permet ensuite de former l'urée bicyclique **10** avec un rendement de 61%, en présence de DIEA dans l'acétonitrile à  $0^\circ\text{C}$  pendant 2h (Schéma 51).



**Schéma 51.** Formation de l'urée bicyclique

Le motif DBO obtenu, il faut maintenant le fonctionnaliser par un azoture (Schéma 52). Pour cela, l'hydroxyle est tout d'abord déprotégé avec du TBAF dans le THF à  $0^\circ\text{C}$  pendant 1h, générant le composé **11** avec 98% de rendement. Il est ensuite activé en présence de chlorure

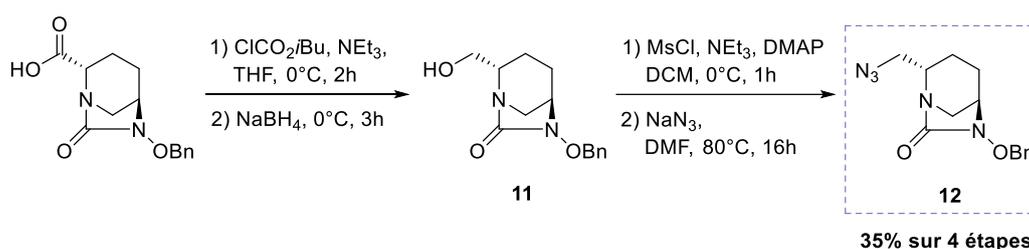
de mésyle puis l'addition d'azoture de sodium dans du DMF à 80°C pendant 16h permet d'accéder au composé DBO-azoture **52** avec un rendement de 57% sur 2 étapes.



**Schéma 52.** Obtention du précurseur DBO-azoture

Cette voie de synthèse, relativement longue, a permis d'accéder au précurseur DBO-azoture avec un rendement global de 4% sur 12 étapes. Les quantités obtenues n'étant pas suffisantes pour pouvoir développer une série de nouveaux DBOs fonctionnalisés, une alternative a été trouvée. Avec la mise sur le marché de nouveaux intermédiaires suite à l'intérêt suscité par ces structures, une voie d'accès plus courte a ainsi pu être mise au point selon une stratégie élaborée au sein de l'équipe.

Cette version améliorée de notre synthèse permet alors d'obtenir le précurseur **12** en seulement 4 étapes, à partir du composé DBO-acide carboxylique commercial (Schéma 53). L'activation de l'acide carboxylique par du chloroformiate d'isobutyle, directement réduit par du NaBH<sub>4</sub> conduit à l'alcool correspondant **11**. Selon la stratégie décrite précédemment, l'alcool est alors activé sous forme de mésylate puis une substitution nucléophile en présence d'azoture de sodium permet d'accéder au dérivé DBO-azoture **12** avec un rendement global de 35% sur 4 étapes.



**Schéma 53.** Synthèse du précurseur DBO-azoture à partir du DBO-acide carboxylique commercial

La montée en échelle de cette synthèse, réalisée par une CRO spécialisée dans la synthèse à façon : Atlanchim Pharma, nous a ainsi permis d'obtenir le précurseur DBO-azoture en quantité suffisante pour envisager une large fonctionnalisation par cycloaddition azoture-alcyne. Dans un premier temps, nous avons utilisé comme méthodologie la CuAAC afin d'accéder à des dérivés de type 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués.

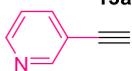
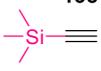
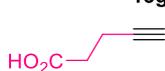
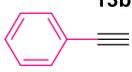
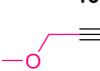
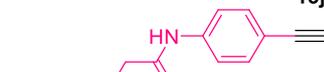
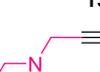
### III. Accès à des DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués et non-substitués

Après avoir décrit les différentes voies d'accès au composé DBO-azoture, nous allons à présent nous intéresser à la synthèse des alcynes partenaires de cette réaction de CuAAC. Les composés DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués qui seront obtenus selon cette méthodologie, seront ensuite soumis à une étape clé d'introduction d'une fonction sulfate essentielle à l'activité, permettant alors leur évaluation biologique pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases.

#### 1. Fonctionnalisation du dérivé DBO-azoture par CuAAC

##### a. Les partenaires alcynes

Le choix des alcynes partenaires de la réaction de CuAAC a été fait dans l'objectif d'apporter de la diversité moléculaire et faire varier la nature de la chaîne latérale des DBOs, afin de créer des interactions diverses. On peut ainsi les diviser en quatre catégories (Figure 32).

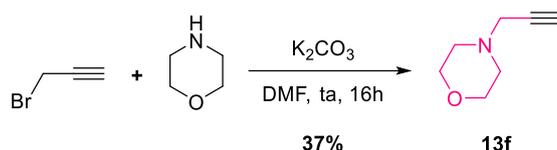
Aromatiques	Hétéroatomes	Chaîne chargée	Amines protégées
<p><b>13a</b></p> 	<p><b>13c</b></p> 	<p><b>13g</b></p> 	<p><b>13h</b></p> 
<p><b>13b</b></p> 	<p><b>13d</b></p> 		<p><b>13i</b></p> 
	<p><b>13e</b></p> 		<p><b>13j</b></p> 
	<p><b>13f</b></p> 		

**Figure 32.** Alcynes partenaires de la réaction de CuAAC

Premièrement, nous avons choisi des alcynes commerciaux portant un substituant aromatique de type pyridine **13a** et phényle **13b**.

Puis notre choix s'est porté sur des alcynes contenant des hétéroatomes variés tels que des motifs triméthylsilane **13c**, éther **13d**, diméthylamine **13e** et morpholine **13f**. Ce dernier a alors été synthétisé à partir de bromure de propargyle et de morpholine, en présence de carbonate de potassium dans du DMF à température ambiante pendant 16h (Schéma 54).<sup>183</sup>

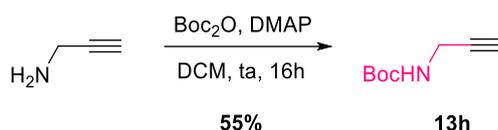
<sup>183</sup> G. Singh, S. Singh Mangat, J. Singh, A. Arora, R. K. Sharma, *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55, 903-909



**Schéma 54.** Synthèse de l'alcyne 4-propargylmorpholine

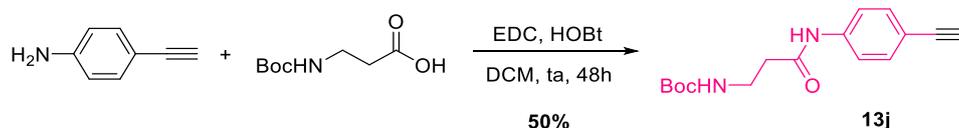
Afin d'étudier l'impact d'une charge négative sur le squelette DBO, nous avons également sélectionné un alcyne commercial portant une fonction acide carboxylique **13g**.

Puis, toujours dans l'optique d'avoir par la suite des composés chargés à pH physiologique, notre choix s'est tourné vers un alcyne substitué par une amine. Il était alors nécessaire de protéger temporairement cette fonction par un groupement Boc pour la suite de la synthèse. L'alcyne **13h** a ainsi été synthétisé à partir de propargylamine en présence de  $\text{Boc}_2\text{O}$  et DMAP dans du DCM pendant 16h (Schéma 55).



**Schéma 55.** Protection de la propargylamine par un groupement Boc

Un alcyne portant une chaîne latérale analogue au relebactam<sup>114</sup> **13i** a également été envisagée. Puis l'alcyne **13j** combinant un groupement aromatique et une fonction amine a été synthétisé par couplage entre la 4-éthynylalanine et la Boc- $\beta$ -Ala-OH en présence d'EDC/HOBt (Schéma 56).



**Schéma 56.** Synthèse d'un alcyne aromatique substitué par une fonction amine

L'utilisation d'alcynes substitués par des groupements fonctionnels variés va ainsi nous permettre de valider notre approche synthétique.

## b. Cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le cuivre (I)

Pour fonctionnaliser le précurseur DBO-azoture **12** par CuAAC avec les alcynes **13a-j** précédemment cités (Figure 8), nous nous sommes tournés vers des conditions classiques impliquant la réduction de sels de cuivre (II). L'utilisation de  $\text{CuSO}_4$  et d'ascorbate de sodium dans un mélange THF/ $\text{H}_2\text{O}$  à température ambiante pendant 16h, nous a alors permis d'accéder à une toute nouvelle série de 10 DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués **14a-j** avec des rendements compris entre 30 et 97% (Schéma 57).

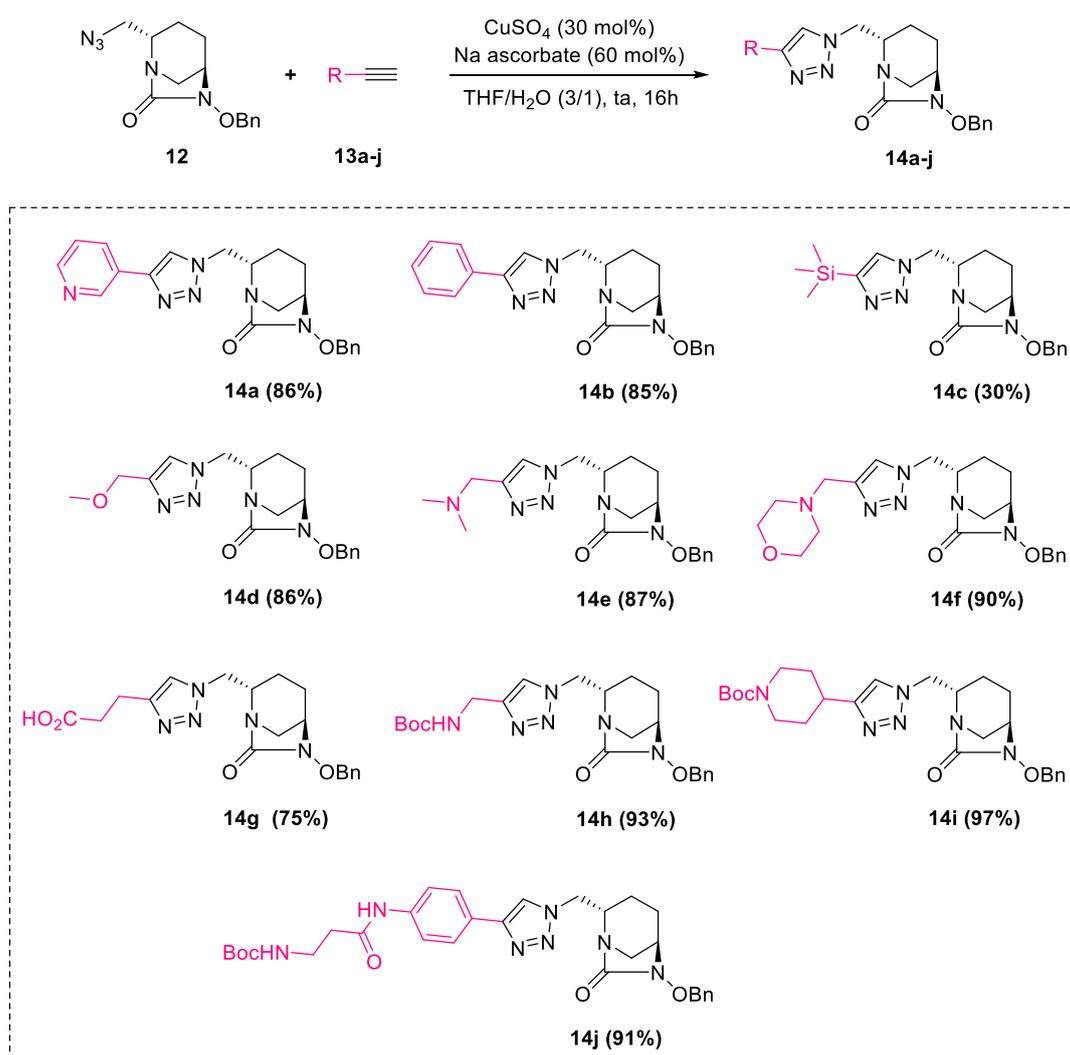


Schéma 57. Fonctionnalisation du DBO-azoture par CuAAC

Comme on peut le constater, une large variété d'alcynes a été compatible avec cette méthodologie, nous permettant d'obtenir des DBOs diversement fonctionnalisés. Des groupements aromatiques pyridine **14a** et phényle **14b**, ainsi que des chaînes présentant des hétéroatomes O et N **14d-f**, ont notamment pu être introduits avec de très bons rendements allant de 85 à 90%. Des DBOs fonctionnalisés par une fonction acide carboxylique **14g** ou encore par des amines protégées **14h-j** ont également été obtenus avec des rendements comparables compris entre 75 et 97%. Le DBO **14c** substitué par un groupement triméthylsilyle a en revanche été synthétisé avec un rendement inférieur de 30%. Cette différence peut notamment s'expliquer par une désilylation partielle de ce dernier dans ces conditions, aboutissant à un composé 1,2,3-triazole non-substitué.

### c. Déprotection puis sulfation de l'hydroxylamine

Une part importante de notre synthèse passe ensuite par la déprotection du groupement benzyle, suivie d'une étape de sulfation puis d'un passage sur résine échangeuse d'ions afin d'accéder aux DBOs sous forme sulfate de sodium **15a-j** (Schéma 58). Cette fonction de la molécule étant nécessaire à l'activité, c'est une étape clé dans le développement de nouveaux DBOs fonctionnalisés.

Dans un premier temps, le groupement benzyle des composés **14a-j** a été éliminé en présence de Pd/C sous H<sub>2</sub> à pression atmosphérique, dans du MeOH pendant 48h, générant l'alcool correspondant. Le produit brut est alors mis en présence d'un complexe trioxyde de soufre-pyridine dans de la pyridine pendant 16h, permettant la sulfation de l'hydroxylamine. Une élution sur colonne DOWEX Na<sup>+</sup> est ensuite effectuée afin de réaliser l'échange d'ions et générer les DBOs sous forme sulfate de sodium. Pour cela, une résine DOWEX H<sup>+</sup> est traitée avec une solution de NaOH 2M pendant 1h avant d'être placée dans une colonne en verre et rincée à l'eau jusqu'à pH neutre.<sup>128</sup> Les composés sont alors déposés sur cette colonne DOWEX Na<sup>+</sup> et élués avec de l'eau puis lyophilisés.

La purification finale des composés **15a-j** a ensuite été optimisée grâce à une dissolution des résidus obtenus dans de l'éthanol, suivie d'une filtration permettant d'éliminer une partie des impuretés non solubles. Puis une dernière étape finale de purification par HPLC explique les rendements modérés obtenus, allant de 8 à 53%.

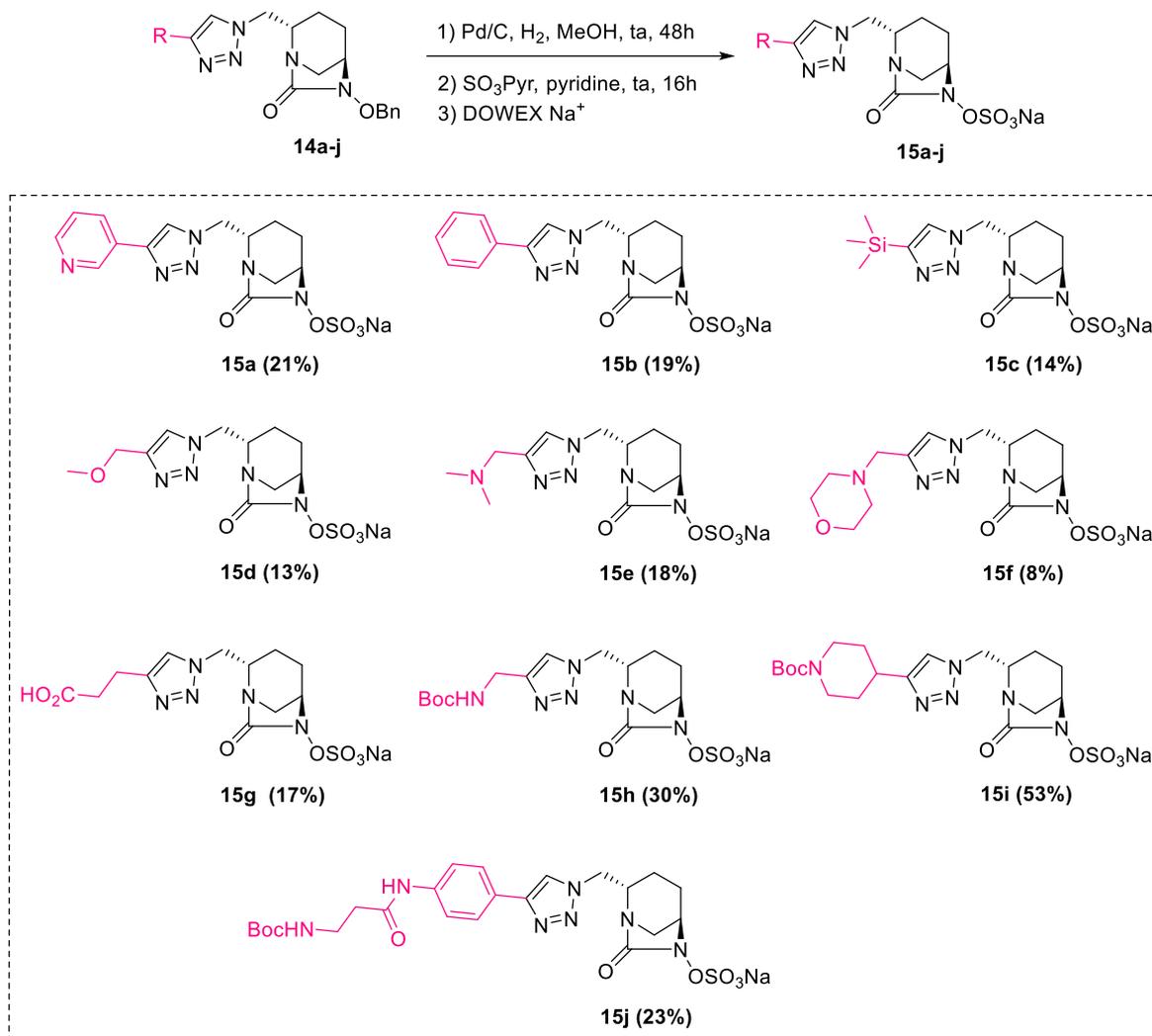


Schéma 58. Obtention des DBOs finaux sous forme sulfate de sodium

Ces dernières étapes pour accéder aux DBOs-sulfate de sodium sont difficilement contrôlables et très dépendantes de la solubilité des composés, ce qui entraîne des difficultés dans l'obtention des molécules finales.

Dans ces conditions, les DBOs 1,2,3-triazoles portant un substituant aromatique pyridine **15a** et phényle **15b** ont été obtenus avec des rendements isolés après HPLC de 21 et 19% respectivement. Les composés **15c**, **15d**, **15e** et **15f** contenant des hétéroatomes variés, présentent des rendements légèrement inférieurs allant de 8 à 18%. Le DBO 1,2,3-triazole substitué par une fonction acide carboxylique **15g** a été obtenu avec un rendement du même ordre de 17%. Tandis que les composés comportant une fonction amine protégée par un groupement Boc **15h**, **15i** et **15j** présentent des rendements supérieurs allant de 23 à 53%.

De façon intéressante, le DBO portant le motif diméthylamine **15e** a été isolé sous la forme d'un mélange (1/1) de deux composés, inséparables par HPLC, malgré de nombreux essais d'optimisation. L'analyse par RMN  $^1\text{H}$  dans du  $\text{D}_2\text{O}$ , montre en effet des signaux bien distincts pour les protons portés par la diméthylamine et le 1,2,3-triazole (Figure 33).

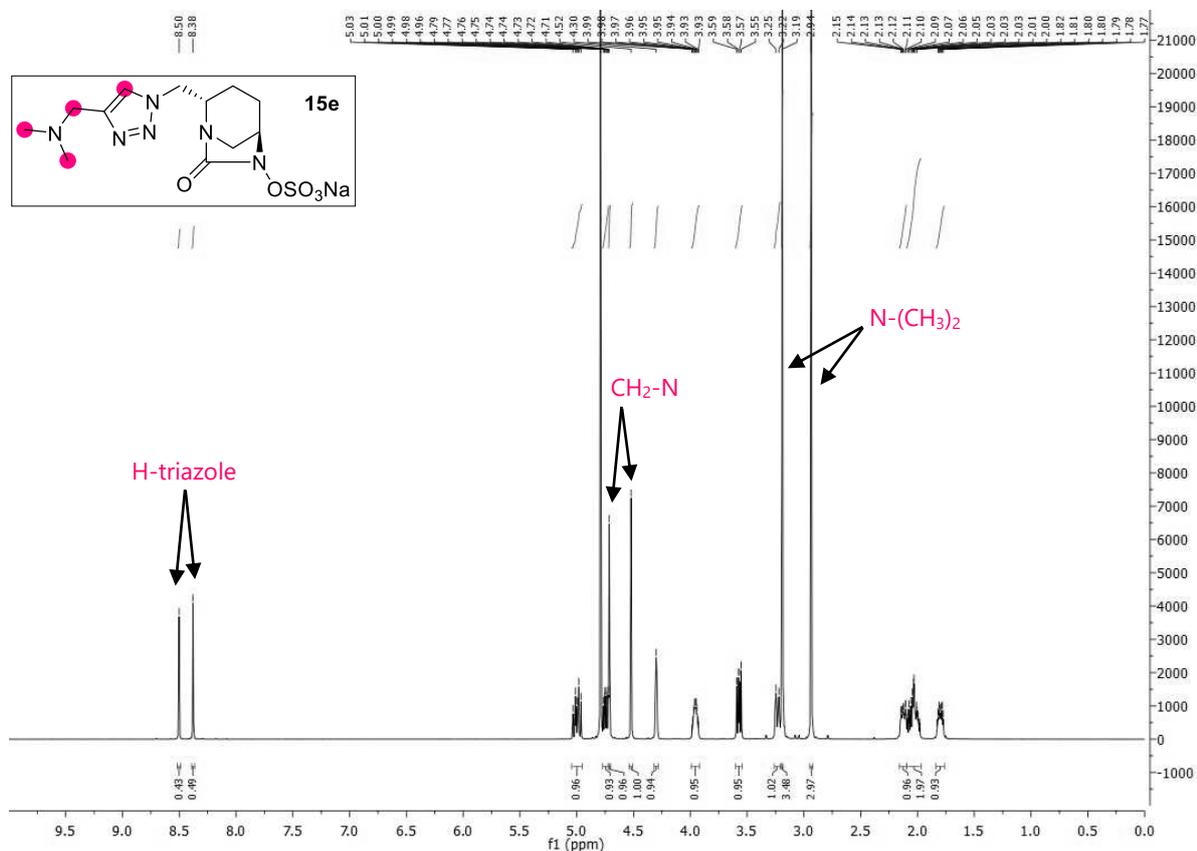


Figure 33. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé **15e** dans le  $\text{D}_2\text{O}$

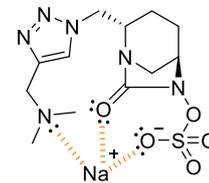
Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce phénomène, dont la plus probable serait la coexistence de deux isomères.

Dans un premier temps, nous avons écarté la possibilité d'être en présence de deux rotamères. En effet, changer le solvant par du DMSO deutéré ou encore chauffer à  $70^\circ\text{C}$  pendant l'analyse, n'a entraîné aucune modification au niveau des déplacements chimiques sur le spectre RMN  $^1\text{H}$ . De plus, les signaux étant très bien définis, l'hypothèse de deux rotamères coexistants ne semble pas plausible.

L'analyse RMN  $^1\text{H}$  du DBO de départ **14e** étant réalisée dans le  $\text{CDCl}_3$ , une seconde analyse dans du DMSO deutéré a également pu confirmer que nous n'étions pas face à un effet de solvant. Le composé **14e** présentant, dans les deux cas, des signaux correspondant à un seul produit.

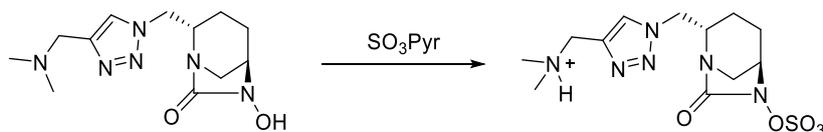
Il semblerait donc que nous soyons plutôt en présence de deux conformations bien distinctes ou bien de deux états de protonation.

Une première hypothèse pourrait alors être la chélation du sodium par le doublet non liant de l'atome d'azote de la diméthylamine, qui pourrait bloquer la molécule dans une certaine conformation (Figure 34). Pour valider cette possibilité, nous avons tenté de rompre cette éventuelle interaction en éluant le composé **15e** sur une résine DOWEX H<sup>+</sup> afin de remplacer le contre-ion, sans observer de résultats concluants. La synthèse de ce DBO, sans passage sur colonne échangeuse d'ions ou bien avec une élution sur DOWEX H<sup>+</sup> et non DOWEX Na<sup>+</sup> n'a pas permis d'isoler le composé **15e** après purification HPLC, ne permettant pas non plus de valider ou invalider cette hypothèse.



**Figure 34.** Chélation du sodium par la diméthylamine

La coexistence de ces deux formes pourrait également être due à un état de protonation de l'amine de la diméthylamine. En effet, celle-ci pourrait se protoner lors de l'étape de sulfation en présence du complexe trioxyde de soufre-pyridine (Schéma 59).<sup>184</sup>



**Schéma 59.** Protonation de la diméthylamine lors de l'étape de sulfation

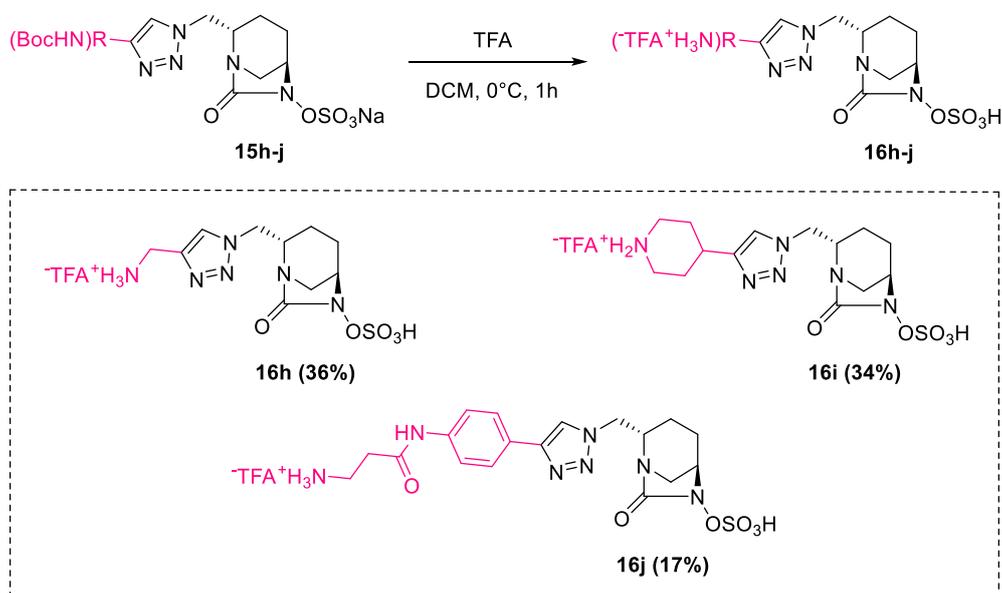
Finalement, malgré les différentes expériences menées pour tenter de déterminer la nature exacte de ces deux composés observés par RMN, il ne nous est pas possible d'avancer avec certitude une conclusion. Le DBO **15e** a alors été utilisé par la suite sous la forme d'un mélange de ces deux composés, afin d'évaluer son activité biologique pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases.

<sup>184</sup> P. A. Crooks, S. G. Kottayil, A. M. Al-Ghananeem, S. R. Byrn, D. A. Butterfield, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 4291-4295

#### d. Déprotection finale des DBOs protégés par un groupement Boc

Parmi cette nouvelle série de DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués, trois composés sont protégés par un groupement Boc (**15h**, **15i** et **15j**). Cette protection de l'amine, nécessaire en raison de l'étape de sulfatation précédemment décrite, doit maintenant être éliminée pour accéder aux DBOs attendus.

Pour cela, un traitement avec de l'acide trifluoroacétique dans du DCM à 0°C pendant 1h a été utilisé.<sup>185</sup> Les DBOs déprotégés **16h**, **16i** et **16j** ont alors été isolés avec des rendements de 36, 34 et 17% respectivement, après purification par HPLC (Schéma 60).



**Schéma 60.** Déprotection des DBOs contenant un groupement protecteur Boc

Cette étape très délicate, qui peut facilement entraîner l'ouverture de l'urée bicyclique en raison de l'instabilité du motif DBO face à des nucléophiles due à la forte contrainte cyclique, nécessite d'être réalisée en milieu strictement anhydre. Ceci combiné à la purification des composés par HPLC, peut expliquer les rendements modérés obtenus. De plus, le DBO fonctionnalisé par une chaîne aromatique chargée **16j** a présenté une faible solubilité, nécessitant l'emploi de DMSO pour la purification par HPLC s'accompagnant alors d'un rendement inférieur de 17%.

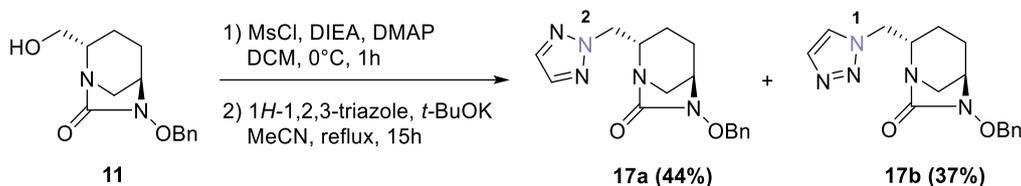
<sup>185</sup> P. K. Deshpande, S. S. Pawar, S. Bhawsar, R. D. Yeole, S. Bhagwat, M. V. Patel, Wockhardt Limited, WO2015052682, 2015

## 2. Synthèse de 1,2,3-triazoles non-substitués

En parallèle de cette nouvelle série de DBOs 1,2,3-triazoles fonctionnalisés, il nous a semblé intéressant d'élaborer une stratégie pour accéder à un DBO présentant un motif 1,2,3-triazole non-substitué.

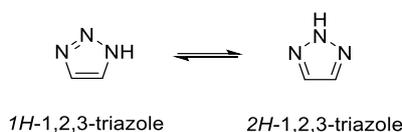
### a. Accès au DBO 1,2,3-triazole non-substitué

Pour cela, nous nous sommes basés sur des travaux de l'équipe de J. Atkinson,<sup>186</sup> en activant notre dérivé alcool **11** avec du chlorure de mésyle suivi d'une substitution nucléophile en présence de 1*H*-1,2,3-triazole en conditions basiques. Deux régioisomères **17a** et **17b** ont alors été obtenus avec 44 et 37% de rendement respectivement, après séparation par chromatographie sur colonne de silice (Schéma 61).



**Schéma 61.** Stratégie d'accès aux 1,2,3-triazoles non-substitués

La formation de ces deux régioisomères peut s'expliquer par l'équilibre existant entre les formes tautomères du composé 1,2,3-triazole en solution (Figure 35). L'atome d'hydrogène est alors porté par l'un des trois azotes du cycle correspondant à la forme 1*H*- ou 2*H*-1,2,3-triazole.<sup>157</sup> En présence d'une base forte telle que *t*-BuOK, la *N*-alkylation peut ainsi avoir lieu en position N1 ou N2.

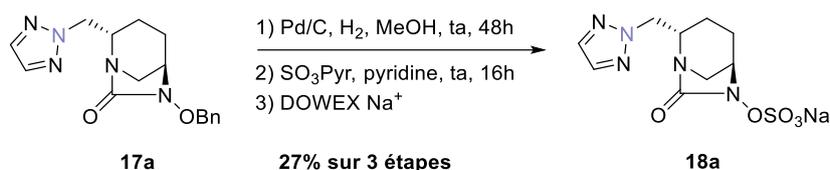


**Figure 35.** Formes tautomères de 1,2,3-triazoles non-substitués

<sup>186</sup> S. Ohnmacht, P. Nava, R. West, R. Parker, J. Atkinson, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 7631-7638

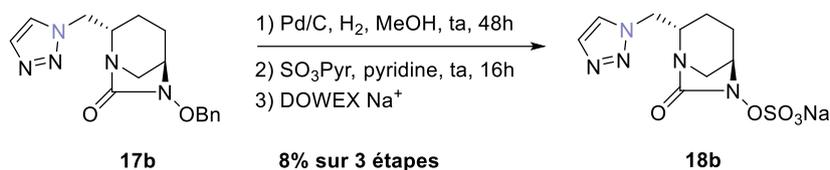
## b. Obtention des DBOs sous forme sulfate de sodium

Le régioisomère **17a** a ensuite été soumis aux conditions précédemment décrites permettant d'introduire le groupement sulfate sur la molécule. Ainsi, après déprotection du groupement benzyle en présence de Pd/C, suivi de l'étape de sulfation par le complexe trioxyde de soufre-pyridine et l'éluion sur résine DOWEX Na<sup>+</sup> ; le DBO N2-1,2,3-triazole non substitué sous forme sulfate de sodium **18a** a été obtenu avec un rendement de 27% sur 3 étapes après purification par HPLC (Schéma 62).



**Schéma 62.** Obtention du DBO N2-1,2,3-triazole final sous forme sulfate de sodium

Les mêmes conditions ont été appliquées au DBO N1-1,2,3-triazole non substitué **17b** permettant d'accéder au composé **18b** avec un rendement isolé après HPLC de 8% sur 3 étapes (Schéma 63). Ce rendement plus faible s'explique notamment par des difficultés de purification plus importante pour séparer le composé de certaines impuretés, contrairement au produit précédent, légèrement moins polaire.



**Schéma 63.** Obtention du DBO N1-1,2,3-triazole final sous forme sulfate de sodium

Ces deux nouveaux DBOs 1,2,3-triazoles non substitués viennent ainsi compléter la famille des 13 DBOs fonctionnalisés précédemment synthétisés. Ils vont notamment permettre d'étudier l'impact de la fonctionnalisation du cycle triazole pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases.

## 3. Inhibition de $\beta$ -lactamases chez les entérobactéries

Afin de comparer l'efficacité d'inhibition des  $\beta$ -lactamases par cette nouvelle série de DBOs, nous avons préalablement synthétisé le relebactam. Ce composé servira de référence, en complément de l'avibactam, pour étudier l'activité de nos molécules.

## a. Synthèse d'un DBO de référence : le relebactam

Le DBO-acide carboxylique commercial a alors été couplé avec la 4-amino-1-Boc-pipéridine en présence d'EDCI et d'HOBt, dans du dichlorométhane pendant 16h, aboutissant à la formation du relebactam protégé **19** avec un excellent rendement de 92% (Schéma 64).

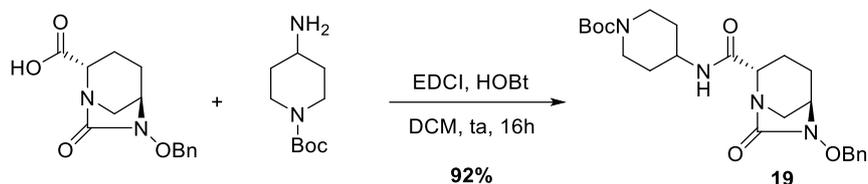
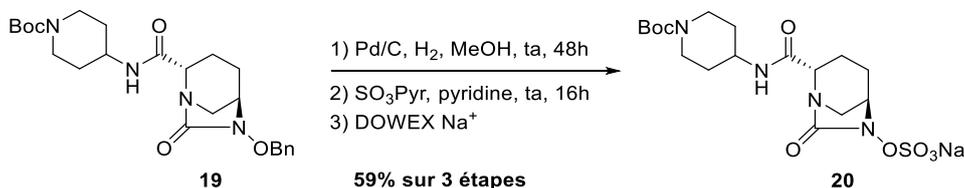


Schéma 64. Synthèse du relebactam protégé

Le composé **19** a ensuite été soumis aux conditions d'hydrogénation pour éliminer le groupement benzyle, suivi de l'étape de sulfation puis du passage sur résine échangeuse d'ions, afin d'introduire le groupement sulfate sur la molécule. Dans ces conditions, le relebactam protégé *N*-Boc sous forme de sulfate de sodium **20** a alors été obtenu avec un très bon rendement isolé après HPLC de 59% sur 3 étapes (Schéma 65).

Schéma 65. Obtention du relebactam protégé *N*-Boc sous forme sulfate de sodium

Afin d'accéder au relebactam déprotégé, le composé **20** a été mis en présence d'acide trifluoroacétique dans les conditions mises au point précédemment pour éliminer le groupement protecteur Boc. Après purification par HPLC, le relebactam **21** a ainsi été obtenu sous forme de sels de TFA avec un rendement de 32% (Schéma 66).

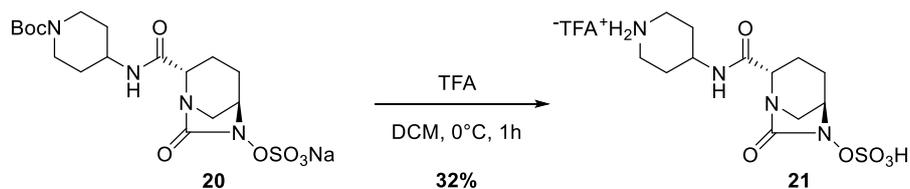


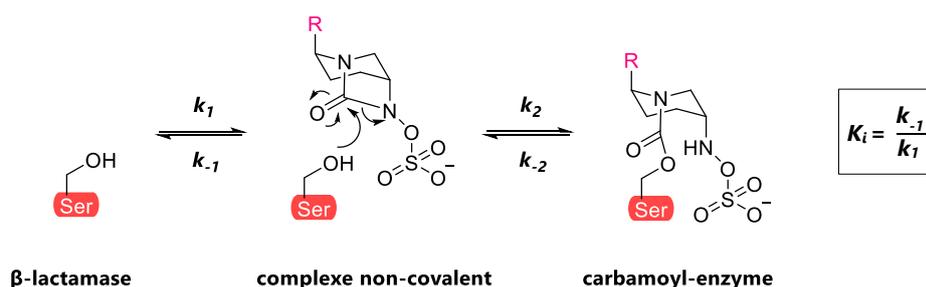
Schéma 66. Déprotection du groupement protecteur Boc

## b. Etude d'un panel de $\beta$ -lactamases de classe A, C et D

En comparaison avec l'avibactam et le relebactam précédemment décrit, deux paramètres ont été étudiés pour évaluer l'activité biologique de cette série de nouveaux DBOs fonctionnalisés. Cette étude réalisée par l'équipe du Dr Michel Arthur, a impliqué à la fois la détermination de paramètres cinétiques pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases, ainsi que l'évaluation de la capacité des DBOs à restaurer l'activité de  $\beta$ -lactamines contre des souches de laboratoire produisant des  $\beta$ -lactamases spécifiques.

Pour cela, un panel de cinq  $\beta$ -lactamases à sérine active a été choisi. Ces enzymes, cliniquement pertinentes, sont produites par des bactéries à Gram négatif et appartiennent à des classes structurales différentes : TEM-1, KPC-2 et CTX-M-15 (classe A), AmpC (classe C) et OXA-48 (classe D).

Tout d'abord, des tests *in vitro* ont été réalisés afin d'évaluer l'efficacité relative de carbamylation de ces  $\beta$ -lactamases par les composés DBOs en mesurant le rapport  $k_2/K_i$ . Cette valeur est calculée selon la constante de carbamylation ( $k_2$ ) en fonction de la constante d'inhibition ( $K_i$ ) (Schéma 67).

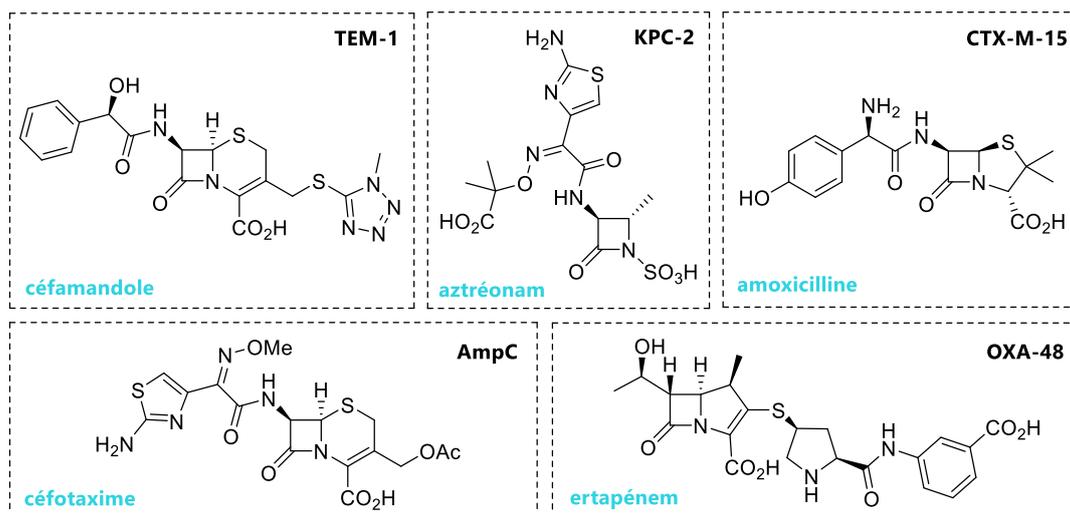


**Schéma 67.** Inactivation des  $\beta$ -lactamases par les DBOs

Puis des tests *in vivo* ont permis d'évaluer l'efficacité relative des DBOs à réduire la concentration minimale d'inhibition (CMI) d'antibiotiques  $\beta$ -lactame contre des souches isogéniques produisant ces  $\beta$ -lactamases spécifiquement. Pour cela, deux mesures de CMI ont été effectuées, en présence ou absence d'une concentration fixe d'inhibiteur DBO. Le rapport de « fold reduction » a alors pu être établi selon la formule suivante :

$$\text{Fold reduction} = \frac{\text{CMI de la } \beta\text{-lactamine sans DBO}}{\text{CMI de la } \beta\text{-lactamine avec DBO}}$$

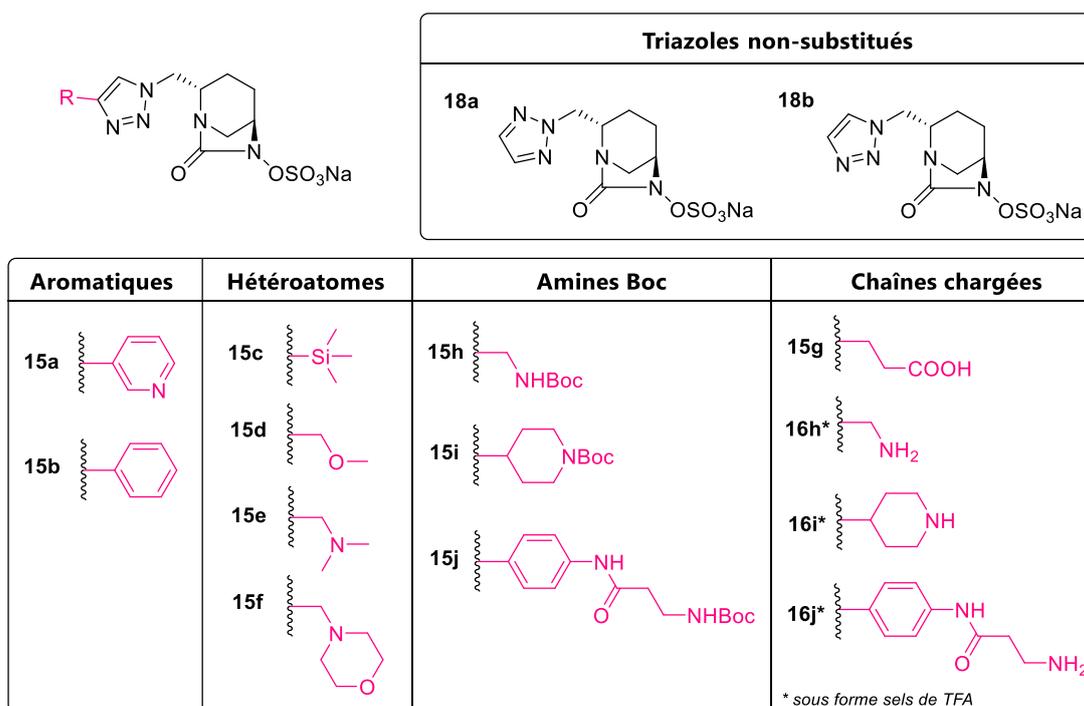
Le choix de la  $\beta$ -lactamine utilisée a été fait en fonction de son efficacité en présence de la  $\beta$ -lactamase étudiée. On retrouve ainsi les associations suivantes : TEM-1/céfamandole, KPC-2/aztréonam, CTX-M-15/amoxicilline, AmpC/céfotaxime et OXA-48/ertapénem (Figure 36).



**Figure 36.** Structure des  $\beta$ -lactamines utilisées en combinaison avec les DBOs selon la  $\beta$ -lactamase étudiée

Pour une meilleure visibilité dans la présentation des résultats obtenus (Annexes 1, 2 et 3), ceux-ci apparaîtront ici sous forme de « heat-maps ». Le code couleur montre alors l'activité relative du DBO sur les  $\beta$ -lactamases, une couleur foncée indiquant une forte activité. L'efficacité d'inhibition *in vitro* des  $\beta$ -lactamases par les composés DBOs (en rouge) correspond au  $\text{Log}_{10}$  de  $(k_2/K_i)$ . Tandis que l'activité antibactérienne *in vivo* (en bleu) se rapporte au  $\text{Log}_2$  du « fold reduction » des CMI.

Un rappel des structures des 15 DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués et non-substitués testés au cours de cette étude est présenté dans la Figure 37.



**Figure 37.** Récapitulatif des structures DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués et non-substitués

### i. Classe A

Parmi les  $\beta$ -lactamases de classe A étudiées, on trouve TEM-1 représentative des pénicillinases, KPC-2 qui hydrolyse les carbapénèmes, souvent utilisés en dernier recours pour le traitement d'infections multi-résistantes et CTX-M-15 une  $\beta$ -lactamase à large spectre (Figure 38).

TEM-1			KPC-2			CTX-M-15		
		In vitro	In vitro	In vivo	In vitro	In vitro	In vivo	
	Avibactam	4.9	4.4	10	5.1	5.1	10	
	Relebactam <b>21</b>	4.6	4	9	3	3	7	
Aromatiques	<b>15a</b>	3.1	2.7	8	3.2	3.2	6	
	<b>15b</b>	3.7	3	7	3.8	3.8	5	
Hétéroatomes	<b>15c</b>	2.6	2	5	2.6	2.6	1	
	<b>15d</b>	2.9	1.3	7	2.1	2.1	3	
	<b>15e</b>	2.9	2.1	6	1.5	1.5	3	
	<b>15f</b>	3.1	2.3	8	2	2	5	
Amine Boc	<b>15h</b>	3.4	2.7	4	2.1	2.1	1	
	<b>15i</b>	3.2	2.9	3	2.4	2.4	-1	
	<b>15j</b>	3.6	3	3	3.4	3.4	2.4	
Chaîne chargée	<b>16h</b>	3.5	2.1	9	1.9	1.9	4	
	<b>16i</b>	3.6	2.5	9	2.5	2.5	5	
	<b>16j</b>	3	2.3	6	2.6	2.6	4	
	<b>15g</b>	2.9	1.8	6	2	2	4	
Triazole non-substitué	<b>18a</b>	3.4	2.5	7	2.1	2.1	2	
	<b>18b</b>	3.1	2.4	8	2.4	2.4	5	

**Figure 38.** « Heat-maps » montrant l'efficacité *in vitro* d'inhibition des  $\beta$ -lactamases par les DBOs (en rouge) et leur capacité à restaurer l'activité antibactérienne de  $\beta$ -lactamines (céfamandole, aztréonam et amoxicilline) *in vivo* (en bleu) en présence de  $\beta$ -lactamases de classe A (TEM-1, KPC-2 et CTX-M-15)

Comme on peut le voir, les deux DBOs de référence, l'avibactam et le relebactam **21** présentent une très bonne inhibition de TEM-1 et KPC-2. Tandis que chez CTX-M-15, les bactéries exposées au relebactam conservent une activité partielle *in vivo*.

De façon générale, les DBOs présentant un cycle aromatique pyridine **15a** et phényle **15b**, sont parmi les composés les plus actifs sur cette classe de  $\beta$ -lactamases, bien qu'ils présentent une activité réduite par rapport aux DBOs de référence notamment chez KPC-2. En comparaison avec les régioisomères portant un motif 1,2,3-triazole non-substitué **18a** et **18b**, cette chaîne latérale aromatique semble tout de même avoir un impact favorable sur l'efficacité d'inactivation.

Parmi les DBO synthétisés comportant un hétéroatome, le composé substitué par une morpholine **15f** est parmi les plus actifs *in vivo*. Tandis que les chaînes latérales présentant un triméthylsilyle **15c**, un méthoxy **15d** et une diméthylamine **15e** sont moins bien tolérées en particulier chez KPC-2 et CTX-M-15.

Les composés protégés par un groupement Boc **15h**, **15i** et **15j**, présentent une efficacité *in vitro* similaire ou supérieure aux composés chargés déprotégés **16h**, **16i** et **16j**. Cependant, leur efficacité *in vivo* est bien plus faible en comparaison de ces derniers. Cette différence d'activité antibactérienne entre ces deux séries de composés peut alors résulter d'une mauvaise pénétration des DBOs contenant un groupement Boc, à travers la membrane externe de la souche testée. On peut noter que les DBOs chargés **16h** et **16i** sont parmi les composés les plus actifs *in vivo* sur cette classe de  $\beta$ -lactamases, présentant notamment une activité similaire à celle du relebactam **21** chez TEM-1, entraînant une forte réduction de la CMI. Tandis que la présence d'une chaîne acide carboxylique **15g** semble délétère à l'activité.

Cette nouvelle famille de DBOs fonctionnalisés par un lien 1,2,3-triazole présente ainsi une inhibition modérée vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases de classe A. En comparaison aux DBOs de référence, ils ne permettent ainsi pas de restaurer complètement l'activité antibactérienne.

## ii. Classe C

		AmpC	
		In vitro	In vivo
Avibactam		4.3	8
Relebactam <b>21</b>		4.2	10
Aromatiques	<b>15a</b>	1.9	1
	<b>15b</b>	2.3	1
Hétéroatomes	<b>15c</b>	1.4	2
	<b>15d</b>	1.2	1
	<b>15e</b>	1.3	2
	<b>15f</b>	1.5	1
Amine Boc	<b>15h</b>	1.7	1
	<b>15i</b>	1.5	1
	<b>15j</b>	2.3	1
Chaîne chargée	<b>16h</b>	1.2	1
	<b>16i</b>	1.4	1
	<b>16j</b>	1.4	2
	<b>15g</b>	2	2
Triazole non-substitué	<b>18a</b>	2.3	3
	<b>18b</b>	2.3	4

AmpC a été choisie pour représenter les  $\beta$ -lactamases de classe C à large spectre. Contrairement aux données précédentes, on peut constater que le relebactam **21** possède ici une meilleure efficacité *in vivo* que l'avibactam (Figure 39).

Dans cette étude, les DBOs synthétisés ont présenté une réduction très modérée de la CMI de la céfotaxime et une inhibition *in vitro* inférieure aux DBOs de référence.

Les composés présentant la meilleure activité se sont avérés être les DBOs non-substitués **18a** et **18b**. Aucune des chaînes latérales introduites sur le motif 1,2,3-triazole n'a alors eu d'impact positif sur l'efficacité d'inhibition de cette  $\beta$ -lactamase.

**Figure 39.** « Heat-map » montrant l'efficacité *in vitro* d'inhibition d'AmpC par les DBOs (en rouge) et leur capacité à restaurer l'activité antibactérienne de la céfotaxime *in vivo* (en bleu)

## iii. Classe D

		OXA-48	
		In vitro	In vivo
Avibactam		3	4
Relebactam <b>21</b>		<0.7*	0
Aromatiques	<b>15a</b>	<0.7*	0
	<b>15b</b>	2	0
	<b>15c</b>	<0.7*	-1
Hétéroatomes	<b>15d</b>	<0.7*	0
	<b>15e</b>	<0.7*	0
	<b>15f</b>	<0.7*	0
	<b>15h</b>	2.3	-1
Amine Boc	<b>15i</b>	2.3	-1
	<b>15j</b>	2.2	-1
	<b>16h</b>	<0.7*	0
Chaîne chargée	<b>16i</b>	<0.7*	0
	<b>16j</b>	<0.7*	1
	<b>15g</b>	<0.7*	0
	<b>18a</b>	2.2	0
Triazole non-substitué	<b>18b</b>	2.1	0

OXA-48, une carbapénémase de classe D, a été la dernière  $\beta$ -lactamase utilisée dans cette étude (Figure 40). L'avibactam a alors été le seul DBO à réduire significativement la CMI de l'ertapénem.

Les nouveaux DBOs 1,2,3-triazoles paraissent en effet très peu actifs sur cette  $\beta$ -lactamase. L'évaluation *in vitro* a montré que seuls les composés présentant un phényle **15b** ou une amine protégée par un groupement Boc **15h**, **15i** et **15j**, inhibaient OXA-48 avec une efficacité similaire aux composés non-substitués **18a** et **18b**.

Les chaînes latérales des autres DBOs, dont celle du relebactam **21**, semblent alors délétère à l'activité, aucune inhibition n'ayant été détectée à la concentration la plus élevée testée (100  $\mu$ M).

**Figure 40.** « Heat-map » montrant l'efficacité *in vitro* d'inhibition d'OXA-48 par les DBOs (en rouge) et leur capacité à restaurer l'activité antibactérienne de l'ertapénem *in vivo* (en bleu). \* Pas d'inhibition à 100 $\mu$ M

## c. Conclusion

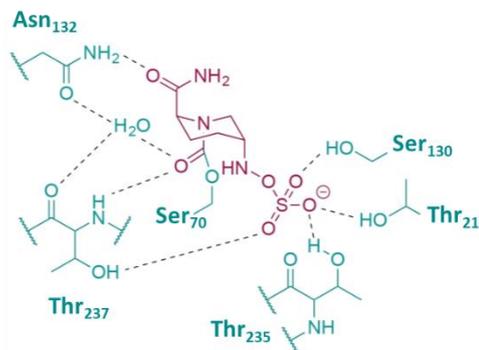
L'accès à cette nouvelle série de DBOs a fourni la possibilité d'étudier l'impact de l'introduction de divers substituants sur le noyau DBO, par la formation d'un lien 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué.<sup>187</sup> On constate alors que cette famille de composés semble très peu active chez AmpC et OXA-48, tandis que des inhibitions modérées ont été obtenues sur les  $\beta$ -lactamases de classe A. La présence d'un substituant aromatique de type pyridine **15a** ou phényle **15b** semble alors améliorer leur efficacité.

Dans l'ensemble, on retrouve une bonne corrélation entre l'efficacité d'inhibition des  $\beta$ -lactamases isolées et l'effet synergique en combinaison avec l'activité antibactérienne des  $\beta$ -lactamines. La fonctionnalisation des DBOs par un lien 1,2,3-triazole n'a ainsi pas altéré leur capacité à atteindre le périplasme des bactéries à Gram négatif étudiées. Le groupement Boc en revanche semble avoir un impact négatif sur la perméabilité des composés.

<sup>187</sup> F. Bouchet, H. Atze, M. Fonvielle, Z. Edo, M. Arthur, M. Ethève-Quelquejeu, L. Iannazzo, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 5257-5273

Cependant, les DBOs synthétisés au cours de cette étude ne présentent pas d'activité *in vitro* ou *in vivo* supérieure à celle de l'avibactam, sur l'ensemble des  $\beta$ -lactamases testées. Le lien 1,2,3-triazole semble alors être défavorisé par rapport aux DBOs de référence présentant une chaîne latérale amide.

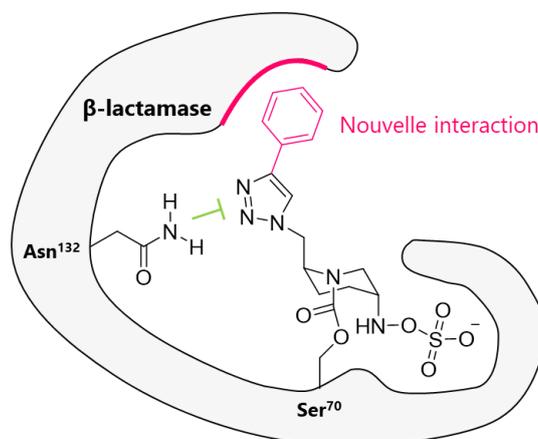
Afin d'expliquer cette activité réduite, la perte d'une interaction clé, entre un acide aminé particulier des  $\beta$ -lactamases à sérine active et cette fonction amide, a été proposée. La structure cristalline de KPC-2 acylé par l'avibactam révèle en effet une interaction hydrogène entre l'oxygène du carboxamide de celui-ci et l'amine du carboxamide de l'Asn en position 132 de la  $\beta$ -lactamase (Figure 41).<sup>34</sup> Ce résidu semblerait alors avoir un rôle déterminant dans l'efficacité de carbamylation des  $\beta$ -lactamases par les DBOs.



**Figure 41.** Interactions de l'avibactam dans le site actif de KPC-2

Pour étudier l'impact de cette interaction, l'équipe du Dr Michel Arthur a effectué une expérience de mutagenèse dirigée sur l'Asn<sup>132</sup>. Ceci leur a alors permis d'observer l'impact de la substitution par un résidu N<sup>132</sup>G sur l'efficacité de carbamylation de KPC-2 et CTX-M-15. Cette étude a été réalisée sur l'avibactam, le triazole non-substitué **10b** et le DBO présentant un motif phényle **7b**. Cette mutation a fortement nuí à l'efficacité de carbamylation de ces  $\beta$ -lactamases par l'avibactam, mais n'a eu que peu d'impact sur les deux composés DBOs 1,2,3-triazoles testés, confirmant bien l'importance de cette interaction.

Cette réduction de l'efficacité de nos composés DBOs pourrait ainsi s'expliquer par la perte de cette interaction avec l'Asn<sup>132</sup>, qui semble toutefois partiellement compensée par une interaction additionnelle entre le site actif des  $\beta$ -lactamases et certains substituants introduits sur le lien 1,2,3-triazole, tels que des résidus de types aromatiques (Figure 42).

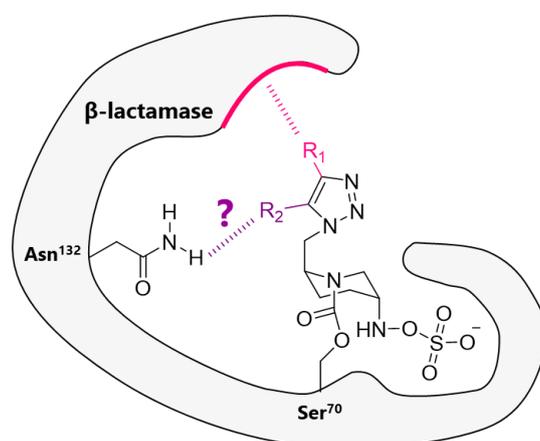


**Figure 42.** Représentation schématique des interactions entre un DBO 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué et le site actif d'une  $\beta$ -lactamase

#### IV. Accès à des DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués et 1,4,5-trisubstitués

Dans cette seconde partie, nous allons nous intéresser au développement d'une nouvelle méthodologie pour fonctionnaliser le cycle DBO par cycloaddition azoture-alcyne, afin d'accéder à des composés de type 1,5-disubstitués et 1,4,5-trisubstitués. Cette nouvelle approche synthétique reposant sur l'utilisation d'un catalyseur à base de ruthénium, va alors permettre d'étudier la réactivité du cycle DBO vis-à-vis de la formation de ce nouveau lien 1,2,3-triazole.

Dans le cadre de l'inhibition des  $\beta$ -lactamases, cette modification dans la structure de la chaîne latérale des DBOs pourrait potentiellement permettre la création de nouvelles interactions avec le site actif de l'enzyme, et peut-être même compenser la perte de l'interaction avec l'Asn<sup>132</sup>, observée avec la série des composés 1,4-disubstitués (Figure 43).



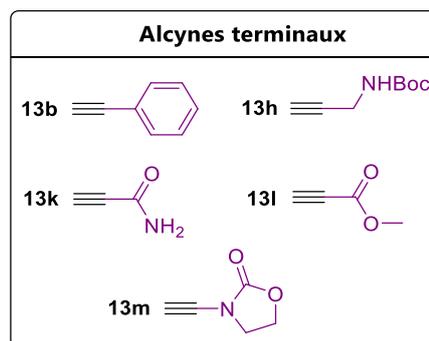
**Figure 43.** Représentation schématique d'interactions potentielles entre un DBO 1,2,3-triazole 1,5-disubstitué ou 1,4,5-trisubstitué et le site actif d'une  $\beta$ -lactamase

##### 1. Fonctionnalisation du dérivé DBO-azoture par RuAAC

Afin d'accéder à des DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués et 1,4,5-trisubstitués, le précurseur DBO-azoture précédemment décrit sera soumis à des réactions de RuAAC en présence de divers alcynes terminaux et internes. Dans un premier temps, nous allons donc nous intéresser à la synthèse de ces alcynes partenaires, puis nous verrons la mise au point des conditions de cycloaddition, permettant l'exemplification de cette méthodologie à une large variété d'alcynes.

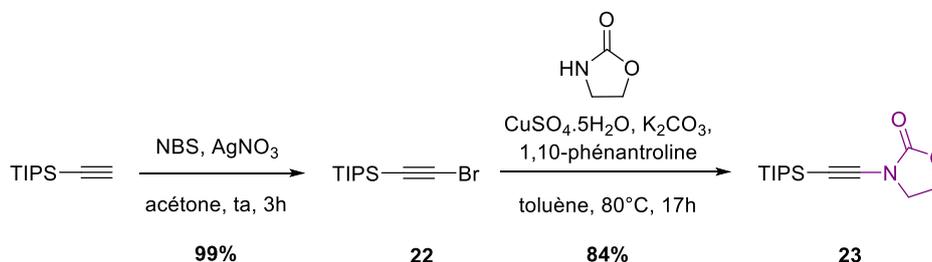
### a. Synthèse des alcynes

Le choix des alcynes terminaux partenaires de la réaction de RuAAC, a été fait dans l'objectif d'introduire des substituants capables de créer des interactions hydrogènes (Figure 44). Pour cela, trois alcynes commerciaux ont été utilisés présentant un motif phényle **13b**, amide **13k** et ester méthylique **13l**. Un alcyne précédemment décrit substitué par une amine protégée temporairement par un groupement Boc **13h** a aussi été envisagé. Enfin, un alcyne terminal portant un motif oxazolidinone **13m** a également été synthétisé.



**Figure 44.** Structures des alcynes terminaux partenaires de la réaction de RuAAC

Pour accéder à ce composé, une méthodologie passant par l'amidation d'alcynes bromés a été utilisée,<sup>188</sup> à partir d'un alcyne temporairement protégé par un groupement triisopropylsilyle.<sup>189</sup> Dans un premier temps, l'utilisation de *N*-bromosuccinimide et d'une quantité catalytique de nitrate d'argent, dans de l'acétone à température ambiante pendant 3h, a permis la bromation du (triisopropylsilyl)acétylène conduisant à l'alcyne bromé **22** avec un excellent rendement de 99%. Une étape d'amidation catalysée au cuivre (II) en présence de 2-oxazolidinone dans le toluène à 80°C pendant 17h, a ensuite conduit à la formation de l'alcyne protégé **23** avec un rendement de 84% (Schéma 68).<sup>190</sup>



**Schéma 68.** Voie de synthèse pour l'obtention de l'alcyne substitué par une 2-oxazolidinone

La déprotection du groupement triisopropylsilyle du composé **23**, en présence de fluorure de tétra-*n*-butylammonium dans du THF pendant 1h, a finalement permis d'accéder à l'alcyne désiré **13m** avec un très bon rendement de 87% (Schéma 69).

<sup>188</sup> a) Y. Zhang, R. P. Hsung, M. R. Tracey, K. C. M. Kurtz, E. L. Vera, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1151-1154 b) X. Zhang, Y. Zhang, J. Huang, R. P. Hsung, K. C. M. Kurtz, J. Oppenheimer, M. E. Petersen, I. K. Sagamanova, L. Shen, M. R. Tracey, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4170-4177

<sup>189</sup> A. M. Cook, C. Wolf, *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 2377-2392

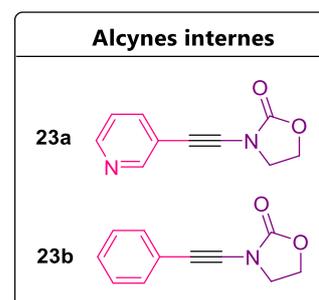
<sup>190</sup> Y.-L. Chen, P. Sharma, R.-S. Liu, *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 3187-3190



**Schéma 69.** Obtention de l'alcyne terminal portant un motif oxazolidinone

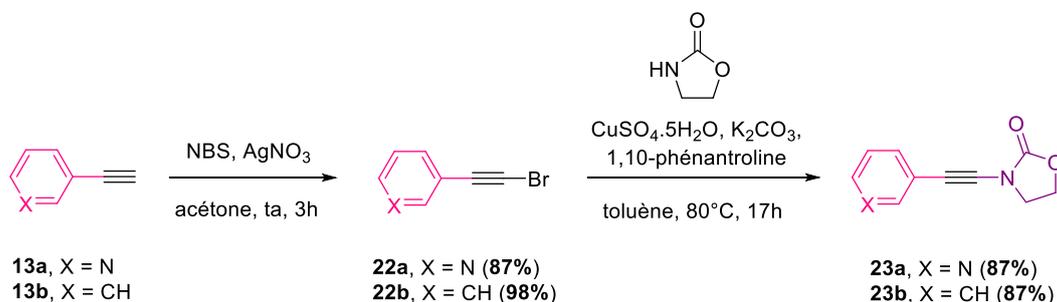
Comme nous l'avons vu précédemment, outre sa régiosélectivité, un des avantages de la RuAAC repose sur sa capacité à catalyser également la cycloaddition d'alcynes internes.

Il nous est alors paru intéressant d'introduire un groupement aromatique en position 4 d'un DBO 1,2,3-triazole 1,4,5-trisubstitué, afin de comparer son activité avec les composés **15a** et **15b** précédemment décrits. Notre choix s'est alors porté sur l'utilisation d'ynamides, capables d'orienter la régiosélectivité pour l'obtention du composé trisubstitué présentant ce motif en position 5. Deux alcynes internes portant un groupement aromatique pyridine **23a** ou phényle **23b** et une fonction oxazolidinone ont alors été synthétisés (Figure 45).



**Figure 45.** Structure des alcynes internes

Pour accéder à ces deux composés ynamides substitués, la méthodologie décrite précédemment passant par l'amidation d'alcynes bromés a été utilisée.<sup>191</sup> Une première étape de bromation du 3-éthynylpyridine **13a** et du phénylacétylène **13b** a permis d'obtenir les alcynes bromés **22a** et **22b** avec de très bons rendements de 87 et 98% respectivement. L'amidation de ces composés en présence de 2-oxazolidinone a ensuite conduit à la formation des deux alcynes internes portant un substituant pyridine **23a** et un phényle **23b**, avec un rendement identique de 87% dans les deux cas (Schéma 70).



**Schéma 70.** Synthèse des précurseurs alcynes internes

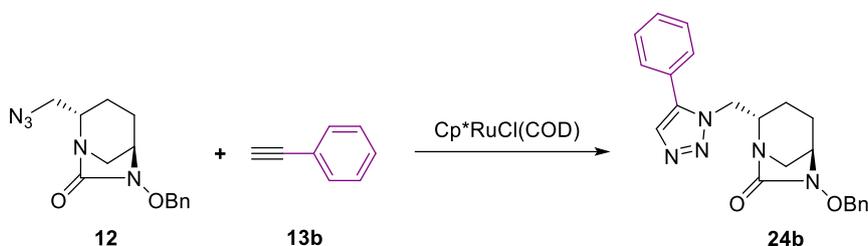
<sup>191</sup> Y. Gao, G. Wu, Q. Zhou, J. Wang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, 57, 2716-2720

## b. Mise au point des conditions de cycloaddition azoture-alcyne

Il a ensuite fallu mettre au point des conditions de cycloaddition optimales, permettant de fonctionnaliser le précurseur DBO-azoture en présence des différents alcynes précédemment mentionnés. Afin de développer une méthodologie efficace pour accéder à des DBOs de type 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués mais aussi 1,4,5-trisubstitués, la mise au point des conditions réactionnelles a alors été réalisée en parallèle avec des alcynes terminaux et des alcynes internes.

Pour synthétiser ces différents composés, nous nous sommes orientés vers la cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le ruthénium (II). Comme nous l'avons vu précédemment, des températures élevées sont nécessaires dans la plupart des cas pour améliorer l'efficacité de cette réaction. Notre choix s'est alors porté sur le  $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{COD})$  qui présente l'avantage d'être plus réactif en comparaison des autres complexes de type «  $\text{Cp}^*\text{RuCl}$  » classiquement utilisés, le rendant plus adapté aux cycloadditions à température ambiante.

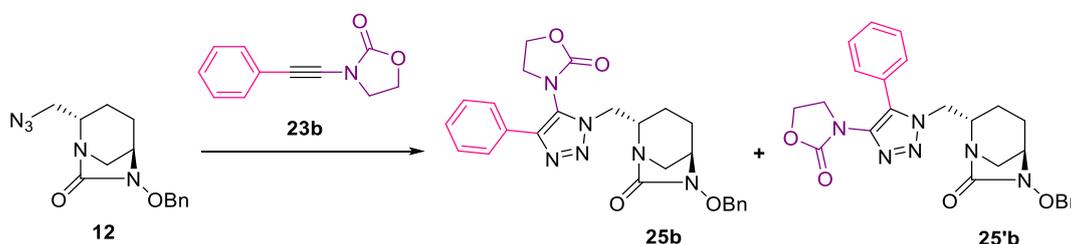
Le phénylacétylène **13b** a tout d'abord été choisi comme alcyne terminal modèle, pour optimiser cette réaction de RuAAC en présence du DBO-azoture **12** et du complexe  $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{COD})$ . En nous basant sur les conditions décrites par V. V. Fokin,<sup>165</sup> l'utilisation de 2 mol% de catalyseur dans du toluène à température ambiante pendant 72h, a conduit à la formation du DBO 1,2,3-triazole 1,5-disubstitué par un groupement phényle **24b**, avec un rendement de 27% (Tableau 3, Entrée 1). Une simple augmentation de la charge catalytique à 5 mol%, a ensuite permis d'obtenir le composé **24b** avec un très bon rendement de 80% en seulement 3h (Tableau 3, Entrée 2).



Entrée	Charge catalytique	Solvant	Température	Durée	Rendement
1	2 mol%	toluène	ta	72h	27%
2	5 mol%	toluène	ta	3h	80%

**Tableau 3.** Mise au point des conditions en présence de phénylacétylène

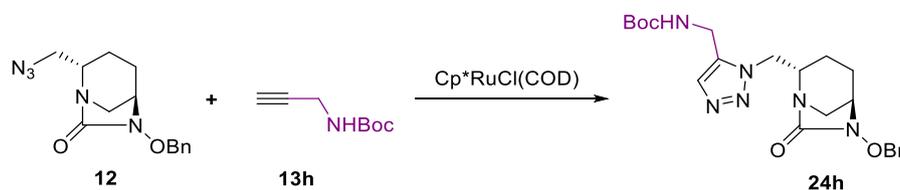
Afin d'appliquer ces conditions aux alcynes internes, l'alcyne substitué par un phényle et une oxazolidinone **23b** a ensuite été choisi comme composé modèle. En présence de 5 mol% de Cp\*RuCl(COD) dans du toluène à température ambiante pendant 24h, le DBO 1,2,3-triazole 1,4,5-trisubstitué **12** a alors été obtenu avec un faible rendement de 6% (Tableau 4, Entrée 1). Une augmentation de la charge catalytique à 20 mol% a ensuite permis d'améliorer significativement le rendement à 46% (Tableau 4, Entrée 2). Une autre méthodologie utilisant un catalyseur à base de nickel et permettant également de réaliser cette réaction de cycloaddition à température ambiante, a alors été envisagée pour accéder à ce composé. En se basant sur les travaux de l'équipe de S. Y. Hong sur les alcynes internes,<sup>173</sup> la fonctionnalisation du DBO-azoture **12** par l'alcyne **23b** a ainsi été réalisée avec 20 mol% de nickelocène et de ligand dppbz, plus efficace pour la cycloaddition d'ynamides. Dans ces conditions, l'utilisation de toluène comme solvant de la réaction à température ambiante pendant 24h, a conduit à la formation de deux régioisomères **25b** et **25'b** avec une large prépondérance en faveur du composé substitué par l'oxazolidinone en position 5. Le DBO souhaité **25b** a alors été obtenu avec un bon rendement de 73% (Tableau 4, Entrée 3). Cette approche entraînant cependant une moins bonne régiosélectivité que l'utilisation du catalyseur à base de ruthénium, de nouvelles conditions ont été testées. Le milieu réactionnel a ainsi été chauffé à 70°C pendant 24h en présence d'une charge catalytique réduite de Cp\*RuCl(COD), conduisant alors à la formation du composé **25b** avec un rendement identique de 73% (Tableau 4, Entrée 4).



Entrée	Système catalytique	Charge catalytique	Solvant	Temp.	Durée	Rendement 25b	Rendement 25'b
1	Cp*RuCl(COD)	5 mol%	toluène	ta	24h	6%	/
2	Cp*RuCl(COD)	20 mol%	toluène	ta	18h	46%	/
3	Cp <sub>2</sub> Ni / dppbz	20 mol%	toluène	ta	24h	73%	5%
4	Cp*RuCl(COD)	10 mol%	toluène	70°C	24h	73%	/

**Tableau 4.** Mise au point des conditions en présence d'un alcyne interne

Bien que l'utilisation du catalyseur Cp\*RuCl(COD) ne nécessite pas forcément d'activation thermique, il semblerait tout de même qu'une élévation de la température améliore l'efficacité de la réaction de RuAAC. Ces résultats concordent en effet avec ceux obtenus en présence de méthylpropargylamine protégée **13h**, dont le rendement a doublé en chauffant le milieu réactionnel à 70°C (Tableau 5).

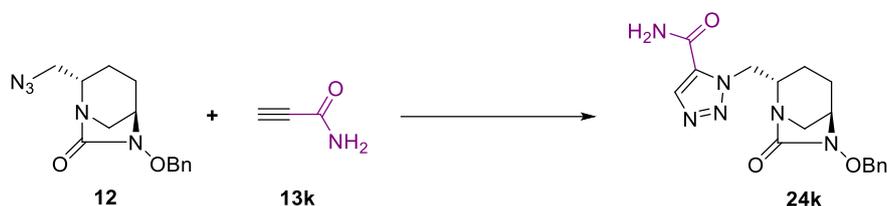


Entrée	Charge catalytique	Solvant	Température	Durée	Rendement
1	20 mol%	toluène	ta	48h	16%
2	10 mol%	toluène	70°C	24h	35%

**Tableau 5.** Mise au point des conditions en présence de N-Boc-N-méthylpropargylamine

Une dernière phase d'optimisation a alors été effectuée afin d'établir des conditions applicables à un panel plus large d'alcynes. Pour cela, le propiolamide qui diffère notamment du point de vue de sa solubilité a été utilisé comme référence. En comparaison avec le phénylacétylène, l'utilisation de 5 mol% de catalyseur dans du toluène à température ambiante n'entraînant pas de formation du produit de cycloaddition, le mélange a été chauffé à 70°C pendant 24h. Le DBO 1,2,3-triazole 1,5-disubstitué par une fonction amide **24k** n'a alors été obtenu qu'avec un rendement de 6% (Tableau 6, Entrée 1). Ce faible rendement pouvant s'expliquer par une insolubilité du propiolamide dans le toluène, un autre solvant a été envisagé. Ainsi, l'utilisation de DMF en présence de 10 mol% de Cp\*RuCl(COD) à température ambiante pendant 48h a conduit à la formation du composé **24k** avec un meilleur rendement de 39% (Tableau 6, Entrée 2). Afin de confirmer qu'une élévation de température soit également bénéfique dans ce cas, la réaction a été chauffée à 70°C pendant 24h permettant alors d'obtenir le DBO **24k** avec un rendement de 46% (Tableau 6, Entrée 3). En revanche dans ces conditions, un temps de réaction plus long de 48h semble contreproductif, aboutissant à une baisse de rendement à 34% (Tableau 6, Entrée 4). Dans l'objectif d'améliorer encore le rendement de cette réaction de cycloaddition en présence du propiolamide, des conditions de NiAAC appliquées aux alcynes terminaux décrites par l'équipe de S. Y. Hong<sup>172</sup> ont également été testées. Des résultats similaires étant obtenus avec divers solvants (toluène, DCM, DMF, eau), notre choix s'est porté sur l'utilisation de DMF en raison de la solubilité de l'alcyne. La réaction a alors été réalisée en présence de 20 mol% de nickelocène et de ligand Xantphos dans du DMF à température ambiante pendant 48h. Mais dans ces conditions, le produit attendu **24k** n'a pas été observé

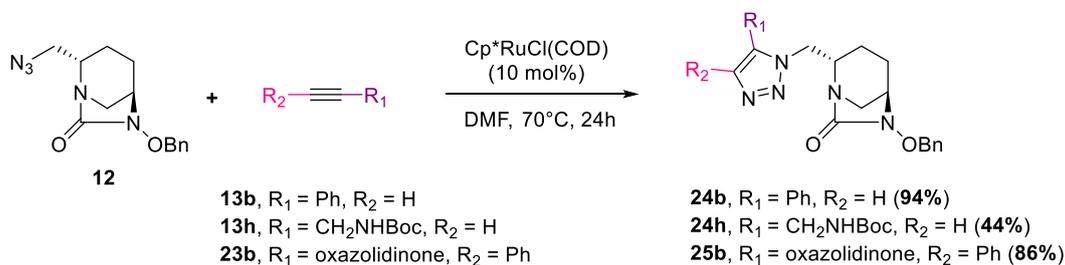
et seuls les produits de départ ont été isolés (Tableau 6, Entrée 5). Cette réaction semble alors très substrat dépendante, confirmant notre choix d'employer un catalyseur à base de ruthénium.



Entrée	Système catalytique	Charge catalytique	Solvant	Température	Durée	Rendement
1	Cp*RuCl(COD)	5 mol%	toluène	ta → 70°C	24h	6%
2	Cp*RuCl(COD)	10 mol%	DMF	ta	48h	39%
3	Cp*RuCl(COD)	10 mol%	DMF	70°C	24h	46%
4	Cp*RuCl(COD)	10 mol%	DMF	70°C	48h	34%
5	Cp <sub>2</sub> Ni / Xantphos	20 mol%	DMF	ta	48h	/

**Tableau 6.** Mise au point des conditions en présence de propiolamide

Finalement, pour déterminer l'impact du solvant utilisé, les alcynes **13b**, **13h** et **23b** ont été soumis aux mêmes conditions que celles établies précédemment avec le propiolamide. Ainsi, en présence d'une quantité catalytique de 10 mol% de Cp\*RuCl(COD) dans du DMF à 70°C pendant 24h, les DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués **24b** et **24h** et 1,4,5-trisubstitués **25b**, ont été obtenus avec de meilleurs rendements de 94, 44 et 86% respectivement (Schéma 71).

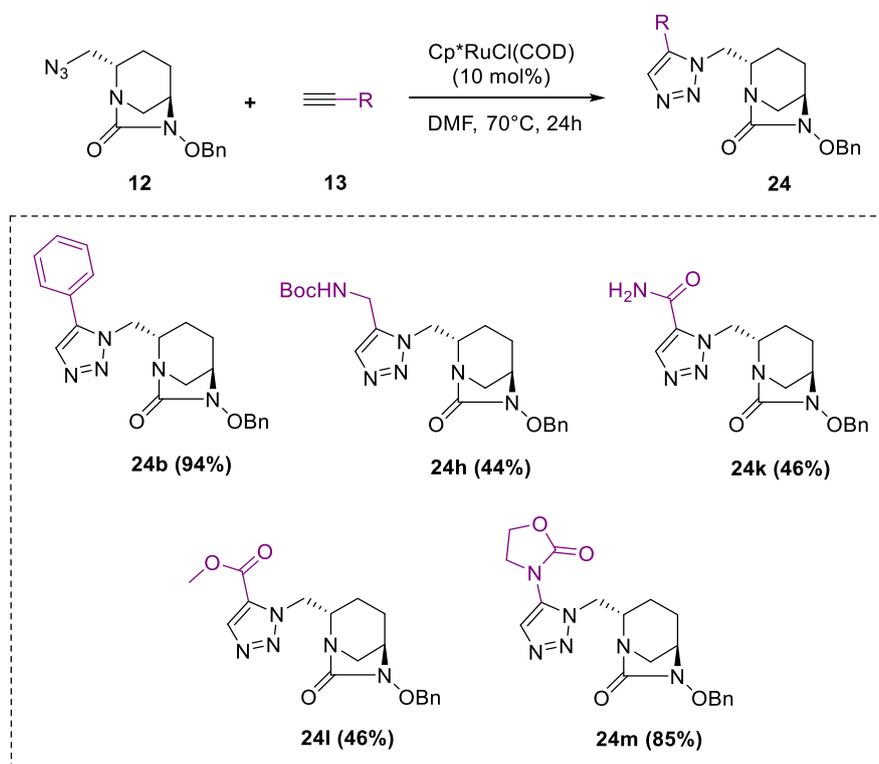


**Schéma 71.** Application des conditions de RuAAC dans le DMF

Les conditions mises au point ayant entraîné une amélioration du rendement pour les 4 composés testés, elles semblent optimales pour fonctionnaliser le DBO-azoture **12** avec une large variété d'alcynes. Nous avons donc choisi cette méthodologie pour exemplifier la fonctionnalisation du cycle DBO par RuAAC.

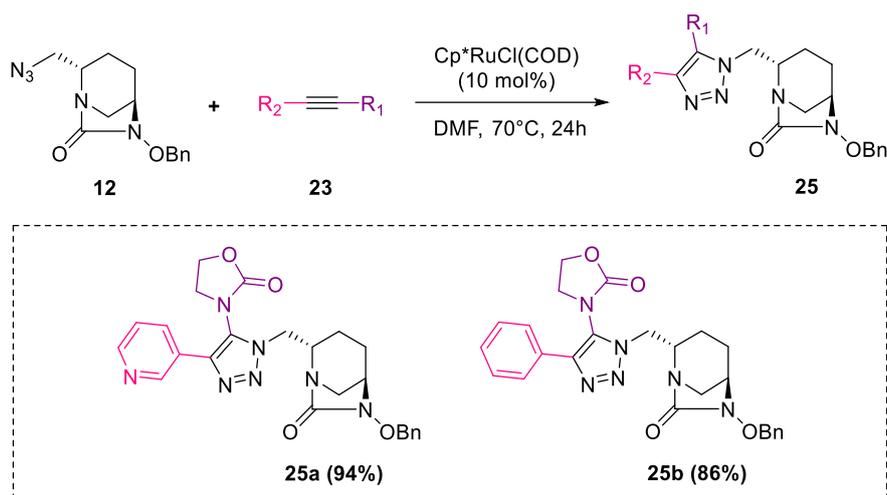
### c. Exemplification

Ces conditions ont ainsi été étendues dans un premier temps aux alcynes terminaux précédemment cités (Figure 44). En présence de 10 mol% de Cp<sup>\*</sup>RuCl(COD) dans du DMF à 70°C pendant 24h, un substituant ester méthylique **24i** et un motif oxazolidinone **24m** ont alors pu être introduits avec des rendements de 46 et 85% respectivement. Cette méthodologie nous a finalement permis d'accéder à une série de 5 DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués avec des rendements allant de 44 à 94% (Schéma 72).



**Schéma 72.** Formation de DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués par RuAAC

Un autre alcyne interne substitué par une pyridine a également été soumis à ces conditions de RuAAC avec un excellent rendement de 94%, permettant l'accès à un second DBO 1,2,3-triazole 1,4,5-trisubstitué **25a** (Schéma 73).



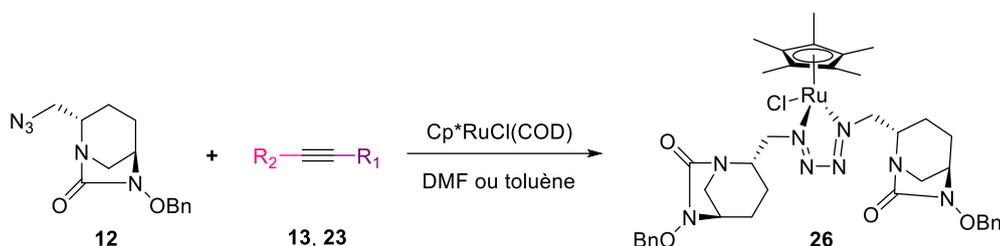
**Schéma 73.** Fonctionnalisation du DBO-azoture par RuAAC en présence d'alcynes internes

Cette nouvelle méthodologie reposant sur l'utilisation d'un catalyseur à base de ruthénium, s'est ainsi montré compatible avec une variété d'alcynes terminaux et internes, nous permettant d'accéder à de nouveaux DBOs 1,2,3-triazoles diversement fonctionnalisés.

On peut évoquer le fait que la régiosélectivité de la réaction de RuAAC observée en présence de certains alcynes internes tels que les deux ynamides introduites dans cette étude, n'est pas toujours élucidée dans la littérature. Celle-ci est très dépendante de la nature de l'alcyne et une règle générale ne peut pas clairement être établie, bien qu'une certaine tendance puisse tout de même se dégager, tel que cela a été évoqué au début de ce chapitre. De façon générale, les propriétés électroniques et certainement stériques de l'alcyne semblent orienter la régiosélectivité. L'étape clé est alors la formation de l'intermédiaire ruthénacycle à 6 chaînons où la nouvelle liaison C-N se forme entre l'atome d'azote terminal de l'azoture et le carbone le plus électro-négatif de l'alcyne, qui devient alors le C4 sur le 1,2,3-triazole final. On peut cependant noter que dans le cas des alcools propargyliques, une interaction hydrogène entre l'alcool de l'alcyne et le chlore du complexe de type « Cp<sup>\*</sup>RuCl » pourrait également stabiliser cet intermédiaire et orienter la régiosélectivité en faveur du composé présentant la fonction alcool en position 5.<sup>165</sup> De plus, la nature du second substituant de l'alcyne interne doit également être prise en compte. En effet, dans le cas des ynamides par exemple, une régiosélectivité totale en faveur du composé 1,5-disubstitué a pu être observée en présence d'un groupement ester ou phényle tandis qu'une chaîne alkyle a abouti à l'obtention d'un mélange des deux régioisomères.<sup>169</sup> Le contrôle de la régiosélectivité pourrait alors être induite dans ce cas par une interaction additionnelle entre l'atome de ruthénium et les orbitales non-liantes du carbonyle de l'ester ou les orbitales π du phényle.

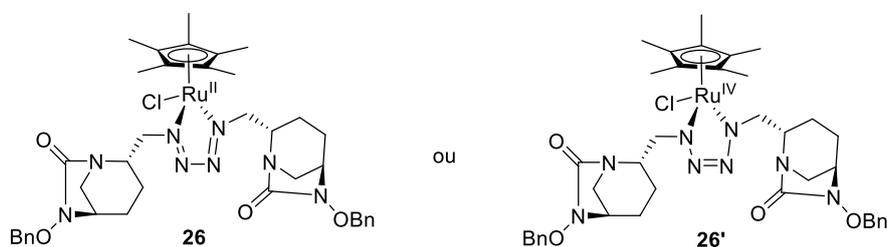
#### d. Mise en évidence d'un complexe ruthénium-tétrazadiène

Au cours de cette étude pour développer une méthode de fonctionnalisation du cycle DBO par RuAAC, la formation d'un produit secondaire a été mis en évidence. Un complexe ruthénium-tétrazadiène<sup>165</sup> **26** stable sur silice a en effet pu être isolé à plusieurs reprises (Schéma 74).



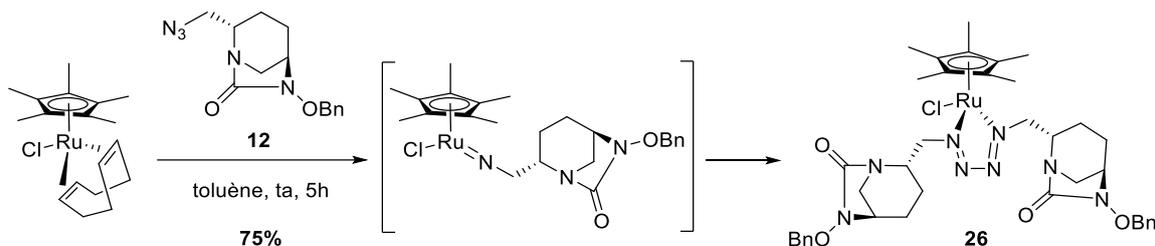
**Schéma 74.** Identification d'un produit secondaire au cours de la RuAAC

La formation de ce complexe tétrazadiène **26** (ou possiblement tétrazénide **26'**) (Schéma 75) est un phénomène connu, entraînant la désactivation du catalyseur à base de ruthénium. L'activité catalytique est ainsi diminuée car celui-ci ne réagit alors plus avec des alcynes ou des azotures. Pour essayer de minimiser cette réaction secondaire, il est alors important que l'alcyne et l'azoture soient ajoutés simultanément à la solution de catalyseur.



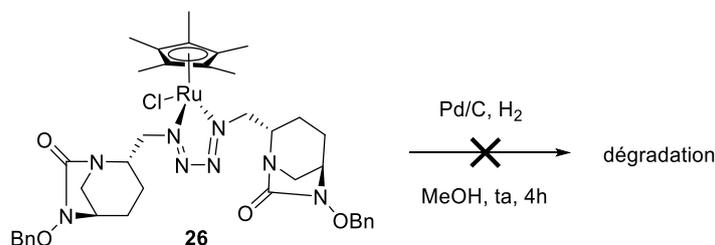
**Schéma 75.** Inactivation du catalyseur sous forme d'un complexe de ruthénium tétrazadiène ou tétrazénide

Afin de mettre en évidence ce complexe tétrazadiène, le DBO-azoture **12** a été mis en présence d'une quantité stœchiométrique de Cp\*RuCl(COD) dans du toluène à température ambiante pendant 5h, entraînant bien la formation de celui-ci avec un bon rendement de 75% (Schéma 76).



**Schéma 76.** Formation d'un complexe ruthénium-tétraazadiène avec le DBO-azoture

Les complexes métalliques étant très étudiés en chimie médicinale pour le développement de nouveaux médicaments,<sup>192</sup> il nous a paru intéressant d'essayer d'obtenir ce complexe sous forme sulfate. Pour cela, un essai a été réalisé afin de déprotéger la fonction hydroxylamine du cycle DBO en présence de Pd/C. Malheureusement, le complexe tétraazadiène ne semble pas stable dans ces conditions réductrices et nous n'avons observé que la dégradation de celui-ci (Schéma 77).



**Schéma 77.** Essai de déprotection du groupement benzyle

## 2. Obtention des DBOs sous forme sulfate de sodium

Afin d'étudier leur efficacité pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases, l'étape clé d'introduction du groupement sulfate sur l'hydroxylamine a ensuite dû être réalisée sur les deux nouvelles séries de DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués et 1,4,5-trisubstitués. Pour cela, les conditions mises au point précédemment ont été utilisées.

<sup>192</sup> a) G. Gasser, N. Metzler-Nolte, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2012**, *16*, 84-91 b) Y. Ching Ong, S. Roy, P. C. Andrews, G. Gasser, *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 730-796 c) Y. Lin, H. Betts, S. Keller, K. Cariou, G. Gasser, *Chem. Soc. Rev.* **2021**, *50*, 10346-10402

## a. DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués

Dans un premier temps, les DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués **24** ont été déprotégés en présence de Pd/C. Puis la sulfation de l'alcool résultant a été réalisée par l'emploi du complexe trioxyde de soufre-pyridine suivi d'un passage sur colonne DOWEX Na<sup>+</sup>. Les DBOs **26** sous forme sulfate de sodium ont ainsi pu être obtenus avec des rendements isolés après HPLC compris entre 23 et 54% (Schéma 78).

Dans ces conditions, le DBO 1,2,3-triazole **27b** portant un substituant phényle a été obtenu avec un bon rendement de 54% après purification par HPLC. Le composé comportant une amine protégée par un groupement Boc **27h** a été synthétisé avec un rendement du même ordre de 47%. Tandis que les fonctions amide **27k**, ester méthylique **27l** et carbamate cyclique **27m** présentent des rendements légèrement inférieurs de 32, 23 et 37% respectivement.

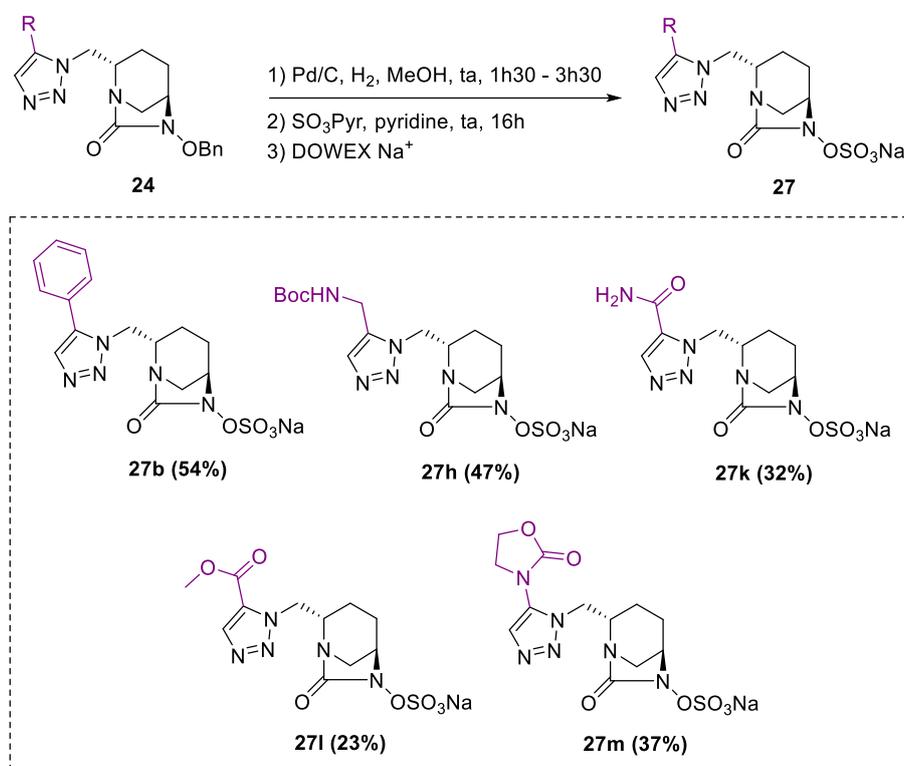


Schéma 78. Obtention des DBOs finaux 1,5-disubstitués sous forme sulfate de sodium

Parmi cette nouvelle série de DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués, le composé **27h** est protégé par un groupement Boc. Cette protection de l'amine, nécessaire en raison de l'étape de sulfation précédemment décrite, engendre une étape de déprotection supplémentaire pour accéder au DBO souhaité. Un traitement avec de l'acide trifluoroacétique dans du DCM à 0°C a alors permis d'isoler le composé **28** sous forme sels de TFA, avec un rendement de 25% après purification par HPLC (Schéma 79).

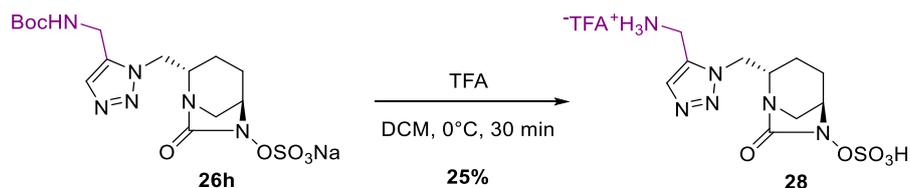


Schéma 79. Déprotection du groupement protecteur Boc

### b. DBOs 1,2,3-triazoles 1,4,5-trisubstitués

Les DBOs 1,2,3-triazoles 1,4,5-trisubstitués **25a** et **25b** ont également été soumis aux conditions d'hydrogénation pour éliminer le groupement benzyle, suivi de l'étape de sulfation puis du passage sur résine échangeuse d'ions, afin d'introduire le groupement sulfate. La solubilité des composés intermédiaires a cependant nécessité une optimisation du procédé, avec l'utilisation d'un mélange H<sub>2</sub>O/acétone pour solubiliser et éluer les composés lors du passage sur DOWEX Na<sup>+</sup>. L'addition d'acétone a ainsi permis une meilleure solubilisation des composés, légèrement plus apolaires que les DBOs synthétisés précédemment.

Dans ces conditions, le composé **29b** substitué par un phényle a alors été obtenu avec un bon rendement isolé après HPLC de 57% sur 3 étapes (Schéma 80, Conditions A).

En revanche, des difficultés ont été rencontrées pour déprotéger l'alcool du DBO **25a** substitué par une pyridine. Nous avons ainsi été amenés à développer de nouvelles conditions pour la déprotection de ce composé. Finalement, la réaction a été réalisée sous pression à 3,5 bars pendant 19h en présence de 2 éq. de Pd/C, permettant après sulfation puis passage sur colonne échangeuse d'ions, d'accéder au DBO **29a** avec un rendement isolé après HPLC de 9% (Schéma 80, Conditions B). Ce rendement inférieur peut en partie s'expliquer par des difficultés de purification du composé par HPLC.

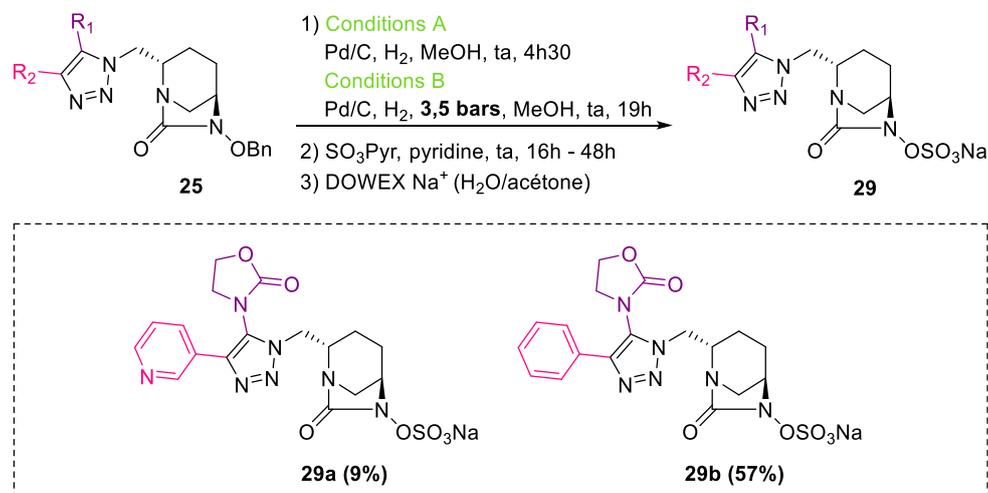


Schéma 80. Obtention des DBOs finaux 1,4,5-trisubstitués sous forme sulfate de sodium

## V. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons mis au point trois stratégies pour introduire un motif 1,2,3-triazole sur le cycle DBO (Schéma 81). Pour cela, deux voies d'accès dont une synthèse en 12 étapes ont tout d'abord été décrites pour accéder à un précurseur DBO-azoture.<sup>181</sup>

Une première méthode de *N*-alkylation à partir d'un intermédiaire présentant une fonction hydroxyle a ainsi conduit à la formation de 2 DBOs 1,2,3-triazoles non-substitués (Schéma 81, **voie A**). Tandis que deux autres méthodologies basées sur des réactions de cycloadditions azoture-alcyne ont été développées pour accéder facilement à de nouveaux DBOs fonctionnalisés en position C<sub>2</sub>.

Une première variante catalysée au cuivre (I) a ainsi permis d'obtenir une série de 13 DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués (Schéma 81, **voie B**). Ce travail de synthèse a notamment conduit au développement d'une méthode efficace pour introduire la fonction sulfate essentielle à l'activité de la molécule. Ces deux familles de nouveaux DBOs fonctionnalisés ont alors été testées sur un panel de cinq  $\beta$ -lactamases cliniquement pertinentes par nos collaborateurs biologistes. Bien qu'une activité réduite en comparaison des DBOs de référence ait été observée, cette nouvelle voie synthétique a fourni une approche polyvalente pour explorer l'espace chimique pour de nouvelles interactions avec le site actif de cibles potentielles.<sup>187</sup>

La mise au point de conditions réactionnelles pour une variante catalysée au ruthénium (II), nous a ensuite permis d'accéder à une série de 6 DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués et 2 composés trisubstitués (Schéma 81, **voie C**). Au cours de cette optimisation, la formation d'un complexe ru-tétraazadiène avec le DBO-azoture a également été mise en évidence. Cette réaction de RuAAC, moins employée pour introduire de la diversité moléculaire au profit de la CuAAC largement utilisée, est alors une bonne méthode pour explorer tout le potentiel de la fonctionnalisation du cycle DBO par l'introduction d'un motif 1,2,3-triazole. L'activité biologique de cette nouvelle série de composés vis-à-vis de l'inhibition de  $\beta$ -lactamases est actuellement à l'étude par nos collaborateurs microbiologistes de l'équipe du Dr Michel Arthur.

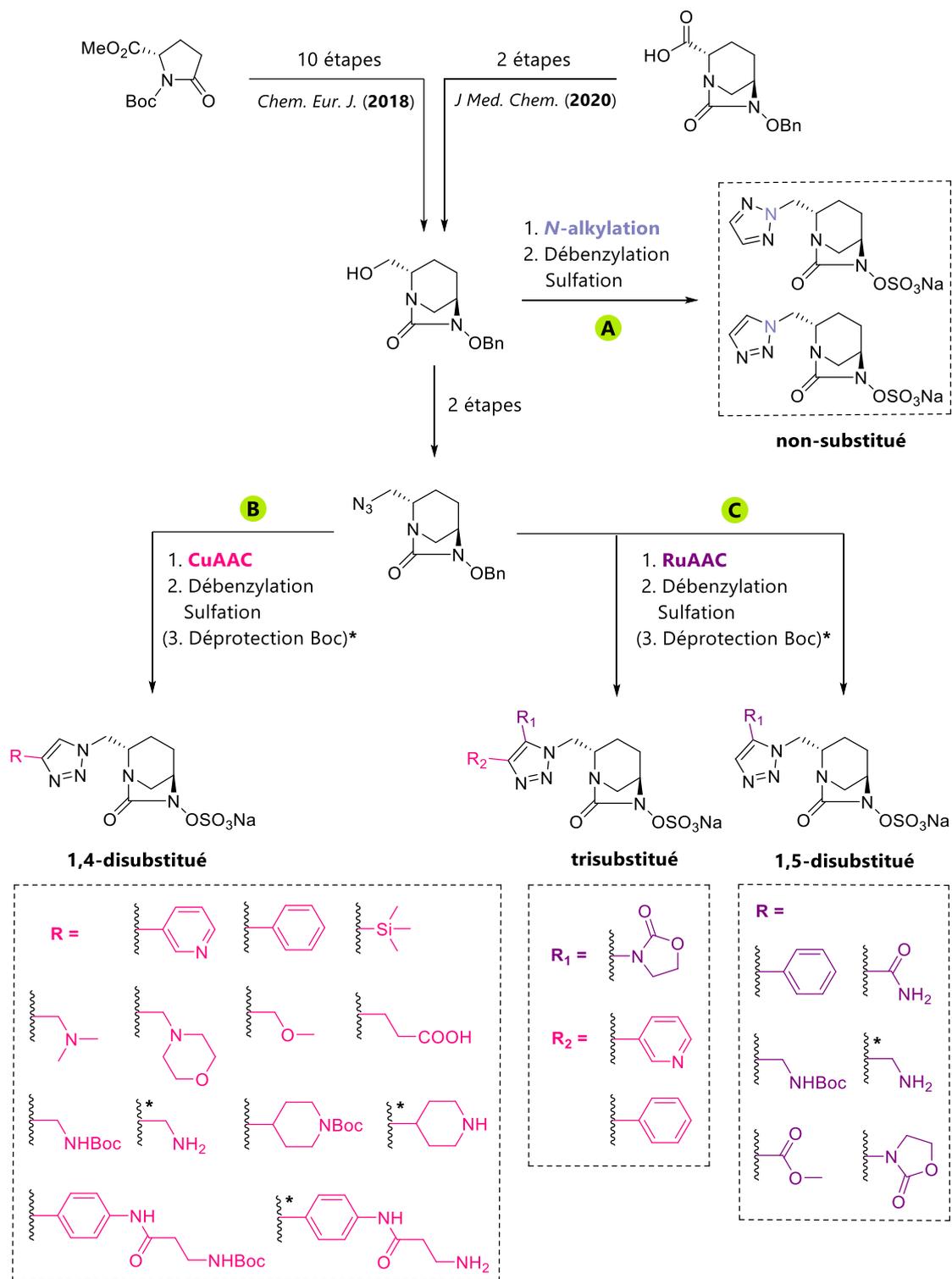


Schéma 81. Introduction d'un motif 1,2,3-triazole sur le cycle DBO

## **Chapitre II** : Formation d'un lien amide par ligation de Staudinger traceless

---



## I. Introduction

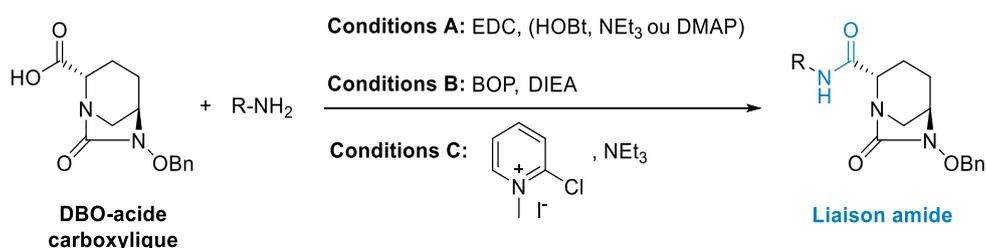
Dans cette partie, nous allons nous intéresser à la fonctionnalisation de la position C2 du cycle DBO par la formation d'un lien amide, qui est la modification la plus utilisée pour introduire de la diversité moléculaire en cette position, mais qui repose toujours sur la même approche. Nous allons donc proposer ici une nouvelle voie d'accès à ce type de DBOs fonctionnalisés *via* le développement d'une méthodologie originale basée sur la ligation de Staudinger traceless.

### 1. Fonctionnalisation du cycle DBO par couplage amide

#### a. A partir d'un DBO-acide carboxylique commercial

Pour générer une liaison amide fonctionnalisée sur le cycle DBO, la majorité des voies de synthèse décrites reposent en effet sur une réaction de couplage, entre le précurseur DBO-acide carboxylique commercial précédemment mentionné et des amines diversement substituées.

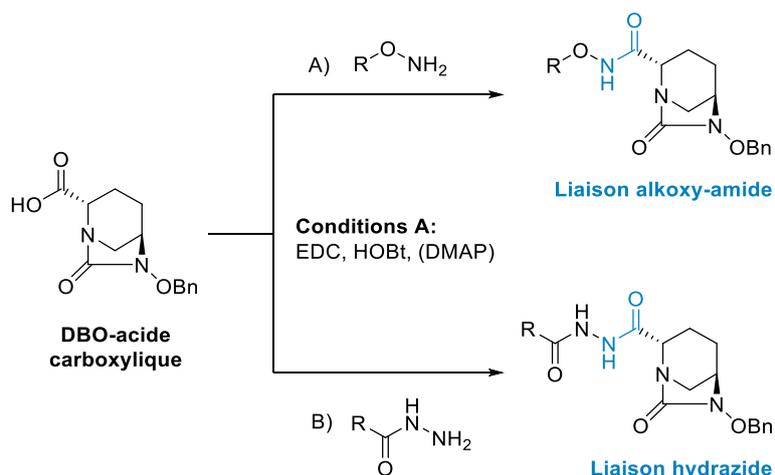
Des équipes de chez Merck & Co. ont notamment décrit la synthèse du relebactam et d'une série d'analogues selon cette méthodologie, en présence d'agents de couplage classiques.<sup>77,193</sup> Trois approches pour activer l'acide carboxylique ont alors été utilisées, un carbodiimide : l'EDC (Schéma 82, conditions A), un phosphonium : le BOP (Schéma 82, conditions B) et le réactif de Mukaiyama : l'iodure de 2-chloro-*N*-méthylpyridinium (Schéma 82, conditions C).



**Schéma 82.** Conditions de couplage classiquement utilisées pour fonctionnaliser le cycle DBO par liaison amide

Les conditions A, utilisant la chimie des carbodiimides, ont également été employées par d'autres groupes pour permettre la synthèse de composés alkoxy-amides et hydrazides diversement substitués, à partir du même précurseur DBO-acide carboxylique (Schéma 83).<sup>79,81</sup>

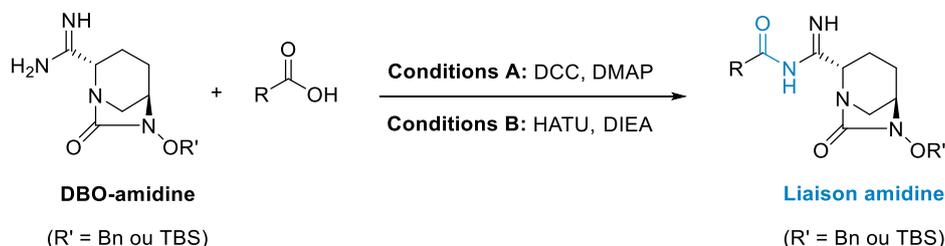
<sup>193</sup> S.-W. Yang, X. Linghu, E. Smith, J. Pan, V. Sprague, J. Su, *Tetrahedron Lett.* **2017**, 58, 2838-2841



**Schéma 83.** Méthodologie de synthèse de DBOs diversément fonctionnalisés par couplage amide

### b. A partir d'un dérivé DBO-amidine

Une méthodologie semblable, mais basée sur la fonctionnalisation d'un dérivé DBO-amidine, a également été utilisée par l'équipe de Z. Yang en 2021.<sup>121,122</sup> Une étape de couplage en présence de différents acides carboxyliques leur a alors permis d'accéder à une série de DBOs substitués par des amidines fonctionnalisées. Pour cela un autre carbodiimide, la DCC et un sel d'uronium, le HATU ont été employés comme agents de couplage (Schéma 84).

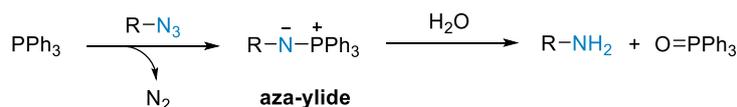


**Schéma 84.** Méthodologie de synthèse de DBOs substitués par des amidines fonctionnalisées

Les stratégies de synthèse développées pour accéder à ces différentes familles de DBOs fonctionnalisés en position C2, reposent toutes sur la même méthodologie de couplage entre une fonction acide carboxylique et une amine. Il pourrait donc être intéressant de mettre au point une nouvelle approche permettant d'apporter facilement de la diversité moléculaire sur le cycle DBO. Pour cela, nous avons envisagé d'utiliser la ligation de Staudinger traceless qui est un outil synthétique puissant pour générer un lien amide à partir d'une phosphine et d'un dérivé azoture.

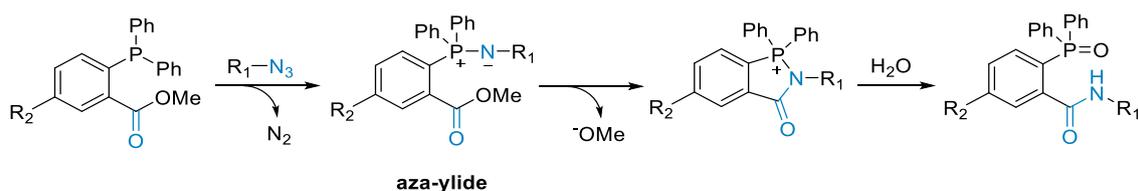
## 2. La ligation de Staudinger traceless

La réactivité entre un azoture et une phosphine a été décrite pour la première fois en 1919 par H. Staudinger et J. Meyer.<sup>194</sup> Ils ont découvert que l'attaque nucléophile de la triphénylphosphine sur un dérivé azoture pouvait générer un intermédiaire aza-ylide réactif, qui s'hydrolyse spontanément en présence d'eau. Cette réaction de Staudinger, conduit ainsi à la réduction d'un azoture en amine primaire et s'accompagne de la libération d'oxyde de triphénylphosphine (Schéma 85).



**Schéma 85.** Réaction de Staudinger

En se basant sur ces travaux, E. Saxon et C. R. Bertozzi ont développé en 2000 une nouvelle méthodologie permettant la formation d'une fonction amide à partir d'un azoture et d'une phosphine.<sup>195</sup> Cette réaction, nommée ligation de Staudinger, procède de la même façon par attaque nucléophile d'une phosphine sur un composé azoture pour former un intermédiaire aza-ylide (ou iminophosphorane). En revanche, une modification réalisée sur la structure de la phosphine, dans laquelle un groupement phényle a été fonctionnalisé en position *ortho* par un ester méthylique, permet de piéger l'aza-ylide réactif par cyclisation intramoléculaire.<sup>196</sup> Le produit de ligation obtenu après hydrolyse est alors un oxyde de phosphine à liaison amide (Schéma 86).



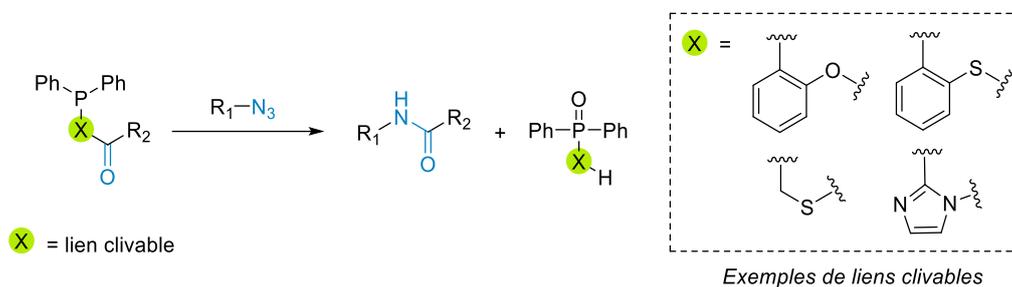
**Schéma 86.** Ligation de Staudinger

<sup>194</sup> H. Staudinger, J. Meyer *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2, 635-646

<sup>195</sup> E. Saxon, C. R. Bertozzi, *Science* **2000**, 287, 2007-2010

<sup>196</sup> F. L. Lin, H. M. Hoyt, H. van Halbeek, R. G. Bergman, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 2686-2695

La même année, C. R. Bertozzi<sup>197</sup> et R. T. Raines<sup>198</sup> ont introduit simultanément et indépendamment une variante dite « traceless » de cette ligation de Staudinger, puisqu'elle permet de s'affranchir de l'oxyde de phosphine sur le produit de ligation. Cette réaction, appelée ligation de Staudinger traceless (LSt), repose sur l'utilisation d'une nouvelle génération de phosphines, dans lesquelles le groupement acyle à transférer est relié par un lien clivable à la phosphine. Cette modification dans la structure de la phosphine va alors favoriser le transfert intramoléculaire d'acyle, conduisant à la formation d'un lien amide et au relargage de l'oxyde de phosphine (Schéma 87). En addition de ce lien clivable de nature variable, les phosphines sont également fonctionnalisées par deux substituants phényle permettant de stabiliser l'intermédiaire iminophosphorane et leur conférant une stabilité vis-à-vis de l'oxydation.



**Schéma 87.** Ligation de Staudinger traceless

Cette technique de LSt permettant de générer un lien amide à partir d'un dérivé azoture et d'une phosphine spécifiquement fonctionnalisée, est particulièrement intéressante et a notamment été employée avec succès pour la modification de polysaccharides,<sup>199</sup> peptides,<sup>200</sup> protéines<sup>201</sup> et acides nucléiques.<sup>202</sup> Nous allons maintenant appliquer cette méthodologie pour la fonctionnalisation du cycle DBO. Dans le cadre de cette étude, nous avons choisi d'utiliser des phosphines esters phénoliques, facilement accessibles, et décrites initialement par C. R. Bertozzi comme substrats efficaces pour cette réaction de LSt.<sup>7</sup>

<sup>197</sup> E. Saxon, J. I. Armstrong, C. R. Bertozzi, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2141-2143

<sup>198</sup> B. L. Nilsson, L. L. Kiessling, R. T. Raines, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1939-1941

<sup>199</sup> a) C. Grandjean, A. Boutonnier, C. Guerreiro, J.-M. Fournier, L. A. Mulard, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 7123-7132 b) A. Bianchi, A. Bernardi, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4565-4577 c) F. Nisic, M. Andreini, A. Bernardi, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 5744-5751 d) S. Liu, K. J. Edgar, *Biomacromolecules* **2015**, *16*, 2556-2571 e) S. Zhu, Z. Guo, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 3063-3066

<sup>200</sup> T. Yamashita, T. Kuranaga, M. Inoue, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 2170-2173

<sup>201</sup> a) A. Tam, R. T. Raines, *Methods Enzymol.* **2009**, *462*, 25-44 b) G. J. L. Bernardes, L. Linderth, K. J. Doores, O. Boutureira, B. G. Davis, *ChemBioChem* **2011**, *12*, 1383-1386 c) Z. A. Wang, Y. Kurra, X. Wang, Y. Zeng, Y.-J. Lee, V. Sharma, H. Lin, S. Y. Dai, W. R. Liu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 1643-1647

<sup>202</sup> a) C. Kitoun, M. Fonvielle, N. Sakkas, M. Lefresne, F. Djago, Q. Blancart Remaury, P. Poinot, M. Arthur, M. Ethève-Quellejeu, L. Iannazzo, *Org. Lett.* **2020**, *22*, 8034-8038 b) C. Kitoun, M. Fonvielle, M. Arthur, M. Ethève-Quellejeu, L. Iannazzo, *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.* **2021**, *1*, e42, doi: 10.1002/cpz1.42

La réactivité entre ces phosphines et un dérivé azoture va tout d'abord conduire à la formation de l'intermédiaire clé iminophosphorane **I**. Par analogie avec la ligation de Staudinger, une étape de cycloaddition intramoléculaire induite par le positionnement du groupement acyle en position *ortho*, va permettre de piéger l'imino-phosphorane en passant par un état de transition cyclique à 6 chaînons **III**. La présence du lien clivable va alors favoriser le transfert d'acyle et conduire à la formation de l'amidophosphonium **IV**. L'hydrolyse de cet intermédiaire permettra finalement d'obtenir l'amide fonctionnalisée **V** tout en libérant l'oxyde de phosphine **VI** (Schéma 88). On peut noter que le produit de réduction de l'azoture en amine primaire **VII** peut parfois être observé en raison d'une réaction secondaire d'hydrolyse compétitive due à l'instabilité de l'imino-phosphorane **II**.

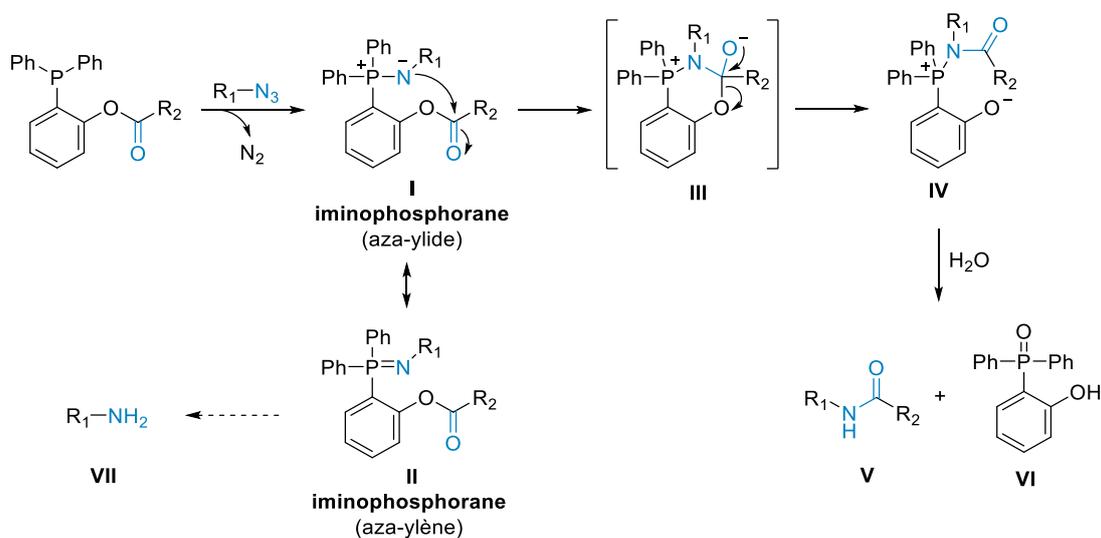
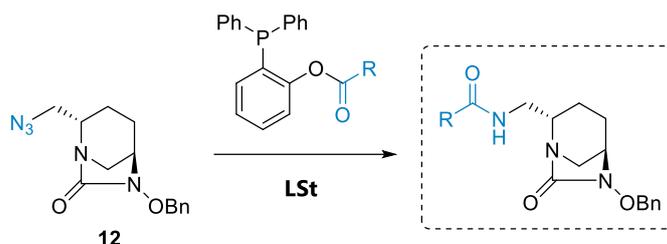


Schéma 88. Mécanisme réactionnel de la ligation de Staudinger traceless

### 3. Objectif

Les DBOs étant de puissants inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase à la structure originale, leur fonctionnalisation est largement explorée actuellement dans l'optique d'améliorer notamment leur spectre d'inhibition. Le développement de nouvelles méthodes pour accéder à des DBOs fonctionnalisés est donc particulièrement intéressant pour permettre la modification et l'optimisation de ces structures. Dans ce chapitre, nous allons ainsi proposer la ligation de Staudinger traceless (LSt) comme nouvelle méthodologie efficace pour fonctionnaliser la position C2 du cycle DBO.

Pour cela, nous détaillerons dans un premier temps la synthèse de différentes phosphines esters phénoliques, puis leur ligation avec le DBO-azoture **12** précédemment décrit (Schéma 89). L'introduction de la fonction sulfate essentielle à l'activité des DBOs sera ensuite réalisée sur un composé modèle afin d'étudier son efficacité pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases.



**Schéma 89.** Synthèse de nouveaux DBOs fonctionnalisés par ligation de Staudinger traceless

Cette méthodologie basée sur la LSt va ainsi nous permettre d'introduire un nouveau lien amide fonctionnalisé sur le cycle DBO. Celui-ci est en effet homologué d'un carbone et en position inversée en comparaison des composés décrits dans la littérature, qui présentent une fonction amide directement connectée en position C2 par le groupement carbonyle.

D'un point de vue synthétique, cette méthode est une alternative au couplage classique à partir d'un DBO-amine et d'un acide carboxylique activé, non rapportée dans la littérature. Elle présente l'avantage d'être hautement chimiosélective et pourrait ainsi s'appliquer à des DBOs contenant des fonctions nucléophiles additionnelles ce qui ne serait pas compatible avec des conditions de couplage classiques.

## II. Fonctionnalisation du cycle DBO par LSt

### 1. Synthèse des phosphines

Afin d'accéder à cette nouvelle famille de DBOs diversement substitués par LSt, nous avons synthétisé dans un premier temps une variété de phosphines ester de phénol partenaires de cette réaction. Ces phosphines ont été fonctionnalisées par couplage entre divers acides carboxyliques et une (2-hydroxyphényl)diphénylphosphine commerciale, en présence de DCC et DMAP dans du DCM à température ambiante pendant 16h.<sup>202</sup> Cette méthodologie a permis d'accéder à 10 phosphines ester de phénol spécifiquement fonctionnalisées **31a-j**, à partir des acides carboxyliques correspondants **30**, avec de très bons rendements allant de 74 à 99% (Schéma 90). Différents acides carboxyliques commerciaux **30a, c, d, e, f, g, i, j** ont ainsi été utilisés, tandis que les composés présentant un motif phényle ester boronique **30b**<sup>203</sup> et diazirine **30h**<sup>204</sup> ont été préparés selon des procédures standards.

<sup>203</sup> A. Kumar, G. Ye, Y. Ahmadibeni, K. Parang, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7915-7918

<sup>204</sup> Y. Ikeda, E. J. Behrman, *Synth. Commun.* **2008**, *38*, 2276-2284

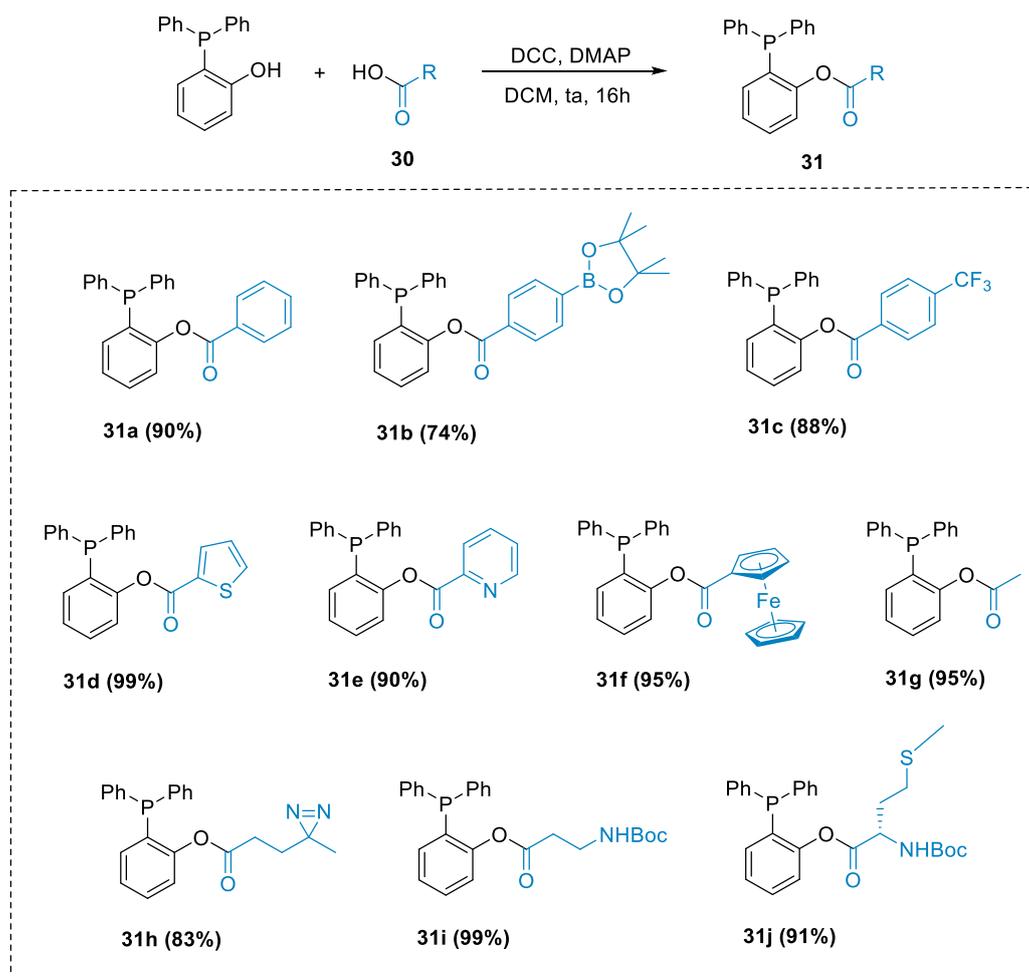


Schéma 90. Synthèse des phosphines

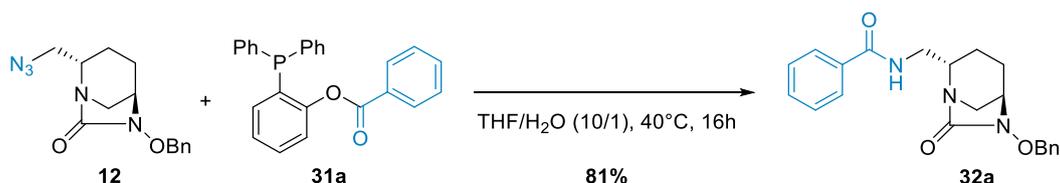
Dans ces conditions, les phosphines présentant un groupement phényle **31a** et également substitué en position *para* par un motif pinacol ester boronique **31b** ou trifluorométhyle **31c**, ont été obtenues avec des rendements compris entre 74 et 90%. L'introduction d'un hétéroaryle de type thiophène **31d** et pyridine **31e** a également conduit à l'obtention de phosphines fonctionnalisées, avec des rendements de 99 et 90% respectivement. Un motif ferrocène, couramment utilisé en chimie médicinale,<sup>205,206</sup> a aussi été couplé à la phosphine avec un rendement de 95% conduisant au composé **31f**. Des phosphines substituées par un groupement acétyle **31g** et diazirine **31h** ont également été préparées, avec des rendements de 95 et 83% respectivement. Enfin, des acides aminés ont été introduits sur la phosphine, permettant l'obtention de composés substitués par une  $\beta$ -alanine **31i** et une méthionine **31j** avec des rendements respectifs de 99 et 91%.

<sup>205</sup> M. Patra, G. Gasser, *Nat. Rev. Chem.* **2017**, 1, 0066

<sup>206</sup> M. A. Sierra, L. Casarrubios, M. C. de la Torre, *Chem. Eur. J.* **2019**, 25, 7232-7242

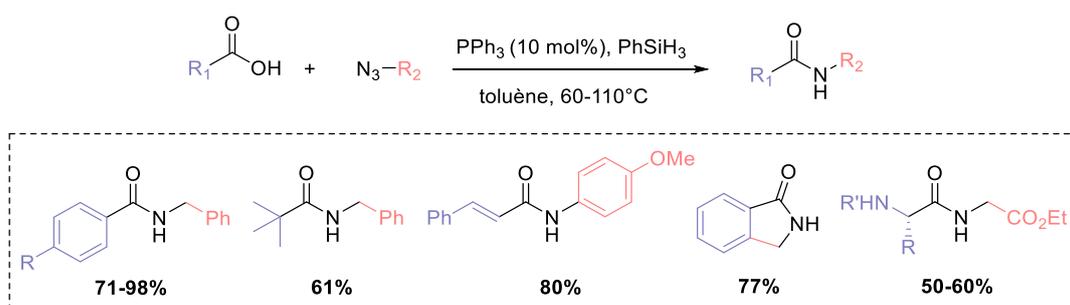
## 2. Réactivité du DBO-azoture en présence de phosphines

La réactivité du DBO-azoture **12** a dans un premier temps été explorée en présence de la phosphine ester de phénol **31a**. En nous basant sur les conditions de ligation de Staudinger traceless décrites par C. R. Bertozzi,<sup>197</sup> les deux substrats ont été chauffés à 40°C pendant 16h dans un mélange THF/H<sub>2</sub>O (10/1). Le DBO-amide attendu **32a** a alors été isolé avec un très bon rendement de 81% (Schéma 91).



**Schéma 91.** Synthèse d'un DBO modèle par ligation de Staudinger traceless

En parallèle, nous nous sommes également intéressés à une méthode de catalyse redox à base de phosphine entre un azoture et un acide carboxylique, développée en 2012 par B. L. Ashfeld et ses collaborateurs.<sup>207</sup> Cette variante de la LSt présente l'avantage de ne pas nécessiter la synthèse préalable d'une phosphine fonctionnalisée, celle-ci étant générée *in situ*. Cette méthodologie applicable à des substrats diversement fonctionnalisés, repose alors sur l'utilisation d'une quantité catalytique de triphénylphosphine en présence d'un agent réducteur, le phénylsilane (Schéma 92).

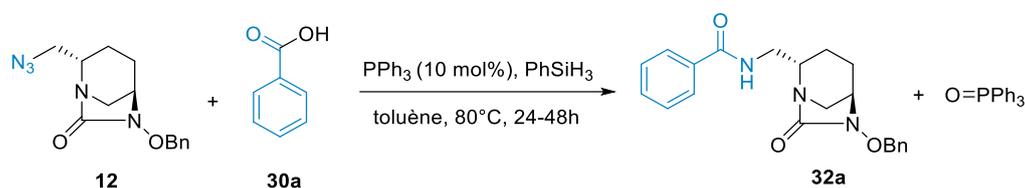


**Schéma 92.** Catalyse redox à base de phosphine

Cette stratégie a été appliquée pour la fonctionnalisation du DBO-azoture **12** en présence de l'acide carboxylique **30a**, dans du toluène à 80°C, aboutissant bien à la formation du produit de ligation **32a**. Cependant, ces conditions réactionnelles n'ont pas permis une conversion totale et l'acide benzoïque est inséparable par chromatographie sur silice du composé final.

<sup>207</sup> A. D. Kosal, E. E. Wilson, B. L. Ashfeld, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 12036-12040

Une étape d'extraction additionnelle avant la purification a alors été envisagée pour éliminer le réactif de départ restant. Le produit de ligation **32a** a alors été obtenu au bout de 24h avec 17% de rendement mais en mélange avec un sous-produit : l'oxyde de triphénylphosphine (Tableau 7, Entrée 1). L'augmentation du temps réactionnel à 48h n'a pas permis d'arriver à une conversion totale et le composé de départ **30a** a de nouveau dû être éliminé par lavage en présence d'eau. Le produit de la ligation a alors été obtenu avec un meilleur rendement de 47% mais toujours en présence d'oxyde de phosphine (Tableau 7, Entrée 2). Un autre essai a donc été effectué en réalisant l'étape d'extraction après la purification par chromatographie sur colonne de silice, afin de minimiser l'oxydation de la phosphine. Malheureusement, le sous-produit oxyde de triphénylphosphine inséparable du composé **32a** a tout de même été observé bien qu'en proportion inférieure (Tableau 7, Entrée 3).



Entrée	Durée	Elimination de <b>30a</b> par extraction en phase aqueuse	Rendement	Ratio <b>32a</b> / $\text{O=PPh}_3$
1	24h	avant la purification	17%	3 / 1
2	48h	avant la purification	47%	7 / 1
3	24h	après la purification	51%	12 / 1

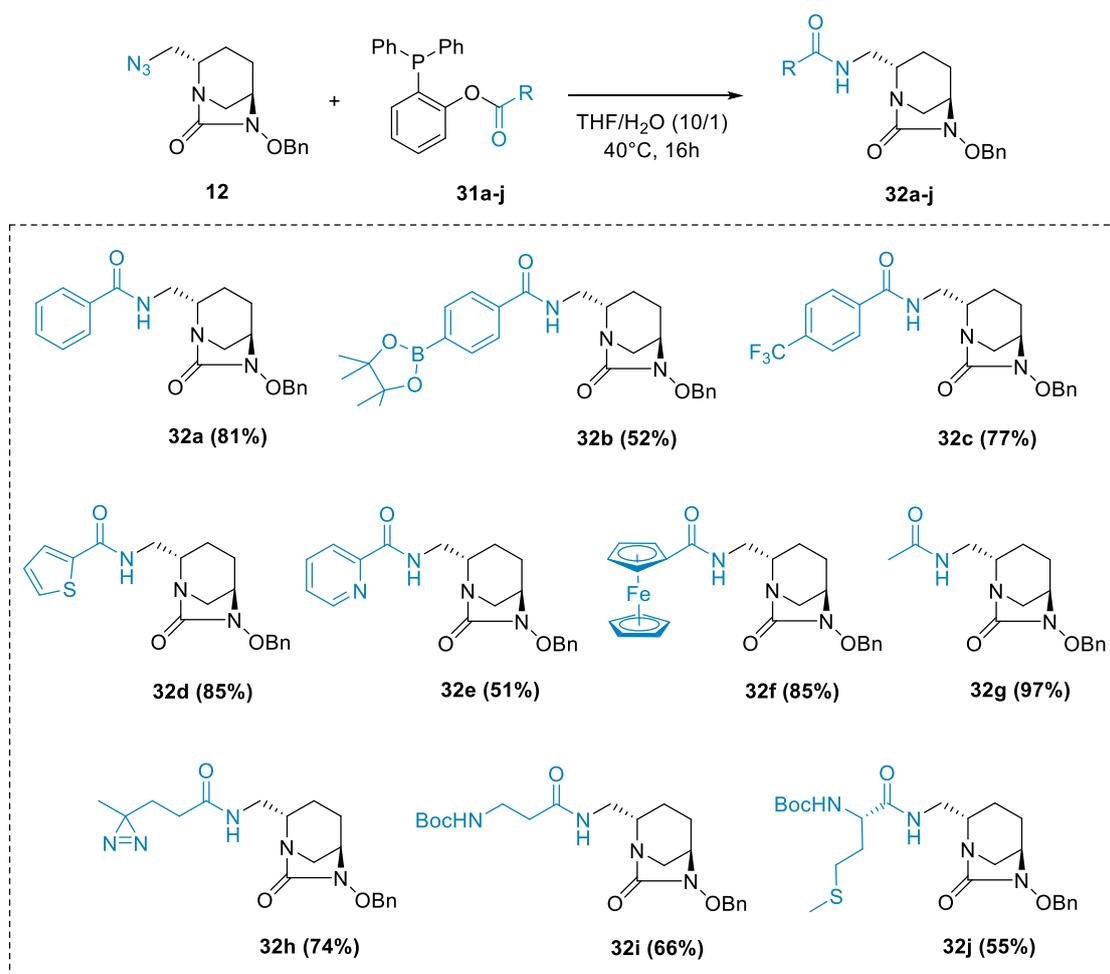
**Tableau 7.** Catalyse redox à base de phosphine pour l'obtention d'un DBO fonctionnalisé par un lien amide

Cette difficulté à isoler le produit de ligation en raison de la présence du sous-produit d'oxyde de phosphine n'a pas été rapporté par l'équipe de B. L. Ashfeld. Cependant, dans notre cas l'application de ces conditions à la fonctionnalisation du DBO-azoture **12** a engendré des problèmes de purification dû à la polarité du produit final. Cette méthodologie, certes très efficace pour la ligation d'autres composés, semble alors trop substrat dépendante. Le produit **32a** ayant de plus été obtenu avec un rendement inférieur à la première approche, ces conditions ne sont pas apparues comme idéales afin d'effectuer une exemplification de la réaction.

Ces résultats préliminaires nous ont alors conforté dans le choix d'utiliser les conditions de LSt développées par C. R. Bertozzi, pour fonctionnaliser le dérivé DBO-azoture **12** par un lien amide en présence de différentes phosphines spécifiquement fonctionnalisées.

### 3. Exemplification

Les conditions de LSt premièrement décrites ont alors été étendues aux phosphines **31b-j** diversement fonctionnalisées (Schéma 93). Lorsque les phosphines ester phénoliques contenant un cycle aromatique **31b-e** ont été utilisées en présence du DBO-azoture **12**, les produits de ligation **32b-e** ont été obtenus avec de bons rendements compris entre 51 et 85%. Cette méthodologie s'est ainsi montrée compatible avec l'introduction d'un motif pinacol ester boronique et d'un groupement électroattracteur sur le substituant phényle, permettant d'obtenir les composés **32b** et **32c** avec des rendements de 52 et 77% respectivement. La position C2 du cycle DBO a également été fonctionnalisée par un motif ferrocène **32f**, utilisé notamment comme bioisostère de phényle,<sup>205</sup> avec un très bon rendement de 85%. Un groupement acétyle **32g** a ensuite pu être introduit sur le cycle DBO avec un excellent rendement de 97%, ainsi qu'un marqueur photoactivable **32h** avec 74% de rendement. Enfin, des DBOs substitués par des acides aminés  $\beta$ -alanine **32i** et méthionine **32j** ont pu être synthétisés dans ces conditions de LSt avec des rendements de 66 et 55% respectivement.



**Schéma 93.** Fonctionnalisation de DBOs en position C2 par ligation de Staudinger traceless

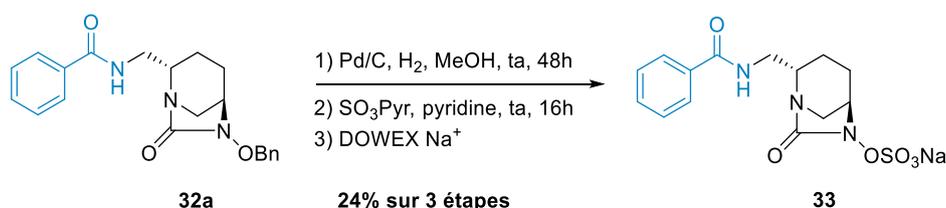
Cette nouvelle méthodologie utilisant la LSt permet ainsi de fonctionnaliser facilement la position C2 du cycle DBO par un lien amide à partir d'un dérivé azoture. Cette stratégie a en effet permis d'accéder à une toute nouvelle famille de 10 DBOs diversement substitués **32a-j** avec de bons rendements compris entre 51 et 97%. Des groupements d'intérêts variés ont été introduits sur le cycle DBO, validant ainsi l'efficacité de cette approche en présence de différentes phosphines esters phénoliques.

### III. Inhibition de $\beta$ -lactamases chez les Entérobactéries

#### 1. Synthèse d'un composé modèle final

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, la fonction hydroxylamine de ces DBOs **32a-j** étant protégée à ce stade par un groupement benzyle, ceci empêche l'évaluation directe de ces composés pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases. L'introduction d'une fonction sulfate en cette position est en effet nécessaire à l'activité. Cette étape clé a alors été effectuée sur le DBO substitué par un groupement phényle **32a**, qui a été choisi comme représentant de cette nouvelle série afin de réaliser une évaluation biologique préliminaire.

Une première étape d'hydrogénolyse en présence de Pd/C dans du méthanol a permis de cliver le groupement protecteur benzyle. L'utilisation d'un complexe trioxyde de soufre-pyridine, suivi d'une élution sur résine DOWEX Na<sup>+</sup>, a ensuite permis d'isoler le DBO **33** sous forme sulfate de sodium après purification par HPLC, avec un rendement de 24% sur trois étapes (Schéma 94).

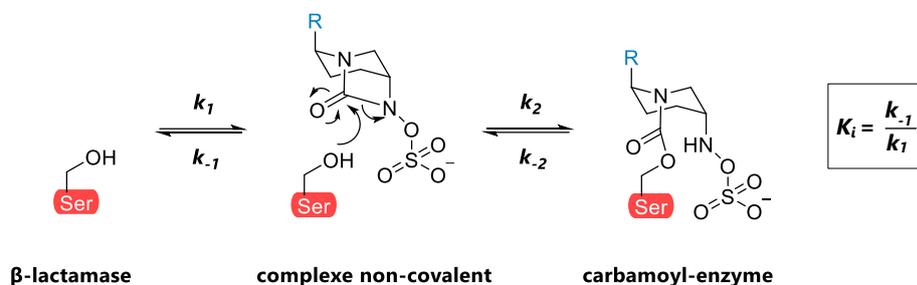


**Schéma 94.** Obtention du DBO final modèle sous forme sulfate de sodium

#### 2. Evaluation biologique

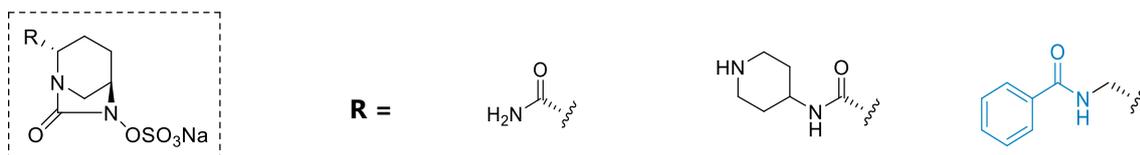
L'efficacité du DBO **33** pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases a ensuite été évaluée par notre collaborateur biologiste de l'équipe du Dr. Michel Arthur, le Dr. Heiner Atze. Pour cela, le même panel de cinq  $\beta$ -lactamases précédemment utilisé pour tester les DBOs 1,2,3-triazoles a été choisi. Parmi ces  $\beta$ -lactamases cliniquement pertinentes, on retrouve TEM-1 (classe A) représentative des pénicillinases, KPC-2 (classe A) et OXA-48 (classe D) qui sont connues pour hydrolyser les carbapénèmes et CTX-M-15 et AmpC représentantes des  $\beta$ -lactamases de classe A et C à large spectre.

Une série de tests *in vitro* a alors permis d'évaluer l'efficacité relative de carbamylation de ces  $\beta$ -lactamases par le DBO **33**. Comme précédemment, cette efficacité a été déterminée en mesurant des paramètres cinétiques permettant d'établir le rapport  $k_2/K_i$  (constante de carbamylation / constante d'inhibition) (Schéma 95).



**Schéma 95.** Inactivation des  $\beta$ -lactamases par les DBOs

En comparaison des deux DBOs de référence, l'avibactam et le relebactam, le composé **33** a présenté une efficacité très réduite pour l'inhibition de TEM-1, KPC-2 et AmpC (Tableau 8, Entrées 1, 2 et 4). Tandis que chez CTX-M-15, le DBO **33** a montré une efficacité de carbamylation intermédiaire, bien inférieure à l'avibactam mais tout de même meilleure que le relebactam (Tableau 8, Entrée 3). En revanche, il s'est révélé presque aussi efficace que l'avibactam pour l'inhibition d'OXA-48, alors qu'aucune inhibition n'a été détectée avec le relebactam (Tableau 8, Entrée 5).



Entrée	$\beta$ -lactamase	avibactam	relebactam 21	33
1	TEM-1	88 000 $\pm$ 2,000	43 000 $\pm$ 1,000	1 300 $\pm$ 100
2	KPC-2	26 000 $\pm$ 1,000	10 000 $\pm$ 1,000	120 $\pm$ 40
3	CTX-M-15	130 000 $\pm$ 10,000	960 $\pm$ 80	3 100 $\pm$ 200
4	AmpC	18 000 $\pm$ 1,000	15 000 $\pm$ 2,000	28 $\pm$ 6
5	OXA-48	980 $\pm$ 60	Pas d'inhibition*	660 $\pm$ 80

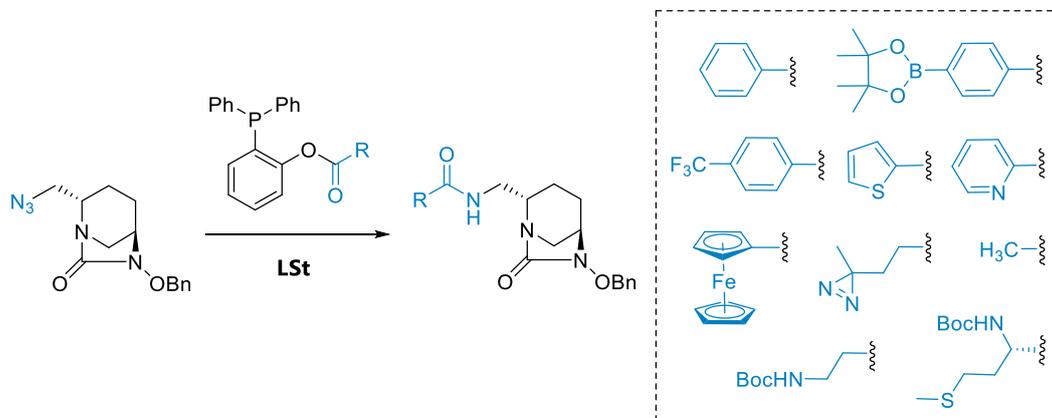
**Tableau 8.** Efficacité de carbamylation du DBO **33** et des 2 DBOs de référence : avibactam et relebactam ( $M^{-1} s^{-1}$ )  
\*Pas d'inhibition à 100  $\mu M$

Ces résultats préliminaires indiquent que ce nouveau DBO **33** est capable d'inhiber des  $\beta$ -lactamases de différentes classes A, C et D. Bien qu'il soit moins actif que l'avibactam, il a cependant montré une activité supérieure au relebactam pour l'inhibition de deux des cinq  $\beta$ -lactamases testées dans cette étude (CTX-M-15 et OXA-48).

## IV. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons mis au point une nouvelle méthodologie utilisant la ligation de Staudinger traceless pour fonctionnaliser efficacement la position C2 du cycle DBO par un nouveau lien amide (Schéma 96).<sup>208</sup> La nouveauté de cette liaison réside dans sa connexion originale, par rapport aux DBOs précédemment décrits, qui se fait alors par le groupe  $\text{-NH-}$  via un pont méthylène. Ce travail a conduit dans un premier temps à la préparation de 10 phosphines ester phénoliques diversement substituées. Puis leur réaction par LSt avec un dérivé DBO-azoture a permis d'accéder à une toute nouvelle famille de 10 DBOs-amide fonctionnalisés.

Selon l'évaluation biologique préliminaire réalisée sur un composé représentatif de cette série, l'accès à ce nouveau lien amide pourrait notamment être utilisé pour obtenir des inhibiteurs efficaces contre OXA-48, actuellement peu inhibée par les DBOs existants.



**Schéma 96.** Création d'un nouveau lien amide sur le cycle DBO par ligation de Staudinger traceless

<sup>208</sup> F. Bouchet, H. Atze, M. Arthur, M. Ethève-Quelquejeu, L. Iannazzo, *Org. Lett.* **2021**, 23, 7755-7758



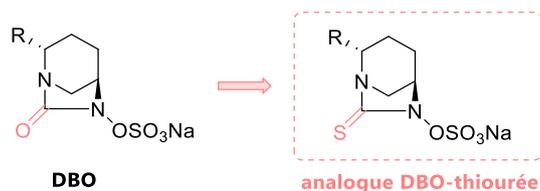
## **Chapitre III : Développement d'analogues DBO-thiourée**

---



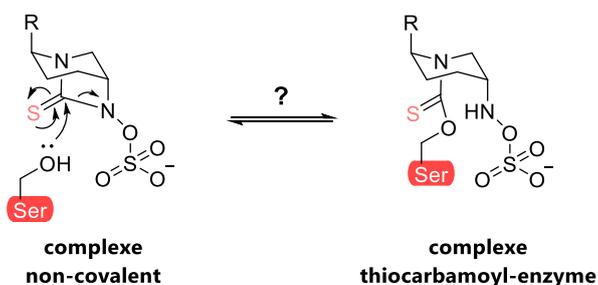
## I. Introduction

Dans les chapitres précédents, nous avons exploré la fonctionnalisation de la position C2 du cycle DBO afin d'apporter de la diversité moléculaire sur celui-ci. Nous allons maintenant nous intéresser à une modification de DBO qui n'a encore jamais été rapportée dans la littérature et qui consiste à remplacer le motif urée de cette structure par une fonction thiourée (Figure 46).



**Figure 46.** Remplacement du motif urée des DBOs par une fonction thiourée

Le carbonyle de l'urée bicyclique des DBOs étant le site électrophile qui est attaqué par la sérine active des  $\beta$ -lactamases, il pourrait en effet être intéressant d'étudier l'impact de la modification de celui-ci vis-à-vis de l'inhibition de ces enzymes. L'introduction d'un motif thiocarbonyle a ainsi été envisagé pour modifier la réactivité de ce site électrophile, qui conduirait alors à la formation d'un lien de type thiocarbamate suite à l'attaque nucléophile du résidu sérine (Schéma 97). L'accès à des analogues thiourée de composés DBOs permettrait ainsi d'étudier la stabilité de ce nouveau lien pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases.



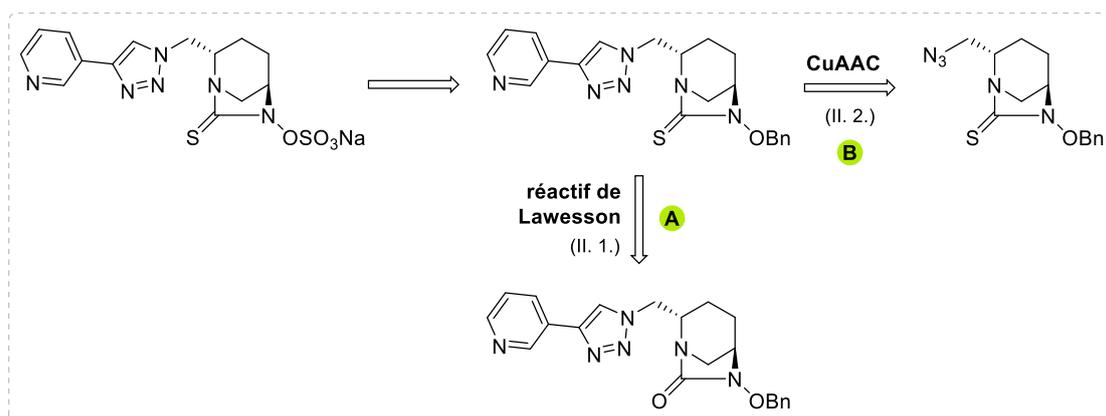
**Schéma 97.** Modification du site d'attaque électrophile des  $\beta$ -lactamases à sérine active

De plus, comme nous l'avons évoqué précédemment, le complexe carbamoyl-enzyme formé avec les DBOs est stabilisé au sein du site actif des  $\beta$ -lactamases par le biais d'un réseau de liaisons hydrogènes entre différentes fonctions de la molécule, telles que le motif carbonyle, et certains résidus conservés du site actif. Il serait donc intéressant de voir si l'introduction d'un motif thiourée à la place de la fonction urée permettrait également la stabilisation du complexe thiocarbamoyl-enzyme au sein du site actif des  $\beta$ -lactamases.

Dans ce chapitre, nous allons ainsi nous intéresser à la synthèse d'analogues thiourée de composés diazabicyclooctanes, dans l'objectif d'accéder à des DBO-thiourée sous forme sulfate de sodium qui permettront d'étudier l'impact du remplacement de la fonction urée par un motif thiourée.

## II. Synthèse d'un DBO-thiourée 1,2,3-triazole

Dans un premier temps, nous souhaitons accéder à l'analogue thiourée d'un DBO-urée que nous avons déjà obtenu afin de pouvoir comparer leur activité. Nous nous sommes ainsi orientés vers la synthèse du DBO-thiourée 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué par un motif pyridine. Deux stratégies ont alors été envisagées pour synthétiser cet analogue thiourée. La première repose sur un accès direct par thionation du composé DBO-urée en présence du réactif de Lawesson (Schéma 98, **voie A**), tandis que la seconde implique la synthèse totale d'un DBO-thiourée-azoture qui sera ensuite fonctionnalisé par CuAAC (Schéma 98, **voie B**).



**Schéma 98.** Schéma rétrosynthétique récapitulant les deux stratégies envisagées pour accéder au composé DBO-thiourée 1,2,3-triazole

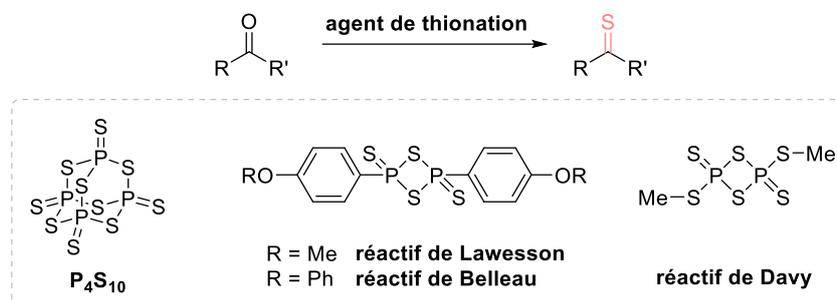
### 1. Conversion du DBO-urée en DBO-thiourée

Afin d'accéder rapidement au DBO-thiourée, la première stratégie envisagée a donc été de convertir en une seule étape le groupement carbonyle du DBO-urée en un thiocarbonyle en présence d'un agent de thionation (Schéma 99). Pour réaliser cette transformation, notre choix s'est alors porté sur le réactif de Lawesson qui est un agent de thionation couramment utilisé pour convertir efficacement des composés carbonylés en leurs analogues thiocarbonylés.<sup>209,210</sup> Il présente notamment l'avantage d'utiliser des conditions réactionnelles plus douces que les

<sup>209</sup> T. Ozturk, E. Ertas, O. Mert, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5210-5278

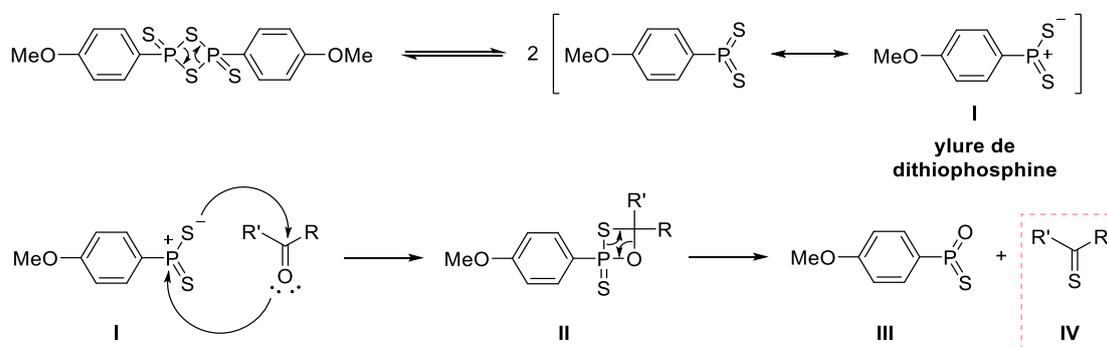
<sup>210</sup> F. A. Larik, A. Saeed, U. Muqadar, P. A. Channar, *J. Sulfur Chem.* **2017**, *38*, 206-227

réactifs de thionation classiques tels que le pentasulfure de phosphore qui nécessitent d'être utilisés en large excès et à des températures plus élevées.<sup>210</sup>



**Schéma 99.** Exemples d'agents de thionation

La réactivité du réactif de Lawesson est attribuée à un équilibre existant en solution avec un ylure de dithiophosphine **I**. Cette espèce, très réactive, peut facilement réagir avec un composé présentant une fonction carbonyle pour former un intermédiaire à 4 chaînons de type thioxaphosphétane **II**, qui va alors se décomposer pour libérer le thiocarbonylé **IV** correspondant (Schéma 100). Analogiquement à la réaction de Wittig, la force motrice de cette réaction provient de la création d'une double liaison phosphore-oxygène, qui conduit à la formation d'un produit thermodynamiquement très stable **III**.



**Schéma 100.** Réactivité du réactif de Lawesson (A) et mécanisme de thionation d'un groupement carbonyle (B)

Afin de réaliser des essais de conversion du DBO-urée en DBO-thiourée, il a fallu dans un premier temps synthétiser le réactif de Lawesson. Pour cela, du pentasulfure de phosphore (P<sub>4</sub>S<sub>10</sub>) a été mis en présence d'anisole et chauffé à reflux pendant 6h, ce qui a conduit à la formation du composé **34** avec un bon rendement de 77% (Schéma 101).<sup>211</sup>

<sup>211</sup> I. Thomsen, K. Clausen, S. Scheiby, S.-O. Lawesson, *Org. Synth.* **1984**, 62, 158-160

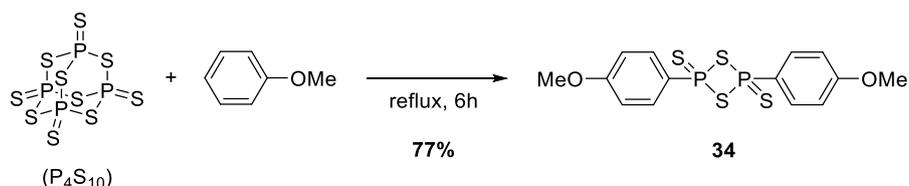
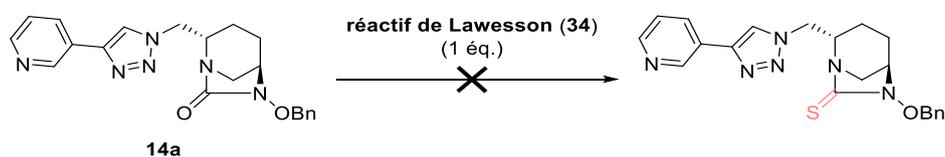


Schéma 101. Synthèse du réactif de Lawesson

Plusieurs expériences ont ensuite été réalisées pour tenter de convertir le DBO-urée **14a** en son composé analogue thiourée en présence du réactif de Lawesson **34** (Tableau 1). Malheureusement, aucune des conditions testées n'a permis d'accéder au DBO souhaité. En effet, lorsque la réaction a été menée dans le THF à température ambiante pendant 24h, le produit attendu n'a pas été observé (Tableau 9, Entrée 1). Les réactions de thionation étant généralement conduite à plus haute température,<sup>209</sup> un second essai a alors été effectué au reflux du THF pendant 16h mais n'a pas été plus concluant (Tableau 9, Entrée 2). Nous nous sommes ensuite orientés vers l'emploi du toluène qui est le solvant le plus utilisé pour convertir des groupes carbonyles en thiocarbonyles en présence du réactif de Lawesson. Cependant, le même résultat a été observé lorsque la réaction fut conduite à 80°C dans le toluène pendant 16h (Tableau 9, Entrée 3). Ce fut également le cas lorsque celle-ci a été réalisée au reflux du toluène, finissant simplement par aboutir à la dégradation du composé de départ **14a** (Tableau 9, Entrée 4).



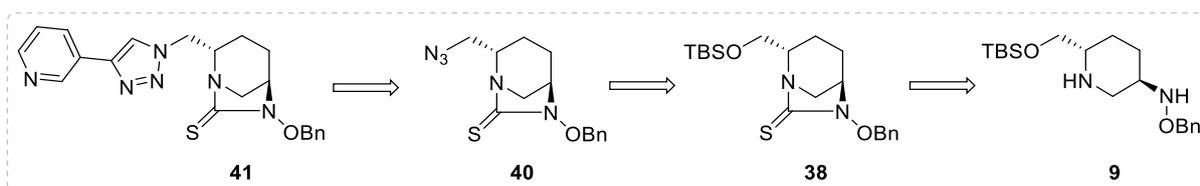
Entrée	Solvant	Température	Durée	Résultat
1	THF	ta	24h	composé de départ
2	THF	reflux	16h	composé de départ
3	toluène	80°C	16h	composé de départ
4	toluène	reflux	16h	dégradation de <b>14a</b>

Tableau 9. Essais de conversion du DBO-urée en DBO-thiourée en utilisant le réactif de Lawesson

Cette première stratégie reposant sur une réaction de thionation *via* l'utilisation du réactif de Lawesson, aurait été une approche idéale pour accéder en une seule étape à l'analogue thiourée du DBO-urée. Cependant, les différentes conditions réactionnelles testées n'ont pas permis d'aboutir à la formation de celui-ci. Ces premiers essais étant non concluants, nous nous sommes alors orientés vers la synthèse totale du composé.

## 2. Accès au DBO-thiourée 1,2,3-triazole par synthèse totale

La seconde stratégie envisagée pour accéder au DBO-thiourée 1,2,3-triazole substitué en position 4 par un motif pyridine, repose alors sur un plan rétrosynthétique identique à celui développé pour synthétiser son analogue urée (Schéma 102). Ce composé pourrait en effet être obtenu par CuAAC à partir d'un précurseur clé DBO-thiourée-azoture **40**, lui-même issu de l'intermédiaire pipéridine-hydroxylamine **9** précédemment décrit. L'enjeu principal de cette synthèse repose alors sur le développement d'une méthodologie permettant la formation de la thiourée bicyclique pour accéder au DBO **38** à partir du composé **9**.

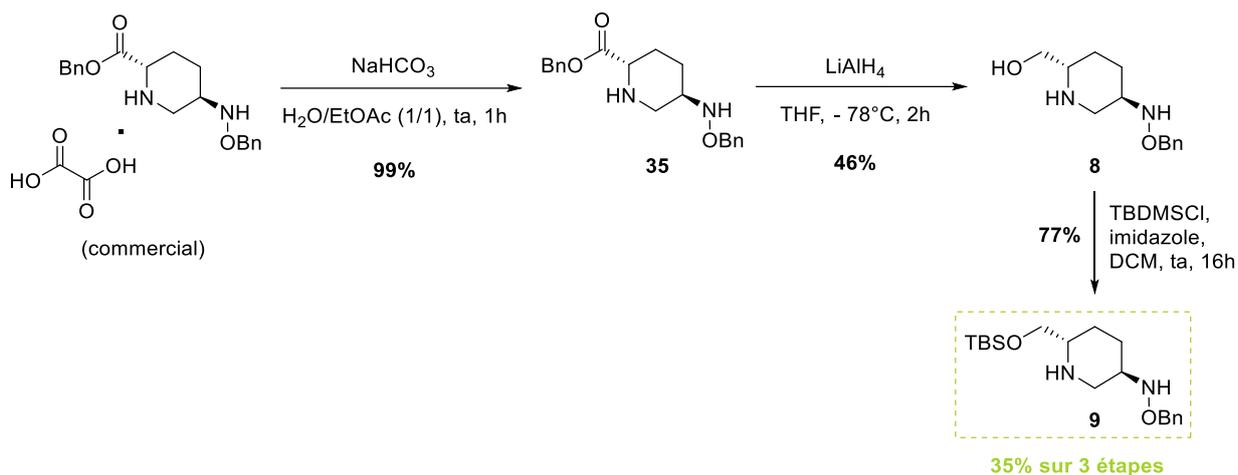


**Schéma 102.** Stratégie rétrosynthétique pour accéder au DBO-thiourée 1,2,3-triazole substitué par une pyridine

Pour rappel, la voie synthétique décrite dans le chapitre I pour accéder au précurseur DBO-azoture **12**, ne permettait d'obtenir l'intermédiaire pipéridine-hydroxylamine **9** qu'avec un rendement global de 11% sur 8 étapes à partir du (*S*)-méthyl-*N*-Boc-pyroglutamate.<sup>181</sup> Dans un premier temps, une voie d'accès plus courte a donc été mise au point afin de pouvoir synthétiser plus rapidement et en quantité plus importante cet intermédiaire, qui va servir de point de départ au développement du composé DBO-thiourée **38**.

### a. Synthèse du précurseur pipéridine-hydroxylamine

Comme nous l'avons vu précédemment, l'intérêt suscité par les DBOs comme inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase a entraîné la mise sur le marché de nouveaux intermédiaires facilitant l'accès à ces structures. A partir d'une pipéridine-2-carboxylate-5-hydroxylamine protégée commerciale, il a alors été possible de synthétiser le précurseur **9** souhaité avec un rendement global de 35% sur 3 étapes (Schéma 103).



**Schéma 103.** Voie d'accès plus courte pour synthétiser le précurseur pipéridine-hydroxylamine **9**

Ce composé étant commercialisé sous la forme d'un sel d'oxalate, un traitement basique au  $\text{NaHCO}_3$  a tout d'abord permis d'isoler la pipéridine **35** sous forme d'amine libre.<sup>212</sup> Puis, la réduction de l'ester benzylique en alcool en présence de  $\text{LiAlH}_4$  a ici été réalisée à  $-78^\circ\text{C}$ , dans du THF pendant 2h, permettant alors d'obtenir le composé **8** avec un rendement de 46%. L'alcool ainsi généré a ensuite été protégé par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyle dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment (chapitre I) et la pipéridine-hydroxylamine **9** souhaitée a alors été isolée avec un rendement comparable de 77%. L'accès à cet intermédiaire clé ayant été facilité, l'étape suivante consiste à ensuite à former la thiourée bicyclique.

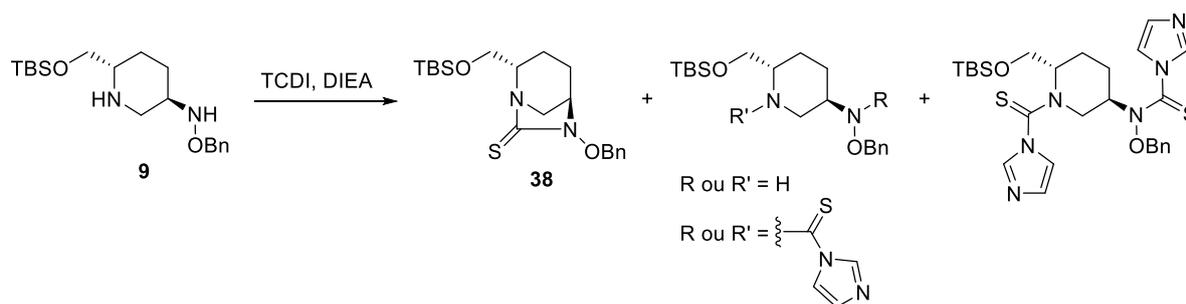
### b. Introduction du motif thiourée sur le cycle DBO

Afin d'introduire le motif thiourée sur le cycle DBO, je me suis alors basée sur les travaux antérieurs réalisés par Stefani Gamboa lors de son stage de master 2 au sein de notre équipe.

<sup>212</sup> V. J. Patil, R. Tadiparthi, S. Birajdar, S. Bhagwat, Wockhardt Limited, WO2013038330, **2013**

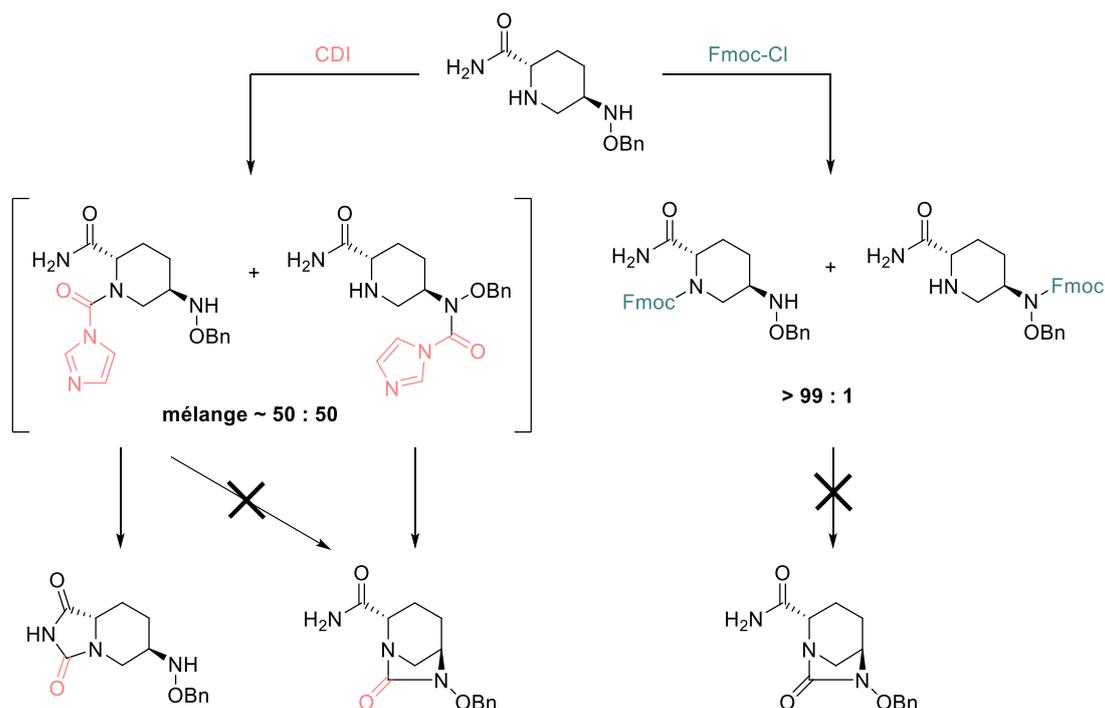
### i. Travaux antérieurs du laboratoire

Pour réaliser les essais de formation de la thiourée bicyclique, le thiocarbonyldiimidazole (TCDI) avait été choisi comme alternative au thiophosgène hautement toxique. La première stratégie envisagée avait alors consisté à faire réagir la pipéridine **9** avec le TCDI en présence de DIEA, afin d'introduire le motif thiocarbonylimidazole sur la molécule et induire en même temps la cyclisation (Schéma 104). Malheureusement, bien que divers paramètres aient été modulés tels que le nombre d'équivalents, la concentration du milieu réactionnel, la température ou encore le changement de base, l'utilisation directe de TCDI n'avait pas permis d'aboutir à une méthodologie efficace pour former la thiourée cyclique. En effet, les composés thioacylés et dithioacylés ont également été observés et la thiourée cyclique **38** n'a alors jamais pu être isolée. Bien que sa formation ait été confirmée par spectrométrie de masse, celle-ci a en effet été obtenue sous la forme d'un mélange inséparable avec un composé thioacylé en une seule position. Il semblerait ainsi que les deux atomes d'azotes nucléophiles de la molécule réagissent avec le TCDI, mais que seul l'un des produits thioacylés conduise à la cyclisation du composé et permette de former la thiourée cyclique attendue.



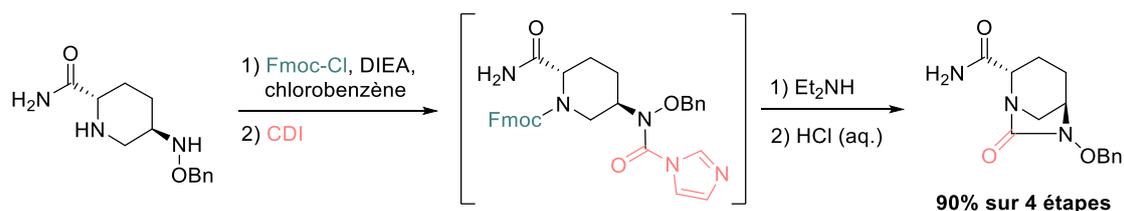
**Schéma 104.** Essais antérieurs pour accéder à la thiourée bicyclique via l'utilisation directe de TCDI

Une complication semblable avait également été rencontrée par les chimistes d'AstraZeneca et Forest Laboratories lors du développement de la synthèse industrielle de l'avibactam.<sup>109</sup> En effet, l'utilisation de carbonyldiimidazole (CDI) et de divers chloroformiates ne leur avait pas permis d'accéder efficacement à l'urée cyclique souhaitée, mais avait en revanche mis à jour une sélectivité intéressante entre les deux azotes nucléophiles de la molécule (Schéma 105). En effet, en présence de CDI, ils ont obtenu un mélange de produits acylés dans les deux positions en proportions égales peu importe le solvant utilisé. Cependant, seul le composé présentant le motif imidazole sur l'azote de l'hydroxylamine se cyclisait pour former l'urée souhaitée, tandis que l'acylation de l'azote de la pipéridine favorisait dans leur cas la formation d'un hydantoïne. Les chloroformiates en revanche réagissaient sélectivement avec l'azote de la pipéridine mais les tentatives pour cycliser ces carbamates n'avaient pas été concluantes.



**Schéma 105.** Essais de formation de l'urée cyclique réalisés par AstraZeneca et Forest Laboratories

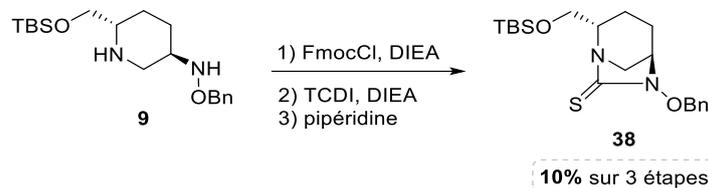
Ils ont alors mis au point une méthodologie de protection/déprotection, utilisant cette sélectivité, afin d'accéder au précurseur cyclique de l'avibactam. Comme nous l'avons vu précédemment, cette méthodologie repose ainsi sur la protection préalable de la piperidine par un groupement Fmoc qui permet alors d'acyler spécifiquement l'azote de l'hydroxylamine en présence de CDI. L'ajout de diéthylamine au milieu réactionnel entraîne alors la déprotection de l'azote de la piperidine et conduit à la formation de l'urée cyclique *in situ* avec un excellent rendement de 90% (Schéma 106).



**Schéma 106.** Méthodologie pour former l'urée cyclique développée par AstraZeneca et Forest Laboratories

Une seconde stratégie, inspirée de cette méthodologie, a donc consisté à protéger un des atomes d'azote du précurseur **9**, afin de thioacyler une seule position et induire la cyclisation du composé après déprotection. Cette stratégie a finalement permis d'accéder au DBO-thiourée **38** avec un rendement global de 10% sur 3 étapes (Schéma 107). On peut noter qu'à ce stade du développement, il n'avait alors pas été déterminé laquelle des fonctions,

hydroxylamine ou pipéridine, avait été protégée par le groupement Fmoc et donc si le chloroformiate réagissait bien sélectivement avec l'azote de la pipéridine comme dans la méthodologie présentée précédemment.

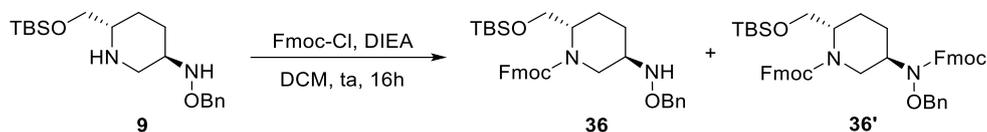


**Schéma 107.** Formation de la thiourée bicyclique selon une stratégie de protection/déprotection

Cette stratégie de protection/déprotection ayant alors permis de former et d'isoler la thiourée cyclique attendue, elle semblait plutôt prometteuse pour accéder au composé **38** à partir de la pipéridine-hydroxylamine **9**. Le rendement étant cependant peu élevé, j'ai essayé dans un premier temps d'optimiser les conditions réactionnelles.

## ii. Optimisation des conditions pour la formation du DBO-thiourée

Pour commencer, je me suis donc intéressée à la protection des atomes d'azotes du composé **9** par le groupement Fmoc, en me basant sur les conditions employées précédemment. L'utilisation de 1,2 éq. de Fmoc-Cl en présence de DIEA dans le dichlorométhane à température ambiante pendant 16h, avait alors conduit à l'obtention du composé monoprotégé avec un rendement de 66% (Tableau 10, Entrée 1). Cependant, la formation du produit diprotégé **36'** avait également été observée à hauteur de 20%. En diminuant simplement le nombre d'équivalents de Fmoc-Cl à 1,1 éq. puis à 1 éq. il a alors été possible de limiter la formation du composé diprotégé **36'** et d'obtenir le produit monoprotégé **36** avec un excellent rendement de 94% dans les deux cas (Tableau 10, Entrées 2 et 3).

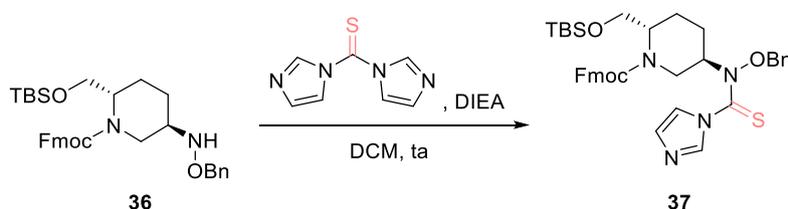


Entrée	Fmoc-Cl	Rendement de 36	Rendement de 36'
1	1,2 éq.	66%	20%
2	1,1 éq.	94%	6%
3	1 éq.	94%	3%

**Tableau 10.** Optimisation des conditions de protection par le groupement Fmoc

Des expériences RMN 2D du composé **36** ont alors permis de déterminer qu’analogiquement à la méthodologie développée par M. Ball et ses collaborateurs,<sup>109</sup> c’est ici l’atome d’azote du cycle pipéridine qui est protégé par le groupement Fmoc.

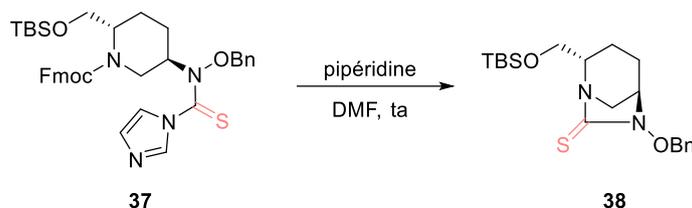
L’étape suivante permettant d’introduire le motif thiocarbonylimidazole sur l’hydroxylamine du composé **36** a également pu être améliorée. Initialement, l’utilisation de 1,2 éq. de TCDI et de DIEA dans du dichlorométhane à température ambiante pendant 16h, avait permis d’accéder au composé **37** avec un rendement de 44% (Tableau 11, Entrée 1). L’augmentation du nombre d’équivalents de TCDI et DIEA accompagné d’un temps réactionnel plus long a alors permis d’améliorer le rendement à 81% (Tableau 11, Entrée 2). En revanche, forcer les conditions en ajoutant une quantité encore plus importante de réactifs sur une durée de 64h, n’a pas non plus permis une conversion totale et a abouti à un rendement comparable de 80% (Tableau 11, Entrée 3).



Entrée	TCDI	DIEA	Durée	Rendement
1	1,2 éq.	1,2 éq.	16h	44%
2	2,5 éq.	3 éq.	40h	81%
3	3 éq.	4 éq.	64h	80%

**Tableau 11.** Optimisation des conditions pour l’introduction du motif thiocarbonylimidazole

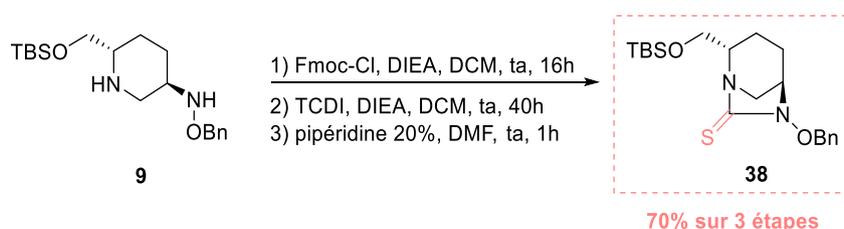
Une fois la fonction thiocarbonylimidazole introduite sur l’hydroxylamine, il fallait ensuite éliminer le groupement Fmoc afin d’induire la cyclisation *in situ* du composé. Pour cela, le composé **37** a été mis en présence d’une solution de pipéridine 20% dans le DMF à température ambiante pendant 1h, permettant finalement d’obtenir la thiourée cyclique **38** avec un excellent rendement de 92% (Tableau 12).



Entrée	Pipéridine dans le DMF	Durée	Rendement
1	4%	2h	34%
2	20%	1h	92%

**Tableau 12.** Conditions réactionnelles permettant d'accéder à la thiourée cyclique

Au final, l'optimisation de cette méthodologie basée sur une stratégie de protection-déprotection a permis d'accéder à la thiourée bicyclique **38** à partir du composé **9** avec un bon rendement de 70% sur 3 étapes (Schéma 108).

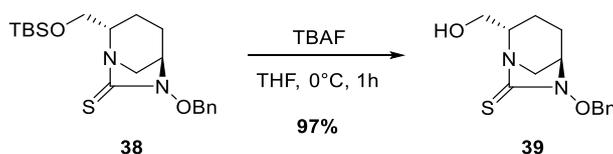


**Schéma 108.** Formation du DBO-thiourée en présence de TCDI

L'étape clé de formation de la thiourée bicyclique réalisée, il fallait alors modifier la chaîne latérale en position C2, afin d'introduire le groupement azoture nécessaire pour réaliser la fonctionnalisation du DBO-thiourée par CuAAC.

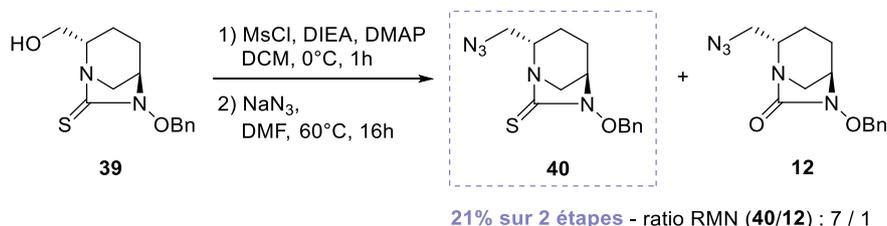
### c. Synthèse du précurseur DBO-thiourée-azoture

Les mêmes conditions que celles utilisées précédemment pour déprotéger la fonction alcool du DBO-urée en présence de fluorure de tétra-*n*-butylammonium dans le THF à 0°C pendant 1h, ont alors été appliquées au DBO-thiourée **38** générant ainsi le composé **39** avec 97% de rendement (Schéma 109).



**Schéma 109.** Déprotection de la fonction hydroxyle de la chaîne latérale en position C2

La fonction hydroxyle du composé **39** a ensuite été activée sous forme de mésylate en présence de chlorure de mésyle, puis sa réaction avec l'azoture de sodium dans du DMF à 60°C pendant 16h a finalement permis d'accéder au composé DBO-thiourée-azoture **40** avec un rendement de 21% sur 2 étapes (Schéma 110). De façon surprenante, celui-ci a cependant été isolé sous la forme d'un mélange inséparable avec le DBO-urée-azoture **12** selon un ratio RMN de 7:1.

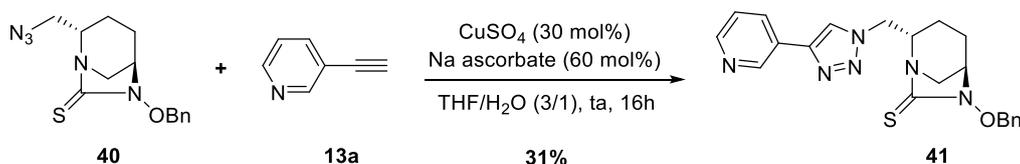


**Schéma 110.** Obtention du précurseur DBO-thiourée-azoture

Le précurseur clé DBO-thiourée-azoture **40** ayant été obtenu, il a alors été possible de le fonctionnaliser par CuAAC afin d'accéder à un DBO-thiourée 1,2,3-triazole.

#### d. Fonctionnalisation du précurseur DBO-thiourée-azoture par CuAAC

Des conditions classiques impliquant la réduction de sels de cuivre (II) ont alors été envisagées pour catalyser la réaction de cycloaddition azoture-alcyne entre le précurseur DBO-thiourée-azoture **40** et l'éthynylpyridine **13a**. L'utilisation de  $\text{CuSO}_4$  et d'ascorbate de sodium dans un mélange THF/ $\text{H}_2\text{O}$  à température ambiante pendant 16h, nous a alors permis d'accéder au composé DBO-thiourée 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué par une pyridine **41** avec un rendement isolé de 31% (Schéma 111). Ce faible rendement pour une réaction de CuAAC s'explique alors par une importante difficulté à purifier le composé sur gel de silice. En effet, le précurseur DBO-thiourée-azoture ayant été obtenu en mélange avec son analogue urée, le produit de la réaction de CuAAC avec ce dernier a donc également été observé. La séparation du composé **41** avec son homologue urée **14a** par chromatographie sur colonne s'est alors avérée très délicate en raison de leur polarité similaire, conduisant ainsi à un faible rendement isolé du DBO-thiourée 1,2,3-triazole **41**. On peut cependant noter que lorsque ces deux produits n'ont pas été séparés, un rendement global de 99% a alors été obtenu pour cette réaction de cycloaddition azoture-alcyne.

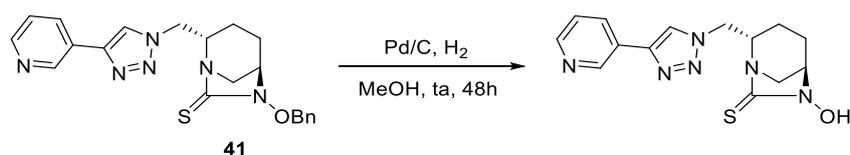


**Schéma 111.** Synthèse de l'analogue thiourée du DBO 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué par une pyridine

Comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents, la fonction hydroxylamine du composé **41** étant protégée à ce stade par un groupement benzyle, cela empêche l'évaluation directe de celui-ci pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases. L'introduction d'une fonction sulfate en cette position est en effet nécessaire à l'activité. Dans l'objectif d'obtenir ce composé sous forme sulfate de sodium, la déprotection de l'hydroxylamine doit donc tout d'abord être réalisée.

### e. Déprotection de l'hydroxylamine

Dans un premier temps, le DBO-thiourée 1,2,3-triazole **41** a été soumis aux conditions d'hydrogénation utilisées jusqu'ici pour éliminer le groupement benzyle. Cependant, l'utilisation de 1 éq. de Pd/C dans du méthanol sous  $H_2$  pendant 48h, n'a pas permis de cliver ce groupement protecteur et le composé de départ a été récupéré (Tableau 13, Entrée 1). L'atome de soufre étant connu pour empoisonner les catalyseurs et conduire à leur désactivation, un second essai d'hydrogénolyse en présence de 3 éq. de Pd/C a alors été réalisé. Malheureusement, ces conditions ont conduit à la dégradation du composé de départ **41** (Tableau 13, Entrée 2).

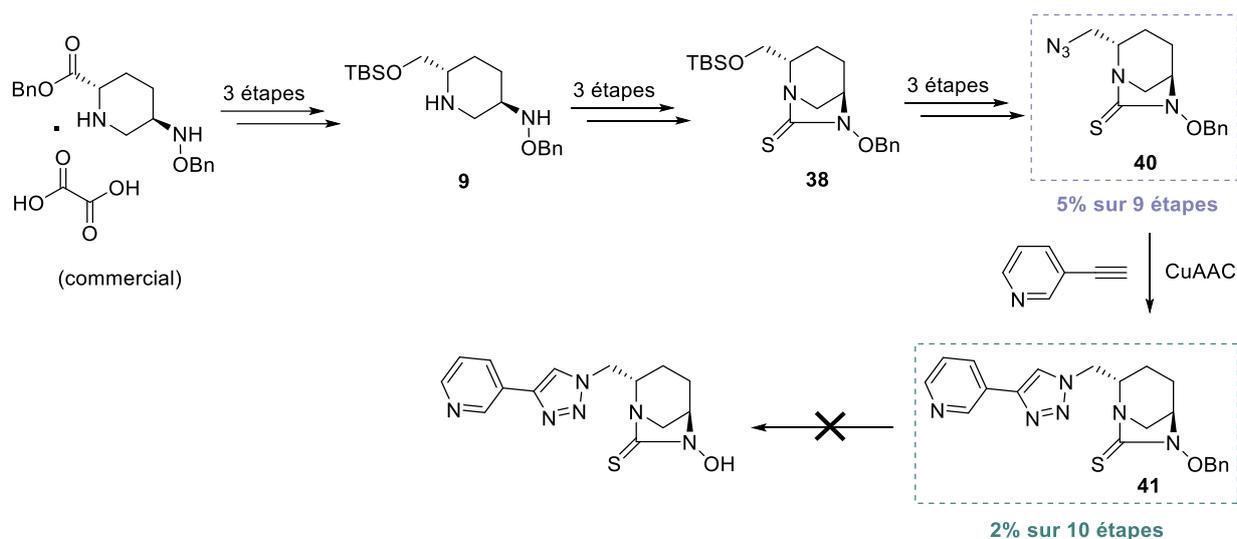


Entrée	Pd/C (éq.)	Résultat
1	1	composé de départ
2	3	dégradation de <b>41</b>

**Tableau 13.** Essais de déprotection de l'hydroxylamine du DBO-thiourée 1,2,3-triazole en présence de Pd/C

## f. Conclusion

Les premiers essais réalisés afin de déprotéger l'hydroxylamine du DBO-thiourée 1,2,3-triazole **41** n'ayant pas été concluants, il était alors nécessaire de développer de nouvelles conditions pour la déprotection de ce composé. Cependant, la synthèse totale mise au point pour accéder à cet analogue étant relativement longue avec des étapes à faible rendement (Schéma 112), elle ne permettait pas d'obtenir une quantité de produit suffisante pour réaliser la mise au point de ces conditions de déprotection.

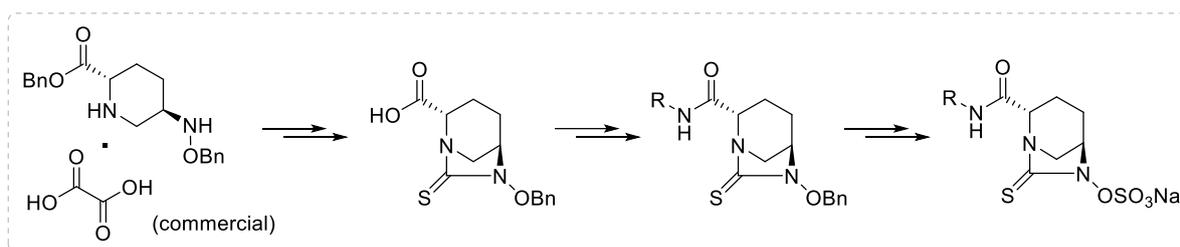


**Schéma 112.** Synthèse totale du DBO-thiourée 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué protégé **41**

Un changement de stratégie a alors été envisagé et nous nous sommes orientés vers une voie de synthèse plus courte, pour pouvoir développer une méthodologie permettant d'éliminer le groupement benzyle d'un DBO-thiourée, qui s'avérait finalement plus compliqué que nous ne l'avions envisagé. L'objectif premier était alors de parvenir à synthétiser un analogue thiourée d'un composé DBO connu, afin de pouvoir étudier l'impact de l'introduction de ce nouveau motif vis-à-vis de l'inhibition de  $\beta$ -lactamases. Une grande partie de la synthèse du DBO-thiourée 1,2,3-triazole consistant à introduire la fonction azoture sur la chaîne latérale pour pouvoir réaliser la réaction de CuAAC, nous nous sommes affranchies de ces étapes en nous orientant vers la synthèse d'analogues de composés de référence présentant une fonction amide plus facilement accessible. L'idée étant que si nous arrivions à mettre au point une méthodologie pour déprotéger l'hydroxylamine d'un DBO-thiourée, nous pourrions potentiellement l'appliquer au composé **41**.

### III. Synthèse d'analogues thiourée de DBOs de référence

Nous nous sommes donc intéressés dans un second temps à la synthèse d'analogues thiourée de DBOs de référence tels que l'avibactam et le relebactam, qui pourraient être obtenus selon une voie de synthèse plus courte que celle développée précédemment pour accéder au DBO-thiourée 1,2,3-triazole (Schéma 113). En effet, ces composés présentant une fonction amide sur la chaîne latérale en position C2 du cycle DBO, celle-ci pourrait être plus facilement introduite à partir de la pipéridine commerciale utilisée précédemment, qui possède une fonction ester benzylique en cette position.



**Schéma 113.** Stratégie de synthèse pour accéder à des analogues thiourée de DBOs de référence

La première phase de cette stratégie consiste à former la thiourée bicyclique à partir de ce composé commercial, afin d'accéder à un précurseur DBO-thiourée-acide carboxylique après déprotection de l'ester benzylique. Ce précurseur pourra alors être converti en amide primaire ou bien fonctionnalisé par couplage avec une 4-amino-pipéridine, afin d'accéder aux analogues de l'avibactam et du relebactam respectivement. Des essais de déprotection de l'hydroxylamine par le groupement benzyle pourront ainsi être réalisés sur ces composés, dans l'objectif de les obtenir sous forme sulfate de sodium afin d'évaluer leur activité biologique.

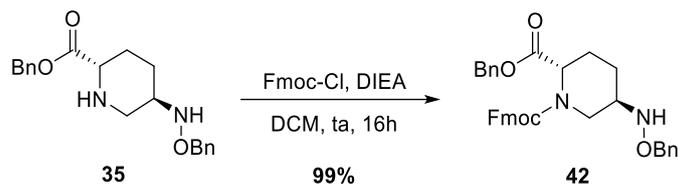
#### 1. Synthèse du précurseur DBO-thiourée-acide carboxylique

##### a. Formation de la thiourée bicyclique

La méthodologie basée sur une stratégie de protection/déprotection en présence de TCDI développée précédemment a alors été utilisée pour introduire le motif thiourée sur le composé **35**, qui pour rappel, est obtenu à partir de la pipéridine protégée commerciale après élimination des sels d'oxalate.

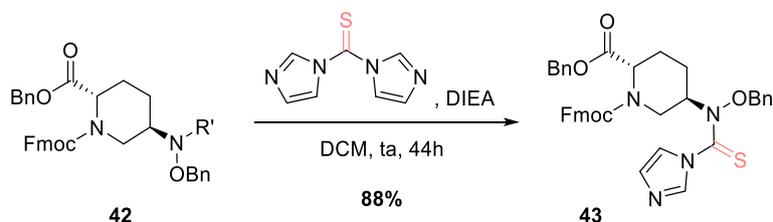
La première étape de cette stratégie consiste à protéger un atome d'azote de la molécule par un groupement Fmoc afin de pouvoir introduire le motif thiocarbonylimidazole en une seule position. Pour cela, le composé **35** a été mis en présence de Fmoc-Cl en milieu basique à température ambiante pendant 16h dans du dichlorométhane. Une réactivité similaire à celle observée précédemment a alors conduit à la protection sélective de l'atome d'azote de la

pipéridine et le dérivé protégé **42** a été obtenu sous la forme de deux rotamères avec un excellent rendement de 99% (Schéma 114).



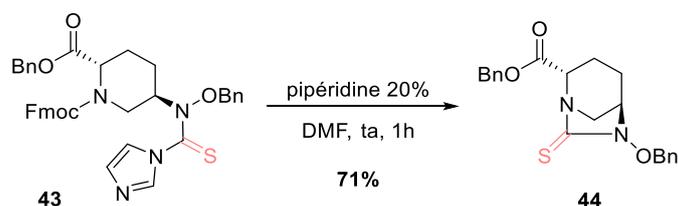
**Schéma 114.** Protection du composé **35** par un groupement Fmoc

Afin d'introduire la fonction thiourée sur la molécule, le composé **42** a ensuite été mis en présence de TCDI et de DIEA dans du dichlorométhane à température ambiante pendant 44h, conduisant ainsi à l'obtention du composé **43** avec un bon rendement de 88% (Schéma 115).



**Schéma 115.** Introduction du motif thiocarbonylimidazole

Finalement, l'utilisation d'une solution de pipéridine 20% dans le DMF a permis d'éliminer le groupement protecteur Fmoc, induisant alors la cyclisation *in situ* de la thiourée et générant ainsi le composé bicyclique **44** avec un rendement de 71% (Schéma 116).

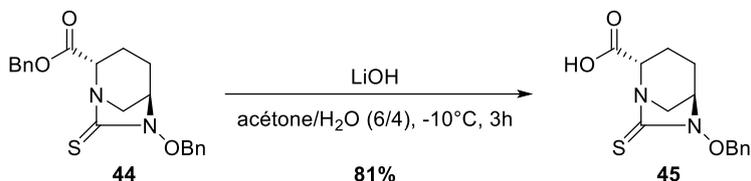


**Schéma 116.** Elimination du groupement protecteur Fmoc induisant la cyclisation de la thiourée

L'application de cette méthodologie pour former la thiourée bicyclique directement sur le composé **35** a ainsi permis d'obtenir le DBO-thiourée **44** avec un bon rendement global de 62% sur 3 étapes. Cette première phase clé réalisée, il fallait ensuite déprotéger la fonction acide carboxylique du DBO-thiourée afin de pouvoir introduire les substituants souhaités en cette position.

### b. Déprotection de la fonction acide carboxylique

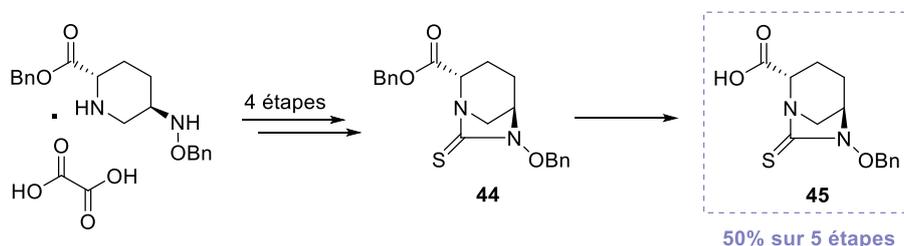
Une étape de saponification du composé **44** en présence d'hydroxyde de lithium dans un mélange acétone/eau à  $-10^{\circ}\text{C}$  pendant 3h, a alors permis d'obtenir le DBO-thiourée-acide carboxylique **45** avec un très bon rendement de 81% (Schéma 117).<sup>112</sup>



**Schéma 117.** Saponification de l'ester benzyle

### c. Conclusion

Finalement, ce changement de stratégie nous a ainsi permis d'accéder à un précurseur DBO-thiourée facilement fonctionnalisable avec un bon rendement global de 50% sur 5 étapes, à partir de la pipéridine-hydroxylamine protégée commerciale (Schéma 118).



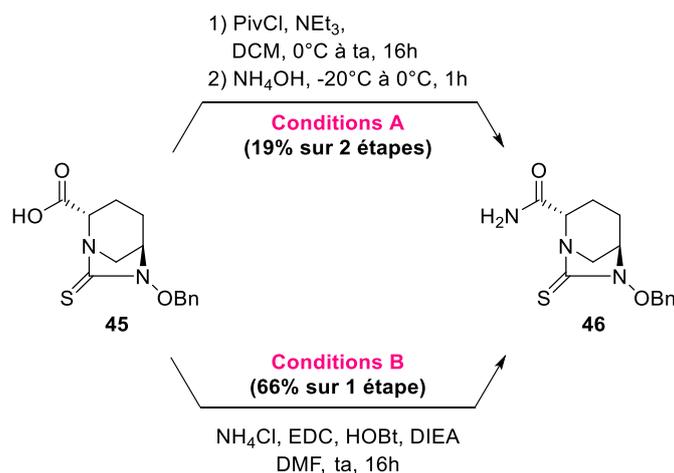
**Schéma 118.** Accès au précurseur DBO-thiourée-acide carboxylique

Le précurseur clé **45** ayant été obtenu, nous nous sommes ensuite intéressées à la fonctionnalisation de celui-ci afin d'accéder à un analogue thiourée d'un DBO connu. Notre choix s'est alors porté sur l'avibactam et le relebactam qui sont les composés DBOs de référence. La synthèse de ces deux analogues ainsi que les essais de déprotection de l'hydroxylamine ont alors été réalisés en parallèle, afin d'essayer de mettre au point des conditions permettant l'élimination du groupement benzyle sur au moins l'un de ces deux composés. Pour commencer, nous allons donc nous intéresser au développement de l'analogue thiourée de l'avibactam puis nous aborderons par la suite la synthèse du relebactam-thiourée.

## 2. Développement d'un analogue thiourée de l'avibactam

### a. Introduction de la fonction amide primaire

Afin d'introduire la chaîne latérale amide primaire caractéristique de l'avibactam sur le précurseur thiourée **45**, deux stratégies ont été employées (Schéma 119).



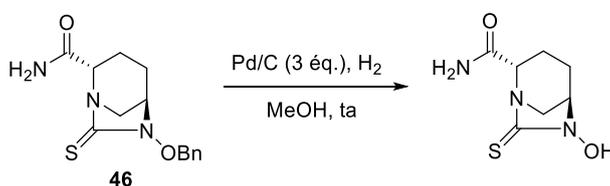
**Schéma 119.** Introduction de la fonction amide primaire sur la chaîne latérale du DBO-thiourée

La première approche a consisté à convertir la fonction acide carboxylique du composé **45** en amide primaire *via* la formation d'un anhydride mixte en présence de chlorure de pivaloyle et de triéthylamine, suivi de l'ajout d'ammoniac au milieu réactionnel.<sup>112</sup> Ces conditions ont alors permis d'accéder à l'analogue thiourée de l'avibactam **46** avec un rendement de 19% sur 2 étapes (Schéma 119, Conditions A). Une seconde stratégie plus efficace a ensuite consisté à coupler le précurseur DBO-thiourée-acide carboxylique **45** avec du chlorure d'ammonium en présence d'EDCI et d'HOBt en milieu basique, dans du DMF pendant 16h. L'analogue thiourée de l'avibactam **46** a alors été obtenu avec un meilleur rendement de 66% (Schéma 119, Conditions B).

Des essais de déprotection de l'hydroxylamine par le groupement benzyle de ce composé **46** ont ensuite été réalisées dans l'optique de pouvoir introduire par la suite le motif sulfate essentiel à l'activité de l'avibactam.

### b. Essais de déprotection de l'hydroxylamine par hydrogénolyse

Pour commencer, nous nous sommes basées sur les expériences d'hydrogénolyse précédemment réalisées sur le DBO-thiourée 1,2,3-triazole **41** qui avaient conduit à la dégradation de celui-ci en présence de 3 éq. de Pd/C dans du méthanol sous H<sub>2</sub> pendant 48h. Afin de comparer la réactivité de celui-ci avec l'avibactam-thiourée **46**, ce dernier a été soumis aux mêmes conditions d'hydrogénation sur une durée cependant plus courte de 24h (Tableau 14, Entrée 1). De la même manière, ces conditions n'ont pas permis d'éliminer le groupement benzyle du composé **46**. Des essais d'hydrogénation sous pression à 3,5 bars ont donc été réalisés sur une durée de 2h puis de 8h aboutissant au même résultat (Tableau 14, Entrées 2 et 3). Finalement, lorsque la réaction fut laissée sous pression pendant 24h la dégradation du composé de départ **46** a été observée (Tableau 14, Entrée 4).



Entrée	Pression	Durée	Résultat
1	atm.	24h	composé de départ
2	3,5 bar	2h	composé de départ
3	3,5 bar	8h	composé de départ
4	3,5 bar	24h	dégradation de <b>46</b>

**Tableau 14.** Essais de déprotection de l'hydroxylamine du DBO-thiourée-avibactam par hydrogénolyse

A la vue de ces résultats, l'élimination du groupement benzyle par hydrogénolyse en présence de Pd/C ne semblait donc pas une stratégie prometteuse pour déprotéger l'hydroxylamine d'un DBO-thiourée. D'autres essais de déprotection devaient donc être réalisés et ceux-ci ont été effectués sur l'analogue thiourée du relebactam que nous avons développé en parallèle et dont nous disposons en plus grande quantité.

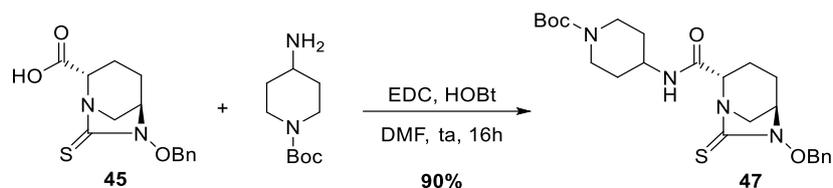
### 3. Synthèse du relebactam-thiourée

Comme nous avons pu le voir auparavant, le relebactam est un DBO présentant une fonction pipéridine sur la chaîne latérale en position C2. L'atome d'azote de celle-ci doit donc être protégé afin qu'il ne réagisse pas lors de l'étape de sulfation de l'hydroxylamine. Pour cela, nous nous sommes tournés dans un premier temps vers l'emploi d'un groupement protecteur Boc qui avait été utilisé lors de la synthèse du relebactam **21** décrite dans le chapitre I.

## a. Stratégie de protection par un groupement Boc

### i. Fonctionnalisation du DBO-thiourée-acide carboxylique

Le DBO-thiourée-acide carboxylique **45** a alors été couplé avec la 4-amino-1-Boc-pipéridine en présence d'EDCI et d'HOBT, dans du DMF pendant 16h, aboutissant à la formation du relebactam-thiourée protégé **47** avec un très bon rendement de 90% (Schéma 120).

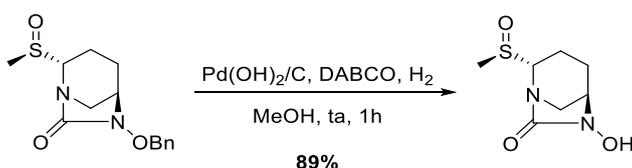


**Schéma 120.** Synthèse du relebactam-thiourée protégé par un groupement Boc

Des essais de déprotection de l'hydroxylamine de cet analogue relebactam(Boc)-thiourée **47** ont alors pu être réalisés afin de tenter d'éliminer le groupement benzyle.

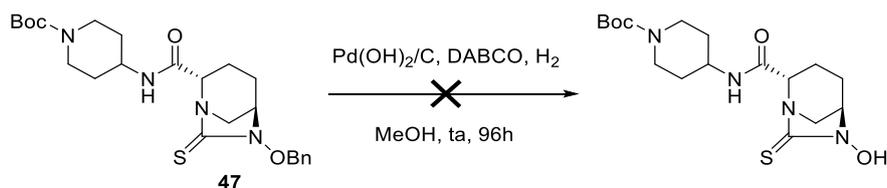
### ii. Déprotection de l'hydroxylamine par le groupement benzyle

En 2020, M. Fujii et ses collaborateurs ont rapporté l'utilisation efficace du catalyseur de Pearlman en présence de DABCO pour la déprotection par hydrogénolyse de l'hydroxylamine d'un composé DBO-sulfoxyde comme alternative à l'utilisation de Pd/C (Schéma 121).<sup>123</sup> La présence du sulfoxyde agissait en effet comme un poison catalytique incompatible avec l'utilisation de Pd/C pour l'élimination du groupement benzyle.



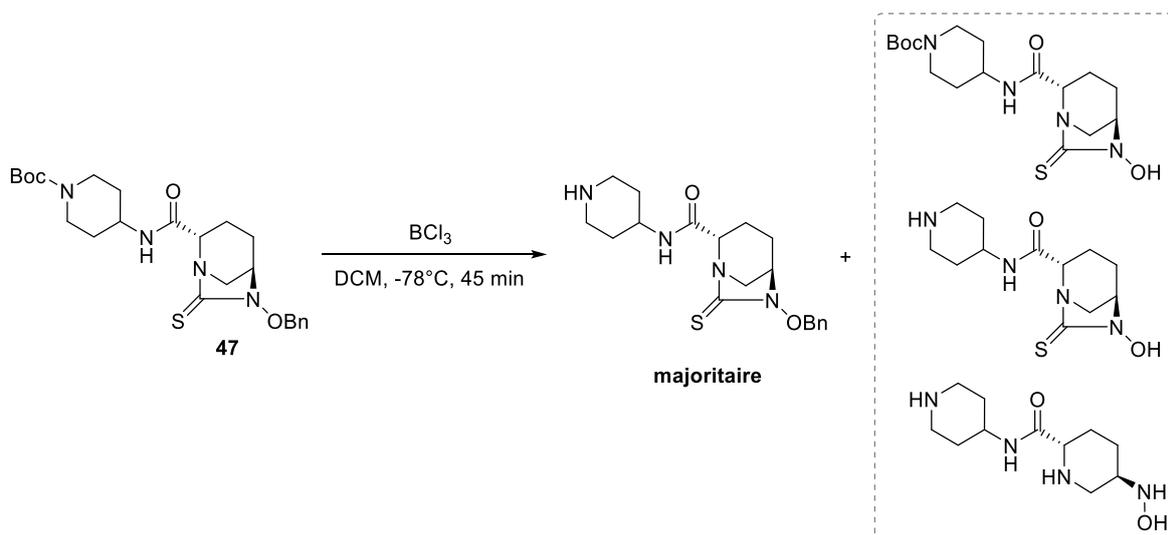
**Schéma 121.** Déprotection de l'hydroxylamine d'un DBO-sulfoxyde<sup>123</sup>

Cette méthodologie a alors été appliquée à l'analogue thiourée du relebactam(Boc) **47**, mais malheureusement l'emploi de Pd(OH)<sub>2</sub>/C en présence de DABCO sous H<sub>2</sub> n'a pas conduit à la déprotection de l'hydroxylamine et le composé de départ a majoritairement été récupéré (Schéma 122).



**Schéma 122.** Essai de déprotection de l'hydroxylamine du relebactam(Boc)-thiourée en présence du catalyseur de Pearlman et de DABCO

Afin de s'affranchir de cet empoisonnement des catalyseurs par l'atome de soufre, une seconde stratégie a alors consisté à mettre le composé **47** en présence d'une solution de trichlorure de bore 1M dans du dichlorométhane à -78°C (Schéma 123).<sup>213, 214</sup> Ces conditions ont cependant très rapidement conduit à la déprotection de l'atome d'azote de la pipéridine par le groupement Boc et le composé déprotégé sur la chaîne latérale mais toujours sous forme O-benzyle a majoritairement été observé.



**Schéma 123.** Essai de déprotection de l'hydroxylamine du relebactam(Boc)-thiourée en présence de BCl<sub>3</sub>

L'analyse par spectrométrie de masse du brut réactionnel a toutefois révélé des signaux correspondant à la perte du groupement protecteur benzyle de l'hydroxylamine, s'accompagnant ou non de la déprotection de l'atome d'azote de la pipéridine ainsi que de l'ouverture du cycle DBO. Bien que le composé attendu n'ait pas été isolé selon cette dernière stratégie, la déprotection de l'hydroxylamine par le groupement benzyle n'avait jamais été observée auparavant en présence d'un DBO-thiourée ce qui nous a encouragé à nous orienter dans cette direction.

<sup>213</sup> I. Van Daele, H. Munier-Lehmann, P. M. S. Hendrickx, G. Marchal, P. Chavarot, M. Froeyen, L. Qing, J. C. Martins, S. Van Calenbergh, *ChemMedChem* **2006**, *1*, 1081-1090

<sup>214</sup> Y. G. Gu, Y. He, N. Yin, D. C. Alexander, J. B. Cross, C. A. Metcalf III, R. Busch, Cubist Pharmaceuticals, US20130289012, **2013**

L'utilisation de  $\text{BCl}_3$  se révélant cependant incompatible avec le composé relebactam(Boc)-thiourée **47**, un changement de groupement protecteur a alors été envisagé.

## b. Stratégie de protection par un groupement Fmoc

### i. Remplacement de la protection Boc par un groupement Fmoc

Le groupement Boc de la pipéridine du composé **47** a donc été remplacé par un groupement Fmoc en deux étapes. Tout d'abord le groupement protecteur Boc a été clivé en présence d'acide trifluoroacétique dans du dichlorométhane à  $0^\circ\text{C}$  pendant 2h, générant ainsi l'amine libre correspondante. Puis l'utilisation de chlorure de fluorénylméthoxycarbonyle en milieu basique dans du dichlorométhane à température ambiante pendant 16h a permis d'accéder au relebactam(Fmoc)-thiourée **48** avec un rendement de 83% sur 2 étapes (Schéma 124).

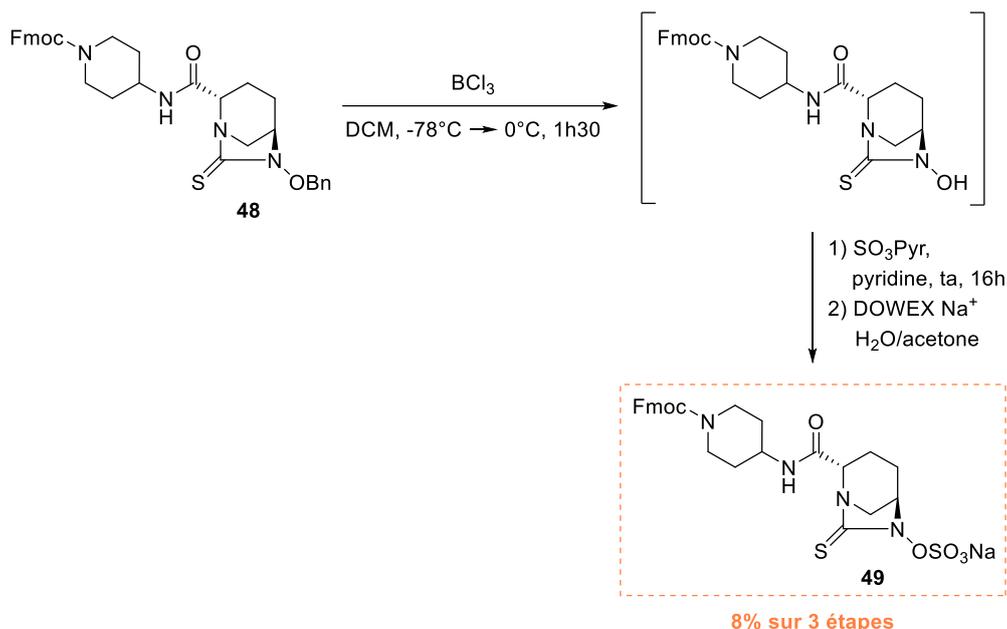


**Schéma 124.** Remplacement de la protection Boc par un groupement Fmoc

L'analogue thiourée du relebactam obtenu sous la forme protégée par un groupement Fmoc, il était alors possible de réaliser un essai de déprotection de l'hydroxylamine de celui-ci en présence de  $\text{BCl}_3$ .

### ii. Déprotection et sulfation de l'hydroxylamine

Dans un premier temps, une solution de trichlorure de bore 1M dans du dichlorométhane a été ajoutée à  $-78^\circ\text{C}$  au composé protégé **48** et le milieu réactionnel a été agité à  $0^\circ\text{C}$  pendant 1h30.<sup>214</sup> Le brut réactionnel a ensuite été engagé directement dans l'étape suivante de sulfation de l'hydroxylamine en présence du complexe trioxyde de soufre-pyridine. Une dernière étape d'échange d'ions sur colonne DOWEX  $\text{Na}^+$  dans un mélange  $\text{H}_2\text{O}$ /acétone a finalement permis d'accéder au relebactam(Fmoc)-thiourée sous forme sulfate de sodium **49**, avec un rendement global de 8% sur 3 étapes après purification par HPLC (Schéma 125).

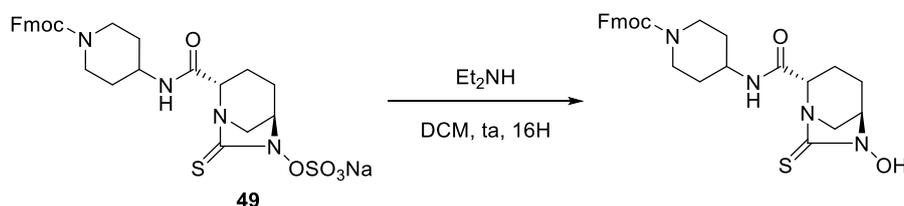


**Schéma 125.** Déprotection et sulfation de l'hydroxylamine du relebactam(Fmoc)-thiourée

Le composé **49** enfin obtenu, il était cependant encore protégé par un groupement Fmoc qui devait donc être clivé pour pouvoir accéder à l'analogue thiourée final du relebactam.

### iii. Elimination du groupement protecteur Fmoc

Dans l'objectif d'obtenir l'amine libre, le relebactam(Fmoc)-thiourée **49** a donc été mis en présence de diéthylamine dans du dichlorométhane à température ambiante pendant 16h (Schéma 126).<sup>214</sup> Malheureusement, ces conditions n'ont pas permis d'accéder au produit souhaité et la perte du groupement  $\text{SO}_3\text{Na}$  a ici été observée.



**Schéma 126.** Essai de déprotection de la chaîne latérale du relebactam(Fmoc)-thiourée final

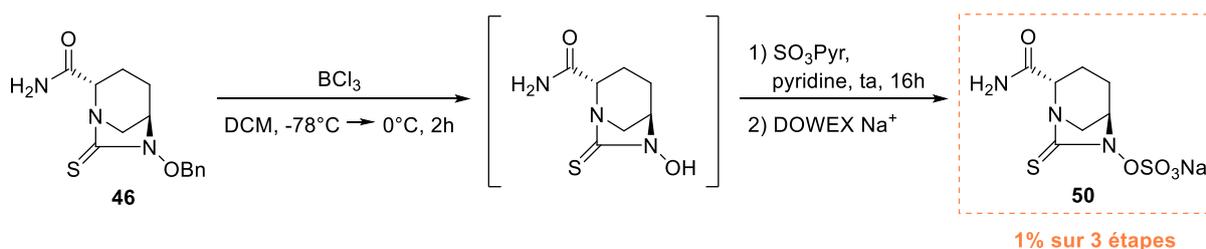
D'autres essais de déprotection de l'amine de la pipéridine par le groupement Fmoc doivent donc être réalisés afin d'accéder à l'analogue thiourée final du relebactam.

Cette protection de l'amine, nécessaire en raison de la réaction de sulfation précédemment décrite, engendre donc une étape de déprotection supplémentaire pour accéder au composé souhaité. Il est alors nécessaire de mettre au point des conditions permettant de cliver le groupement Fmoc en plus de l'optimisation de la déprotection de l'hydroxylamine. En parallèle, nous avons donc essayé d'appliquer cette méthodologie utilisant du  $\text{BCl}_3$  pour éliminer le groupement benzyle, aux deux autres DBO-thiourée précédemment synthétisés qui présentent l'avantage de ne pas nécessiter de groupement protecteur sur leur chaîne latérale.

#### 4. Application des conditions de déprotection aux autres composés

##### a. Analogue thiourée de l'avibactam

Afin d'accéder à l'analogue thiourée final de l'avibactam, une solution de  $\text{BCl}_3$  1M dans du dichlorométhane a donc été ajoutée à  $-78^\circ\text{C}$  au composé protégé **46** et le milieu réactionnel a été agité à  $0^\circ\text{C}$  pendant 2h. Le brut réactionnel a alors été engagé directement dans l'étape suivante de sulfation de l'hydroxylamine en présence du complexe trioxyde de soufre-pyridine. Puis un passage sur colonne échangeuse d'ions a finalement permis d'accéder à l'avibactam-thiourée sous forme sulfate de sodium **50** (Schéma 127). Ce composé très polaire a cependant majoritairement été obtenu après purification par HPLC en mélange avec une impureté non définie. Malgré de nombreux essais d'optimisation des conditions de purification par HPLC, ce mélange s'est révélé difficilement séparable et il n'a finalement été possible d'isoler qu'une très faible quantité du composé **50** pur, qui correspond alors à un rendement global de seulement 1% sur 3 étapes.

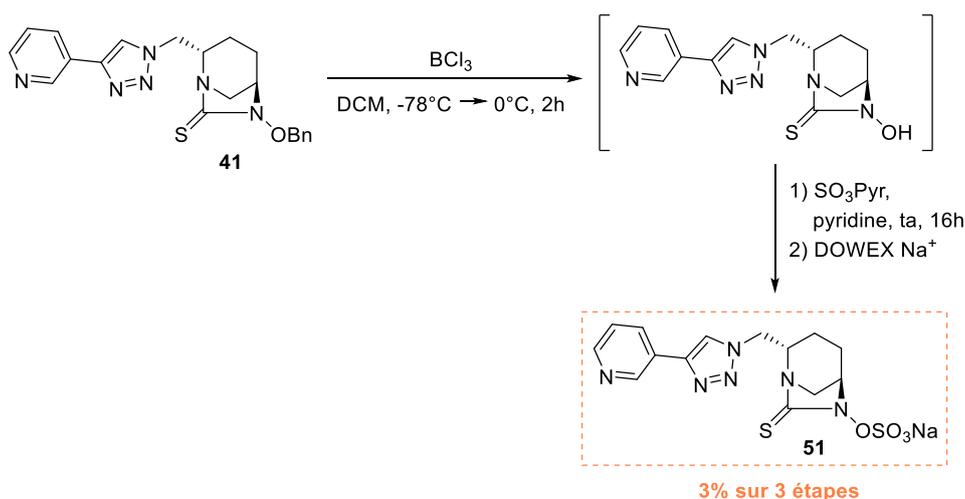


**Schéma 127.** Obtention de l'avibactam-thiourée sous forme sulfate de sodium

Une optimisation encore plus approfondie des conditions de purification s'avère donc nécessaire. Toutefois, des tests biologiques préliminaires vont tout de même pouvoir être réalisés avec l'avibactam-thiourée final **50** qui a pu pour le moment être isolé (0.4 mg).

## b. DBO-thiourée 1,2,3-triazole

Finalement, les mêmes conditions de déprotection de l'hydroxylamine en présence de  $\text{BCl}_3$ , suivi de l'étape de sulfation puis du passage sur colonne DOWEX  $\text{Na}^+$ , ont également été appliquées au composé DBO-thiourée 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué **41** (Schéma 128). Cette stratégie a alors permis d'accéder, avec un rendement global de 3% sur 3 étapes, au composé final **51** (0.6 mg) dont l'activité vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases va également pouvoir être étudiée par nos collaborateurs.



**Schéma 128.** Obtention du DBO-thiourée 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué **51** sous forme sulfate de sodium

Trois produits finaux sous forme sulfate de sodium ayant ainsi pu être obtenus selon cette méthodologie, l'utilisation de  $\text{BCl}_3$  semble donc une stratégie efficace pour éliminer le groupement protecteur benzyle de l'hydroxylamine d'un DBO-thiourée.

## IV. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons décrit deux voies d'accès à des composés DBO-thiourée à partir d'une pipéridine-2-carboxylate-5-hydroxylamine protégée. Une première stratégie reposant sur la synthèse en 9 étapes d'un précurseur DBO-thiourée-azoture a tout d'abord permis d'obtenir, après fonctionnalisation par CuAAC, un analogue thiourée d'un DBO 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué (Schéma 129, **voie A**). Dans un second temps, nous avons mis au point la synthèse en 5 étapes d'un autre précurseur DBO-thiourée-acide carboxylique, permettant ainsi d'accéder à des analogues de composés de référence : l'avibactam et le relebactam (Schéma 129, **voie B**). L'étape clé de formation de la thiourée bicyclique pour accéder à ces deux précurseurs repose alors sur une même stratégie de protection/déprotection en présence de TCDI.

La principale difficulté rencontrée lors de la synthèse de ces analogues DBO-thiourée a donc été de parvenir à mettre au point une méthodologie permettant d'éliminer le groupement benzyle de ces composés, afin de pouvoir introduire la fonction sulfate essentielle à leur activité. Finalement, bien que des optimisations soient encore nécessaires afin de pouvoir potentiellement améliorer le rendement de ces dernières étapes, l'utilisation de  $\text{BCl}_3$  s'est révélée une stratégie prometteuse pour déprotéger l'hydroxylamine d'un DBO-thiourée puisqu'elle a permis de contourner le problème d'empoisonnement du catalyseur.

D'autres points nécessitent encore d'être optimisés tels que la purification de l'analogue de l'avibactam ainsi que la déprotection de la chaîne latérale du relebactam(Fmoc)-thiourée. Toutefois, les deux DBO-thiourée finaux qui ont pour l'instant été obtenus vont pouvoir être utilisés par nos collaborateurs afin d'étudier l'impact de l'introduction de ce nouveau motif vis-à-vis de l'inhibition de  $\beta$ -lactamases.

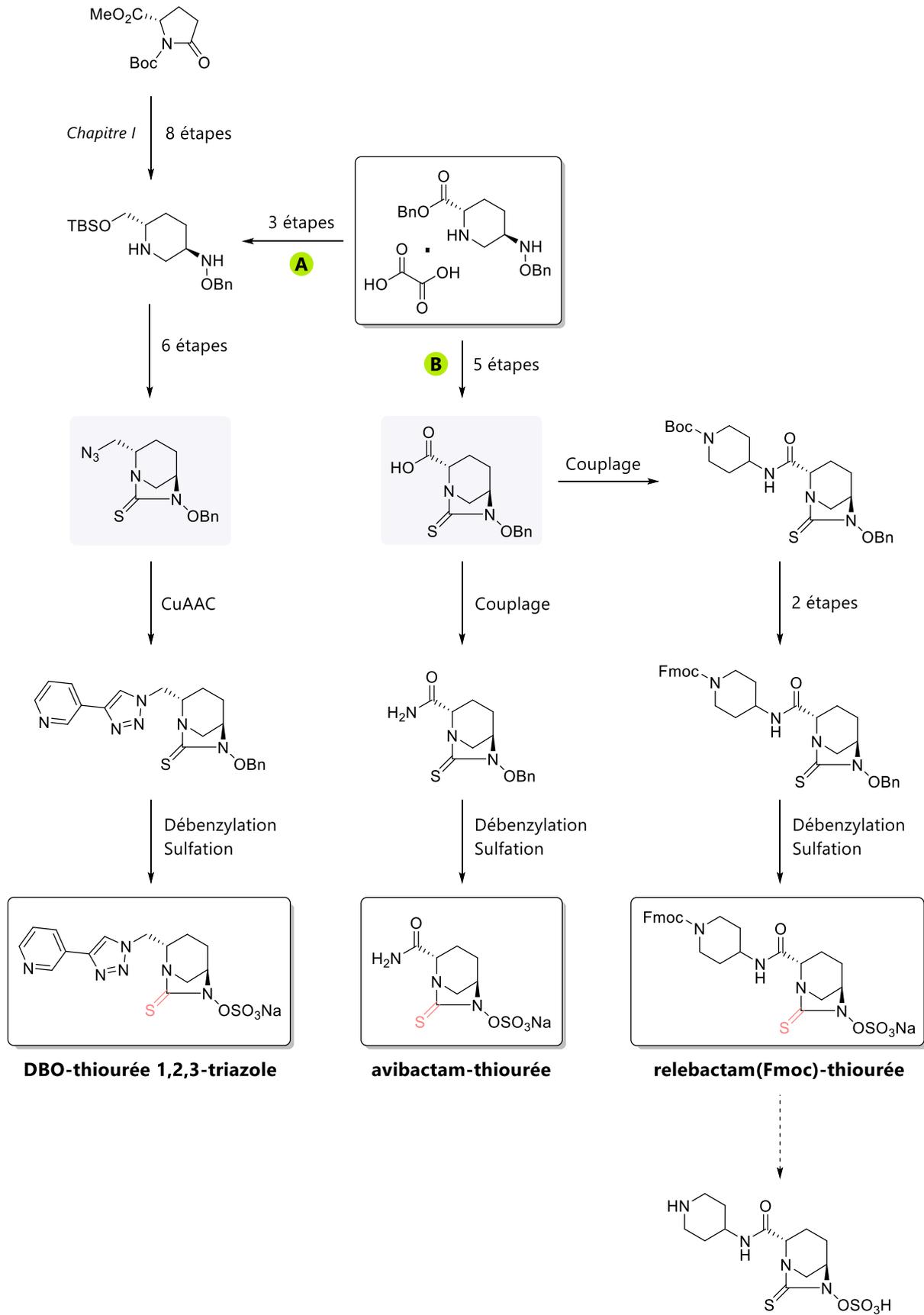


Schéma 129. Synthèse d'analogues DBO-thiourée



## **Conclusion générale et perspectives**

---

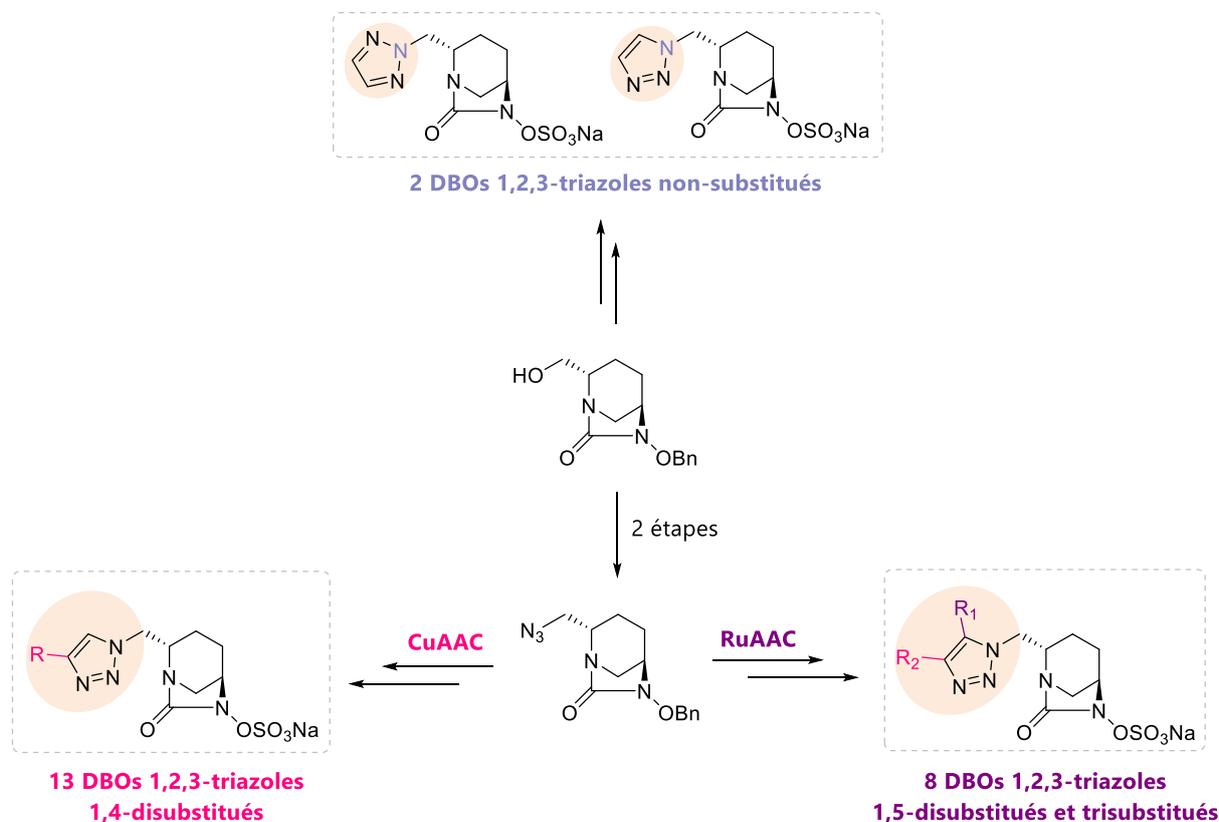


L'association d'un inhibiteur de  $\beta$ -lactamase à un antibiotique  $\beta$ -lactame est l'une des stratégies les plus efficaces pour lutter contre la résistance bactérienne due à la production de ces enzymes. En 2015, l'approbation de l'avibactam pour une utilisation clinique en association avec la céftazidime a été un ajout majeur à l'arsenal thérapeutique disponible pour traiter les infections bactériennes. Cet inhibiteur à la structure originale a alors ouvert la voie au développement de nombreux analogues DBOs, dont certains présentent de très bonnes activités inhibitrices vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases et sont désormais disponibles sur le marché (relebactam)<sup>114</sup> ou bien en cours d'essai clinique (durlobactam,<sup>78</sup> zidebactam,<sup>79</sup> nacubactam,<sup>82</sup> ETX0282<sup>84</sup> et ARX-1796<sup>83</sup>). Le développement de nouvelles méthodologies pour accéder à des DBOs fonctionnalisés est donc particulièrement intéressant pour continuer à explorer la modulation de cette structure diazabicyclooctane pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases.

Dans ce contexte, deux stratégies ont été employées au cours de cette thèse pour accéder à de nouveaux analogues DBOs. La première a reposé sur la fonctionnalisation de la position C2, afin d'étudier l'impact de l'introduction de différents liens sur l'activité inhibitrice de ces composés. Tandis que la seconde stratégie a quant à elle consisté à modifier la fonction urée de la structure DBO.

**Dans le chapitre I**, différentes voies d'accès à des analogues DBOs 1,2,3-triazoles diversement fonctionnalisés ont été mises au point afin d'introduire aisément de la diversité moléculaire en position C2 (Schéma 130).<sup>181,187</sup> Deux DBOs 1,2,3-triazoles non-substitués ont été synthétisés par réaction d'un intermédiaire DBO présentant une fonction hydroxyle avec un 1H-1,2,3-triazole, afin de pouvoir évaluer l'impact de l'introduction de divers substituants. L'introduction d'un motif 1,2,3-triazole fonctionnalisé sur le cycle DBO a alors été réalisée *via* des réactions de cycloadditions azoture-alcyne métallo-catalysées, à partir d'un précurseur DBO-azoture. Une première réaction de cycloaddition catalysée au cuivre (I) a permis d'accéder à 13 DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués. L'activité biologique de ces deux familles de DBOs a alors été évaluée sur un panel de cinq  $\beta$ -lactamases cliniquement pertinentes, par nos collaborateurs de l'équipe du Dr Michel Arthur. Bien qu'une activité réduite ait été observée en comparaison de l'avibactam et du relebactam, probablement en raison de la perte d'une interaction essentielle avec un résidu conservé du site actif des  $\beta$ -lactamases, l'introduction d'un motif 1,2,3-triazole n'a cependant pas altéré la capacité de ces composés à atteindre le périplasma des bactéries étudiées. Cette méthodologie pourrait donc être utilisée pour le développement de futurs analogues DBOs à partir d'un précurseur DBO-azoture ou DBO-alcyne différent. Par la suite, la mise au point d'une seconde variante de cycloaddition azoture-alcyne catalysée au ruthénium (II) a permis l'obtention de 6 DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstitués et 2 composés trisubstitués, dont l'activité inhibitrice de  $\beta$ -lactamases est actuellement à l'étude par nos collaborateurs microbiologistes. La fonctionnalisation d'une autre position du cycle triazole va ainsi nous permettre de voir si ce changement a un impact ou non sur l'activité de nos composés en comparaison avec notre première série de DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués. D'un point de vue synthétique, le développement de cette méthode de fonctionnalisation du cycle DBO par

RuAAC est particulièrement intéressante, étant donné que la catalyse au Ruthénium (II) est bien moins employée pour la synthèse de molécules actives au profit de la CuAAC largement utilisée.

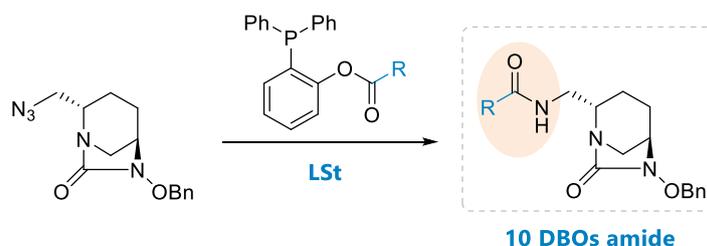


**Schéma 130.** Voies d'accès à des DBOs 1,2,3-triazoles

Dans le cadre de cette exploration de la fonctionnalisation du cycle DBO *via* l'introduction d'un motif 1,2,3-triazole, il aurait été idéal d'avoir la possibilité de réaliser des études de modélisation afin de rationaliser le choix des substituants introduits sur le cycle triazole. Bien que cela n'ait pas été possible dans le cadre de mes travaux de thèse, une collaboration avec une équipe réalisant des études de modélisation moléculaire vient de débuter et pourrait donc par la suite être d'une grande aide pour synthétiser de nouveaux analogues DBOs présentant une meilleure activité.

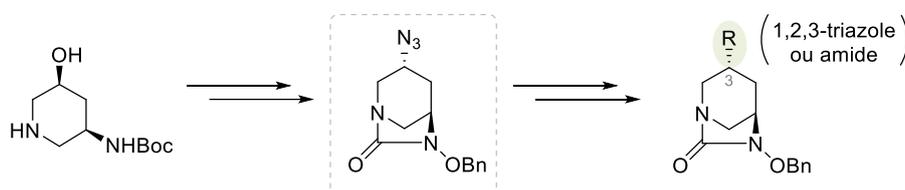
**Dans le chapitre II**, une troisième méthodologie permettant de fonctionnaliser la position C2 du cycle DBO, à partir du même précurseur DBO-azoture, a été mise au point. Celle-ci repose sur l'utilisation de la ligature de Staudinger traceless pour accéder efficacement à des analogues DBOs diversement fonctionnalisés (Schéma 131). Cette approche a été validée en présence de plusieurs phosphines esters phénoliques présentant des groupements d'intérêts variés, qui ont conduit par LSt avec le dérivé azoture à l'obtention de 10 DBOs possédant un nouveau lien amide en position C2.<sup>208</sup> L'introduction de la fonction sulfate sur un composé

modèle de cette série a ensuite permis à nos collaborateurs d'évaluer l'activité biologique *in vitro* de celui-ci vis-à-vis de l'inhibition de  $\beta$ -lactamases. Ce composé s'est alors révélé capable d'inhiber la  $\beta$ -lactamase de classe D : OXA-48, presque aussi efficacement que l'avibactam, tandis qu'aucune inhibition de cette enzyme n'est détectée en présence du relebactam. Cette évaluation biologique préliminaire indique ainsi que l'accès à ce nouveau lien amide pourrait notamment être utilisé pour accéder à des inhibiteurs efficaces contre OXA-48.



**Schéma 131.** Fonctionnalisation de la position C2 du cycle DBO par ligation de Staudinger traceless

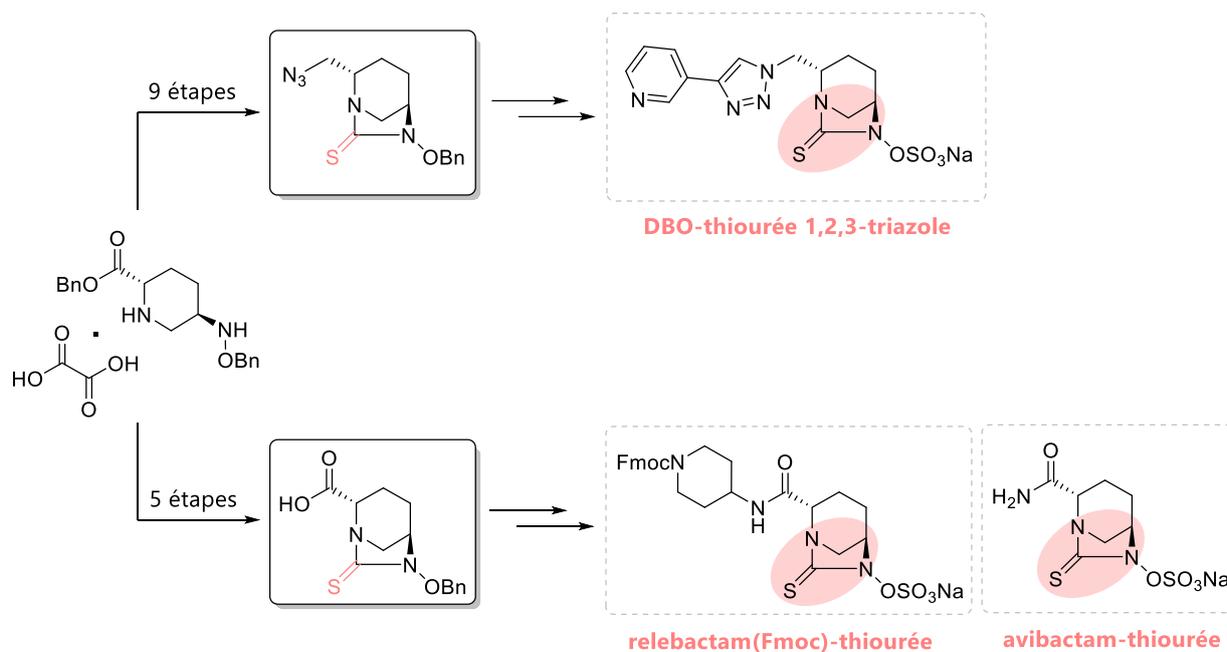
Ces différentes méthodologies développées pour fonctionnaliser la position C2 du cycle DBO *via* des réactions de cycloadditions azoture-alcyne métallo-catalysées et par ligation de Staudinger traceless, permettent ainsi de moduler facilement la chaîne latérale du cycle diazabicyclooctane. Celles-ci pourraient alors être utilisées pour fonctionnaliser une autre position du cycle DBO afin d'accéder à de nouveaux analogues. La modification de la position C3 *via* l'introduction d'un motif 1,2,3-triazole par CuAAC ou RuAAC ou bien *via* l'introduction d'une fonction amide par ligation de Staudinger est notamment envisagée dans la continuité de ces travaux de thèse (Schéma 132). Pour cela, une collaboration a été initiée avec l'équipe du Dr Laurent Micouin afin d'accéder dans un premier temps à un précurseur DBO-azoture en position C3 à partir d'une *cis* 5-amino-3-hydroxypipéridine.<sup>215</sup> Nous souhaiterions par la suite appliquer les méthodes de fonctionnalisation précédemment décrites en cette position.



**Schéma 132.** Perspectives de fonctionnalisation de la position C3 du cycle DBO

<sup>215</sup> P. Gordillo Guerra, P. Clerici, L. Micouin, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 7689-7694

**Dans le chapitre III**, une modification originale de la structure diazabicyclooctane encore jamais rapportée dans la littérature a également été entreprise avec le développement d'analogues DBO-thiourée (Schéma 133). Deux voies de synthèse reposant sur une même méthodologie pour former la thiourée bicyclique ont alors été mises au point afin d'accéder à ces composés à partir d'une pipéridine-2-carboxylate-5-hydroxylamine protégée. La principale difficulté de cette synthèse a été de parvenir à déprotéger la fonction hydroxylamine de ces analogues thiourée afin d'introduire la fonction sulfate nécessaire à l'activité des DBOs. C'est finalement l'utilisation de trichlorure de bore pour éliminer le groupement benzyle qui a permis d'accéder à 3 DBO-thiourée sous forme sulfate de sodium. La synthèse de ces composés présente cependant un rendement global très faible et les dernières étapes nécessitent encore d'être améliorés afin d'aboutir à une voie d'accès efficace pour la synthèse d'analogues thiourée. Des études préliminaires de l'activité biologique de ces composés vont toutefois pouvoir être réalisées par nos partenaires microbiologistes afin d'évaluer l'impact de la modification de la fonction urée par un motif thiourée pour l'inhibition de  $\beta$ -lactamases.



**Schéma 133.** Synthèse d'analogues DBOs-thiourée

Une autre perspective de mon travail de thèse est l'utilisation de ces nouveaux composés pour l'inhibition d'une autre cible : les L,D-transpeptidases (Ldts). En effet, certains composés appartenant à la série des DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstitués sont étudiés actuellement par l'équipe du Dr Michel Arthur pour l'inhibition des Ldts. Ces enzymes, majoritairement impliquées dans la réticulation du peptidoglycane des mycobactéries, ne sont efficacement inactivées que par les  $\beta$ -lactamines de la famille des carbapénèmes. Nos collaborateurs ont toutefois montré que l'avibactam potentialise l'activité de l'ampicilline contre *M. tuberculosis*,

probablement en inhibant une combinaison de cibles de la paroi cellulaire telles que les PBP classiques et les L,D-transpeptidases.<sup>181</sup> Ce résultat est encourageant et nous pensons que les DBOs synthétisés au cours de cette thèse pourraient notamment être testés et optimisés dans l'objectif d'accéder à des composés efficaces pour le traitement de la tuberculose.

Mon travail de thèse a donné lieu à la publication de trois articles dont deux en premier auteur (*Org. Lett.* **2021**, *J. Med. Chem.* **2020** et *Chem. Eur. J.* **2018**).



## **Experimental part**

---



## I. Materials and methods

### Synthesis

Reactions were carried out under argon atmosphere and performed using freshly distilled solvents. DCE, DCM, DMF, MeCN, MeOH and pyridine were dried over calcium hydride and THF was dried over sodium/benzophenone. Anhydrous DMSO and toluene were purchased from Sigma-Aldrich. Unless otherwise specified, materials were purchased from commercial suppliers and used without further purification. Progress of the reactions was monitored by thin-layer chromatography (TLC) using Merck commercial aluminium sheets coated with silica gel 60 F<sub>254</sub>. Compounds were detected by charring with phosphomolibdic acid in ethanol or ninhydrine in *n*-Butanol followed by heating, or by UV light at 254 nm.

### Purification

- Flash chromatography was done on silica gel (60 Å, 180-240 mesh) from Merck.
- Preparative high-performance liquid chromatography (HPLC) was performed using a Shimadzu Prominence system with a Zorbax Extend-C18 prepHT column (150 x 21.2 mm, 5µm) from Agilent. Unless otherwise specified, compounds were eluted with a linear gradient (from 100% H<sub>2</sub>O to 100% CH<sub>3</sub>CN) that was applied between 5 and 30 min at a flow rate of 15 mL/min. Products were detected by UV absorption at 214 nm.

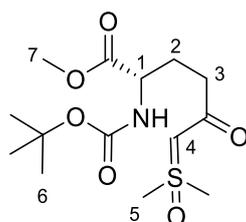
### Analysis

- NMR spectra were recorded on Bruker spectrometers (AM250, Avance II 500 and Avance III HD). Chemical shifts ( $\delta$ ) are reported in parts per million (ppm) and referenced to the residual proton or carbon resonance of the solvents: CDCl<sub>3</sub> ( $\delta$  7.26), D<sub>2</sub>O ( $\delta$  4.79), MeOD ( $\delta$  3.31) or (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO ( $\delta$  2.50) for <sup>1</sup>H and CDCl<sub>3</sub> ( $\delta$  77.16), MeOD ( $\delta$  49.00) or (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO ( $\delta$  39.52) for <sup>13</sup>C. Signals were assigned using 1D (<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C) and 2D (HSQC, COSY and HMBC) spectroscopy. NMR coupling constants (*J*) are reported in Hertz (Hz) and splitting patterns are indicated as follows: s (singlet), bs (broad singlet), d (doublet), bd (broad doublet), t (triplet), dd (doublet of doublet), dt (doublet of triplet), td (triplet of doublet), tt (triplet of triplet), ddd (doublet of doublet of doublet), m (multiplet).
- High-resolution mass spectroscopy (HRMS) was performed with an ion trap mass analyser under electrospray ionization (ESI) in the negative or positive ionization detection mode. HRMS was performed using Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL. Low-resolution mass spectroscopy was recorded on Thermo Scientific LCQ Deca XP-Max.
- Purity of final compounds were established by analytical HPLC, which was performed on a Shimadzu Prominence system with a Hypersil® BDS C18 column (150 x 4.6 mm, 5µm) or an Agilent Zorbax Extend C18 column (250 x 4.6 mm, 5 µm) with UV detection at 214 and 220 nm.
- Optical rotations were measured with a sodium lamp (589 nm) at 20°C on a Perkin Elmer polarimeter. Melting points were measured on a Köfler bench.

## II. Compounds from chapter I

### 1. Synthesis of azido-DBO precursor

#### **methyl (S)-2-((Boc)amino)-6-(dimethyl(oxo)- $\lambda^6$ -sulfaneylidene)-5-oxohexanoate (1)**



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>6</sub>S

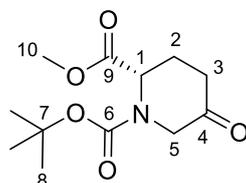
Molecular weight: 335.42 g.mol<sup>-1</sup>

A solution of trimethyl sulfoxide iodide (7.70 g, 34.8 mmol) and potassium *tert*-butoxide (3.46 g, 30.7 mmol) in DMSO (30 mL) was prepared and stirred during 1h. 1-(*tert*-butyl) 2-methyl (S)-5-oxopyrrolidine-1,2-dicarboxylate (5 g, 20.5 mmol) was then added and the reaction mixture stirred at room temperature for 3h. CHCl<sub>3</sub> and water were added and the phases were separated. The organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated in vacuum to afford **1** (3.66 g, 53%) as a yellow oil.

**<sup>1</sup>H NMR** (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5.53 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H, NH), 4.37 (s, 1H, H<sub>4</sub>), 4.25-4.15 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.67 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.35 (s, 6H, H<sub>5</sub>), 2.26-2.19 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 2.05-1.84 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.37 (s, 9H, H<sub>6</sub>)

## (S)-N-Boc-5-oxo-piperidine-2-carboxylic acid methyl ester (**2**)

---



Chemical formula: C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>

Molecular weight: 257.29 g.mol<sup>-1</sup>

[Ir(COD)Cl]<sub>2</sub> (14 mg, 0.02 mmol) was added to a solution of **1** (2.96 g, 8.8 mmol) in DCE (20 mL) and the mixture was heated at 80°C for 48h in a sealed tube. After being cooled down to room temperature, the solution was concentrated under vacuum and the crude product was purified by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (8/2) as eluent to give **2** (1.63 g, 72%) as an orange oil.

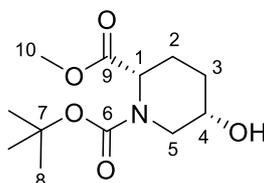
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (rotamers) 4.77-4.75 (m, 0.5H, H<sub>1</sub>), 4.53-4.52 (m, 0.5H, H<sub>1</sub>), 4.35-4.20 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 3.89-3.80 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 3.71 (s, 3H, H<sub>10</sub>), 2.44-2.27 (m, 3H, H<sub>2,3</sub>), 2.15-2.01 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.41-1.38 (2s, 9H, H<sub>8</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (rotamers) 205.5 (C<sub>4</sub>), 172.5, 172.2 (C<sub>9</sub>), 154.8, 154.3 (C<sub>6</sub>), 81.4, 81.3 (C<sub>7</sub>), 54.5, 53.0 (C<sub>1</sub>), 52.4 (C<sub>10</sub>), 52.3, 51.0 (C<sub>5</sub>), 36.0, 35.8 (C<sub>3</sub>), 28.3 (3C<sub>8</sub>), 23.8, 23.7 (C<sub>2</sub>)

**MS** calculated for C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 258.1 ; found: 258.1

**[α]<sub>D</sub>** : - 4.8° (4.5 mg/mL, MeOH)

### (2*S*,5*S*)-1-*tert*-butyl 2-methyl 5-hydroxypiperidine-1,2-dicarboxylate (**3**)



Chemical formula: C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>

Molecular weight: 259.30 g.mol<sup>-1</sup>

NaBH<sub>4</sub> (191 mg, 5.0 mmol) was added at 0°C to a solution of **2** (651 mg, 2.5 mmol) in methanol (10 mL) and the solution was stirred for 2h at 0°C. The reaction mixture was warmed to room temperature and quenched with water. EtOAc was added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated in vacuum. The crude product was purified by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (6/4) as eluent to give compound **3** (596 mg, 91%) as a colorless oil.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (rotamers) 4.78 (s, 0.5H, H<sub>1</sub>), 4.60 (s, 0.5H, H<sub>1</sub>), 4.13-4.03 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 3.69 (s, 3H, H<sub>10</sub>), 3.55 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 2.72-2.56 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 2.24-2.19 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.93-1.89 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.71-1.64 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.42-1.38 (2s, 9H, H<sub>8</sub>), 1.21-1.11 (m, 1H, H<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (rotamers) 171.9 (C<sub>9</sub>), 155.5, 155.2 (C<sub>6</sub>), 80.6 (C<sub>7</sub>), 66.5, 66.3 (C<sub>4</sub>), 54.0, 52.7 (C<sub>1</sub>), 52.2, 52.1 (C<sub>10</sub>), 48.4, 47.6 (C<sub>5</sub>), 30.4, 29.8 (C<sub>3</sub>), 28.3 (3C<sub>8</sub>), 25.1, 24.9 (C<sub>2</sub>)

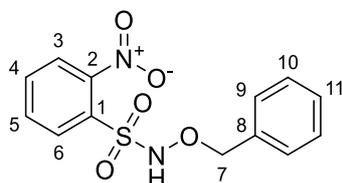
**HRMS** calculated for C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 260.1498 ; found: 260.1488

**[α]<sub>D</sub>** : - 17.7° (13 mg/mL, MeOH)

*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>216</sup>

<sup>216</sup> L. Le Corre, J.-C. Kizirian, C. Levraud, J.-L. Boucher, V. Bonnet, H. Dhimane, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 3388-3398

## ***N*-(benzyloxy)-2-nitrobenzenesulfonamide (4)**



Chemical formula: C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

Molecular weight: 308.31 g.mol<sup>-1</sup>

*Ortho*-Nitrobenzenesulfonyl chloride (5.05 g, 22.7 mmol) was added at 0°C to a solution of *O*-benzyl-hydroxylamine hydrochloride (4 g, 25 mmol) in pyridine (15 mL) and the reaction mixture was stirred at room for 16h. DCM and water were added and the phases were separated. The organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated in vacuum. The crude product was purified by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (8/2) as eluent to afford compound **4** (5.80 g, 75%) as a yellow solid.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.26-8.24 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 8.11 (bs, 1H, NH), 7.89-7.87 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 7.80-7.78 (m, 2H, H<sub>4, 5</sub>), 7.38-7.35 (m, 5H, H<sub>9, 10, 11</sub>), 5.07 (s, 2H, H<sub>7</sub>)

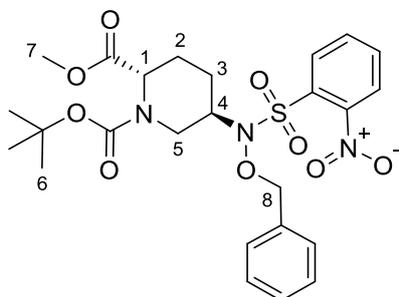
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 148.6 (C<sub>2</sub>), 135.0 (C<sub>8</sub>), 134.8 (C<sub>4 or 5</sub>), 133.8 (C<sub>6</sub>), 133.0 (C<sub>4 or 5</sub>), 130.5 (C<sub>1</sub>), 129.6 (2C<sub>9</sub>), 129.0 (C<sub>11</sub>), 128.7 (2C<sub>10</sub>), 125.6 (C<sub>3</sub>), 79.9 (C<sub>7</sub>)

*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>217</sup>

<sup>217</sup> P. A. Reddy, O. F. Schall, J. R. Wheatley, L. O. Rosik, J. P. McClurg, G. R. Marshall, U. Slomczynska, *Synthesis* **2001**, 7, 1086-1092

**(2*S*,5*R*) 1-*tert*-butyl 2-methyl 5-((*N*-(benzyloxy)-4-nitrophenyl)sulfonamido)piperidine-1,2-dicarboxylate (**5**)**

---



Chemical formula: C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>S

Molecular weight: 549.60 g.mol<sup>-1</sup>

Triphenylphosphine (3 g, 11.6 mmol) and *N*-(benzyloxy)-4-nitrobenzenesulfonamide **4** (2 g, 6.3 mmol) were added to a solution of **3** (1.5 g, 5.8 mmol) in THF (50 mL). DEAD (2.1 mL, 11.6 mmol) was added dropwise and the reaction mixture stirred for 24h at room temperature and concentrated in vacuum. The crude product was purified by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (8/2) as eluent to give compound **5** (2.67 g, 83%) as a colorless oil.

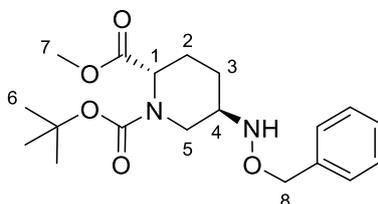
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.01 (dd, *J* = 8.0, 1.2 Hz, 1H, H<sub>Ns</sub>), 7.73 (td, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H, H<sub>Ns</sub>), 7.59 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, H<sub>Ns</sub>), 7.53 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H<sub>Ns</sub>), 7.41-7.35 (m, 5H, H<sub>Bn</sub>), 5.06-5.02 (m, 2H, H<sub>8</sub>), 4.72-4.67 (m, 1H), 4.23-3.86 (m, 2H), 3.71 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.56-3.01 (m, 1H), 2.30-2.04 (m, 1H, H<sub>2 or 3</sub>), 1.96-1.79 (m, 2H, H<sub>2 or 3</sub>), 1.66-1.51 (m, 1H, H<sub>2 or 3</sub>), 1.39 (s, 9H, H<sub>6</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: 550.1859 ; found: 550.1850

**[α]<sub>D</sub>** : - 9.8° (6.0 mg/mL, MeOH)

**(2*S*,5*R*) 1-*tert*-butyl 2-methyl 5-((benzyloxy)amino)piperidine-1,2-dicarboxylate (6)**

---



Chemical formula: C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

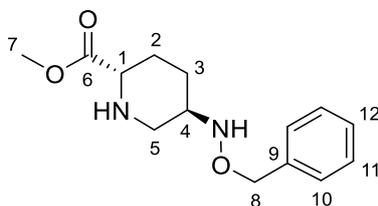
Molecular weight: 364.44 g.mol<sup>-1</sup>

Thiophenol (1.03 mL, 10.0 mmol) and K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.8 g, 20.1 mmol) were added to a solution of **5** (3.7 g, 6.7 mmol) in MeCN (80 mL) and the reaction mixture was stirred at room temperature for 16h. EtOAc was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, and concentrated in vacuum. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (7/3) as the eluent gave compound **6** (2.4 g, 98%) as a colorless oil.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.35-7.26 (m, 5H, H<sub>Bn</sub>), 5.48-5.42 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 4.76-4.68 (m, 2H, H<sub>8</sub>), 4.19-4.16 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 3.73 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.16-3.11 (m, 2H, H<sub>4,5</sub>), 1.98-1.92 (m, 2H, H<sub>2 or 3</sub>), 1.70-1.66 (m, 2H, H<sub>2 or 3</sub>), 1.45 (s, 9H, H<sub>6</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 365.2076; found: 365.2062

## (2*S*,5*R*) 2-methyl 5-((benzyloxy)amino)piperidine-2-carboxylate (**7**)



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 264.33 g.mol<sup>-1</sup>

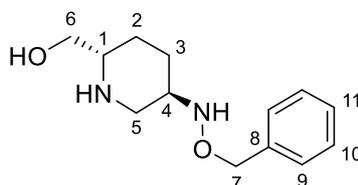
Trifluoroacetic acid (5 mL, 60 mmol) was added at 0°C to a solution of **6** (2.4 g, 6.6 mmol) in DCM (70 mL). The reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for 16h. The resulting solution was quenched with a saturated solution of NaHCO<sub>3</sub>, filtered through a pad of Celite® and concentrated under vacuum. The crude product was purified by flash chromatography using DCM/MeOH (96/4) as eluent to give compound **7** (1.7 g, 97%) as a colorless oil.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.36-7.30 (m, 5H, H<sub>10</sub>, H<sub>11</sub>, H<sub>12</sub>), 4.66 (s, 2H, H<sub>8</sub>), 3.72 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.48-3.39 (m, 2H, H<sub>1</sub>, H<sub>5</sub>), 3.13-3.06 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.59-2.52 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 2.16-2.10 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.99-1.91 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.69-1.61 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.40-1.33 (m, 1H, H<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 172.5 (C<sub>6</sub>), 137.7 (C<sub>9</sub>), 128.5 (4C, 2C<sub>10</sub> and 2C<sub>11</sub>), 128.0 (C<sub>12</sub>), 76.9 (C<sub>8</sub>), 58.0 (C<sub>1</sub>), 56.2 (C<sub>4</sub>), 52.4 (C<sub>7</sub>), 48.6 (C<sub>5</sub>), 27.6 (C<sub>3</sub>), 27.1 (C<sub>2</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 265.1552 ; found: 265.1552

## **((2*S*,5*R*)-5-((benzyloxy)amino)piperidin-2-yl)methanol (**8**)**



Chemical formula: C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Molecular weight: 236.32 g.mol<sup>-1</sup>

**Route A:** A solution of **7** (300 mg, 1.1 mmol) in THF (20 mL) was added to a solution of lithium aluminum hydride (2.2 mL, 2.2 mmol, 1M in THF) in anhydrous THF (20 mL) at 0°C. The solution was stirred for 1.5h at 0°C, then quenched with Rochelle's salts. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite® and concentrated under vacuum. The crude residue was purified by chromatography with DCM/MeOH/NH<sub>4</sub>OH (8/2/0.5) as the eluent, yielding compound **8** (121 mg, 51%) as a colorless oil.

**Route B:** A solution of **35** (1,0 g, 2.9 mmol) in THF (43 mL) was added to a solution of lithium aluminum hydride (5.9 mL, 5.9 mmol, 1M in THF) in anhydrous THF (43 mL) at -78°C. The solution was stirred for 2h at -78°C, then quenched with Rochelle's salts. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite® and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by chromatography using DCM/MeOH (8/2) as the eluent, yielding compound **8** (319 mg, 46%) as a brown oil.

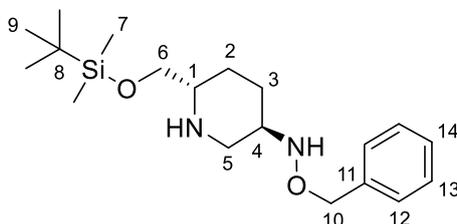
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.34-7.33 (m, 5H, H<sub>9, 10, 11</sub>), 4.67 (s, 2H, H<sub>7</sub>), 3.62-3.59 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 3.43-3.36 (m, 2H, H<sub>5, 6</sub>), 3.03-2.98 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.84 (bs, 1H, OH), 2.66-2.60 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 2.44-2.39 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 1.92-1.87 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.67-1.62 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.29-1.17 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 137.9 (C<sub>8</sub>), 128.5 (4C, 2C<sub>9</sub> and 2C<sub>10</sub>), 128.0 (C<sub>11</sub>), 76.9 (C<sub>7</sub>), 66.0 (C<sub>6</sub>), 57.9 (C<sub>1 or 4</sub>), 57.8 (C<sub>1 or 4</sub>), 50.1 (C<sub>5</sub>), 28.1 (C<sub>3</sub>), 27.1 (C<sub>2</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 237.1603 ; found: 237.1599

**[α]<sub>D</sub>** : + 9.0° (2.2 mg/mL, MeOH)

**O-benzyl-N-((3*R*,6*S*)-6-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)piperidin-3-yl)hydroxylamine (9)**



Chemical formula: C<sub>19</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Si

Molecular weight: 350.58 g.mol<sup>-1</sup>

Imidazole (48 mg, 0.68 mmol) and TBDMSCl (107 mg, 0.68 mmol) were successively added at 0°C to a solution of **8** (42 mg, 0.17 mmol) in DMF (1 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 16h then evaporated under vacuum. The crude residue was purified by chromatography with cyclohexane/ethyl acetate (1/9) as the eluent, yielding compound **9** (49 mg, 79%) as a colorless oil.

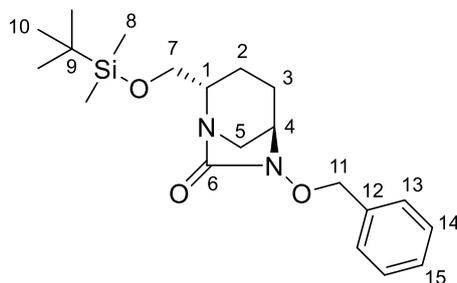
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.33-7.31 (m, 5H, H<sub>12, 13, 14</sub>), 4.66 (s, 2H, H<sub>10</sub>), 3.58-3.54 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 3.43-3.35 (m, 2H, H<sub>5, 6</sub>), 3.03-2.98 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.57-2.53 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 2.41-2.35 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 1.90-1.87 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.60-1.56 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.19-1.16 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 0.89 (s, 9H, H<sub>9</sub>), 0.05 (s, 6H, H<sub>7</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 137.8 (C<sub>11</sub>), 128.5 (4C, 2C<sub>12</sub> and 2C<sub>13</sub>), 128.0 (C<sub>14</sub>), 78.1 (C<sub>10</sub>), 67.1 (C<sub>6</sub>), 58.1 (C<sub>1 or 4</sub>), 57.9 (C<sub>1 or 4</sub>), 50.4 (C<sub>5</sub>), 28.2 (C<sub>3</sub>), 27.1 (C<sub>2</sub>), 26.0 (3C<sub>9</sub>), 18.4 (C<sub>8</sub>), - 5.3 (2C<sub>7</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>35</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Si [M+H]<sup>+</sup>: 351.2467 ; found: 351.2453

**[α]<sub>D</sub>** : + 5.4° (4.7 mg/mL, MeOH)

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-2-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (10)**



Chemical formula: C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Si

Molecular weight: 376.57 g.mol<sup>-1</sup>

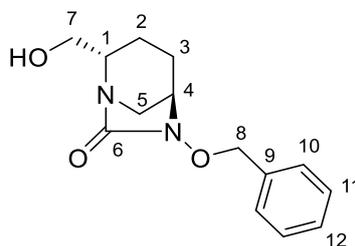
A solution of triphosgene (7 mg, 0.025 mmol) in MeCN (300 μL) was added at 0°C to a mixture of **9** (17 mg, 0.05 mmol) and DIPEA (42 μL, 0.25 mmol) in MeCN (2 mL). The reaction was stirred for 2h at 0°C. EtOAc was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, and concentrated in vacuum. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (8/2) as the eluent gave compound **10** (11 mg, 61%) as a colorless oil.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.43-7.41 (m, 2H, H<sub>13</sub>), 7.38-7.33 (m, 3H, H<sub>14, 15</sub>), 5.04 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 4.80 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 3.85-3.75 (m, 2H, H<sub>7</sub>), 3.40-3.38 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.28-3.26 (m, 2H, H<sub>4, 5</sub>), 2.90-2.87 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 2.03-1.97 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.96-1.89 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.72-1.60 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 0.87 (s, 9H, H<sub>10</sub>), 0.05 (2s, 6H, H<sub>8</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.4 (C<sub>6</sub>), 136.2 (C<sub>12</sub>), 129.3 (2C<sub>13</sub>), 128.7 (C<sub>15</sub>), 128.6 (2C<sub>14</sub>), 78.2 (C<sub>11</sub>), 66.1 (C<sub>7</sub>), 58.9 (C<sub>1 or 4</sub>), 58.4 (C<sub>1 or 4</sub>), 45.3 (C<sub>5</sub>), 26.0 (3C<sub>10</sub>), 20.8 (C<sub>3</sub>), 19.5 (C<sub>2</sub>), 18.3 (C<sub>9</sub>), - 5.4 (2C<sub>8</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>20</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Si [M+H]<sup>+</sup>: 377.5731 ; found: 377.2260

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-2-(hydroxymethyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (11)**



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 262.31 g.mol<sup>-1</sup>

TBAF (373  $\mu$ L, 1.36 mmol) was added at 0°C to a solution of **10** (342 mg, 0.90 mmol) in THF (20 mL). The reaction mixture was stirred for 1h at 0°C, warmed to room temperature and concentrated in vacuo. EtOAc was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, and concentrated in vacuum. The crude residue was purified by chromatography with DCM/MeOH (96/4) as the eluent, yielding compound **11** (235 mg, 98%) as a white foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.40-7.29 (m, 5H, H<sub>10</sub>, H<sub>11</sub>, H<sub>12</sub>), 5.00 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>8</sub>), 4.85 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>8</sub>), 3.69 (dd, *J* = 11.3, 9.4 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 3.57 (dd, *J* = 11.4, 5.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 3.52-3.47 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.33-3.31 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.99 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.87 (bd, *J* = 11.6 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 1.99-1.93 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.93-1.86 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.57-1.51 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.41-1.35 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

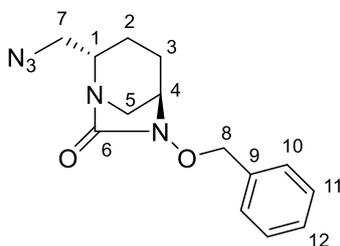
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.1 (C<sub>6</sub>), 136.1 (C<sub>9</sub>), 129.4 (2C<sub>10</sub>), 128.8 (C<sub>12</sub>), 128.7 (2C<sub>11</sub>), 78.4 (C<sub>8</sub>), 62.6 (C<sub>7</sub>), 58.8 (C<sub>1</sub>), 58.6 (C<sub>4</sub>), 43.5 (C<sub>5</sub>), 20.1 (C<sub>3</sub>), 19.4 (C<sub>2</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 263.1396 ; found: 263.1385

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>** : -54.5° (4.0 mg/mL, MeOH)

## (2*S*,5*R*)-2-(azidomethyl)-6-(benzyloxy)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (**12**)

---



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molecular weight: 287.32 g.mol<sup>-1</sup>

**Route A:** Methanesulfonyl chloride (5  $\mu$ L, 0.067 mmol), DMAP (1 mg, 0.0067 mmol) and NEt<sub>3</sub> (20  $\mu$ L, 0.135 mmol) were added at 0°C to a solution of **11** (12 mg, 0.045 mmol) in DCM (2 mL). The reaction was stirred for 1h at 0°C. After being warmed to room temperature, DCM was added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, and concentrated under reduced pressure. The crude product was then solubilized in DMF (1 mL) and sodium azide (11 mg, 0.160 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 16h at 80°C. EtOAc was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, and concentrated in vacuo. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (7/3) as the eluent gave compound **12** (7 mg, 57% over two steps) as a white solid.

**Route B:** Isobutyl chloroformate (6.26 mL, 47.1 mmol) was added dropwise at 0°C to a solution of (2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxylic acid (6.5 g, 23.5 mmol) and triethylamine (3.64 mL, 25.9 mmol) in THF (75 mL). The solution was stirred at 0°C for 2h and NaBH<sub>4</sub> (2.72 g, 70.6 mmol) was gradually added. The reaction mixture was stirred for an additional 3h at 0°C. H<sub>2</sub>O (110 mL) and EtOAc (110 mL) were slowly added and the heterogeneous mixture was stirred for 30 min at room temperature. The organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, and concentrated under reduced pressure to afford compound **11**, which was used in the next step without further purification. Triethylamine (9.94 mL, 70.6 mmol), DMAP (4.36 g, 35.3 mmol), and mesyl chloride (2.76 mL, 35.3 mmol) were added at 0°C to a solution of the crude product in DCM (71 mL). The reaction mixture was stirred at 0°C for 2h. DCM was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, and concentrated under vacuum. The crude product was then solubilized in DMF (95 mL) and sodium azide (7.69 g, 117 mmol) was added. The solution was stirred at 80°C for 16h. After being cooled down to room temperature, EtOAc was added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, and concentrated under reduced pressure. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (7/3) as the eluent gave compound **12** (2.4 g, 35% over four steps) as a white solid.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.43-7.33 (m, 5H, H<sub>10, 11, 12</sub>), 5.04 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>8</sub>), 4.89 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>8</sub>), 3.61-3.56 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.53 (dd, *J* = 12.5, 7.4 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 3.35-3.32 (m, 2H, H<sub>4, 7</sub>), 2.97 (s, 2H, H<sub>5</sub>), 2.06-2.02 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.01-1.95 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.63-1.55 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.54-1.49 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.7 (C<sub>6</sub>), 136.0 (C<sub>9</sub>), 129.3 (2C<sub>10</sub>), 128.8 (C<sub>12</sub>), 128.6 (2C<sub>11</sub>), 78.3 (C<sub>8</sub>), 58.6 (C<sub>4</sub>), 56.6 (C<sub>1</sub>), 53.3 (C<sub>7</sub>), 44.1 (C<sub>5</sub>), 20.5 (C<sub>2</sub>), 20.0 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 288.1461 ; found: 288.1452

**[α]<sub>D</sub>** : - 53.2° (7.8 mg/mL, MeOH)

**MP** : 88°C

## 2. DBOs 1,2,3-triazoles 1,4-disubstituted and non-substituted

### General procedure A Copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction

---

To a solution of azido-DBO **12** (1 equiv.) in THF, were successively added alkyne (2 equiv.), sodium ascorbate (0.6 equiv.) in water and CuSO<sub>4</sub> (0.3 equiv.) in water. The heterogeneous mixture was stirred at room temperature for 16h. EtOAc was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, and concentrated under reduced pressure before purification by flash chromatography.

### General procedure B Introduction of the sulfate group

---

1. 10 wt. % Pd/C (1 equiv.) was added to a solution of benzyl protected DBO (1 equiv.) in MeOH (0.02 M) and the reaction mixture was stirred under H<sub>2</sub> atmosphere for 48h at room temperature. Palladium was removed by filtration through Celite® and the filtrate concentrated.
2. A sulfur trioxide-pyridine complex (6 equiv.) was added to a solution of deprotected compound in pyridine (0.07 M) and the reaction mixture was stirred for 2h at room temperature. An additional amount of SO<sub>3</sub>-pyridine complex (2 equiv.) was added, stirred for 16h at room temperature, and pyridine was removed under reduced pressure.
3. DOWEX resin 50WX8 was preconditioned by stirring it for 1h in 2N sodium hydroxide solution, put in a column and washed with water until neutral pH. The crude product was solubilized in water, filtered, eluted on DOWEX Na<sup>+</sup> resin with H<sub>2</sub>O, and lyophilized. The residue was dissolved in EtOH, filtered, and the filtrate was concentrated under vacuum before HPLC purification.

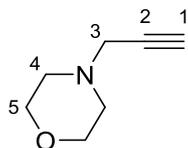
### General procedure C Boc deprotection

---

TFA (12 equiv.) was added dropwise at 0°C to a solution of Boc protected DBO (1 equiv.) in DCM (0.1 M). The reaction mixture was stirred at 0°C for 1h and concentrated under vacuum before HPLC purification.

## ***N***-propargylmorpholine (**13f**)

---



Chemical formula: C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>NO

Molecular weight: 125.17 g.mol<sup>-1</sup>

Morpholine (437  $\mu$ L, 5 mmol) was added at 0°C to a solution of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.38g, 10 mmol) in DMF (40 mL). A solution of propargyl bromide 80 wt. % in toluene (535  $\mu$ L, 6 mmol) was added dropwise and the reaction mixture stirred for 30 min at 0°C and then at room temperature for 16h. EtOAc was then added and the organic layer was washed with 3 x H<sub>2</sub>O, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography using DCM/MeOH (96/4) as the eluent gave the compound **13f** (230 mg, 37%) as an orange liquid.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3.75 (t,  $J$  = 4.7 Hz, 4H, H<sub>5</sub>), 3.30 (d,  $J$  = 2.5 Hz, 2H, H<sub>3</sub>), 2.57 (t,  $J$  = 4.7 Hz, 4H, H<sub>4</sub>), 2.29 (t,  $J$  = 2.5 Hz, 1H, H<sub>1</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  78.6 (C<sub>2</sub>), 73.5 (C<sub>1</sub>), 67.0 (2C, C<sub>5</sub>), 52.3 (2C, C<sub>4</sub>), 47.3 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>: 126.0919 ; found: 126.0918

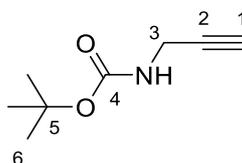
*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>218</sup>

---

<sup>218</sup> G. Acquah-Harrison, S. Zhou, J. V. Hines, S. C. Bergmeier, *J. Comb. Chem.* **2010**, *12*, 491-496

## **N-Boc-propargylamine (13h)**

---



Chemical formula: C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>

Molecular weight: 155.20 g.mol<sup>-1</sup>

Boc<sub>2</sub>O (3.4 g, 15.6 mmol) and DMAP (94 mg, 0.78 mmol) were added at 0°C to a solution of propargylamine (1 mL, 15.6 mmol) in DCM (60 mL) and the reaction mixture was stirred at room temperature for 16h. DCM was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (95/5) as the eluent gave the compound **13h** (1.33 g, 55%) as a yellow solid.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.90 (bs, 1H, NH), 3.87 (bs, 2H, H<sub>3</sub>), 2.18 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 1.40 (s, 9H, H<sub>6</sub>)

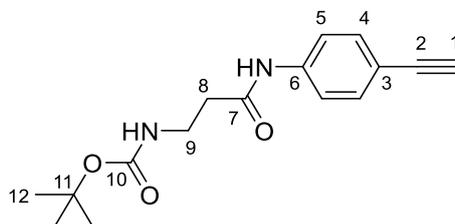
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 155.4 (C<sub>4</sub>), 80.2 (C<sub>2</sub>), 80.0 (C<sub>5</sub>), 71.3 (C<sub>1</sub>), 30.4 (C<sub>3</sub>), 28.4 (3C<sub>6</sub>)

*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>219</sup>

---

<sup>219</sup> G. A. Molander, F. Cadoret, *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 2199-2202

### **tert-butyl (3-((4-ethynylphenyl)amino)-3-oxopropyl)carbamate (13j)**



Chemical formula: C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 288.35 g.mol<sup>-1</sup>

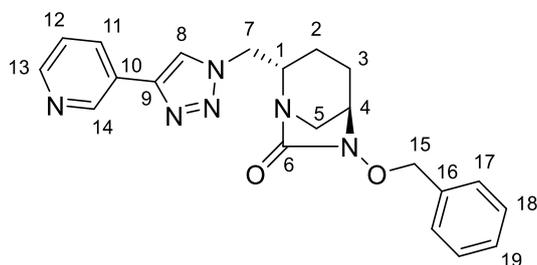
4-ethynylalanine (150 mg, 1.28 mmol) and HOBt (208 mg, 1.54 mmol) were added to a solution of Boc-β-Ala-OH (242 mg, 1.28 mmol) in DCM (11 mL). The reaction mixture has been cooled at 0°C and EDCI.HCl (368 mg, 1.92 mmol) was added in portions, then stirred for 48h at room temperature. DCM was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (5/5) as the eluent gave the compound **13j** (186 mg, 50%) as an orange solid.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.52 (bd, *J* = 8.1 Hz, 2H, H<sub>5</sub>), 7.41-7.38 (m, 2H, H<sub>4</sub>), 3.47-3.43 (m, 2H, H<sub>9</sub>), 3.03 (s, 1H, H<sub>1</sub>), 2.57 (bs, 2H, H<sub>8</sub>), 1.40 (s, 9H, H<sub>12</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.1 (C<sub>7</sub>), 156.6 (C<sub>10</sub>), 138.7 (C<sub>6</sub>), 132.9 (2C<sub>4</sub>), 119.5 (2C<sub>5</sub>), 117.6 (C<sub>3</sub>), 83.5 (C<sub>2</sub>), 79.9 (C<sub>11</sub>), 76.9 (C<sub>1</sub>), 37.7 (C<sub>8</sub>), 36.5 (C<sub>9</sub>), 28.5 (3C<sub>12</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 289.1552 ; found: 289.1564

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-2-((4-(pyridin-3-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (**14a**)**



Chemical formula: C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>

Molecular weight: 390.45 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure A** for CuAAC, starting from azido-DBO **12** (200 mg, 0.70 mmol) and 3-ethynylpyridine (144 mg, 1.39 mmol) in THF (12 mL) and water (4 mL), and using DCM/MeOH (96/4) as eluent for flash chromatography purification, compound **14a** (234 mg, 86%) was obtained as a colorless oil.

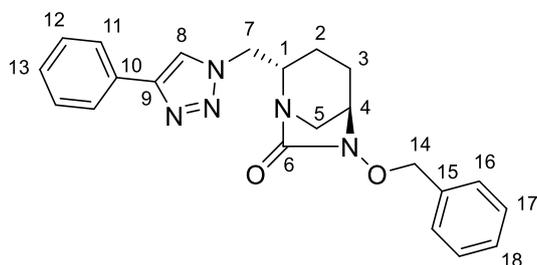
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.01 (bs, 1H, H<sub>14</sub>), 8.57 (bd, *J* = 3.8 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 8.17 (dt, *J* = 7.9, 2.0 Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 8.05 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.42-7.33 (m, 6H, H<sub>12, 17, 18, 19</sub>), 5.02 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>15</sub>), 4.88 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>15</sub>), 4.62 (dd, *J* = 14.3, 8.3 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.56 (dd, *J* = 14.3, 6.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 3.92-3.87 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.38-3.36 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.99-2.92 (m, 2H, H<sub>5</sub>), 2.12-2.07 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.06-1.99 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.73-1.67 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.65-1.59 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.4 (C<sub>6</sub>), 149.4 (C<sub>13</sub>), 147.3 (C<sub>14</sub>), 145.3 (C<sub>9</sub>), 135.8 (C<sub>16</sub>), 133.2 (C<sub>11</sub>), 129.4 (2C<sub>17</sub>), 128.9 (C<sub>19</sub>), 128.7 (2C<sub>18</sub>), 126.8 (C<sub>10</sub>), 123.9 (C<sub>12</sub>), 120.5 (C<sub>8</sub>), 78.4 (C<sub>15</sub>), 58.4 (C<sub>4</sub>), 56.7 (C<sub>1</sub>), 52.1 (C<sub>7</sub>), 43.8 (C<sub>5</sub>), 20.5 (C<sub>2</sub>), 19.8 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 391.1883 ; found: 391.1889

**[α]<sub>D</sub>** : - 17.9° (8.0 mg/mL, MeOH)

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-2-((4-phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (14b)**



Chemical formula: C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molecular weight: 389.46 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure A** for CuAAC, starting from azido-DBO **12** (200 mg, 0.70 mmol) and phenylacetylene (154  $\mu$ l, 1.40 mmol) in THF (12 mL) and water (4 mL), and using cyclohexane/ethyl acetate (4/6) as eluent for flash chromatography purification, compound **14b** (232 mg, 85%) was obtained as a colorless oil.

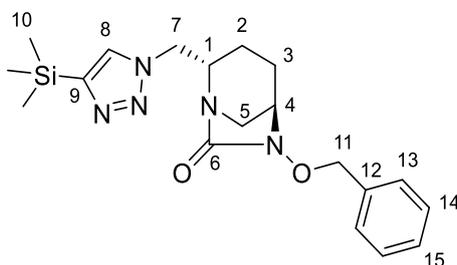
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.97 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.83 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 7.43-7.32 (m, 8H, H<sub>12</sub>, 13, 16, 17, 18), 5.03 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 4.88 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 4.63-4.54 (m, 2H, H<sub>7</sub>), 3.91-3.86 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.36-3.35 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.97-2.90 (m, 2H, H<sub>5</sub>), 2.10-2.06 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.03-1.96 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.72-1.68 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.66-1.60 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  169.3 (C<sub>6</sub>), 148.2 (C<sub>9</sub>), 135.8 (C<sub>15</sub>), 130.3 (C<sub>10</sub>), 129.4 (2C<sub>16</sub>), 129.0 (2C<sub>12</sub>), 128.9 (C<sub>18</sub>), 128.7 (2C<sub>17</sub>), 128.5 (C<sub>13</sub>), 126.0 (2C<sub>11</sub>), 120.3 (C<sub>8</sub>), 78.4 (C<sub>14</sub>), 58.4 (C<sub>4</sub>), 56.7 (C<sub>1</sub>), 52.2 (C<sub>7</sub>), 43.9 (C<sub>5</sub>), 20.4 (C<sub>2</sub>), 19.8 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 390.1930 ; found: 390.1917

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>** : - 44.5° (5.2 mg/mL, DMSO)

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-2-((4-(trimethylsilyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (**14c**)**



Chemical formula: C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>Si

Molecular weight: 385.54 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure A** for CuAAC, starting from azido-DBO **12** (200 mg, 0.70 mmol) and ethynyltrimethylsilane (388  $\mu$ l, 2.80 mmol) in THF (12 mL) and water (4 mL), and using cyclohexane/ethyl acetate (3/7) as eluent for flash chromatography purification, compound **14c** (82 mg, 30%) was obtained as a colorless oil.

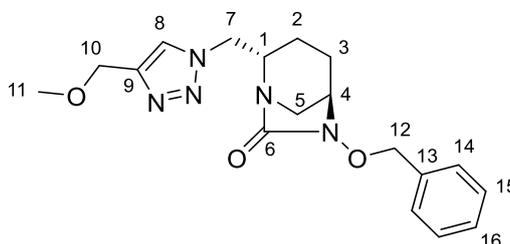
**<sup>1</sup>H NMR** (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.64 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.42-7.32 (m, 5H, H<sub>13</sub>, 14, 15), 5.01 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 4.86 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 4.55 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, H<sub>7</sub>), 3.85-3.75 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.34-3.30 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.95-2.82 (m, 2H, H<sub>5</sub>), 2.09-1.97 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.96-1.85 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.72-1.62 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.62-1.50 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 0.30 (s, 9H, H<sub>10</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  169.6 (C<sub>6</sub>), 147.3 (C<sub>9</sub>), 135.9 (C<sub>12</sub>), 129.4 (3C, C<sub>8</sub> and 2C<sub>13</sub>), 128.9 (C<sub>15</sub>), 128.7 (2C<sub>14</sub>), 78.4 (C<sub>11</sub>), 58.5 (C<sub>4</sub>), 56.8 (C<sub>1</sub>), 51.5 (C<sub>7</sub>), 44.0 (C<sub>5</sub>), 20.3 (C<sub>2</sub>), 19.9 (C<sub>3</sub>), - 1.0 (3C<sub>10</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>Si [M+H]<sup>+</sup>: 386.2012 ; found: 386.2005

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>** : - 24.4° (5.6 mg/mL, MeOH)

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-2-((4-(methoxymethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (**14d**)**



Chemical formula: C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 357.41 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure A** for CuAAC, starting from azido-DBO **12** (200 mg, 0.70 mmol) and methyl propargyl ether (118 μL, 1.40 mmol) in THF (12 mL) and water (4 mL), and using DCM/MeOH (96/4) as eluent for flash chromatography purification, compound **14d** (215 mg, 86%) was obtained as a colorless oil.

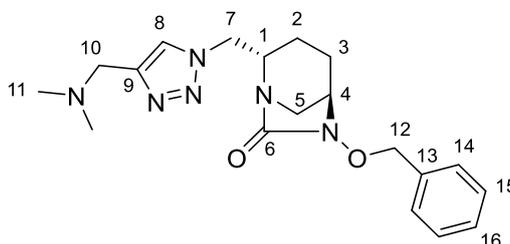
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.70 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.42-7.33 (m, 5H, H<sub>14</sub>, H<sub>15</sub>, H<sub>16</sub>), 5.02 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>12</sub>), 4.87 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>12</sub>), 4.57 (s, 2H, H<sub>10</sub>), 4.55-4.48 (m, 2H, H<sub>7</sub>), 3.84-3.79 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.40 (s, 3H, H<sub>11</sub>), 3.35-3.33 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.93 (bd, *J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.88 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.09-2.03 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.00-1.93 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.70-1.63 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.60-1.54 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.4 (C<sub>6</sub>), 145.8 (C<sub>9</sub>), 135.9 (C<sub>13</sub>), 129.4 (2C<sub>14</sub>), 128.9 (C<sub>16</sub>), 128.7 (2C<sub>15</sub>), 123.0 (C<sub>8</sub>), 78.4 (C<sub>12</sub>), 66.1 (C<sub>10</sub>), 58.5 (C<sub>11</sub>), 58.4 (C<sub>4</sub>), 56.7 (C<sub>1</sub>), 52.0 (C<sub>7</sub>), 43.9 (C<sub>5</sub>), 20.4 (C<sub>2</sub>), 19.8 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 358.1879 ; found: 358.1877

**[α]<sub>D</sub>** : - 27.7° (6.6 mg/mL, MeOH)

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-2-((4-((dimethylamino)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (14e)**



Chemical formula: C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>

Molecular weight: 370.46 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure A** for CuAAC, starting from azido-DBO **12** (150 mg, 0.52 mmol) and 3-dimethylamino-1-propyne (112  $\mu$ l, 1.04 mmol) in THF (9 mL) and water (3 mL), and using DCM/MeOH (9/1) + 1% NH<sub>4</sub>OH as eluent for flash chromatography purification, compound **14e** (169 mg, 87%) was obtained as a pale yellow oil.

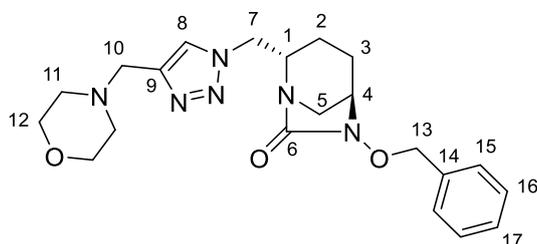
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.65 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.38-7.28 (m, 5H, H<sub>14</sub>, H<sub>15</sub>, H<sub>16</sub>), 4.97 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H, H<sub>12</sub>), 4.83 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H, H<sub>12</sub>), 4.54-4.44 (m, 2H, H<sub>7</sub>), 3.79-3.74 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.56 (s, 2H, H<sub>10</sub>), 3.36-3.34 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.95-2.87 (m, 2H, H<sub>5</sub>), 2.22 (s, 6H, H<sub>11</sub>), 2.03-1.97 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.95-1.87 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.68-1.62 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.55-1.49 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  169.4 (C<sub>6</sub>), 143.3 (C<sub>9</sub>), 135.9 (C<sub>13</sub>), 129.4 (2C<sub>14</sub>), 128.9 (C<sub>16</sub>), 128.7 (2C<sub>15</sub>), 124.2 (C<sub>8</sub>), 78.4 (C<sub>12</sub>), 58.4 (C<sub>4</sub>), 56.9 (C<sub>1</sub>), 53.9 (C<sub>10</sub>), 52.0 (C<sub>7</sub>), 44.5 (2C<sub>11</sub>), 43.7 (C<sub>5</sub>), 20.4 (C<sub>2</sub>), 19.8 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 371.2196 ; found: 371.2190

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>** : - 24.7° (7.5 mg/mL, MeOH)

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-2-((4-(morpholinomethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (**14f**)**



Chemical formula: C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 412.49 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure A** for CuAAC, starting from azido-DBO **12** (80 mg, 0.28 mmol) and N-propargylmorpholine **13f** (70 mg, 0.56 mmol) in THF (4.8 mL) and water (1.6 mL), and using DCM/MeOH (96/4) as eluent for flash chromatography purification, compound **14f** (104 mg, 90%) was obtained as a colorless oil.

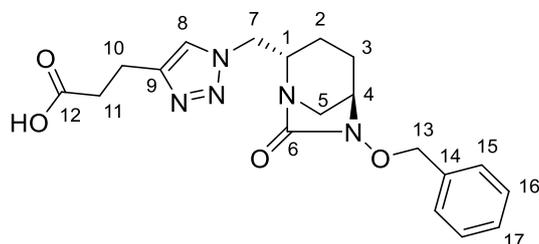
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.61 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.37-7.28 (m, 5H, H<sub>15,16,17</sub>), 4.96 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.83 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.49 (dd, *J* = 14.2, 8.1 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.44 (dd, *J* = 14.2, 6.9 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 3.78-3.73 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.64 (t, *J* = 4.7 Hz, 4H, H<sub>12</sub>), 3.60 (s, 2H, H<sub>10</sub>), 3.33 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 2.88 (s, 2H, H<sub>5</sub>), 2.45 (t, *J* = 4.7 Hz, 4H, H<sub>11</sub>), 2.03-1.98 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.95-1.87 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.66-1.60 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.54-1.48 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.3 (C<sub>6</sub>), 144.5 (C<sub>9</sub>), 135.7 (C<sub>14</sub>), 129.2 (2C<sub>15</sub>), 128.7 (C<sub>17</sub>), 128.5 (2C<sub>16</sub>), 123.0 (C<sub>8</sub>), 78.2 (C<sub>13</sub>), 66.8 (2C<sub>12</sub>), 58.2 (C<sub>4</sub>), 56.7 (C<sub>1</sub>), 53.6 (C<sub>10</sub>), 53.4 (2C<sub>11</sub>), 51.7 (C<sub>7</sub>), 43.7 (C<sub>5</sub>), 20.3 (C<sub>2</sub>), 19.6 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 413.2296 ; found: 413.2275

**[α]<sub>D</sub>** : - 17.3° (4.4 mg/mL, MeOH)

**3-(1-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)propanoic acid (**14g**)**



Chemical formula: C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>

Molecular weight: 385.42 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure A** for CuAAC, starting from azido-DBO **12** (200 mg, 0.70 mmol) and 4-pentynoic acid (137 mg, 1.40 mmol) in THF (12 mL) and water (4 mL), and using DCM/MeOH (9/1) as eluent for flash chromatography purification, compound **14g** (202 mg, 75%) was obtained as a pale yellow foam.

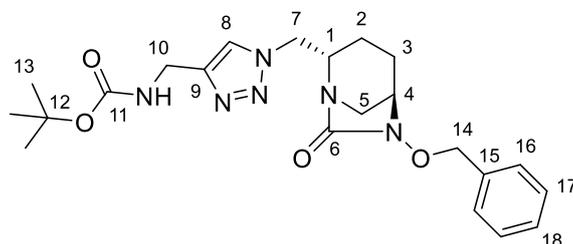
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.57 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.41-7.33 (m, 5H, H<sub>15, 16, 17</sub>), 5.01 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.87 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.53-4.44 (m, 2H, H<sub>7</sub>), 3.82-3.77 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.35 (bd, *J* = 2.8 Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 3.03 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 2.95-2.88 (m, 2H, H<sub>5</sub>), 2.75 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 2.07-2.01 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.98-1.90 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.69-1.63 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.58-1.52 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 175.8 (C<sub>12</sub>), 169.5 (C<sub>6</sub>), 146.8 (C<sub>9</sub>), 135.8 (C<sub>14</sub>), 129.4 (2C<sub>15</sub>), 128.9 (C<sub>17</sub>), 128.7 (2C<sub>16</sub>), 122.0 (C<sub>8</sub>), 78.4 (C<sub>13</sub>), 58.4 (C<sub>4</sub>), 56.7 (C<sub>1</sub>), 51.9 (C<sub>7</sub>), 43.9 (C<sub>5</sub>), 33.5 (C<sub>11</sub>), 21.0 (C<sub>10</sub>), 20.3 (C<sub>2</sub>), 19.8 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 386.1828 ; found: 386.1823

**[α]<sub>D</sub>** : - 23.8° (7.9 mg/mL, MeOH)

***tert*-butyl ((1-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate (**14h**)**



Chemical formula: C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>

Molecular weight: 442.52 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure A** for CuAAC, starting from azido-DBO **12** (200 mg, 0.70 mmol) and N-Boc-propargylamine **13h** (217 mg, 1.40 mmol) in THF (12 mL) and water (4 mL), and using cyclohexane/ethyl acetate (1/9) as eluent for flash chromatography purification, compound **14h** (289 mg, 93%) was obtained as a colorless oil.

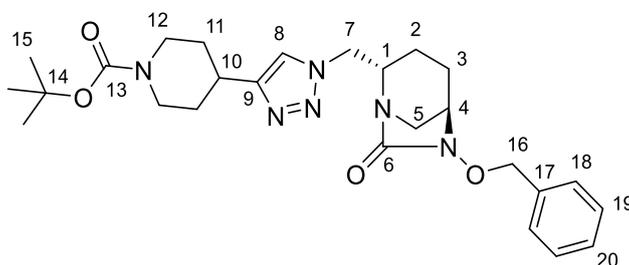
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.62 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.39-7.30 (m, 5H, H<sub>16, 17, 18</sub>), 4.98 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 4.84 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 4.51 (dd, *J* = 14.2, 8.1 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.44 (dd, *J* = 14.2, 6.9 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.34 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 3.79-3.74 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.33 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 2.89 (s, 2H, H<sub>5</sub>), 2.05-1.99 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.97-1.89 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.67-1.60 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.54-1.48 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.41 (s, 9H, H<sub>13</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.3 (C<sub>6</sub>), 155.9 (C<sub>11</sub>), 145.9 (C<sub>9</sub>), 135.8 (C<sub>15</sub>), 129.3 (2C<sub>16</sub>), 128.8 (C<sub>18</sub>), 128.6 (2C<sub>17</sub>), 122.3 (C<sub>8</sub>), 79.7 (C<sub>12</sub>), 78.2 (C<sub>14</sub>), 58.3 (C<sub>4</sub>), 56.7 (C<sub>1</sub>), 51.7 (C<sub>7</sub>), 43.8 (C<sub>5</sub>), 36.3 (C<sub>10</sub>), 28.4 (3C<sub>13</sub>), 20.3 (C<sub>2</sub>), 19.7 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 443.2407 ; found: 443.2394

**[α]<sub>D</sub>** : - 20.5° (5.4 mg/mL, MeOH)

***tert*-butyl 4-(1-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)piperidine-1-carboxylate (**14i**)**



Chemical formula: C<sub>26</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>

Molecular weight: 496.61 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure A** for CuAAC, starting from azido-DBO **12** (200 mg, 0.70 mmol) and 1-boc-4-ethynylpiperidine (293 mg, 1.40 mmol) in THF (12 mL) and water (4 mL), and using DCM/MeOH (96/4) as eluent for flash chromatography purification, compound **14i** (336 mg, 97%) was obtained as a colorless oil.

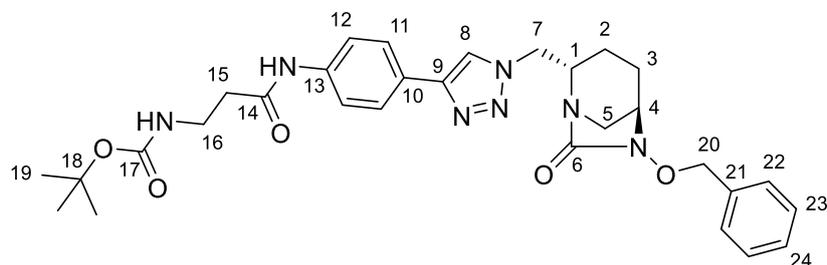
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.37-7.27 (m, 5H, H<sub>18, 19, 20</sub>), 4.96 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>16</sub>), 4.82 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>16</sub>), 4.49 (bs, 2H, H<sub>7</sub>), 4.10 (bs, 2H, H<sub>12</sub>), 3.76 (bs, 1H, H<sub>1</sub>), 3.32 (s, 1H, H<sub>4</sub>), 2.88 (bs, 5H, H<sub>5, 10, 12</sub>), 2.01-1.98 (m, 3H, H<sub>3, 11</sub>), 1.94-1.87 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.68-1.62 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.57-1.51 (m, 3H, H<sub>2, 11</sub>), 1.42 (s, 9H, H<sub>15</sub>). *H<sub>8</sub> not visible on the <sup>1</sup>H NMR spectrum.*

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.2 (C<sub>6</sub>), 154.7 (C<sub>13</sub>), 135.7 (C<sub>17</sub>), 129.1 (2C<sub>18</sub>), 128.7 (C<sub>20</sub>), 128.5 (2C<sub>19</sub>), 79.4 (C<sub>14</sub>), 78.1 (C<sub>16</sub>), 58.3 (C<sub>4</sub>), 56.5 (C<sub>1</sub>), 52.1 (C<sub>7</sub>), 43.6 (3C, C<sub>5</sub> and 2C<sub>12</sub>), 33.6 (C<sub>10</sub>), 31.4 (2C<sub>11</sub>), 28.4 (3C<sub>15</sub>), 20.4 (C<sub>2</sub>), 19.6 (C<sub>3</sub>). *C<sub>8</sub> and C<sub>9</sub> not visible on the <sup>13</sup>C NMR spectrum.*

**HRMS** calculated for C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 497.2876 ; found: 497.2872

**[α]<sub>D</sub>** : - 6.3° (6.3 mg/mL, MeOH)

***tert*-butyl (3-((4-(1-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)phenyl)amino)-3-oxopropyl)carbamate (**14j**)**



Chemical formula: C<sub>30</sub>H<sub>37</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub>

Molecular weight: 575.67 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure A** for CuAAC, starting from azido-DBO **12** (90 mg, 0.31 mmol) and alkyne **13j** (181 mg, 0.63 mmol) in THF (5.4 mL) and water (1.8 mL), and using DCM/MeOH (96/4) as eluent for flash chromatography purification, compound **14j** (163 mg, 91%) was obtained as a pale yellow foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.35 (bd, *J* = 12.5 Hz, 1H, NH), 7.85 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.68 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 7.57 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H<sub>12</sub>), 7.40-7.31 (m, 5H, H<sub>22, 23, 24</sub>), 5.31 (bs, 1H, NH), 5.00 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>20</sub>), 4.86 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>20</sub>), 4.56 (dd, *J* = 14.2, 8.0 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.50 (dd, *J* = 14.3, 6.9 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 3.86-3.81 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.49-3.45 (m, 2H, H<sub>16</sub>), 3.35 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 2.94 (s, 2H, H<sub>5</sub>), 2.60 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H, H<sub>15</sub>), 2.07-2.02 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.00-1.92 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.71-1.64 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.60-1.54 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.42 (s, 9H, H<sub>19</sub>)

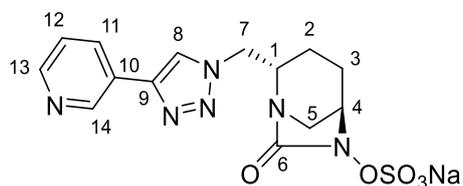
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.1 (C<sub>14</sub>), 169.5 (C<sub>6</sub>), 156.5 (C<sub>17</sub>), 147.8 (C<sub>9</sub>), 138.2 (C<sub>10</sub>), 135.7 (C<sub>21</sub>), 129.3 (2C<sub>22</sub>), 128.9 (C<sub>24</sub>), 128.7 (2C<sub>23</sub>), 126.4 (3C, 2C<sub>11</sub> and C<sub>13</sub>), 120.2 (2C<sub>12</sub>), 119.9 (C<sub>8</sub>), 79.7 (C<sub>18</sub>), 78.3 (C<sub>20</sub>), 58.4 (C<sub>4</sub>), 56.7 (C<sub>1</sub>), 51.9 (C<sub>7</sub>), 43.9 (C<sub>5</sub>), 37.6 (C<sub>15</sub>), 36.6 (C<sub>16</sub>), 28.5 (3C<sub>19</sub>), 20.3 (C<sub>2</sub>), 19.8 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 576.2934 ; found: 576.2958

**[α]<sub>D</sub>** : - 13.5° (4.0 mg/mL, MeOH)

**sodium (2*S*,5*R*)-7-oxo-2-((4-(pyridin-3-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (15a)**

---



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>5</sub>S

Molecular weight: 402.36 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, compound **15a** (18 mg, 21%) was obtained as a white powder after HPLC purification, starting from compound **14a** (83 mg, 0.21 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.81 (bs, 1H, H<sub>14</sub>), 8.50 (bd, *J* = 4.8 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 8.44 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 8.12 (bd, *J* = 8.0 Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 7.52 (dd, *J* = 7.9, 5.0 Hz, 1H, H<sub>12</sub>), 4.97 (dd, *J* = 14.8, 10.6 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.71 (dd, *J* = 14.8, 5.6 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.31-4.29 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 4.01-3.96 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.56 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.24 (bd, *J* = 12.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.18-2.12 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.09-1.99 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.81-1.74 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.2 (C<sub>6</sub>), 148.3 (C<sub>13</sub>), 145.5 (C<sub>14</sub>), 144.3 (C<sub>9</sub>), 134.1 (C<sub>11</sub>), 126.1 (C<sub>10</sub>), 124.5 (C<sub>12</sub>), 122.8 (C<sub>8</sub>), 60.1 (C<sub>4</sub>), 57.9 (C<sub>1</sub>), 50.8 (C<sub>7</sub>), 43.6 (C<sub>5</sub>), 19.8 (C<sub>2</sub>), 18.8 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 379.0825 ; found: 379.0839

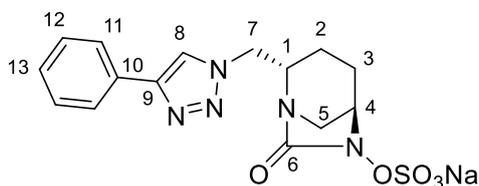
**[α]<sub>D</sub>** : - 44.6° (9.1 mg/mL, MeOH)

**HPLC purity** : 98.7%

**HPLC retention time** : 9.4 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 220 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-7-oxo-2-((4-phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo [3.2.1]octan-6-yl sulfate (15b)**

---



Chemical formula: C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub>S

Molecular weight: 401.37 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, compound **15b** (44 mg, 19%) was obtained as a white powder after HPLC purification, starting from compound **14b** (226 mg, 0.58 mmol). Benzyl deprotection was carried out in MeOH/DCM (1/1) solution.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.28 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.77 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 7.53 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, H<sub>12</sub>), 7.46 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.86 (dd, *J* = 14.8, 10.2 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.62 (dd, *J* = 14.7, 5.7 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.30-4.28 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.95-3.91 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.50 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.22 (bd, *J* = 12.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.15-2.09 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.04-1.95 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.77-1.68 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.1 (C<sub>6</sub>), 147.6 (C<sub>9</sub>), 129.4 (C<sub>10</sub>), 129.2 (2C<sub>12</sub>), 128.8 (C<sub>13</sub>), 125.6 (2C<sub>11</sub>), 122.3 (C<sub>8</sub>), 60.1 (C<sub>4</sub>), 57.8 (C<sub>1</sub>), 50.8 (C<sub>7</sub>), 43.6 (C<sub>5</sub>), 19.7 (C<sub>2</sub>), 18.8 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 378.0872 ; found: 378.0880

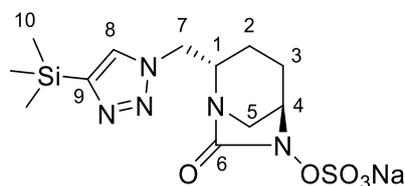
**[α]<sub>D</sub>** : - 36.7° (10.7 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 98.1%

**HPLC retention time** : 10.4 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, l = 220 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-7-oxo-2-((4-(trimethylsilyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (15c)**

---



Chemical formula: C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub>SSi

Molecular weight: 397.46 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, compound **15c** (12 mg, 14%) was obtained as a white powder after HPLC purification, starting from compound **14c** (82 mg, 0.21 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.15 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 4.95 (dd, *J* = 14.7, 10.0 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.72 (dd, *J* = 14.7, 5.9 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.29-4.28 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.97-3.92 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.50 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.23-3.20 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 2.17-2.09 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.05-1.96 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.76-1.69 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 0.35 (s, 9H, H<sub>10</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.2 (C<sub>6</sub>), 147.7 (C<sub>9</sub>), 131.4 (C<sub>8</sub>), 60.0 (C<sub>4</sub>), 57.9 (C<sub>1</sub>), 50.1 (C<sub>7</sub>), 43.6 (C<sub>5</sub>), 19.6 (C<sub>2</sub>), 18.8 (C<sub>3</sub>), - 2.3 (3C<sub>10</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>SSi [M-H]<sup>-</sup>: 374.0954 ; found: 374.0943

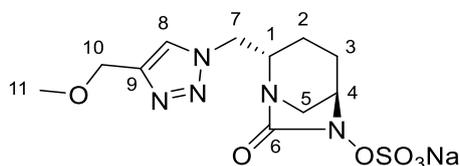
**[α]<sub>D</sub>** : - 52.0° (2.0 mg/mL, MeOH)

**HPLC purity** : 96.1%

**HPLC retention time** : 10.6 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, l = 220 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((4-(methoxymethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (15d)**

---



Chemical formula: C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>6</sub>S

Molecular weight: 369.33 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, compound **15d** (28 mg, 13%) was obtained as a colorless foam after HPLC purification, starting from compound **14d** (210 mg, 0.59 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.18 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 4.96 (dd, *J* = 14.8, 10.3 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.73 (dd, *J* = 14.8, 5.7 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.68 (s, 2H, H<sub>10</sub>), 4.32-4.30 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 4.00-3.95 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.55 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.45 (s, 3H, H<sub>11</sub>), 3.25 (bd, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.19-2.13 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.08-1.99 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.80-1.76 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

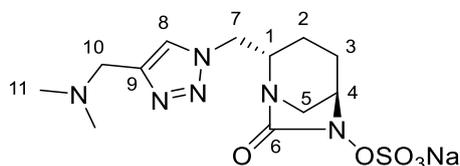
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.1 (C<sub>6</sub>), 144.0 (C<sub>9</sub>), 125.4 (C<sub>8</sub>), 64.4 (C<sub>10</sub>), 60.1 (C<sub>4</sub>), 57.9 (C<sub>1</sub>), 57.5 (C<sub>11</sub>), 50.7 (C<sub>7</sub>), 43.6 (C<sub>5</sub>), 19.7 (C<sub>2</sub>), 18.8 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 346.0821 ; found: 346.0819

**HPLC purity** : 98.3%

**HPLC retention time** : 13.5 min (Agilent Zorbax Extend C18, CH<sub>3</sub>CN + 0.1% TFA / H<sub>2</sub>O + 0.1% TFA 0:100 to 100:0 in 30 min, flow rate = 1 mL/min, λ = 214 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((4-((dimethylamino)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (15e)**



**Chemical formula:** C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>5</sub>S

**Molecular weight:** 382.37 g.mol<sup>-1</sup>

Starting from compound **14e** (173 mg, 0.47 mmol) and following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, product **15e** (32 mg, 18%) was obtained as a white powder in the form of a mixture of two isomers.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.50 (s, 0,5H, H<sub>8</sub>), 8.38 (s, 0,5H, H<sub>8</sub>), 5.03-4.96 (m, 1H, H<sub>7, 7'</sub>), 4.77-4.72 (m, 1H, H<sub>7, 7'</sub>), 4.71 (s, 1H, H<sub>10</sub>), 4.52 (s, 1H, H<sub>10'</sub>), 4.30 (bs, 1H, H<sub>4, 4'</sub>), 3.99-3.93 (m, 1H, H<sub>1, 1'</sub>), 3.57 (dd, *J* = 12.3, 7.8 Hz, 1H, H<sub>5, 5'</sub>), 3.23 (bd, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5, 5'</sub>), 3.19 (s, 3H, H<sub>11</sub>), 2.94 (s, 3H, H<sub>11</sub>), 2.15-2.10 (m, 1H, H<sub>3, 3'</sub>), 2.09-1.98 (m, 2H, H<sub>2, 3, 2', 3'</sub>), 1.83-1.77 (m, 1H, H<sub>2, 2'</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.1 (2C, C<sub>6</sub> and C<sub>6'</sub>), 136.7 (C<sub>9</sub>), 135.6 (C<sub>9</sub>), 129.1 (C<sub>8</sub>), 127.7 (C<sub>8</sub>), 60.1 (C<sub>10</sub>), 59.8 (2C, C<sub>4</sub> and C<sub>4'</sub>), 58.1 (C<sub>1 or 1'</sub>), 58.0 (C<sub>1 or 1'</sub>), 52.6 (2C<sub>11</sub>), 51.1 (C<sub>10'</sub>), 51.0 (C<sub>7 or 7'</sub>), 50.9 (C<sub>7 or 7'</sub>), 43.4 (2C, C<sub>5</sub> and C<sub>5'</sub>), 42.2 (2C<sub>11'</sub>), 19.9 (C<sub>2 or 2'</sub>), 19.8 (C<sub>2 or 2'</sub>), 18.8 (2C, C<sub>3</sub> and C<sub>3'</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 359.1138 ; found: 359.1143

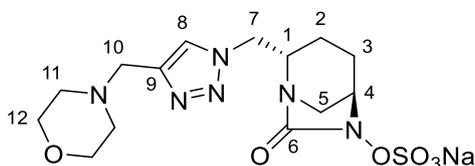
**[α]<sub>D</sub>** : - 27.7° (11.0 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 98.1%

**HPLC retention time** : 6.8 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, l = 220 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((4-(morpholinomethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (15f)**

---



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>6</sub>S

Molecular weight: 424.41 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, compound **15f** (6 mg, 8%) was obtained as a white powder after HPLC purification, starting from compound **14f** (74 mg, 0.18 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.12 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 4.95 (dd, *J* = 14.7, 10.3 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.71 (dd, *J* = 14.7, 5.7 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.31-4.30 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.99-3.94 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.82-3.79 (m, 6H, H<sub>10,12</sub>), 3.54 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.24 (bd, *J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.67 (bs, 4H, H<sub>11</sub>), 2.16-2.12 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.08-1.98 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.80-1.75 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.2 (C<sub>6</sub>), 142.0 (C<sub>9</sub>), 125.8 (C<sub>8</sub>), 66.0 (2C<sub>12</sub>), 60.1 (C<sub>4</sub>), 57.9 (C<sub>1</sub>), 51.9 (2C<sub>11</sub>), 51.6 (C<sub>10</sub>), 50.7 (C<sub>7</sub>), 43.6 (C<sub>5</sub>), 19.7 (C<sub>2</sub>), 18.8 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 401.1243 ; found: 401.1256

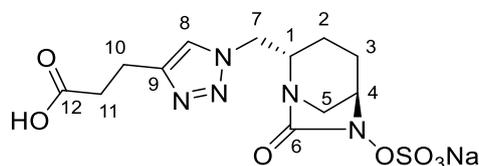
**[α]<sub>D</sub>** : - 37.2° (1.8 mg/mL, MeOH)

**HPLC purity** : 95.1%

**HPLC retention time** : 6.0 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 220 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((4-(2-carboxyethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (15g)**

---



Chemical formula: C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>7</sub>S

Molecular weight: 397.34 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, compound **15g** (34 mg, 17%) was obtained as a colorless foam after HPLC purification, starting from compound **14g** (194 mg, 0.50 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.87 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 4.89 (dd, *J* = 14.8, 10.1 Hz, 2H, H<sub>7</sub>), 4.66 (dd, *J* = 14.8, 6.0 Hz, 2H, H<sub>7</sub>), 4.29-4.28 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.97-3.91 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.51 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.21 (bd, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.99 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 2.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 2.15-2.09 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.04-1.96 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.76-1.69 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 181.7 (C<sub>12</sub>), 170.1 (C<sub>6</sub>), 148.0 (C<sub>9</sub>), 123.3 (C<sub>8</sub>), 60.0 (C<sub>4</sub>), 57.8 (C<sub>1</sub>), 50.5 (C<sub>7</sub>), 43.7 (C<sub>5</sub>), 36.7 (C<sub>11</sub>), 21.8 (C<sub>10</sub>), 19.6 (C<sub>2</sub>), 18.8 (C<sub>3</sub>)

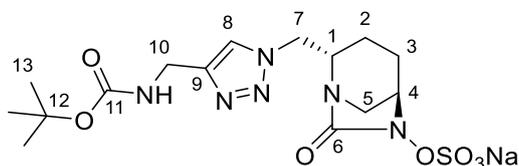
**HRMS** calculated for C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 374.0770 ; found: 374.0765

**[α]<sub>D</sub>** : - 17.2° (16.4 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 96.0%

**HPLC retention time** : 13.5 min (Agilent Zorbax Extend C18, CH<sub>3</sub>CN + 0.1% TFA / H<sub>2</sub>O + 0.1% TFA 0:100 to 100:0 in 30 min, flow rate = 1 mL/min, λ = 214 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (15h)**



Chemical formula: C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>7</sub>S

Molecular weight: 454.43 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, compound **15h** (88 mg, 30%) was obtained as a white powder after HPLC purification, starting from compound **14h** (283 mg, 0.64 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.01 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 4.92 (dd, *J* = 14.8, 10.3 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.69 (dd, *J* = 14.8, 5.7 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.39 (s, 2H, H<sub>10</sub>), 4.31-4.29 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.97-3.92 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.53 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.23 (bd, *J* = 12.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.16-2.11 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.07-1.97 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.78-1.74 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.47 (s, 9H, H<sub>13</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.1 (C<sub>6</sub>), 158.0 (C<sub>11</sub>), 146.0 (C<sub>9</sub>), 123.8 (C<sub>8</sub>), 81.4 (C<sub>12</sub>), 60.1 (C<sub>4</sub>), 57.9 (C<sub>1</sub>), 50.7 (C<sub>7</sub>), 43.6 (C<sub>5</sub>), 35.4 (C<sub>10</sub>), 27.6 (3C<sub>13</sub>), 19.7 (C<sub>2</sub>), 18.8 (C<sub>3</sub>)

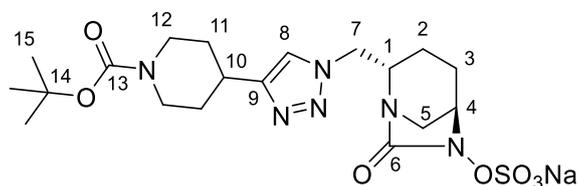
**HRMS** calculated for C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 431.1349 ; found: 431.1367

**[α]<sub>D</sub>** : - 35.6° (13.6 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 96.9%

**HPLC retention time** : 10.2 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 220 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((4-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (15i)**



Chemical formula: C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>7</sub>S

Molecular weight: 508.53 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, compound **15i** (184 mg, 53%) was obtained as a white powder after HPLC purification, starting from compound **14i** (336 mg, 0.68 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.94 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 4.90 (dd, *J* = 14.7, 10.2 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.67 (dd, *J* = 14.7, 5.8 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.31-4.29 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 4.13 (bd, *J* = 12.7 Hz, 2H, H<sub>12</sub>), 3.97-3.92 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.51 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.22 (bd, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.08-3.01 (m, 3H, H<sub>10,12</sub>), 2.17-2.11 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.07-1.98 (m, 4H, H<sub>2,3,11</sub>), 1.77-1.71 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.66-1.59 (m, 2H, H<sub>11</sub>), 1.51 (s, 9H, H<sub>15</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.1 (C<sub>6</sub>), 156.6 (C<sub>13</sub>), 152.0 (C<sub>9</sub>), 122.4 (C<sub>8</sub>), 81.6 (C<sub>14</sub>), 60.1 (C<sub>4</sub>), 57.9 (C<sub>1</sub>), 50.6 (C<sub>7</sub>), 43.6 (3C, C<sub>5</sub> and 2C<sub>12</sub>), 32.5 (C<sub>10</sub>), 31.0 (2C<sub>11</sub>), 27.7 (3C<sub>15</sub>), 19.7 (C<sub>2</sub>), 18.8 (C<sub>3</sub>)

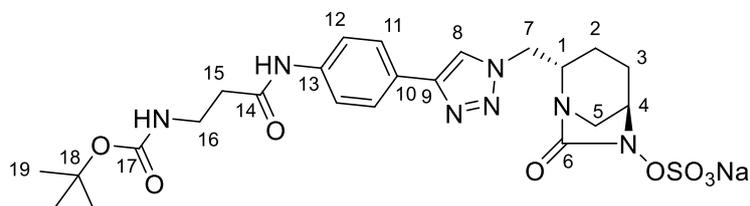
**HRMS** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: 487.1975 ; found: 487.1985

**[α]<sub>D</sub>** : - 21.1° (11.8 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 95.1%

**HPLC retention time** : 11.8 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, l = 220 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((4-(4-(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propanamido)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (15j)**



Chemical formula: C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>7</sub>NaO<sub>8</sub>S

Molecular weight: 587.58 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, compound **15j** (37 mg, 23%) was obtained as a white powder after HPLC purification, starting from compound **14j** (159 mg, 0.28 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.26 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.71 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 7.52 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H<sub>12</sub>), 4.85 (dd, *J* = 14.8, 10.2 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.61 (dd, *J* = 14.8, 5.8 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.29-4.27 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.94-3.90 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.49 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.46 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, H<sub>16</sub>), 3.21 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.59 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H, H<sub>15</sub>), 2.15-2.09 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.03-1.94 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.74-1.67 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.39 (s, 9H, H<sub>19</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 172.9 (C<sub>14</sub>), 170.1 (C<sub>6</sub>), 158.0 (C<sub>17</sub>), 147.2 (C<sub>9</sub>), 137.3 (C<sub>10</sub>), 126.3 (2C<sub>11</sub>), 126.2 (C<sub>13</sub>), 122.1 (C<sub>8</sub>), 121.8 (2C<sub>12</sub>), 81.0 (C<sub>18</sub>), 60.1 (C<sub>4</sub>), 57.8 (C<sub>1</sub>), 50.8 (C<sub>7</sub>), 43.6 (C<sub>5</sub>), 37.2 (C<sub>15</sub>), 36.8 (C<sub>16</sub>), 27.6 (3C<sub>19</sub>), 19.7 (C<sub>2</sub>), 18.8 (C<sub>3</sub>)

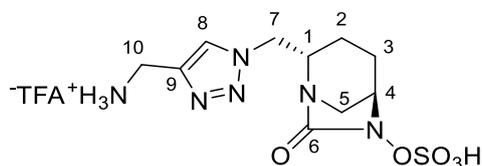
**HRMS** calculated for C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>7</sub>O<sub>8</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 564.1877 ; found: 564.1877

**[α]<sub>D</sub>** : - 12.2° (3.0 mg/mL, MeOH)

**HPLC purity** : 99.1%

**HPLC retention time** : 11.4 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 214 nm)

**trifluoroacetate salt (2*S*,5*R*)-2-((4-(aminomethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl hydrogen sulfate (**16h**)**



**Chemical formula:** C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S

**Molecular weight:** 446.36 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure C** for Boc deprotection, compound **16h** (7.4 mg, 36%) was obtained as a white powder after HPLC purification, starting from compound **15h** (21 mg, 0.05 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.26 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 4.99 (dd, *J* = 14.8, 10.9 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.72 (dd, *J* = 14.8, 5.2 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.40 (s, 2H, H<sub>10</sub>), 4.32-4.30 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.99-3.94 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.57 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.24 (bd, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.17-2.12 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.10-1.99 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.82-1.78 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.1 (C<sub>6</sub>), 140.0 (C<sub>9</sub>), 125.5 (C<sub>8</sub>), 60.1 (C<sub>4</sub>), 58.0 (C<sub>1</sub>), 50.8 (C<sub>7</sub>), 43.5 (C<sub>5</sub>), 34.1 (C<sub>10</sub>), 19.8 (C<sub>2</sub>), 18.8 (C<sub>3</sub>)

**<sup>19</sup>F NMR** (471 MHz, D<sub>2</sub>O) δ - 75.5

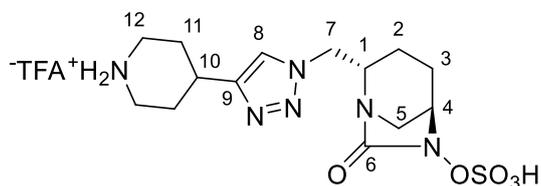
**HRMS** calculated for C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 331.0825 ; found: 331.0828

**[α]<sub>D</sub>** : - 40.2° (2.5 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 97.7%

**HPLC retention time** : 4.0 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 214 nm)

**trifluoroacetate salt (2*S*,5*R*)-7-oxo-2-((4-(piperidin-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl hydrogen sulfate (16i)**



Chemical formula: C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>F<sub>3</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S

Molecular weight: 500.45 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure C** for Boc deprotection, compound **16i** (20 mg, 34%) was obtained as a white powder after HPLC purification, starting from compound **15i** (59 mg, 0.12 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.00 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 4.91 (dd, *J* = 14.8, 10.6 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.66 (dd, *J* = 14.8, 5.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.29-4.27 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.96-3.91 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.57-3.51 (m, 3H, H<sub>5</sub>, <sub>12</sub>), 3.25-3.18 (m, 4H, H<sub>5</sub>, <sub>10</sub>, <sub>12</sub>), 2.33-2.29 (m, 3H, 2H, H<sub>11</sub>), 2.16-2.09 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.06-1.93 (m, 4H, H<sub>2</sub>, <sub>3</sub>, <sub>11</sub>), 1.77-1.71 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.1 (C<sub>6</sub>), 150.3 (C<sub>9</sub>), 122.6 (C<sub>8</sub>), 60.1 (C<sub>4</sub>), 57.9 (C<sub>1</sub>), 50.7 (C<sub>7</sub>), 43.6 (3C, C<sub>5</sub> and 2C<sub>12</sub>), 30.28 (C<sub>10</sub>), 27.8 (2C<sub>11</sub>), 19.7 (C<sub>2</sub>), 18.82 (C<sub>3</sub>)

**<sup>19</sup>F NMR** (471 MHz, D<sub>2</sub>O) δ - 75.5

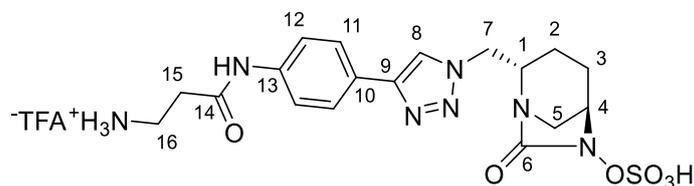
**HRMS** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 385.1294 ; found: 385.1305

**[α]<sub>D</sub>** : - 37.2° (13.7 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 97.6%

**HPLC retention time** : 9.6 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, l = 214 nm)

**trifluoroacetate salt (2S,5R)-2-((4-(4-(3-aminopropanamido)phenyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl hydrogen sulfate (16j)**



Chemical formula: C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>8</sub>S

Molecular weight: 579.51 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure C** for Boc deprotection, compound **16j** (2.4 mg, 17%) was obtained as a white powder after HPLC purification, starting from compound **15j** (14 mg, 0.02 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δ 10.21 (s, 1H, NH), 8.49 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.80 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 7.68 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H<sub>12</sub>), 4.79 (dd, *J* = 14.3, 9.8 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.59 (dd, *J* = 14.4, 6.1 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.04-4.02 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.68-3.63 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.40 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.11 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, H<sub>16</sub>), 2.91 (bd, *J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.71 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, H<sub>15</sub>), 1.87-1.75 (m, 3H, H<sub>2,3</sub>), 1.56-1.50 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δ 168.4 (C<sub>14</sub>), 167.3 (C<sub>6</sub>), 146.1 (C<sub>9</sub>), 138.3 (C<sub>10</sub>), 126.0 (C<sub>13</sub>), 125.7 (2C<sub>11</sub>), 121.2 (C<sub>8</sub>), 119.4 (2C<sub>12</sub>), 58.1 (C<sub>4</sub>), 56.9 (C<sub>1</sub>), 50.5 (C<sub>7</sub>), 43.3 (C<sub>5</sub>), 34.8 (C<sub>16</sub>), 33.0 (C<sub>15</sub>), 19.8 (C<sub>2</sub>), 19.3 (C<sub>3</sub>)

**<sup>19</sup>F NMR** (471 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δ - 73.4

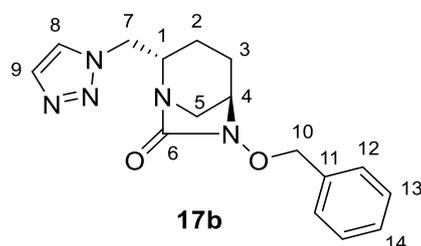
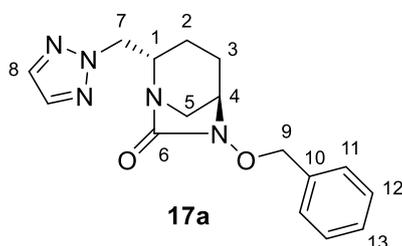
**HRMS** calculated for C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 464.1352 ; found: 464.1352

**HPLC purity** : 98.5%

**HPLC retention time** : 10.5 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, l = 214 nm, injection solvent DMSO/H<sub>2</sub>O 1/1)

**(2*S*,5*R*)-2-((2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-6-(benzyloxy)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (17a)** and **(2*S*,5*R*)-2-((1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-6-(benzyloxy)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (17b)**

---



Chemical formula: C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molecular weight: 313.36 g.mol<sup>-1</sup>

N,N-Diisopropylethylamine (598  $\mu$ L, 3.43 mmol), DMAP (14 mg, 0.11 mmol) and MsCl (133  $\mu$ L, 1.72 mmol) were added at 0°C to a solution of **11** (300 mg, 1.14 mmol) in DCM (25 mL). The reaction mixture was stirred at 0°C for 1h. DCM was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. A solution of crude product in acetonitrile (18 mL) was then added dropwise to a solution of 1H-1,2,3-triazole (133  $\mu$ L, 2.29 mmol) and *t*BuOK (257 mg, 2.29 mmol) in acetonitrile (24 mL). The reaction mixture was stirred at 90°C for 15h. After being cooled down to room temperature, DCM was then added and the organic layer was washed with H<sub>2</sub>O and brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (9/1) as the eluent gave compounds **17a** (164 mg, 44%) and **17b** (136 mg, 37%) as orange foams.

### Compound 17a

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.55 (s, 2H, H<sub>8</sub>), 7.38-7.27 (m, 5H, H<sub>11, 12, 13</sub>), 4.98 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>9</sub>), 4.84 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>9</sub>), 4.66 (dd, *J* = 13.8, 7.7 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.52 (dd, *J* = 13.8, 7.7 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.03-3.98 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.33-3.31 (m, H<sub>4</sub>), 2.99 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.90 (dt, *J* = 11.9, 3.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.01-1.95 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.93 – 1.86 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.63-1.57 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.46-1.40 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.2 (C<sub>6</sub>), 135.8 (C<sub>10</sub>), 134.5 (2C<sub>8</sub>), 129.1 (2C<sub>11</sub>), 128.6 (C<sub>13</sub>), 128.4 (2C<sub>12</sub>), 78.1 (C<sub>9</sub>), 58.2 (C<sub>4</sub>), 56.6 (C<sub>1</sub>), 55.9 (C<sub>7</sub>), 44.3 (C<sub>5</sub>), 19.9 (C<sub>2</sub>), 19.8 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 314.1617 ; found: 314.1610

**[α]<sub>D</sub>** : - 32.3° (6.0 mg/mL, MeOH)

### Compound 17b

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.72 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H, H<sub>8</sub>), 7.66 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H, H<sub>9</sub>), 7.39-7.29 (m, 5H, H<sub>12, 13, 14</sub>), 4.98 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>10</sub>), 4.84 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>10</sub>), 4.56 (dd, *J* = 14.2, 8.0 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.51 (dd, *J* = 14.2, 6.9 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 3.81-3.76 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.36-3.34 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.90 (bs, 2H, H<sub>5</sub>), 2.05-1.99 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.96-1.89 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.69-1.62 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.57-1.51 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

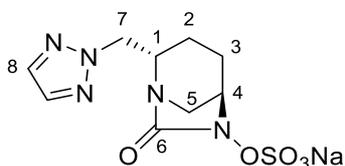
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.3 (C<sub>6</sub>), 135.7 (C<sub>11</sub>), 134.1 (C<sub>9</sub>), 129.2 (2C<sub>12</sub>), 128.8 (C<sub>14</sub>), 128.6 (2C<sub>13</sub>), 124.0 (C<sub>8</sub>), 78.2 (C<sub>10</sub>), 58.3 (C<sub>4</sub>), 56.7 (C<sub>1</sub>), 51.7 (C<sub>7</sub>), 43.7 (C<sub>5</sub>), 20.3 (C<sub>2</sub>), 19.7 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 314.1617 ; found: 314.1611

**[α]<sub>D</sub>** : - 32.9° (3.4 mg/mL, MeOH)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (18a)**

---



Chemical formula: C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub>S

Molecular weight: 325.27 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, compound **18a** (44 mg, 27%) was obtained as a yellow foam after HPLC purification, starting from compound **17a** (158 mg, 0.51 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.89 (s, 2H, H<sub>8</sub>), 5.04 (dd, *J* = 14.7, 10.4 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.77 (dd, *J* = 14.7, 5.8 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.33-4.31 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 4.10 -4.05 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.58 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.22 (bd, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.19-2.12 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.08-1.99 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.81-1.73 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 169.9 (C<sub>6</sub>), 135.1 (2C<sub>8</sub>), 60.0 (C<sub>4</sub>), 57.8 (C<sub>1</sub>), 54.6 (C<sub>7</sub>), 43.9 (C<sub>5</sub>), 19.5 (C<sub>2</sub>), 18.9 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 302.0559 ; found: 302.0569

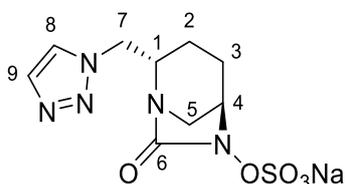
**[α]<sub>D</sub>** : - 37.4° (18.0 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 97.0%

**HPLC retention time** : 2.8 min (Agilent Zorbax Extend C18, CH<sub>3</sub>CN/ H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 30 min, flow rate = 1 mL/min, λ = 214 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (18b)**

---



Chemical formula: C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub>S

Molecular weight: 325.27 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, compound **18b** (14 mg, 8%) was obtained as a white foam after HPLC purification, starting from compound **17b** (132 mg, 0.42 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.13 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 7.88 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 5.00 (dd, *J* = 14.8, 10.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.74 (dd, *J* = 14.8, 5.6 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.32-4.30 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 4.01 – 3.96 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.57 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.24 (bd, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.19-2.12 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.09-1.99 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.82-1.74 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.1 (C<sub>6</sub>), 134.2 (C<sub>9</sub>), 125.9 (C<sub>8</sub>), 60.0 (C<sub>4</sub>), 58.0 (C<sub>1</sub>), 50.4 (C<sub>7</sub>), 43.6 (C<sub>5</sub>), 19.7 (C<sub>2</sub>), 18.8 (C<sub>3</sub>)

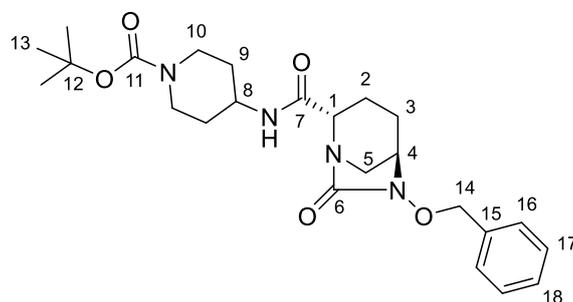
**HRMS** calculated for C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 302.0559 ; found: 302.0567

**[α]<sub>D</sub>** : - 44.6° (9.6 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 97.9%

**HPLC retention time** : 2.8 min (Agilent Zorbax Extend C18, CH<sub>3</sub>CN/ H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 30 min, flow rate = 1 mL/min, λ = 214 nm)

**tert-butyl 4-((2S,5R)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxamido)piperidine-1-carboxylate (19)**



**Chemical formula:** C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>

**Molecular weight:** 458.56 g.mol<sup>-1</sup>

4-amino-1-Boc-piperidine (145 mg, 0.72 mmol) and HOBT (117 mg, 0.87 mmol) were added to a solution of (2S,5R)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxylic acid (200 mg, 0.72 mmol) in DCM (6 mL). The reaction mixture has been cooled at 0°C and EDCI.HCl (208 mg, 1.09 mmol) was added in portions, then stirred at room temperature for 16h. DCM was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography using DCM/MeOH (96/4) as the eluent gave compound **19** (307 mg, 92%) as a colorless oil.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.41-7.31 (m, 5H, H<sub>16</sub>, 17, 18), 6.57 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, NH), 5.02 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 4.88 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 3.99 (bs, 2H, H<sub>10</sub>), 3.93-3.88 (m, 1H, H<sub>8</sub>), 3.86 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 3.29-3.28 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.97 (bd, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.84 (t, *J* = 12.2 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 2.64 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.34 (dd, *J* = 14.9, 7.2 Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 2.00-1.95 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.93-1.87 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.87-1.82 (m, 2H, H<sub>9</sub>), 1.60-1.53 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.43 (s, 9H, H<sub>13</sub>), 1.33-1.25 (m, 2H, H<sub>9</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 168.8 (C<sub>7</sub>), 167.4 (C<sub>6</sub>), 154.8 (C<sub>11</sub>), 135.7 (C<sub>15</sub>), 129.4 (2C<sub>16</sub>), 128.9 (C<sub>18</sub>), 128.7 (2C<sub>17</sub>), 79.8 (C<sub>12</sub>), 78.4 (C<sub>14</sub>), 60.6 (C<sub>1</sub>), 57.9 (C<sub>4</sub>), 47.6 (C<sub>5</sub>), 46.9 (C<sub>8</sub>), 42.7 (C<sub>10</sub>), 42.6 (C<sub>10</sub>), 32.1 (C<sub>9</sub>), 31.9 (C<sub>9</sub>), 28.5 (3C<sub>13</sub>), 20.9 (C<sub>3</sub>), 17.4 (C<sub>2</sub>)

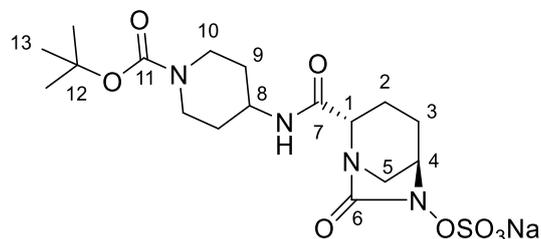
**HRMS** calculated for C<sub>24</sub>H<sub>35</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 459.2608 ; found: 459.2623

**[α]<sub>D</sub>** : - 6.9° (3.2 mg/mL, MeOH)

*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>115</sup>

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)carbamoyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (20)**

---



Chemical formula: C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>8</sub>S

Molecular weight: 470.47 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure B** for the introduction of the sulfate group, compound **20** (265 mg, 59%) was obtained as a white powder after HPLC purification, starting from compound **19** (438 mg, 0.96 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 4.29-4.28 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 4.11-4.09 (m, 3H, H<sub>1,10</sub>), 4.03-3.97 (m, 1H, H<sub>8</sub>), 3.39 (bd, *J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.15 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.03 (t, *J* = 11.6 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 2.28 (dd, *J* = 15.4, 6.8 Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 2.18-2.14 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.04-1.86 (m, 4H, H<sub>2,3,9</sub>), 1.53 (s, 11H, H<sub>9,13</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 171.0 (C<sub>7</sub>), 169.3 (C<sub>6</sub>), 156.4 (C<sub>11</sub>), 81.7 (C<sub>12</sub>), 60.5 (C<sub>1</sub>), 59.8 (C<sub>4</sub>), 47.2 (C<sub>5 or 8</sub>), 46.9 (C<sub>5 or 8</sub>), 42.7 (2C<sub>10</sub>), 30.8 (C<sub>9</sub>), 30.7 (C<sub>9</sub>), 27.8 (3C<sub>13</sub>), 20.0 (C<sub>3</sub>), 18.3 (C<sub>2</sub>)

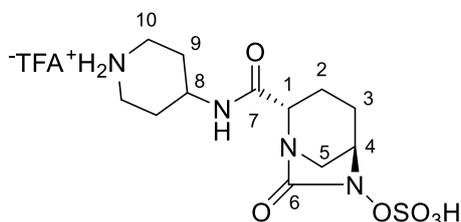
**HRMS** calculated for C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 447.1550 ; found: 447.1540

**[α]<sub>D</sub>** : - 22.3° (16.4 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 95.7%

**HPLC retention time** : 11.4 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 214 nm)

**trifluoroacetate salt (2S,5R)-7-oxo-2-(piperidin-4-ylcarbamoyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl hydrogen sulfate (21)**



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S

Molecular weight: 462.40 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure C** for Boc deprotection, compound **21** (18 mg, 32%) was obtained as a white powder after HPLC purification, starting from compound **20** (57 mg, 0.12 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 4.28-4.26 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 4.14-4.08 (m, 2H, H<sub>1,8</sub>), 3.55 (bd, *J* = 13.2 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 3.38 (bd, *J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.20 (tt, *J* = 13.0, 3.6 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 3.14 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.29-2.19 (m, 3H, H<sub>2,9</sub>), 2.17-2.12 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.03-1.95 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.91-1.81 (m, 3H, H<sub>3,9</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 171.3 (C<sub>7</sub>), 169.3 (C<sub>6</sub>), 60.4 (C<sub>1</sub>), 59.8 (C<sub>4</sub>), 46.9 (C<sub>5</sub>), 44.7 (C<sub>8</sub>), 43.0 (2C<sub>10</sub>), 27.7 (C<sub>9</sub>), 27.6 (C<sub>9</sub>), 19.8 (C<sub>3</sub>), 18.1 (C<sub>2</sub>)

**<sup>19</sup>F NMR** (471 MHz, D<sub>2</sub>O) δ - 75.5

**HRMS** calculated for C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 347.1025 ; found: 347.1027

**[α]<sub>D</sub>** : - 46.4° (13.9 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 95.0%

**HPLC retention time** : 5.2 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, l = 220 nm)

*Relebactam characterization in literature.*<sup>114</sup>

### 3. DBOs 1,2,3-triazoles 1,5-disubstituted and 1,4,5-trisubstituted

#### General procedure D Preparation of alkynyl bromides

---

*N*-bromosuccinimide (1.2 equiv.) and AgNO<sub>3</sub> (0.05 equiv) were added to a solution of terminal alkyne (1 equiv.) in acetone (0.5 M). The reaction mixture was stirred in the dark for 3h at room temperature, and then concentrated in vacuum before purification by flash chromatography.

#### General procedure E Amidation of alkynyl bromides

---

To a solution of 2-oxazolidinone (1 equiv.) in toluene (0.5 M) in a sealed tube, were added CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (0.1 equiv), 1,10-phenanthroline (0.2 equiv.) and K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 equiv.). A solution of bromoalkyne (1.2 equiv.) in toluene (1.3 M) was then added dropwise and the reaction mixture was heated at 80°C for 17h. After being cooled down to room temperature, the resulting mixture was filtered through silica gel with EtOAc and concentrated in vacuo. The crude product was then purified by flash chromatography to afford the desired ynamide.

#### General procedure F Ruthenium(II)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction

---

Cp\*RuCl(COD) (0.1 equiv.) was added to a sealed tube, and then the tube was evacuated and filled with nitrogen three times. DMF was added followed by a solution of a mixture of azido-DBO **12** (1 equiv.) and alkyne (1 equiv.) in DMF. The reaction mixture was heated at 70°C for 24h. After being cooled down to room temperature, ethyl acetate was added and the organic layer was washed with brine, water, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure before purification by flash chromatography.

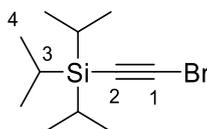
#### General procedure G Introduction of the sulfate group

---

1. 10 wt. % Pd/C (1 equiv.) was added to a solution of benzyl protected DBO (1 equiv.) in MeOH (0.02 M) and the reaction mixture was stirred under H<sub>2</sub> atmosphere for 1h30 - 4h30 at room temperature. Palladium was removed by filtration through Celite® and the filtrate concentrated.
2. A sulfur trioxide-pyridine complex (6 equiv.) was added to a solution of deprotected compound in pyridine (0.05 M) and the reaction mixture was stirred for 2h at room temperature. An additional amount of SO<sub>3</sub>-pyridine complex (2 equiv.) was added, stirred for 16h at room temperature, and pyridine was removed under reduced pressure.
3. DOWEX resin 50WX8 was preconditioned by stirring it for 1h in 2N sodium hydroxide solution, put in a column and washed with water until neutral pH. The crude product was solubilized in water, filtered, eluted on DOWEX Na<sup>+</sup> resin with H<sub>2</sub>O, and lyophilized. The residue was dissolved in EtOH, filtered, and the filtrate was concentrated under vacuum before HPLC purification.

## (bromoethynyl)triisopropylsilane (**22**)

---



Chemical formula: C<sub>11</sub>H<sub>21</sub>BrSi

Molecular weight: 261.28 g.mol<sup>-1</sup>

*N*-bromosuccinimide (524 mg, 2.94 mmol) and AgNO<sub>3</sub> (45 mg, 0.27 mmol) were added to a solution of (triisopropylsilyl)acetylene (600 μL, 2.67 mmol) in acetone (50 mL). The mixture was stirred in the dark for 3h at room temperature, and then concentrated in vacuum. The crude product was dissolved in pentane and the organic layer was washed with water, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure to afford compound **22** (691 mg, 99%) as a colorless liquid, which was used in the next step without further purification.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.08 (s, 21H, H<sub>3,4</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 83.6 (C<sub>2</sub>), 61.9 (C<sub>1</sub>), 18.6 (C<sub>4</sub>), 11.4 (C<sub>3</sub>)

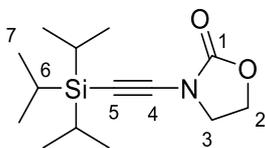
*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>220</sup>

---

<sup>220</sup> M. X.-W. Jiang, M. Rawat, W. D. Wulff, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 5970-5971

### 3-((triisopropylsilyl)ethynyl)oxazolidin-2-one (**23**)

---



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>2</sub>Si

Molecular weight: 267.44 g.mol<sup>-1</sup>

Starting from 2-oxazolidinone (192 mg, 2.20 mmol) and bromoalkyne **22** (691 mg, 2.64 mmol) and following the **general procedure E** for amidation of alkynyl bromides, compound **23** (498 mg, 84%) was obtained as a white solid after purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (9/1) as eluent.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.38 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>2</sub>), 3.89 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>3</sub>), 1.03 (s, 21H, H<sub>6, 7</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 155.9 (C<sub>1</sub>), 93.3 (C<sub>5</sub>), 69.7 (C<sub>4</sub>), 63.0 (C<sub>2</sub>), 47.0 (C<sub>3</sub>), 18.6 (C<sub>7</sub>), 11.2 (C<sub>6</sub>)

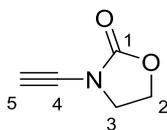
*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>221</sup>

---

<sup>221</sup> B. S. L. Collins, M. G. Suero, M. J. Gaunt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 5799-5802

### 3-ethynyloxazolidin-2-one (**13m**)

---



Chemical formula: C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub>

Molecular weight: 111.10 g.mol<sup>-1</sup>

TBAF (1M in THF, 2.64 mL, 2.64 mmol) was added at 0°C to a solution of ynamide **23** (470 mg, 1.76 mmol) in THF (40 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 1h, then quenched with water and extracted with EtOAc. The organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by flash chromatography with cyclohexane/diethyl ether (4/6) as the eluent, yielding compound **13m** (169 mg, 87%) as a white solid.

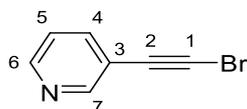
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.40 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>2</sub>), 3.88 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>3</sub>), 2.82 (s, 1H, H<sub>5</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 156.3 (C<sub>1</sub>), 72.7 (C<sub>4</sub>), 63.3 (C<sub>2</sub>), 59.7 (C<sub>5</sub>), 46.4 (C<sub>3</sub>)

*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>221</sup>

### 3-(bromoethynyl)pyridine (**22a**)

---



Chemical formula: C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>BrN

Molecular weight: 182.02 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure D** for the preparation of alkynyl bromides and using cyclohexane/ethyl acetate (9/1) as eluent for chromatography purification, compound **22a** (463 mg, 87%) was obtained as an orange solid, starting from 3-ethynylpyridine (300 mg, 2.91 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.64 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 8.51 (dd, *J* = 4.9, 1.6 Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 7.68 (dt, *J* = 7.9, 1.9 Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 7.20 (ddd, *J* = 7.9, 4.9, 0.7 Hz, 1H, H<sub>5</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 152.7 (C<sub>7</sub>), 148.9 (C<sub>6</sub>), 139.0 (C<sub>4</sub>), 123.0 (C<sub>5</sub>), 120.0 (C<sub>3</sub>), 76.9 (C<sub>2</sub>), 53.9 (C<sub>1</sub>)

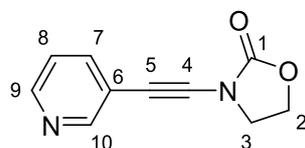
*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>222</sup>

---

<sup>222</sup> Y. Zhao, J. Jin, P. W. H. Chan, *Adv. Synth. Catal.* **2019**, *361*, 1313-1321

### 3-(pyridin-3-ylethynyl)oxazolidin-2-one (**23a**)

---



Chemical formula: C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Molecular weight: 188.19 g.mol<sup>-1</sup>

Starting from 2-oxazolidinone (185 mg, 2.12 mmol) and bromoalkyne **22a** (463 mg, 2.54 mmol) and following the **general procedure E** for amidation of alkynyl bromides, compound **23a** (346 mg, 87%) was obtained as a yellow solid, after purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (2/8) as eluent.

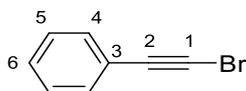
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.60 (s, 1H, H<sub>10</sub>), 8.45 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H, H<sub>9</sub>), 7.67 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 7.19 (dd, *J* = 7.8, 4.9 Hz, 1H, H<sub>8</sub>), 4.46 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>2</sub>), 3.99 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 155.8 (C<sub>1</sub>), 152.0 (C<sub>10</sub>), 148.5 (C<sub>9</sub>), 138.4 (C<sub>7</sub>), 123.0 (C<sub>8</sub>), 119.5 (C<sub>6</sub>), 82.0 (C<sub>4</sub>), 68.1 (C<sub>5</sub>), 63.3 (C<sub>2</sub>), 46.9 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 189.0664 ; found: 189.0655

## (bromoethynyl)benzene (**22b**)

---



Chemical formula: C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>Br

Molecular weight: 181.03 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure D** for the preparation of alkynyl bromides and using cyclohexane as eluent for chromatography purification, compound **22b** (886 mg, 98%) was obtained as a yellow liquid, starting from phenylacetylene (550 μL, 5.00 mmol).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.49-7.47 (m, 2H, H<sub>4</sub>), 7.38-7.31 (m, 3H, H<sub>5</sub>, 6)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 132.1 (2C<sub>4</sub>), 128.8 (C<sub>6</sub>), 128.5 (2C<sub>5</sub>), 122.8 (C<sub>3</sub>), 80.2 (C<sub>2</sub>), 49.9 (C<sub>1</sub>)

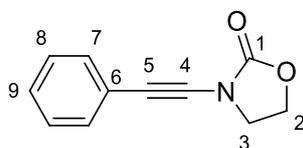
*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>223</sup>

---

<sup>223</sup> X. Nie, G. Wang, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 4734-4741

### 3-(phenylethynyl)oxazolidin-2-one (**23b**)

---



Chemical formula: C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>

Molecular weight: 187.20 g.mol<sup>-1</sup>

Starting from 2-oxazolidinone (182 mg, 2.09 mmol) and bromoalkyne **22b** (455 mg, 2.51 mmol) and following the **general procedure E** for amidation of alkynyl bromides, compound **23b** (340 mg, 87%) was obtained as a yellow solid after purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (7/3) as eluent.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.48-7.44 (m, 2H, H<sub>7</sub>), 7.34-7.30 (m, 3H, H<sub>8</sub>, <sub>9</sub>), 4.44-4.41 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 3.96-3.93 (m, 2H, H<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 155.9 (C<sub>1</sub>), 131.3 (2C<sub>7</sub>), 128.2 (2C<sub>8</sub>), 128.1 (C<sub>9</sub>), 122.1 (C<sub>6</sub>), 79.2 (C<sub>4</sub>), 70.9 (C<sub>5</sub>), 63.1 (C<sub>2</sub>), 46.9 (C<sub>3</sub>)

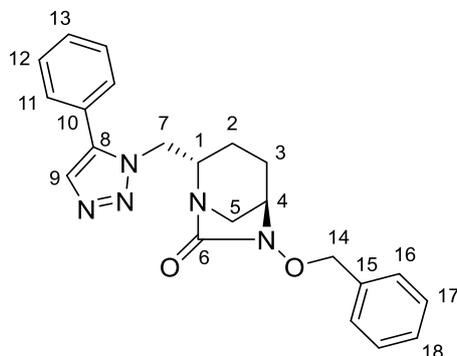
*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>224</sup>

---

<sup>224</sup> L. Zhu, Y. Yu, Z. Mao, X. Huang, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 30-33

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-2-((5-phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (24b)**

---



Chemical formula: C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molecular weight: 389.46 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure F** for RuAAC, starting from azido-DBO **12** (50 mg, 0.17 mmol) and phenylacetylene (20  $\mu$ L, 0.17 mmol) in DMF (2 mL), and using cyclohexane/ethyl acetate (5/5) as eluent for flash chromatography purification, compound **24b** (64 mg, 94%) was obtained as an orange foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.66 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 7.49-7.44 (m, 3H, H<sub>12, 13</sub>), 7.41-7.30 (m, 7H, H<sub>11, 16, 17, 18</sub>), 4.96 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 4.82 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 4.59 (dd,  $J$  = 14.2, 8.0 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.46 (dd,  $J$  = 14.2, 7.4 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 3.69-3.65 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.27 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 2.79-2.72 (m, 2H, H<sub>5</sub>), 1.98-1.92 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.90-1.82 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.58-1.46 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>)

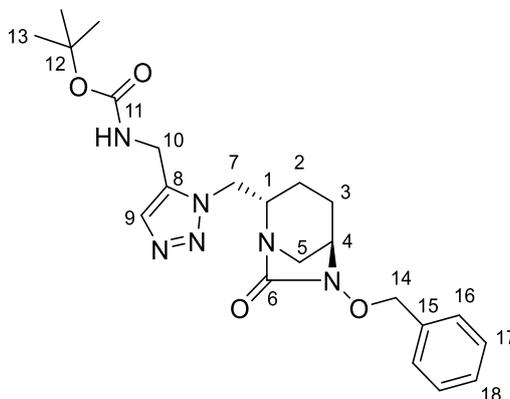
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  169.0 (C<sub>6</sub>), 138.3 (C<sub>8</sub>), 135.7 (C<sub>15</sub>), 133.2 (C<sub>9</sub>), 129.6 (C<sub>13</sub>), 129.1 (2C<sub>12</sub> and 2C<sub>16</sub>), 128.9 (2C<sub>11</sub>), 128.6 (C<sub>18</sub>), 128.4 (2C<sub>17</sub>), 126.8 (C<sub>10</sub>), 78.0 (C<sub>14</sub>), 58.1 (C<sub>4</sub>), 56.5 (C<sub>1</sub>), 49.7 (C<sub>7</sub>), 43.8 (C<sub>5</sub>), 20.1 (C<sub>2</sub>), 19.7 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 390.1930 ; found: 390.1927

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>** : - 6.6° (4.7 mg/mL, MeOH)

**tert-butyl ((1-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-5-yl)methyl)carbamate (**24h**)**

---



Chemical formula: C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>

Molecular weight: 442.52 g.mol<sup>-1</sup>

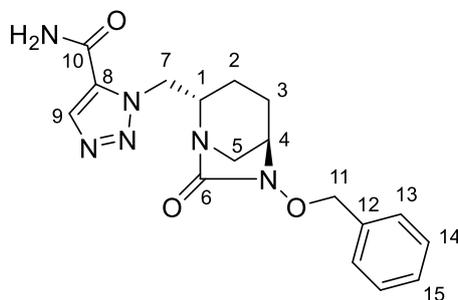
Following the **general procedure F** for RuAAC, starting from azido-DBO **12** (100 mg, 0.35 mmol) and alkyne **13h** (54 mg, 0.35 mmol) in DMF (3.5 mL), and using cyclohexane/ethyl acetate (1/9) as eluent for flash chromatography purification, compound **24h** (67 mg, 44%) was obtained as an orange foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.55 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 7.39-7.31 (m, 5H, H<sub>16</sub>, 17, 18), 5.37 (bs, 1H, NH), 4.98 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 4.84 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 4.55 (dd, *J* = 14.4, 7.9 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.47 (dd, *J* = 14.4, 6.3 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.38 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 3.83-3.78 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.31 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 2.94-2.86 (m, 2H, H<sub>5</sub>), 2.05-1.99 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.98-1.92 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.70-1.61 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.42 (s, 9H, H<sub>13</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.3 (C<sub>6</sub>), 155.8 (C<sub>11</sub>), 135.9 (C<sub>15</sub>), 135.5 (C<sub>8</sub>), 133.5 (C<sub>9</sub>), 129.3 (2C<sub>16</sub>), 128.8 (C<sub>18</sub>), 128.6 (2C<sub>17</sub>), 80.3 (C<sub>12</sub>), 78.2 (C<sub>14</sub>), 58.3 (C<sub>4</sub>), 56.9 (C<sub>1</sub>), 50.1 (C<sub>7</sub>), 43.6 (C<sub>5</sub>), 33.3 (C<sub>10</sub>), 28.4 (3C<sub>13</sub>), 20.5 (C<sub>2</sub>), 19.6 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 443.2407 ; found: 443.2388

**1-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazole-5-carboxamide (**24k**)**



Chemical formula: C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 356.39 g.mol<sup>-1</sup>

Cp\*RuCl(COD) (13 mg, 0.04 mmol) was added to a sealed tube, and then the tube was evacuated and filled with nitrogen three times. DMF (500  $\mu$ L) was added followed by a solution of a mixture of azido-DBO **12** (100 mg, 0.35 mmol) and propiolamide (24 mg, 0.35 mmol) in DMF (1 mL). The reaction mixture was heated at 70°C for 24h. After being cooled down to room temperature, water was added and the solution was lyophilized. The crude product was purified by flash chromatography using ethyl acetate as eluent to give compound **24k** (57 mg, 46%) as a white foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.01 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 7.51 (bs, 1H, NH<sub>2</sub>), 7.39-7.31 (m, 5H, H<sub>13, 14, 15</sub>), 6.35 (bs, 1H, NH<sub>2</sub>), 5.03 (dd,  $J = 13.5, 9.7$  Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.97 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 4.85 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 4.80 (dd,  $J = 13.6, 6.2$  Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 3.93-3.89 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.38 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 3.20 (d,  $J = 12.1$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.90 (bd,  $J = 11.7$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.04-1.94 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 1.72-1.66 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.57-1.51 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

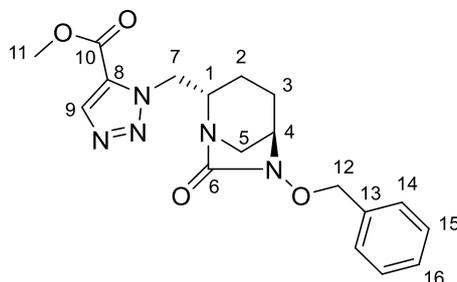
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  169.8 (C<sub>6</sub>), 159.9 (C<sub>10</sub>), 135.7 (C<sub>12</sub>), 135.1 (C<sub>9</sub>), 130.3 (C<sub>8</sub>), 129.3 (2C<sub>13</sub>), 128.9 (C<sub>15</sub>), 128.7 (2C<sub>14</sub>), 78.3 (C<sub>11</sub>), 58.5 (C<sub>4</sub>), 56.9 (C<sub>1</sub>), 50.8 (C<sub>7</sub>), 44.4 (C<sub>5</sub>), 20.2 (C<sub>2</sub>), 19.9 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub> [M-H]<sup>-</sup>: 355.1519 ; found: 355.1510

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>** : - 10.5° (7.1 mg/mL, DCM)

**methyl 1-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazole-5-carboxylate (**24I**)**

---



Chemical formula: C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>

Molecular weight: 371.40 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure F** for RuAAC, starting from azido-DBO **12** (100 mg, 0.35 mmol) and methyl propiolate (31  $\mu$ L, 0.35 mmol) in DMF (3.5 mL), and using cyclohexane/ethyl acetate (4/6) as eluent for flash chromatography purification, compound **24I** (60 mg, 46%) was obtained as a yellow oil.

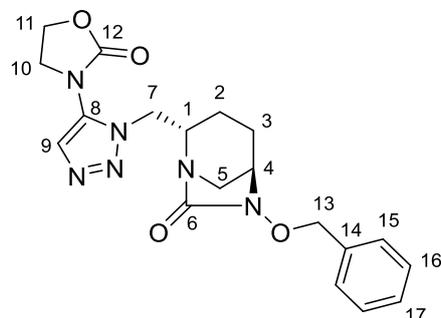
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.08 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 7.41-7.31 (m, 5H, H<sub>14</sub>, <sub>15</sub>, <sub>16</sub>), 5.01-4.96 (m, 2H, H<sub>7</sub>, <sub>12</sub>), 4.87-4.76 (m, 2H, H<sub>7</sub>, <sub>12</sub>), 3.94-3.89 (m, 4H, H<sub>1</sub>, <sub>11</sub>), 3.34-3.33 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.18 (d,  $J$  = 12.1 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.88 (bd,  $J$  = 12.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.06-1.96 (m, 2H, H<sub>2</sub>, <sub>3</sub>), 1.71-1.63 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.51-1.45 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  169.3 (C<sub>6</sub>), 159.1 (C<sub>10</sub>), 137.9 (C<sub>9</sub>), 135.9 (C<sub>13</sub>), 129.2 (2C<sub>14</sub>), 128.7 (C<sub>16</sub>), 128.5 (2C<sub>15</sub>), 127.9 (C<sub>8</sub>), 78.2 (C<sub>12</sub>), 58.3 (C<sub>4</sub>), 56.7 (C<sub>1</sub>), 52.6 (C<sub>11</sub>), 50.9 (C<sub>7</sub>), 44.1 (C<sub>5</sub>), 20.3 (C<sub>2</sub>), 20.0 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 372.1672 ; found: 372.1666

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>** : - 7.9° (5.0 mg/mL, DCM)

**3-(1-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-5-yl)oxazolidin-2-one (24m)**



Chemical formula: C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>

Molecular weight: 398.42 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure F** for RuAAC, starting from azido-DBO **12** (100 mg, 0.35 mmol) and alkyne **13m** (39 mg, 0.35 mmol) in DMF (3.5 mL), and using DCM/methanol (96/4) as eluent for flash chromatography purification, compound **24m** (118 mg, 85%) was obtained as a white foam.

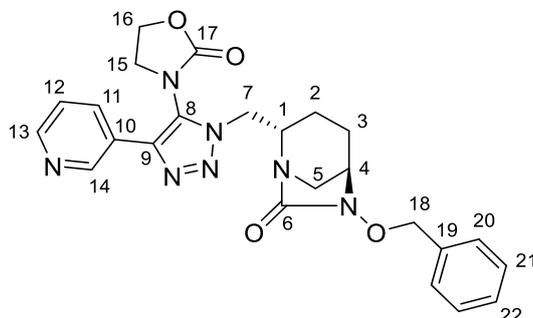
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.55 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 7.37-7.31 (m, 5H, H<sub>15, 16, 17</sub>), 4.95 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.82 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.73 (dd, *J* = 14.6, 10.7 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.62-4.57 (m, 1H, H<sub>11</sub>), 4.52-4.47 (m, 2H, H<sub>7, 11</sub>), 4.13 (td, *J* = 8.7, 5.8 Hz, 1H, H<sub>10</sub>), 4.00-3.95 (m, 1H, H<sub>10</sub>), 3.83-3.77 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.36-3.35 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.97 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.75 (bd, *J* = 11.7 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.05-1.97 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 1.70-1.62 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.56-1.49 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.3 (C<sub>6</sub>), 155.5 (C<sub>12</sub>), 135.6 (C<sub>14</sub>), 133.4 (C<sub>8</sub>), 129.2 (2C<sub>15</sub>), 128.8 (C<sub>17</sub>), 128.6 (2C<sub>16</sub>), 128.2 (C<sub>9</sub>), 78.2 (C<sub>13</sub>), 63.6 (C<sub>11</sub>), 58.2 (C<sub>4</sub>), 54.9 (C<sub>1</sub>), 50.6 (C<sub>7</sub>), 47.8 (C<sub>10</sub>), 43.6 (C<sub>5</sub>), 20.6 (C<sub>2</sub>), 19.6 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 399.1781 ; found: 399.1770

**[α]<sub>D</sub>** : - 4.1° (4.0 mg/mL, MeOH)

**3-(1-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-4-(pyridin-3-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-5-yl)oxazolidin-2-one (25a)**



Chemical formula: C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>

Molecular weight: 475.51 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure F** for RuAAC, starting from azido-DBO **12** (100 mg, 0.35 mmol) and alkyne **23a** (66 mg, 0.35 mmol) in DMF (3.5 mL), and using DCM/methanol (96/4) as eluent for flash chromatography purification, compound **25a** (156 mg, 94%) was obtained as a pale-yellow foam.

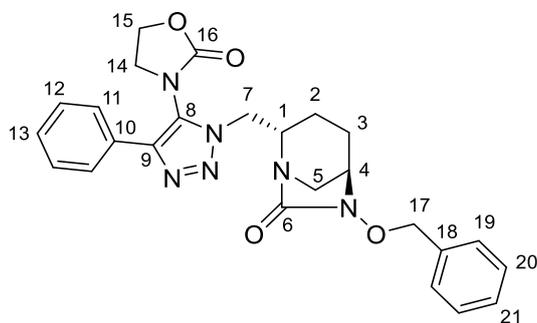
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.91 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 8.63 (dd, *J* = 4.8, 1.3 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 8.09 (dt, *J* = 8.0, 1.9 Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 7.41 (dd, *J* = 7.9, 4.8 Hz, 1H, H<sub>12</sub>), 7.39-7.34 (m, 5H, H<sub>20, 21, 22</sub>), 4.98 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>18</sub>), 4.86-4.80 (m, 2H, H<sub>7, 18</sub>), 4.70-4.65 (m, 1H, H<sub>16</sub>), 4.58-4.50 (m, 2H, H<sub>7, 16</sub>), 4.08-4.04 (m, 1H, H<sub>15</sub>), 3.87-3.80 (m, 2H, H<sub>1, 15</sub>), 3.40-3.38 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.06 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.81 (bd, *J* = 11.8 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.16-2.07 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 1.75-1.68 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.61-1.55 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.3 (C<sub>6</sub>), 155.9 (C<sub>17</sub>), 150.0 (C<sub>13</sub>), 147.5 (C<sub>14</sub>), 138.7 (C<sub>9 or 10</sub>), 135.5 (C<sub>19</sub>), 134.2 (C<sub>11</sub>), 129.3 (2C<sub>20</sub>), 129.2 (C<sub>8</sub>), 129.0 (C<sub>22</sub>), 128.7 (2C<sub>21</sub>), 125.9 (C<sub>9 or 10</sub>), 124.0 (C<sub>12</sub>), 78.4 (C<sub>18</sub>), 64.0 (C<sub>16</sub>), 58.1 (C<sub>4</sub>), 54.9 (C<sub>1</sub>), 50.9 (C<sub>7</sub>), 45.4 (C<sub>15</sub>), 43.7 (C<sub>5</sub>), 20.7 (C<sub>2</sub>), 19.7 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 476.2046 ; found: 476.2038

**[α]<sub>D</sub>** : - 4.3° (5.3 mg/mL, MeOH)

**3-(1-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-4-phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-5-yl)oxazolidin-2-one (**25b**)**



Chemical formula: C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>

Molecular weight: 474.52 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure F** for RuAAC, starting from azido-DBO **12** (50 mg, 0.17 mmol) and alkyne **23b** (33 mg, 0.17 mmol) in DMF (2 mL), and using cyclohexane/ethyl acetate (5/5) as eluent for flash chromatography purification, compound **25b** (67 mg, 44%) was obtained as a green-brown oil.

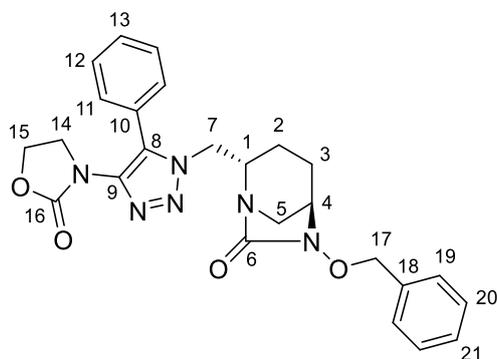
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.68 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 7.45 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H<sub>12</sub>), 7.39-7.33 (m, 6H, H<sub>13</sub>, 19, 20, 21), 4.97 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>17</sub>), 4.84 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>17</sub>), 4.82-4.77 (m, 1H, H<sub>7</sub>), 4.65-4.60 (m, 1H, H<sub>15</sub>), 4.53-4.48 (m, 2H, H<sub>7</sub>, 15), 4.01-3.97 (m, 1H, H<sub>14</sub>), 3.88-3.83 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.81-3.76 (m, 1H, H<sub>14</sub>), 3.39 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 3.07 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.81 (bd, *J* = 11.7 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.13-2.03 (m, 2H, H<sub>2</sub>, 3), 1.74-1.68 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.60-1.54 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.3 (C<sub>6</sub>), 156.1 (C<sub>16</sub>), 141.4 (C<sub>9</sub> or 10), 135.6 (C<sub>18</sub>), 129.6 (C<sub>9</sub> or 10), 129.2 (2C<sub>19</sub>), 129.1 (2C<sub>12</sub>), 128.9 (C<sub>13</sub> or 21), 128.8 (C<sub>13</sub> or 21), 128.6 (3C, C<sub>8</sub> and 2C<sub>20</sub>), 126.7 (2C<sub>11</sub>), 78.3 (C<sub>17</sub>), 63.9 (C<sub>15</sub>), 58.2 (C<sub>4</sub>), 55.1 (C<sub>1</sub>), 50.6 (C<sub>7</sub>), 45.2 (C<sub>14</sub>), 43.8 (C<sub>5</sub>), 20.7 (C<sub>2</sub>), 19.7 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 475.2094 ; found: 475.2106

**[α]<sub>D</sub>** : + 15.8° (9.0 mg/mL, DCM)

**3-(1-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-5-phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)oxazolidin-2-one (25'*b*)**



Chemical formula: C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>

Molecular weight: 474.52 g.mol<sup>-1</sup>

To a mixture of nickelocene (6.6 mg, 0.03 mmol), dppbz (16 mg, 0.03 mmol), and cesium carbonate (57 mg, 0.17 mmol) in toluene (1 mL), alkyne **23b** (39 mg, 0.21 mmol) and azido-DBO **12** (50 mg, 0.17 mmol) were successively added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 24h, then the resulting mixture was filtered through silica gel with EtOAc and concentrated in vacuo. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (2/8) as the eluent gave compounds **25b** (60 mg, 73%) and **25'b** (4 mg, 5%) as a pale-yellow foam and a white solid respectively.

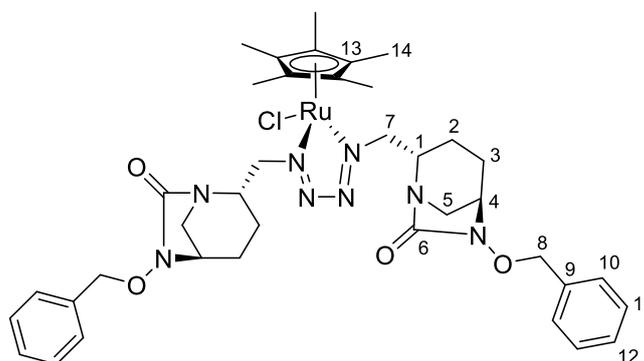
**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.51-7.47 (m, 3H, H<sub>12, 13</sub>), 7.45-7.43 (m, 2H, H<sub>11</sub>), 7.39-7.37 (m, 2H, H<sub>19</sub>), 7.37-7.33 (m, 3H, H<sub>20, 21</sub>), 4.99 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>17</sub>), 4.84 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>17</sub>), 4.51 (dd, *J* = 14.3, 8.8 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.44 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>15</sub>), 4.30 (dd, *J* = 14.3, 6.8 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.03 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>14</sub>), 3.72-3.68 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.28 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 2.77 (s, 2H, H<sub>5</sub>), 2.00-1.97 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.94-1.87 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.56-1.51 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.49-1.44 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.2 (C<sub>6</sub>), 156.4 (C<sub>16</sub>), 140.1 (C<sub>9</sub>), 135.9 (C<sub>18</sub>), 133.0 (C<sub>8</sub>), 130.3 (C<sub>13</sub>), 129.8 (2C<sub>12</sub>), 129.3 (4C, 2C<sub>11</sub> and 2C<sub>19</sub>), 128.8 (C<sub>21</sub>), 128.7 (2C<sub>20</sub>), 125.7 (C<sub>10</sub>), 78.3 (C<sub>17</sub>), 62.9 (C<sub>15</sub>), 58.3 (C<sub>4</sub>), 56.5 (C<sub>1</sub>), 50.6 (C<sub>7</sub>), 47.1 (C<sub>14</sub>), 44.0 (C<sub>5</sub>), 20.4 (C<sub>2</sub>), 19.9 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 475.2094 ; found: 475.2082

**[α]<sub>D</sub>** : - 18.8° (4.0 mg/mL, MeOH)

## Ruthénium-tétrazadiène-DBO complex (**26**)



**Chemical formula:** C<sub>38</sub>H<sub>49</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>4</sub>Ru

**Molecular weight:** 818.38 g.mol<sup>-1</sup>

Cp\*RuCl(COD) (53 mg, 0.14 mmol) was added to a sealed tube, and then the tube was evacuated and filled with nitrogen three times. Toluene (1 mL) was added followed by a solution of azido-DBO **12** (80 mg, 0.28 mmol) in toluene (2 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 5h and the colour of the solution changed from orange to green. The resulting mixture was filtered through silica gel with EtOAc and concentrated in vacuo. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (4/6) as the eluent afford ruthenium-tétrazadiène-DBO complex **26** (86 mg, 75%) as a green oil.

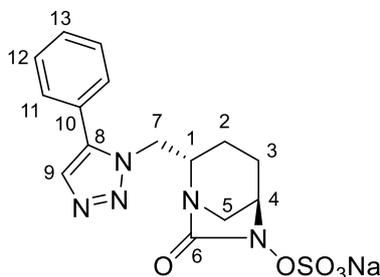
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.43-7.39 (m, 4H, H<sub>10</sub>), 7.37-7.31 (m, 6H, H<sub>11, 12</sub>), 5.01 (dd, *J* = 17.6, 11.5 Hz, 2H, H<sub>8</sub>), 4.88 (t, *J* = 11.5 Hz, 2H, H<sub>8</sub>), 4.73 (t, *J* = 11.1 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.54 (dd, *J* = 13.0, 10.0 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.26-4.22 (m, 2H, H<sub>7</sub>), 4.14-4.09 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 4.07-4.04 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.36 (bs, 2H, H<sub>4</sub>), 3.01 (bs, 3H, H<sub>5</sub>), 2.93 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.05-1.99 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.98-1.89 (m, 3H, H<sub>2 or 3</sub>), 1.78 (s, 15H, H<sub>14</sub>), 1.73-1.70 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.66-1.59 (m, 2H, H<sub>2 or 3</sub>), 1.35-1.31 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.3 (2C<sub>6</sub>), 136.0 (2C<sub>9</sub>), 129.3 (2C<sub>10</sub>), 129.2 (2C<sub>10</sub>), 128.7 (C<sub>12</sub>), 128.6 (3C, 2C<sub>11</sub> and C<sub>12</sub>), 128.5 (2C<sub>11</sub>), 101.0 (5C<sub>13</sub>), 78.2 (C<sub>8</sub>), 78.0 (C<sub>8</sub>), 68.8 (C<sub>7</sub>), 68.5 (C<sub>7</sub>), 58.5 (2C<sub>4</sub>), 56.5 (C<sub>1</sub>), 55.1 (C<sub>1</sub>), 45.7 (2C<sub>5</sub>), 20.9 (C<sub>2</sub>), 20.7 (C<sub>2</sub>), 20.3 (C<sub>3</sub>), 19.8 (C<sub>3</sub>), 10.3 (5C<sub>14</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>38</sub>H<sub>50</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>4</sub>Ru [M+H]<sup>+</sup>: 819.2687 ; found: 819.2711

**sodium (2*S*,5*R*)-7-oxo-2-((5-phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (27b)**

---



Chemical formula: C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub>S

Molecular weight: 401.37 g.mol<sup>-1</sup>

**General procedure G** for the introduction of the sulfate group was applied to compound **24b** (108 mg, 0.28 mmol) with benzyl deprotection over 1h30, giving compound **27b** (60 mg, 54%) as a white foam after HPLC purification.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.80 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 7.60-7.59 (m, 3H, H<sub>12, 13</sub>), 7.51-7.49 (m, 2H, H<sub>11</sub>), 4.87 (dd, *J* = 15.0, 10.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.66 (dd, *J* = 15.0, 5.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.11-4.10 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.72-3.66 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.00 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.88 (bd, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 1.97-1.92 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.85-1.73 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.59-1.55 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 169.8 (C<sub>6</sub>), 139.3 (C<sub>8</sub>), 133.1 (C<sub>9</sub>), 130.2 (C<sub>13</sub>), 129.4 (2C<sub>12</sub>), 129.0 (2C<sub>11</sub>), 125.7 (C<sub>10</sub>), 59.9 (C<sub>4</sub>), 57.9 (C<sub>1</sub>), 48.9 (C<sub>7</sub>), 43.5 (C<sub>5</sub>), 19.6 (C<sub>2</sub>), 18.7 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 378.0872 ; found: 378.0869

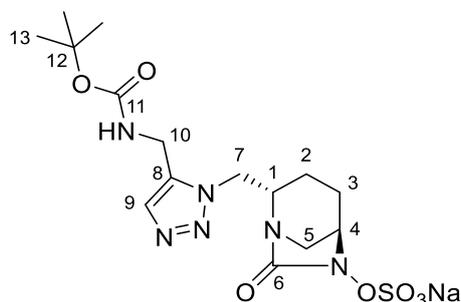
**[α]<sub>D</sub>** : - 30.7° (8.0 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 98.5%

**HPLC retention time** : 10.2 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, l = 220 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (27h)**

---



Chemical formula: C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>7</sub>S

Molecular weight: 454.43 g.mol<sup>-1</sup>

**General procedure G** for the introduction of the sulfate group was applied to compound **24h** (121 mg, 0.27 mmol) with benzyl deprotection over 1h30, giving compound **27h** (58 mg, 47%) as a white powder after HPLC purification.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.69 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 4.84-4.81 (m, 1H, H<sub>7</sub>), 4.56 (dd, *J* = 15.0, 5.4 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.42 (d, *J* = 4.6 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 4.25-4.23 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.84-3.83 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.51 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.19 (bd, *J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.07-2.02 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.00-1.92 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.74-1.68 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.40 (s, 9H, H<sub>13</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.0 (C<sub>6</sub>), 157.6 (C<sub>11</sub>), 136.5 (C<sub>8</sub>), 133.3 (C<sub>9</sub>), 81.6 (C<sub>12</sub>), 60.00 (C<sub>4</sub>), 57.6 (C<sub>1</sub>), 48.8 (C<sub>7</sub>), 43.5 (C<sub>5</sub>), 32.9 (C<sub>10</sub>), 27.5 (3C<sub>13</sub>), 19.8 (C<sub>2</sub>), 18.7 (C<sub>3</sub>)

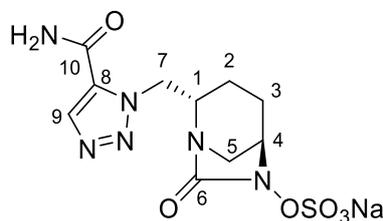
**HRMS** calculated for C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 431.1349 ; found: 431.1339

**[α]<sub>D</sub>** : - 38.2° (2.8 mg/mL, MeOH)

**HPLC purity** : 99.1%

**HPLC retention time** : 10.2 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 220 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((5-carbamoyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo [3.2.1]octan-6-yl sulfate (27k)**



Chemical formula: C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>6</sub>S

Molecular weight: 368.30 g.mol<sup>-1</sup>

**General procedure G** for the introduction of the sulfate group was applied to compound **24k** (89 mg, 0.25 mmol) with benzyl deprotection over 3h, giving compound **27k** (29 mg, 32%) as a pale-yellow foam. Before HPLC purification, the crude product was diluted with MeOH and centrifuged three times, then the supernatant was concentrated under reduced pressure and the resulting residue was filtered with MeOH. After concentration under vacuo, the residue was purified by HPLC on a reverse phase C18 Nucleosil column (250 mm x 21.2 mm, 5 μm) using a linear gradient (from 100% H<sub>2</sub>O to 100% CH<sub>3</sub>CN) that was applied between 5 and 30 min at a flow rate of 15 mL/min with UV detection at 214 nm. Then, the residue was finally eluted on a sep-Pak C18 cartridge to obtain the desired pure compound.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.24 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 5.21 (dd, *J* = 14.4, 10.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.93 (dd, *J* = 14.4, 5.2 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.30-4.28 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.96-3.91 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.58 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.21 (bd, *J* = 12.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.13-2.09 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.07-1.97 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.81-1.76 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.1 (C<sub>6</sub>), 161.3 (C<sub>10</sub>), 134.9 (C<sub>9</sub>), 131.0 (C<sub>8</sub>), 60.0 (C<sub>4</sub>), 58.2 (C<sub>1</sub>), 50.2 (C<sub>7</sub>), 43.6 (C<sub>5</sub>), 19.7 (C<sub>2</sub>), 18.7 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 345.0617 ; found: 345.0632

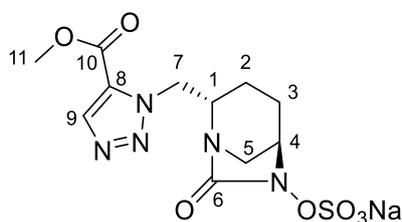
**[α]<sub>D</sub>** : - 24.1° (10.0 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 95.4%

**HPLC retention time** : 2.0 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 214 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((5-(methoxycarbonyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (271)**

---



Chemical formula: C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>7</sub>S

Molecular weight: 383.31 g.mol<sup>-1</sup>

**General procedure G** for the introduction of the sulfate group was applied to compound **24I** (55 mg, 0.15 mmol) with benzyl deprotection over 2h, giving compound **27I** (13 mg, 23%) as a white foam after HPLC purification using a linear gradient from 100% H<sub>2</sub>O to 25% CH<sub>3</sub>CN in 30 min.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.27 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 5.20 (dd, *J* = 14.4, 10.4 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.91 (dd, *J* = 14.5, 5.4 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.24-4.22 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.93-3.89 (m, 4H, H<sub>1, 11</sub>), 3.58 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.15 (bd, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.10-2.02 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.00-1.92 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 1.77-1.70 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 169.9 (C<sub>6</sub>), 159.6 (C<sub>10</sub>), 138.0 (C<sub>9</sub>), 128.9 (C<sub>8</sub>), 59.9 (C<sub>4</sub>), 57.7 (C<sub>1</sub>), 53.0 (C<sub>11</sub>), 50.5 (C<sub>7</sub>), 43.8 (C<sub>5</sub>), 19.6 (C<sub>2</sub>), 18.7 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 360.0614 ; found: 360.0625

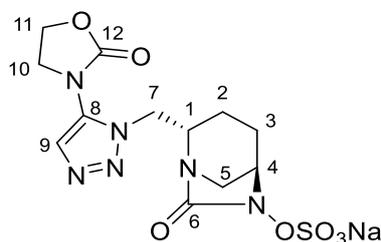
**[α]<sub>D</sub>** : - 15.8° (2.0 mg/mL, MeOH)

**HPLC purity** : 98.5%

**HPLC retention time** : 10.4 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN + 0.01%TFA / H<sub>2</sub>O + 0.01% TFA 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, l = 214 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-7-oxo-2-((5-(2-oxooxazolidin-3-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (27m)**

---



Chemical formula: C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>7</sub>S

Molecular weight: 410.34 g.mol<sup>-1</sup>

**General procedure G** for the introduction of the sulfate group was applied to compound **24m** (114 mg, 0.29 mmol) with benzyl deprotection over 3h30, giving compound **27m** (44 mg, 37%) as a white powder after HPLC purification.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.91 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 4.87 (dd, *J* = 14.9, 10.4 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.74 (t, *J* = 8.2 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 4.64 (dd, *J* = 15.0, 5.4 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.30-4.29 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 4.21-4.11 (m, 2H, H<sub>10</sub>), 4.00-3.95 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.54 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.24 (bd, *J* = 12.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.15-2.11 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.09-1.98 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.82-1.78 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.0 (C<sub>6</sub>), 158.5 (C<sub>12</sub>), 133.9 (C<sub>8</sub>), 129.1 (C<sub>9</sub>), 64.8 (C<sub>11</sub>), 60.0 (C<sub>4</sub>), 57.2 (C<sub>1</sub>), 48.8 (C<sub>7</sub>), 48.0 (C<sub>10</sub>), 43.4 (C<sub>5</sub>), 19.8 (C<sub>2</sub>), 18.6 (C<sub>3</sub>)

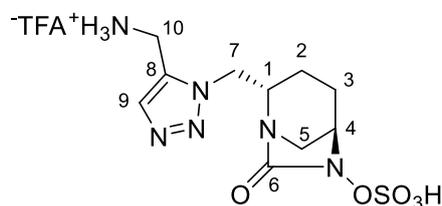
**HRMS** calculated for C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 387.0723 ; found: 387.0729

**[α]<sub>D</sub>** : - 23.9° (8.0 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 98.5%

**HPLC retention time** : 3.3 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 214 nm)

**trifluoroacetate salt (2*S*,5*R*)-2-((5-(aminomethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl hydrogen sulfate (**28**)**



Chemical formula: C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S

Molecular weight: 446.36 g.mol<sup>-1</sup>

TFA (57  $\mu$ L, 0.74 mmol) was added dropwise at 0°C to a solution of compound **27h** (28 mg, 0.06 mmol) in DCM (600  $\mu$ L). The reaction mixture was stirred at 0°C for 30 min and concentrated under vacuum. HPLC purification on a reverse phase C18 Nucleosil column (250 mm x 21.2 mm, 5  $\mu$ m) using a linear gradient (from 100% H<sub>2</sub>O to 100% CH<sub>3</sub>CN in 30 min) at a flow rate of 15 mL/min with UV detection at 214 nm, gave compound **28** (7 mg, 25%) as a white powder.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  7.90 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 4.84 (dd,  $J$  = 15.2, 10.1 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.65 (dd,  $J$  = 15.2, 4.9 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.44-4.37 (m, 2H, H<sub>10</sub>), 4.24-4.22 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.80-3.75 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.47 (d,  $J$  = 12.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.20 (bd,  $J$  = 12.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.06-2.02 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.00-1.91 (m, 2H, H<sub>2</sub>, <sub>3</sub>), 1.80-1.76 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  169.9 (C<sub>6</sub>), 133.9 (C<sub>9</sub>), 131.8 (C<sub>8</sub>), 59.9 (C<sub>4</sub>), 58.0 (C<sub>1</sub>), 49.6 (C<sub>7</sub>), 43.1 (C<sub>5</sub>), 31.7 (C<sub>10</sub>), 19.9 (C<sub>2</sub>), 18.5 (C<sub>3</sub>)

**<sup>19</sup>F NMR** (471 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  - 75.6

**HRMS** calculated for C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 331.0825 ; found: 331.0833

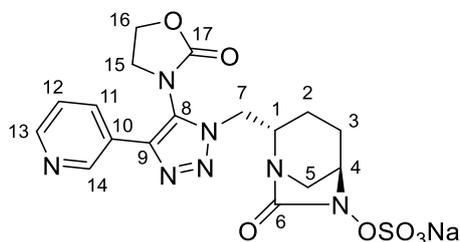
**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>** : - 44.5° (1.0 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 98.7%

**HPLC retention time** : 2.8 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min,  $\lambda$  = 220 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-7-oxo-2-((5-(2-oxooxazolidin-3-yl)-4-(pyridin-3-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (**29a**)**

---



Chemical formula: C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>7</sub>NaO<sub>7</sub>S

Molecular weight: 487.42 g.mol<sup>-1</sup>

10 wt. % Pd/C (42 mg, 0.39 mmol) was added to a solution of compound **25a** (92 mg, 0.19 mmol) in MeOH (9.5 mL). The reaction mixture was hydrogenated under 3.5 bars for 19h at room temperature using a Parr system. Palladium was then removed by filtration through Celite® and the filtrate concentrated. A sulfur trioxide-pyridine complex (181 mg, 1.16 mmol) was added to a solution of deprotected compound in pyridine (3.6 mL) and the reaction mixture was stirred for 2h at room temperature. An additional amount of SO<sub>3</sub>-pyridine complex (60 mg, 0.38 mmol) was added, stirred for 48h at room temperature, and the pyridine was removed under reduced pressure. DOWEX resin 50WX8 was preconditioned by stirring it for 1h in 2N sodium hydroxide solution, put in a column and washed with water until neutral pH, then H<sub>2</sub>O/acetone (1/1) and again water. The crude product was solubilized in mixture of H<sub>2</sub>O/acetone, filtered, eluted on DOWEX Na<sup>+</sup> resin with H<sub>2</sub>O/acetone (1/1), and lyophilized. HPLC purification gave compound **29a** (8.2 mg, 9%) as a white powder.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.84 (bs, 1H, H<sub>14</sub>), 8.69 (bs, 1H, H<sub>13</sub>), 8.14 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 7.67 (dd, *J* = 7.8, 5.0 Hz, 1H, H<sub>12</sub>), 4.91 (dd, *J* = 14.9, 10.3 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), (2H, H<sub>16</sub>, signal masked in the residual peak of water), 4.68 (dd, *J* = 15.0, 5.4 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.32-4.30 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 4.09-3.98 (m, 3H, H<sub>1, 15</sub>), 3.58 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.27 (bd, *J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.16-2.00 (m, 3H, H<sub>2, 3</sub>), 1.87-1.83 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.1 (C<sub>6</sub>), 158.4 (C<sub>17</sub>), 149.3 (C<sub>13</sub>), 146.5 (C<sub>14</sub>), 139.2 (C<sub>9 or 10</sub>), 135.5 (C<sub>11</sub>), 129.6 (C<sub>8</sub>), 125.0 (C<sub>9 or 10</sub>), 124.7 (C<sub>12</sub>), 65.1 (C<sub>16</sub>), 60.0 (C<sub>4</sub>), 57.3 (C<sub>1</sub>), 49.1 (C<sub>7</sub>), 46.5 (C<sub>15</sub>), 43.3 (C<sub>5</sub>), 19.9 (C<sub>2</sub>), 18.6 (C<sub>3</sub>)

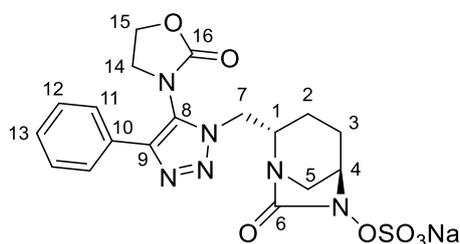
**HRMS** calculated for C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>7</sub>O<sub>7</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 464.0988 ; found: 464.0988

**[α]<sub>D</sub>** : - 37.5° (0.6 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 96.8%

**HPLC retention time** : 9.7 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 220 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-7-oxo-2-((5-(2-oxooxazolidin-3-yl)-4-phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (29b)**



Chemical formula: C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>7</sub>S

Molecular weight: 486.43 g.mol<sup>-1</sup>

**General procedure G** for the introduction of the sulfate group was applied to compound **25b** (120 mg, 0.25 mmol) with benzyl deprotection over 4h30 and elution on DOWEX Na<sup>+</sup> resin with H<sub>2</sub>O/acetone (1/1), giving compound **29b** (70 mg, 57%) as a white powder after HPLC purification.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.57 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 7.52-7.46 (m, 3H, H<sub>12, 13</sub>), 4.77-4.74 (m, 1H, H<sub>7</sub>), 4.68 (t, *J* = 8.1 Hz, 2H, H<sub>15</sub>), 4.54 (dd, *J* = 14.9, 5.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.25 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 3.93-3.85 (m, 3H, H<sub>1, 14</sub>), 3.48 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.19 (bd, *J* = 12.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.09-2.04 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.01-1.92 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 1.76-1.71 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 170.1 (C<sub>6</sub>), 158.4 (C<sub>16</sub>), 141.9 (C<sub>9 or 10</sub>), 129.6 (C<sub>9 or 10</sub>), 129.5 (2C<sub>12</sub>), 128.9 (C<sub>8</sub>), 128.2 (C<sub>13</sub>), 126.6 (2C<sub>11</sub>), 65.1 (C<sub>15</sub>), 60.2 (C<sub>4</sub>), 57.5 (C<sub>1</sub>), 49.2 (C<sub>7</sub>), 46.4 (C<sub>14</sub>), 43.6 (C<sub>5</sub>), 20.0 (C<sub>2</sub>), 18.8 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 463.1036 ; found: 463.1032

**[α]<sub>D</sub>** : - 42.0° (2.7 mg/mL, H<sub>2</sub>O)

**HPLC purity** : 99.0%

**HPLC retention time** : 9.9 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, l = 220 nm)

### III. Compounds from chapter II

#### General procedure H Preparation of phosphines phenol esters

---

To a solution of (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine (1 equiv.) in DCM were successively added DCC (3 equiv.), DMAP (4 equiv.) and a carboxylic acid (3 equiv.). The mixture was stirred for 16h at room temperature then filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography to afford the desired phosphine phenol ester.

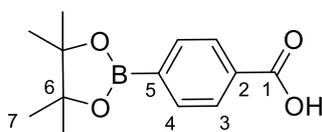
#### General procedure I Traceless Staudinger ligation

---

A solution of azido-DBO **12** (1 equiv.) and a phosphine phenol ester (1 equiv.) in a mixture of THF and water (10/1) was stirred at 40°C for 16h. Then, the mixture was diluted with DCM and washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated under reduced pressure before flash chromatography purification.

## 4-carboxyphenylboronic acid pinacol ester (**30b**)

---



Chemical formula: C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>BO<sub>4</sub>

Molecular weight: 248.09 g.mol<sup>-1</sup>

4-carboxyphenylboronic acid (500 mg, 3.01 mmol) and pinacol (356 mg, 3.01 mmol) were dissolved in a mixture of THF (10 mL) and toluene (10 mL) and stirred for 2h at 45°C. Then the solvents were evaporated under reduced pressure to yield **30b** (740 mg, 99%) as a white solid.

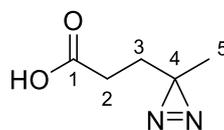
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.10 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H<sub>4</sub>), 7.91 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H<sub>3</sub>), 1.36 (s, 12H, H<sub>7</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 172.0 (C<sub>1</sub>), 134.9 (2C<sub>3</sub>), 131.5 (C<sub>2</sub>), 129.3 (2C<sub>4</sub>), 84.4 (2C<sub>6</sub>), 25.0 (4C<sub>7</sub>).  
*C<sub>5</sub> not visible on the <sup>13</sup>C NMR spectrum.*

*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>203</sup>

### 3-methyl-diazirine-3-propanoic acid (**30h**)

---



Chemical formula: C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Molecular weight: 128.13 g.mol<sup>-1</sup>

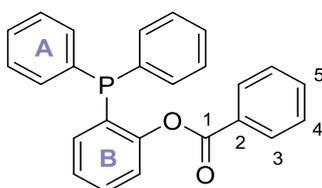
A solution of NH<sub>3</sub> 7M in MeOH (4,5 mL, 31.3 mmol) was added at 0°C to a solution of levulinic acid (400 μL, 3.91 mmol) in MeOH (1 mL). The reaction mixture was stirred for 3h at 0°C and then a solution of hydroxylamine-*O*-sulfonic acid (486 mg, 4.30 mmol) in MeOH (2 mL) was added at 0°C. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight, then NH<sub>3</sub> was removed with air stream for 1h. The resulting suspension was then filtered and the filtrate concentrated under reduced pressure. The residue was taken up in MeOH (2 mL) and cooled to 0°C. NEt<sub>3</sub> (820 μL, 5.86 mmol) was added and the resulting mixture was stirred at 0°C for 5 min and then I<sub>2</sub> was added in portions. The addition was continued until the colour of iodine persisted (892 mg, 3.52 mmol). The reaction mixture was stirred for 5 min at room temperature and diluted with EtOAc. The organic layer was then washed with 1M HCl, 10% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum to afford compound **30h** (288 mg, 58%) as a yellow oil.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.20 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H<sub>2</sub>), 1.68 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H<sub>3</sub>), 1.00 (s, 3H, H<sub>5</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 178.9 (C<sub>1</sub>), 29.4 (C<sub>3</sub>), 28.6 (C<sub>2</sub>), 25.1 (C<sub>4</sub>), 19.7 (C<sub>5</sub>)

*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>204</sup>

## 2-(diphenylphosphaneyl)phenyl benzoate (**31a**)



Chemical formula: C<sub>25</sub>H<sub>19</sub>O<sub>2</sub>P

Molecular weight: 382.40 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure H** for the preparation of phosphines phenol esters, starting from (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine (200 mg, 0.72 mmol) and benzoic acid (263 mg, 2.16 mmol) in DCM (7 mL) and using cyclohexane/ethyl acetate (95/5) as eluent for flash chromatography purification, compound **31a** (247 mg, 90%) was obtained as a white solid.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.89 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H, H<sub>3</sub>), 7.55 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.47-7.43 (m, 1H, H<sub>B</sub>), 7.39-7.33 (m, 13H, H<sub>4, A, B</sub>), 7.20 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 6.91 (ddd, *J* = 7.5, 4.2, 1.4 Hz, 1H, H<sub>B</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 164.3 (C<sub>1</sub>), 152.8 (C<sub>qB</sub>), 135.5 (2C<sub>qA</sub>), 134.2 (2C<sub>A</sub>), 134.1 (2C<sub>A</sub>), 133.6 (C<sub>B</sub>), 133.4 (C<sub>5</sub>), 130.8 (C<sub>qB</sub>), 130.2 (2C<sub>3</sub>), 130.0 (C<sub>B</sub>), 129.2 (C<sub>2</sub>), 129.1 (2C<sub>A</sub>), 128.6 (4C<sub>A</sub>), 128.3 (2C<sub>4</sub>), 126.2 (C<sub>B</sub>), 122.7 (C<sub>B</sub>)

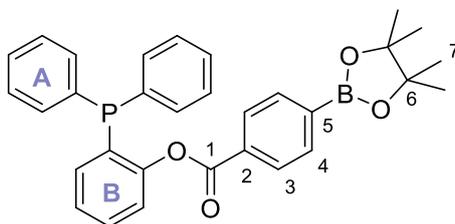
**<sup>31</sup>P NMR** (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -15.4

**HRMS** calculated for C<sub>25</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>P [M+H]<sup>+</sup>: 383.1201 ; found: 383.1198

*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>225</sup>

<sup>225</sup> J. Zhang, H. Wang, M. Xian, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 477-480

## 2-(diphenylphosphaneyl)phenyl 4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzoate (**31b**)



Chemical formula: C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>BO<sub>4</sub>P

Molecular weight: 508.36 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure H** for the preparation of phosphines phenol esters, starting from (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine (200 mg, 0.72 mmol) and 4-carboxyphenylboronic acid pinacol ester **30b** (535 mg, 2.16 mmol) in DCM (7 mL) and using cyclohexane/ethyl acetate (96/4) as eluent for flash chromatography purification, compound **31b** (271 mg, 74%) was obtained as a white foam.

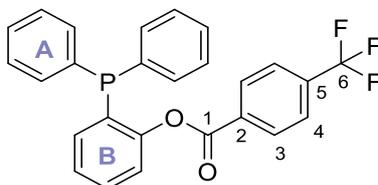
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.87-7.83 (m, 4H, H<sub>3,4</sub>), 7.46-7.42 (m, 1H, H<sub>B</sub>), 7.39-7.33 (m, 11H, H<sub>A,B</sub>), 7.19 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 6.91 (ddd, *J* = 7.5, 4.2, 1.4 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 1.39 (s, 12H, H<sub>7</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 164.3 (C<sub>1</sub>), 152.8 (C<sub>qB</sub>), 135.5 (2C<sub>qA</sub>), 134.6 (2C<sub>3</sub>), 134.2 (2C<sub>A</sub>), 134.1 (2C<sub>A</sub>), 133.6 (C<sub>B</sub>), 131.4 (C<sub>2</sub>), 130.8 (C<sub>qB</sub>), 129.9 (C<sub>B</sub>), 129.2 (2C<sub>4</sub>), 129.1 (2C<sub>A</sub>), 128.7 (2C<sub>A</sub>), 128.6 (2C<sub>A</sub>), 126.2 (C<sub>B</sub>), 122.6 (C<sub>B</sub>), 84.3 (2C<sub>6</sub>), 25.0 (4C<sub>7</sub>). C<sub>5</sub> not visible on the <sup>13</sup>C NMR spectrum.

**<sup>31</sup>P NMR** (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -15.3

**HRMS** calculated for C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>BO<sub>4</sub>P [M+H]<sup>+</sup>: 509.2053 ; found: 509.2036

## 2-(diphenylphosphaneyl)phenyl 4-(trifluoromethyl)benzoate (**31c**)



Chemical formula: C<sub>26</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>O<sub>2</sub>P

Molecular weight: 450.40 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure H** for the preparation of phosphines phenol esters, starting from (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine (200 mg, 0.72 mmol) and 4-(trifluoromethyl)benzoic acid (410 mg, 2.16 mmol) in DCM (7 mL) and using cyclohexane/ethyl acetate (98/2) as eluent for flash chromatography purification, compound **31c** (285 mg, 88%) was obtained as a white foam.

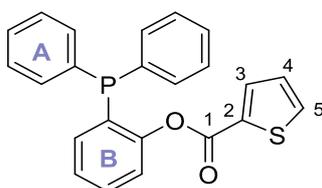
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.98 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H<sub>3</sub>), 7.65 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H<sub>4</sub>), 7.48-7.45 (m, 1H, H<sub>B</sub>), 7.39-7.34 (m, 11H, H<sub>A, B</sub>), 7.23 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 6.92 (ddd, *J* = 7.5, 4.3, 1.4 Hz, 1H, H<sub>B</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 163.2 (C<sub>1</sub>), 152.5 (C<sub>qB</sub>), 135.2 (2C<sub>qA</sub>), 134.8 (C<sub>5</sub>), 134.3 (2C<sub>A</sub>), 134.1 (2C<sub>A</sub>), 133.7 (C<sub>B</sub>), 132.5 (C<sub>2</sub>), 130.7 (C<sub>qB</sub>), 130.6 (2C<sub>3</sub>), 130.1 (C<sub>B</sub>), 129.3 (2C<sub>A</sub>), 128.8 (2C<sub>A</sub>), 128.7 (2C<sub>A</sub>), 126.6 (C<sub>B</sub>), 125.4 (2C<sub>4</sub>), 123.7 (C<sub>6</sub>), 122.5 (C<sub>B</sub>)

**<sup>31</sup>P NMR** (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -15.3

**HRMS** calculated for C<sub>26</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>O<sub>2</sub>P [M-H]<sup>-</sup>: 449.0924 ; found: 449.0927

## 2-(diphenylphosphaneyl)phenyl thiophene-2-carboxylate (**31d**)



Chemical formula: C<sub>23</sub>H<sub>17</sub>O<sub>2</sub>PS

Molecular weight: 388.42 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure H** for the preparation of phosphines phenol esters, starting from (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine (200 mg, 0.72 mmol) and 2-thiophenecarboxylic acid (276 mg, 2.16 mmol) in DCM (7 mL) and using cyclohexane/ethyl acetate (96/4) as eluent for flash chromatography purification, compound **31d** (277 mg, 99%) was obtained as a white foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.67 (dd, *J* = 3.8, 1.2 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.55 (dd, *J* = 5.0, 1.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.45 (td, *J* = 8.1, 1.5 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 7.41-7.33 (m, 11H, H<sub>A, B</sub>), 7.20 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 7.05 (dd, *J* = 4.9, 3.8 Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 6.92 (ddd, *J* = 7.6, 4.2, 1.6 Hz, 1H, H<sub>B</sub>)

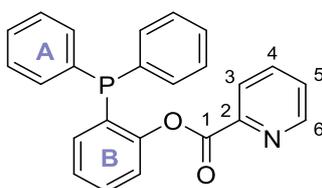
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 159.7 (C<sub>1</sub>), 152.5 (C<sub>qB</sub>), 135.5 (2C<sub>qA</sub>), 134.6 (C<sub>3</sub>), 134.2 (2C<sub>A</sub>), 134.0 (2C<sub>A</sub>), 133.6 (C<sub>B</sub>), 133.5 (C<sub>5</sub>), 132.6 (C<sub>2</sub>), 130.8 (C<sub>qB</sub>), 129.9 (C<sub>B</sub>), 129.0 (2C<sub>A</sub>), 128.6 (2C<sub>A</sub>), 128.5 (2C<sub>A</sub>), 127.7 (C<sub>4</sub>), 126.3 (C<sub>B</sub>), 122.6 (C<sub>B</sub>)

**<sup>31</sup>P NMR** (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -15.5

**HRMS** calculated for C<sub>23</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>PS [M+H]<sup>+</sup>: 389.0765 ; found: 389.0749

## 2-(diphenylphosphaneyl)phenyl picolinate (**31e**)

---



Chemical formula: C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>2</sub>P

Molecular weight: 383.39 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure H** for the preparation of phosphines phenol esters, starting from (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine (300 mg, 1.08 mmol) and 2-picolinic acid (398 mg, 3.23 mmol) in DCM (10 mL) and using cyclohexane/ethyl acetate (8/2) as eluent for flash chromatography purification, compound **31e** (370 mg, 90%) was obtained as a beige foam.

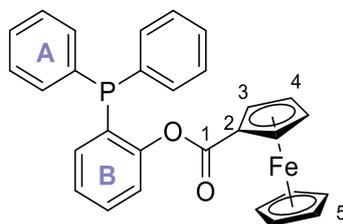
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.61 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 7.70 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.57 (td, *J* = 7.7, 1.2 Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 7.32-7.27 (m, 2H, H<sub>5, B</sub>), 7.24-7.15 (m, 11H, H<sub>A, B</sub>), 7.05 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 6.80 (ddd, *J* = 7.5, 4.2, 1.3 Hz, 1H, H<sub>B</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 162.5 (C<sub>1</sub>), 152.9 (C<sub>qB</sub>), 150.0 (C<sub>6</sub>), 147.0 (C<sub>2</sub>), 136.7 (C<sub>4</sub>), 135.4 (2C<sub>qA</sub>), 134.0 (2C<sub>A</sub>), 133.9 (2C<sub>A</sub>), 133.8 (C<sub>B</sub>), 130.5 (C<sub>qB</sub>), 130.1 (C<sub>B</sub>), 129.0 (2C<sub>A</sub>), 128.5 (4C<sub>A</sub>), 127.0 (C<sub>5</sub>), 126.4 (C<sub>B</sub>), 125.6 (C<sub>3</sub>), 122.5 (C<sub>B</sub>)

**<sup>31</sup>P NMR** (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -16.1

**HRMS** calculated for C<sub>24</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>P [M+H]<sup>+</sup>: 384.1153 ; found: 384.1137

## 2-(diphenylphosphaneyl)phenyl ferrocenecarboxylate (**31f**)



Chemical formula: C<sub>29</sub>H<sub>23</sub>FeO<sub>2</sub>P  
Molecular weight: 490.32 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure H** for the preparation of phosphines phenol esters, starting from (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine (200 mg, 0.72 mmol) and ferrocenecarboxylic acid (496 mg, 2.16 mmol) in DCM (7 mL) and using cyclohexane/ethyl acetate (96/4) as eluent for flash chromatography purification, compound **31f** (333 mg, 95%) was obtained as an orange foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.48-7.40 (m, 12H, H<sub>A, B</sub>), 7.19 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 6.90 (ddd, *J* = 7.6, 4.0, 1.3 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 4.74-4.73 (m, 2H, H<sub>3</sub>), 4.44-4.43 (m, 2H, H<sub>4</sub>), 4.33 (s, 5H, H<sub>5</sub>)

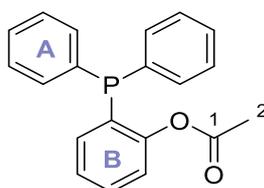
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.7 (C<sub>1</sub>), 153.1 (C<sub>qB</sub>), 136.0 (2C<sub>qA</sub>), 134.0 (2C<sub>A</sub>), 133.8 (2C<sub>A</sub>), 133.6 (C<sub>B</sub>), 129.9 (C<sub>B</sub>), 129.7 (C<sub>qB</sub>), 128.9 (2C<sub>A</sub>), 128.6 (2C<sub>A</sub>), 128.5 (2C<sub>A</sub>), 125.8 (C<sub>B</sub>), 122.2 (C<sub>B</sub>), 71.7 (2C<sub>4</sub>), 70.5 (2C<sub>3</sub>), 70.1 (5C<sub>5</sub>), 70.0 (C<sub>2</sub>)

**<sup>31</sup>P NMR** (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -16.0

**HRMS** calculated for C<sub>29</sub>H<sub>24</sub>FeO<sub>2</sub>P [M+H]<sup>+</sup>: 491.0863 ; found: 491.0846

## 2-(diphenylphosphaneyl)phenyl acetate (**31g**)

---



Chemical formula: C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>O<sub>2</sub>P

Molecular weight: 320.33 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure H** for the preparation of phosphines phenol ester, starting from (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine (200 mg, 0.72 mmol) and acetic acid (123  $\mu$ L, 2.16 mmol) in DCM (7 mL) and using cyclohexane/ethyl acetate (95/5) as eluent for flash chromatography purification, compound **31g** (219 mg, 95%) was obtained as a white foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.42-7.39 (m, 11H, H<sub>A, B</sub>), 7.21-7.15 (m, 2H, H<sub>B</sub>), 6.93-6.91 (m, 1H, H<sub>B</sub>), 2.02 (s, 3H, H<sub>2</sub>)

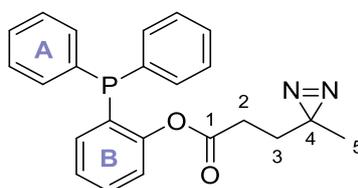
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  168.9 (C<sub>1</sub>), 152.7 (C<sub>qB</sub>), 135.5 (2C<sub>qA</sub>), 134.0 (2C<sub>A</sub>), 133.9 (2C<sub>A</sub>), 133.7 (C<sub>B</sub>), 130.4 (C<sub>qB</sub>), 129.9 (C<sub>B</sub>), 129.1 (2C<sub>A</sub>), 128.6 (4C<sub>A</sub>), 126.2 (C<sub>B</sub>), 122.6 (C<sub>B</sub>), 20.6 (C<sub>2</sub>)

**<sup>31</sup>P NMR** (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -15.8

**HRMS** calculated for C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>P [M+H]<sup>+</sup>: 321.1044 ; found: 321.1038

*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>202</sup>

## 2-(diphenylphosphaneyl)phenyl 3-methyl-diazirine-3-propanoate (**31h**)



Chemical formula: C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>P  
Molecular weight: 388.41 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure H** for the preparation of phosphines phenol esters, starting from (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine (208 mg, 0.75 mmol) and 3-methyl-diazirine-3-propanoic acid **30h** (288 mg, 2.24 mmol) in DCM (7 mL) and using cyclohexane/ethyl acetate (96/4) as eluent for flash chromatography purification, compound **31h** (242 mg, 83%) was obtained as a colorless oil.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.41-7.33 (m, 11H, H<sub>A, B</sub>), 7.21-7.19 (m, 1H, H<sub>B</sub>), 7.15 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 6.86 (ddd, *J* = 7.6, 4.4, 1.5 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 2.15 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H, H<sub>2</sub>), 1.56 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H, H<sub>3</sub>), 0.99 (s, 3H, H<sub>5</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.1 (C<sub>1</sub>), 152.6 (C<sub>qB</sub>), 135.5 (2C<sub>qA</sub>), 134.1 (2C<sub>A</sub>), 133.9 (2C<sub>A</sub>), 133.7 (C<sub>B</sub>), 130.3 (C<sub>qB</sub>), 130.0 (C<sub>B</sub>), 129.1 (2C<sub>A</sub>), 128.7 (4C<sub>A</sub>), 126.3 (C<sub>B</sub>), 122.6 (C<sub>B</sub>), 29.4 (C<sub>3</sub>), 28.6 (C<sub>2</sub>), 25.0 (C<sub>4</sub>), 19.6 (C<sub>5</sub>)

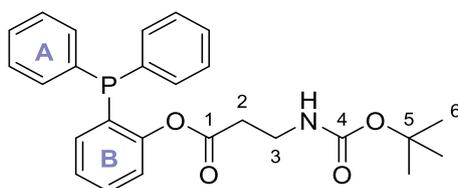
**<sup>31</sup>P NMR** (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -15.8

**HRMS** calculated for C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>P [M+H]<sup>+</sup>: 389.1419 ; found: 389.1417

*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>226</sup>

<sup>226</sup> A. M. Ahad, S. M. Jensen, J. C. Jewett, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 5060-5063

## 2-(diphenylphosphaneyl)phenyl *N*-Boc- $\beta$ -alanine (**31i**)



Chemical formula: C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>4</sub>P

Molecular weight: 449.49 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure H** for the preparation of phosphines phenol esters, starting from (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine (200 mg, 0.72 mmol) and Boc- $\beta$ -Ala-OH (408 mg, 2.16 mmol) in DCM (7 mL) and using cyclohexane/ethyl acetate (8/2) as eluent for flash chromatography purification, compound **31i** (321 mg, 99%) was obtained as a white foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.39-7.34 (m, 11H, H<sub>A, B</sub>), 7.17-7.12 (m, 2H, H<sub>B</sub>), 6.89-6.87 (m, 1H, H<sub>B</sub>), 5.15 (bs, 1H, NH), 3.33-3.32 (m, 2H, H<sub>3</sub>), 2.51 (t,  $J = 5.4$  Hz, 2H, H<sub>2</sub>), 1.47 (s, 9H, H<sub>6</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.3 (C<sub>1</sub>), 155.7 (C<sub>4</sub>), 152.6 (C<sub>qB</sub>), 135.3 (2C<sub>qA</sub>), 133.9 (2C<sub>A</sub>), 133.8 (3C, 2C<sub>A</sub> and C<sub>B</sub>), 130.1 (C<sub>qB</sub>), 130.0 (C<sub>B</sub>), 129.1 (2C<sub>A</sub>), 128.6 (4C<sub>A</sub>), 126.3 (C<sub>B</sub>), 122.5 (C<sub>B</sub>), 79.1 (C<sub>5</sub>), 35.9 (C<sub>3</sub>), 34.7 (C<sub>2</sub>), 28.4 (3C<sub>6</sub>)

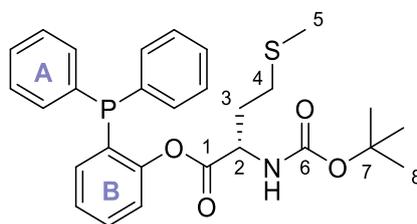
**<sup>31</sup>P NMR** (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -16.7

**HRMS** calculated for C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>4</sub>P [M+H]<sup>+</sup>: 450.1834 ; found: 450.1824

*Spectral data are in accordance with literature.*<sup>227</sup>

<sup>227</sup> J. Jiang, M. Taniguchia, J. S. Lindsey, *New J. Chem.* **2015**, 39, 4534-4550

## 2-(diphenylphosphaneyl)phenyl *N*-Boc-methionine (**31j**)



Chemical formula: C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>NO<sub>4</sub>PS

Molecular weight: 509.60 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure H** for the preparation of phosphines phenol esters, starting from (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine (200 mg, 0.72 mmol) and Boc-Met-OH (538 mg, 2.16 mmol) in DCM (7 mL) and using cyclohexane/ethyl acetate (9/1) as eluent for flash chromatography purification, compound **31j** (335 mg, 91%) was obtained as a white foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.40-7.28 (m, 11H, H<sub>A, B</sub>), 7.19 (dd, *J* = 7.7, 4.0 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 7.14 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 6.82 (ddd, *J* = 7.6, 4.1, 1.5 Hz, 1H, H<sub>B</sub>), 5.01 (bd, *J* = 7.3 Hz, 1H, NH), 4.48-4.43 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 2.56-2.46 (m, 2H, H<sub>4</sub>), 2.15-2.08 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, H<sub>5</sub>), 1.82-1.75 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.46 (s, 9H, H<sub>8</sub>)

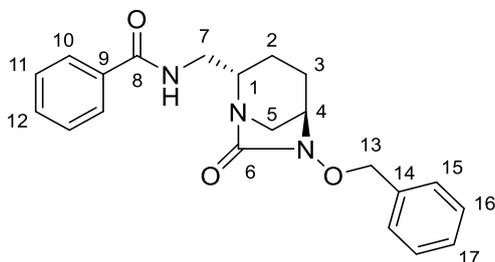
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.1 (C<sub>1</sub>), 155.2 (C<sub>6</sub>), 152.5 (C<sub>qB</sub>), 135.2 (2C<sub>qA</sub>), 133.9 (2C<sub>A</sub>), 133.7 (3C, 2C<sub>A</sub> and C<sub>B</sub>), 130.0 (C<sub>B</sub>), 129.8 (C<sub>qB</sub>), 129.0 (2C<sub>A</sub>), 128.6 (4C<sub>A</sub>), 126.4 (C<sub>B</sub>), 122.2 (C<sub>B</sub>), 79.8 (C<sub>7</sub>), 52.9 (C<sub>2</sub>), 31.4 (C<sub>3</sub>), 29.9 (C<sub>4</sub>), 28.3 (3C<sub>8</sub>), 15.3 (C<sub>5</sub>)

**<sup>31</sup>P NMR** (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -17.1

**HRMS** calculated for C<sub>28</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>4</sub>PS [M+H]<sup>+</sup>: 510.1868 ; found: 510.1852

**[α]<sub>D</sub>**: -44.2° (9.0 mg/mL, MeOH)

***N*-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)benzamide  
(32a)**



Chemical formula: C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 365.43 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure I** for the traceless Staudinger ligation, compound **32a** (83 mg, 81%) was obtained as a colourless oil after purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (3/7) as eluent, starting from azido-DBO **12** (81 mg, 0.28 mmol) and ester phenylphosphine **31a** (108 mg, 0.28 mmol) in THF/H<sub>2</sub>O (4,4 mL).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.76 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 7.45-7.33 (m, 8H, H<sub>11, 12, 15, 16, 17</sub>), 6.90 (bs, 1H, NH), 5.01 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.88 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 3.67-3.60 (m, 3H, H<sub>1, 7</sub>), 3.34-3.33 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.01 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.83 (bd, *J* = 11.7 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.06-1.97 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 1.67-1.61 (m, 1H; H<sub>3</sub>), 1.47-1.41 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

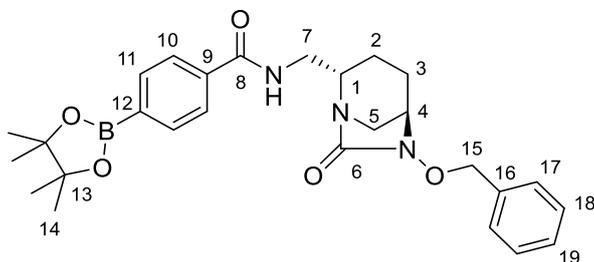
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.4 (C<sub>6</sub>), 167.8 (C<sub>8</sub>), 135.9 (C<sub>14</sub>), 134.2 (C<sub>9</sub>), 131.7 (C<sub>12</sub>), 129.4 (2C<sub>15</sub>), 128.9 (C<sub>17</sub>), 128.7 (4C, 2C<sub>11</sub> and 2C<sub>16</sub>), 127.2 (2C<sub>10</sub>), 78.4 (C<sub>13</sub>), 58.5 (C<sub>4</sub>), 56.4 (C<sub>1</sub>), 43.8 (C<sub>5</sub>), 40.8 (C<sub>7</sub>), 20.9 (C<sub>2</sub>), 20.2 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 366.1818 ; found: 366.1806

**[α]<sub>D</sub>** : - 29.7° (11 mg/mL, MeOH)

***N*-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamide (**32b**)**

---



Chemical formula: C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>BN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>

Molecular weight: 491.40 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure I** for the traceless Staudinger ligation, compound **32b** (80 mg, 52%) was obtained as a white foam after purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (3/7) as eluent, starting from azido-DBO **12** (90 mg, 0.31 mmol) and ester phenylphosphine **31b** (160 mg, 0.31 mmol) in THF/H<sub>2</sub>O (5,5 mL).

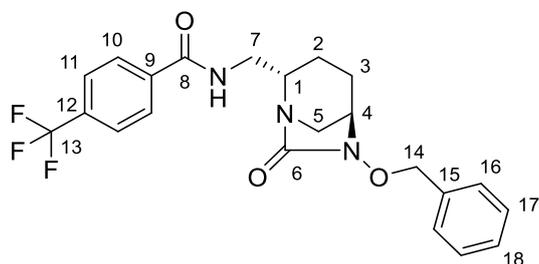
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.81 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 7.74 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 7.41-7.39 (m, 2H, H<sub>17</sub>), 7.37-7.31 (m, 3H, H<sub>18</sub>, <sub>19</sub>), 6.85 (bs, 1H, NH), 5.02 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>15</sub>), 4.88 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>15</sub>), 3.66-3.60 (m, 3H, H<sub>1,7</sub>), 3.33-3.31 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.99 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.84 (bd, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.08-1.97 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.67-1.60 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.46-1.41 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.33 (s, 12H, H<sub>14</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.9 (C<sub>6</sub>), 167.7 (C<sub>8</sub>), 136.4 (C<sub>9</sub>), 135.8 (C<sub>16</sub>), 134.9 (2C<sub>11</sub>), 129.3 (2C<sub>17</sub>), 128.8 (C<sub>19</sub>), 128.6 (2C<sub>18</sub>), 126.3 (2C<sub>10</sub>), 84.1 (2C<sub>13</sub>), 78.3 (C<sub>15</sub>), 58.6 (C<sub>4</sub>), 56.3 (C<sub>1</sub>), 43.8 (C<sub>5</sub>), 40.8 (C<sub>7</sub>), 24.9 (4C<sub>14</sub>), 20.8 (C<sub>2</sub>), 20.2 (C<sub>3</sub>). C<sub>12</sub> not visible in the <sup>13</sup>C NMR spectrum.

**HRMS** calculated for C<sub>27</sub>H<sub>35</sub>BN<sub>3</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 492.2670 ; found: 492.2653

**[α]<sub>D</sub>** : - 28.9° (6,1 mg/mL, MeOH)

***N*-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-4-(trifluoromethyl)benzamide (**32c**)**



Chemical formula: C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 433.43 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure I** for the traceless Staudinger ligation, compound **32c** (116 mg, 77%) was obtained as a white solid after purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (4/6) as eluent, starting from azido-DBO **12** (100 mg, 0.35 mmol) and ester phenylphosphine **31c** (157 mg, 0.35 mmol) in THF/H<sub>2</sub>O (5,5 mL).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.85 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 7.55 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 7.39-7.36 (m, 2H, H<sub>16</sub>), 7.35-7.29 (m, 3H, H<sub>17, 18</sub>), 7.24 (bs, 1H, NH), 4.99 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 4.87 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 3.76-3.69 (m, 1H, H<sub>7</sub>), 3.66-3.58 (m, 2H, H<sub>1, 7</sub>), 3.38-3.36 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.08 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.82 (bd, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.05-1.97 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 1.69-1.62 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.48-1.43 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

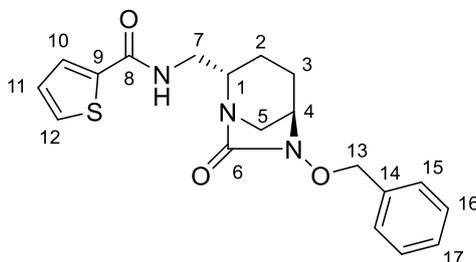
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.1 (C<sub>6</sub>), 166.4 (C<sub>8</sub>), 137.4 (C<sub>9</sub>), 135.6 (C<sub>15</sub>), 132.9 (C<sub>12</sub>), 129.2 (2C<sub>16</sub>), 128.8 (C<sub>18</sub>), 128.6 (2C<sub>17</sub>), 127.7 (2C<sub>10</sub>), 125.4 (2C<sub>11</sub>), 123.7 (C<sub>13</sub>), 78.3 (C<sub>14</sub>), 58.5 (C<sub>4</sub>), 56.6 (C<sub>1</sub>), 44.0 (C<sub>5</sub>), 40.8 (C<sub>7</sub>), 20.6 (C<sub>2</sub>), 20.1 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 434.1692 ; found: 434.1674

**[α]<sub>D</sub>** : - 29.6° (9,9 mg/mL, MeOH)

***N*-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)thiophene-2-carboxamide (**32d**)**

---



Chemical formula: C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S

Molecular weight: 371.46 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure I** for the traceless Staudinger ligation, compound **32d** (105 mg, 85%) was obtained as a white foam after purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (2/8) as eluent, starting from azido-DBO **12** (95 mg, 0.33 mmol) and ester phenylphosphine **31d** (128 mg, 0.33 mmol) in THF/H<sub>2</sub>O (5,5 mL).

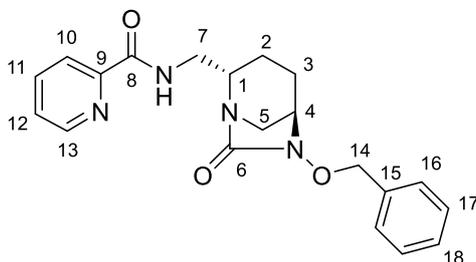
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.52 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H, H<sub>10</sub>), 7.41-7.39 (m, 3H, H<sub>12, 15</sub>), 7.36-7.30 (m, 3H, H<sub>16, 17</sub>), 6.99-6.95 (m, 2H, H<sub>11</sub> and NH), 5.01 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.87 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 3.65-3.58 (m, 3H, H<sub>1, 7</sub>), 3.34-3.33 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.03 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.85 (bd, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.03-1.95 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 1.67-1.60 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.47-1.42 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.0 (C<sub>6</sub>), 162.2 (C<sub>8</sub>), 138.9 (C<sub>9</sub>), 135.7 (C<sub>14</sub>), 130.1 (C<sub>12</sub>), 129.2 (2C<sub>15</sub>), 128.8 (C<sub>17</sub>), 128.5 (2C<sub>16</sub>), 128.2 (C<sub>10</sub>), 127.6 (C<sub>11</sub>), 78.2 (C<sub>13</sub>), 58.5 (C<sub>4</sub>), 56.4 (C<sub>1</sub>), 44.0 (C<sub>5</sub>), 40.6 (C<sub>7</sub>), 20.5 (C<sub>2</sub>), 20.1 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: 372.1382 ; found: 372.1366

**[α]<sub>D</sub>** : - 36.4° (6,7 mg/mL, MeOH)

***N*-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2yl)methyl)picolinamide  
(**32e**)**



Chemical formula: C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 366.42 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure I** for the traceless Staudinger ligation, compound **32e** (58 mg, 51%) was obtained as a white foam after purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (3/7) as eluent, starting from azido-DBO **12** (90 mg, 0.31 mmol) and ester phenylphosphine **31e** (120 mg, 0.31 mmol) in THF/H<sub>2</sub>O (4,4 mL).

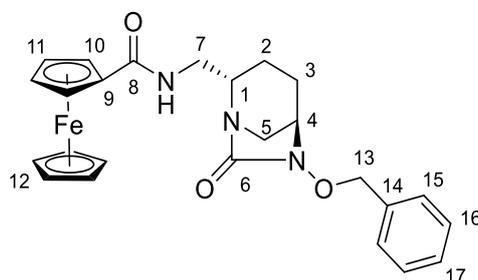
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.51 (ddd, *J* = 4.8, 1.6, 0.9 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 8.29 (bs, 1H, NH), 8.13 (dt, *J* = 7.8, 1.0 Hz, 1H, H<sub>10</sub>), 7.79 (td, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 7.42-7.30 (m, 6H, H<sub>12, 16, 17, 18</sub>), 5.02 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 4.88 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 3.74-3.59 (m, 3H, H<sub>1, 7</sub>), 3.33-3.32 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.03 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.91 (bd, *J* = 11.8 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.09-1.98 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 1.68-1.60 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.48-1.42 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.9 (C<sub>6</sub>), 164.7 (C<sub>8</sub>), 149.7 (C<sub>9</sub>), 148.3 (C<sub>13</sub>), 137.3 (C<sub>11</sub>), 136.0 (C<sub>15</sub>), 129.3 (2C<sub>16</sub>), 128.7 (C<sub>18</sub>), 128.6 (2C<sub>17</sub>), 126.3 (C<sub>12</sub>), 122.2 (C<sub>10</sub>), 78.2 (C<sub>14</sub>), 58.6 (C<sub>4</sub>), 56.6 (C<sub>1</sub>), 43.9 (C<sub>5</sub>), 40.5 (C<sub>7</sub>), 20.8 (C<sub>2</sub>), 20.3 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 367.1770 ; found: 367.1752

**[α]<sub>D</sub>** : - 36.9° (6,4 mg/mL, MeOH)

***N*-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)ferrocene carboxamide (**32f**)**



Chemical formula: C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>FeN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 473.35 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure I** for the traceless Staudinger ligation, compound **32f** (140 mg, 85%) was obtained as an orange foam after purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (2/8) as eluent, starting from azido-DBO **12** (100 mg, 0.35 mmol) and ester phenylphosphine **31f** (171 mg, 0.35 mmol) in THF/H<sub>2</sub>O (5,5 mL).

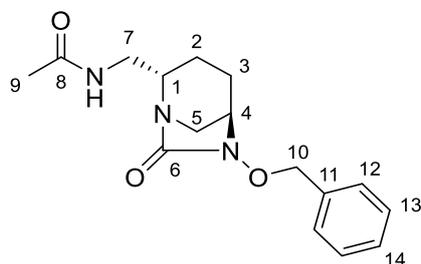
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.43-7.40 (m, 2H, H<sub>15</sub>), 7.38-7.32 (m, 3H, H<sub>16,17</sub>), 6.28 (bs, 1H, NH), 5.04 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.90 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.70-4.67 (m, 2H, H<sub>10</sub>), 4.31-4.30 (m, 2H, H<sub>11</sub>), 4.18 (s, 5H, H<sub>12</sub>), 3.62-3.49 (m, 3H, H<sub>1,7</sub>), 3.35-3.33 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.03 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.89 (bd, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.06-1.98 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.68-1.61 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.48-1.43 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.7 (C<sub>8</sub>), 170.1 (C<sub>6</sub>), 135.9 (C<sub>14</sub>), 129.2 (2C<sub>15</sub>), 128.8 (C<sub>17</sub>), 128.6 (2C<sub>16</sub>), 78.3 (C<sub>13</sub>), 75.9 (C<sub>9</sub>), 70.5 (2C<sub>11</sub>), 69.8 (5C<sub>12</sub>), 68.5 (C<sub>10</sub>), 68.2 (C<sub>10</sub>), 58.7 (C<sub>4</sub>), 56.7 (C<sub>1</sub>), 43.8 (C<sub>5</sub>), 40.4 (C<sub>7</sub>), 20.7 (C<sub>2</sub>), 20.2 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>FeN<sub>3</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 474.1480 ; found: 474.1463

**[α]<sub>D</sub>** : - 30.4° (7,8 mg/mL, MeOH)

***N*-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)acetamide  
(32g)**



Chemical formula: C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 303.36 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure I** for the traceless Staudinger ligation, compound **32g** (102 mg, 97%) was obtained as a white foam after purification by flash chromatography using DCM/MeOH (96/4) as eluent, starting from azido-DBO **12** (100 mg, 0.35 mmol) and ester phenylphosphine **31g** (112 mg, 0.35 mmol) in THF/H<sub>2</sub>O (5,5 mL).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.38-7.36 (m, 2H, H<sub>12</sub>), 7.34-7.28 (m, 3H, H<sub>13, 14</sub>), 6.40 (bs, 1H, NH), 4.98 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>10</sub>), 4.85 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>10</sub>), 3.45-3.37 (m, 3H, H<sub>1, 7</sub>), 3.32-3.30 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.96 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.81 (bd, *J* = 11.7 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 1.98-1.93 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 1.91 (s, 3H, H<sub>9</sub>), 1.61-1.54 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.37-1.34 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

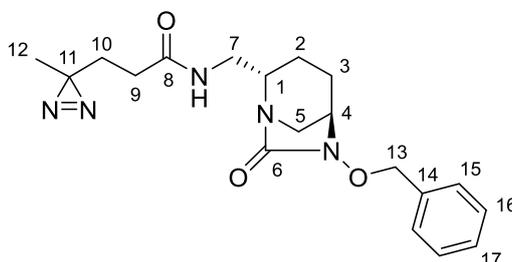
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.5 (C<sub>8</sub>), 169.9 (C<sub>6</sub>), 135.7 (C<sub>11</sub>), 129.2 (2C<sub>12</sub>), 128.7 (C<sub>14</sub>), 128.5 (2C<sub>13</sub>), 78.2 (C<sub>10</sub>), 58.5 (C<sub>4</sub>), 56.5 (C<sub>1</sub>), 43.8 (C<sub>5</sub>), 40.3 (C<sub>7</sub>), 23.1 (C<sub>9</sub>), 20.6 (C<sub>2</sub>), 20.0 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 304.1661 ; found: 304.1647

**[α]<sub>D</sub>** : - 33.7° (6,7 mg/mL, MeOH)

***N*-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)-3-(3-methyl-3*H*-diazirin-3-yl)propanamide (**32h**)**

---



Chemical formula: C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 371.44 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure I** for the traceless Staudinger ligation, compound **32h** (100 mg, 74%) was obtained as a colorless oil after purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (1/9) as eluent, starting from azido-DBO **12** (105 mg, 0.37 mmol) and ester phenylphosphine **31h** (142 mg, 0.37 mmol) in THF/H<sub>2</sub>O (5,5 mL).

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.39-7.35 (m, 2H, H<sub>15</sub>), 7.34-7.28 (m, 3H, H<sub>16,17</sub>), 6.39 (bs, 1H, NH), 4.99 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.85 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 3.43-3.38 (m, 3H, H<sub>1,7</sub>), 3.32-3.30 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.95 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.82 (bd, *J* = 11.6 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.00-1.90 (m, 4H, H<sub>2,3,9</sub>), 1.67 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 1.62-1.54 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.39-1.34 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 0.96 (s, 3H, H<sub>12</sub>)

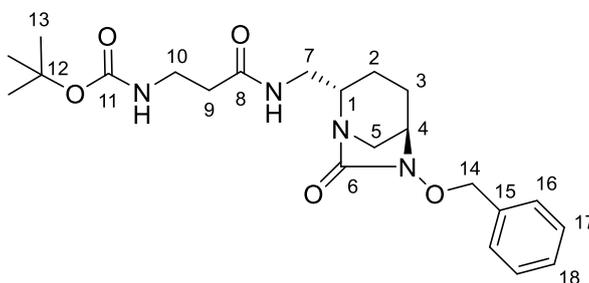
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 171.7 (C<sub>8</sub>), 169.9 (C<sub>6</sub>), 135.7 (C<sub>14</sub>), 129.2 (2C<sub>15</sub>), 128.7 (C<sub>17</sub>), 128.5 (2C<sub>16</sub>), 78.2 (C<sub>13</sub>), 58.5 (C<sub>4</sub>), 56.4 (C<sub>1</sub>), 43.8 (C<sub>5</sub>), 40.3 (C<sub>7</sub>), 30.5 (C<sub>9</sub>), 30.1 (C<sub>10</sub>), 25.4 (C<sub>11</sub>), 20.6 (C<sub>2</sub>), 20.0 (C<sub>3</sub>), 19.8 (C<sub>12</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 372.2036 ; found: 372.2020

**[α]<sub>D</sub>** : - 29.8° (6,1 mg/mL, MeOH)

**tert-butyl (3-(((2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)amino)-3-oxopropyl)carbamate (**32i**)**

---



Chemical formula: C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>

Molecular weight: 432.52 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure I** for the traceless Staudinger ligation, compound **32i** (100 mg, 66%) was obtained as a white foam after purification by flash chromatography using DCM/MeOH (96/4) as eluent, starting from azido-DBO **12** (100 mg, 0.35 mmol) and ester phenylphosphine **31i** (157 mg, 0.35 mmol) in THF/H<sub>2</sub>O (5,5 mL).

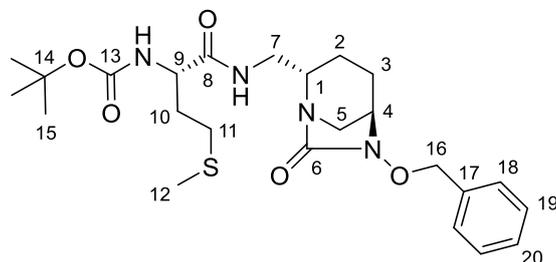
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.39-7.36 (m, 2H, H<sub>16</sub>), 7.35-7.29 (m, 3H, H<sub>17,18</sub>), 6.44 (bs, 1H, NH), 5.29 (bs, 1H, NH<sub>Boc</sub>), 4.99 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 4.85 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 3.45-3.39 (m, 3H, H<sub>1,7</sub>), 3.37-3.30 (m, 3H, H<sub>4,10</sub>), 2.94 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.82 (bd, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.34 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, H<sub>9</sub>), 1.99-1.91 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.61-1.54 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.38 (s, 9H, H<sub>13</sub>), 1.35-1.33 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 171.9 (C<sub>8</sub>), 169.9 (C<sub>6</sub>), 156.0 (C<sub>11</sub>), 135.8 (C<sub>15</sub>), 129.2 (2C<sub>16</sub>), 128.8 (C<sub>18</sub>), 128.6 (2C<sub>17</sub>), 79.1 (C<sub>12</sub>), 78.2 (C<sub>14</sub>), 58.5 (C<sub>4</sub>), 56.5 (C<sub>1</sub>), 43.7 (C<sub>5</sub>), 40.2 (C<sub>7</sub>), 36.8 (C<sub>10</sub>), 36.1 (C<sub>9</sub>), 28.4 (3C<sub>13</sub>), 20.6 (C<sub>2</sub>), 20.1 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 433.2451 ; found: 433.2433

**[α]<sub>D</sub>** : - 32.4° (6,8 mg/mL, MeOH)

**tert-butyl ((2S)-1-(((2S,5R)-6-(benzyloxy)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-2-yl)methyl)amino)-4-(methylthio)-1-oxobutan-2-yl)carbamate (**32j**)**



Chemical formula: C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S  
Molecular weight: 492.64 g.mol<sup>-1</sup>

Following the **general procedure I** for the traceless Staudinger ligation, compound **32j** (94 mg, 55%) was obtained as a white foam after purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (3/7) as eluent, starting from azido-DBO **12** (100 mg, 0.35 mmol) and ester phenylphosphine **31j** (178 mg, 0.35 mmol) in THF/H<sub>2</sub>O (5,5 mL).

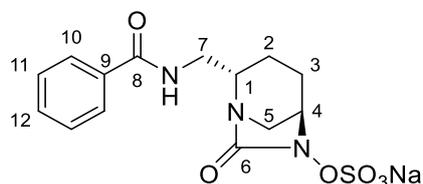
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.40-7.36 (m, 2H, H<sub>18</sub>), 7.36-7.30 (m, 3H, H<sub>19,20</sub>), 6.76 (bs, 1H, NH), 5.33 (bd, *J* = 7.5 Hz, 1H, NH<sub>Boc</sub>), 5.01 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>16</sub>), 4.86 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, H<sub>16</sub>), 4.22-4.21 (m, 1H, H<sub>9</sub>), 3.49-3.41 (m, 3H, H<sub>1,7</sub>), 3.29-3.28 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.92 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.81 (bd, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.51 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 2.08-2.00 (m, 4H, H<sub>10,12</sub>), 1.99-1.92 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.90-1.83 (m, 1H, H<sub>10</sub>), 1.61-1.55 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.40 (s, 9H, H<sub>15</sub>), 1.37-1.34 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 171.9 (C<sub>8</sub>), 169.8 (C<sub>6</sub>), 155.5 (C<sub>13</sub>), 135.9 (C<sub>17</sub>), 129.2 (2C<sub>18</sub>), 128.7 (C<sub>20</sub>), 128.6 (2C<sub>19</sub>), 80.0 (C<sub>14</sub>), 78.3 (C<sub>16</sub>), 58.5 (C<sub>4</sub>), 56.3 (C<sub>1</sub>), 53.8 (C<sub>9</sub>), 43.8 (C<sub>5</sub>), 40.3 (C<sub>7</sub>), 32.1 (C<sub>10</sub>), 30.2 (C<sub>11</sub>), 28.4 (3C<sub>15</sub>), 20.6 (C<sub>2</sub>), 20.1 (C<sub>3</sub>), 15.4 (C<sub>12</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>24</sub>H<sub>37</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: 493.2485 ; found: 493.2466

**[α]<sub>D</sub>** : - 38.8° (6,9 mg/mL, MeOH)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-(benzamidomethyl)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate**  
**(33)**



**Chemical formula:** C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>6</sub>S

**Molecular weight:** 377.35 g.mol<sup>-1</sup>

10 wt % Pd/C (21 mg, 0.20 mmol) was added to a solution of compound **32a** (72 mg, 0.20 mmol) in MeOH (10 mL) and the reaction mixture was stirred under H<sub>2</sub> atmosphere for 48h at room temperature. Palladium was removed by filtration through Celite® and the filtrate was concentrated. A sulfur trioxide-pyridine complex (185 mg, 1.18 mmol) was added to a solution of deprotected compound in pyridine (3 mL) and the reaction mixture was stirred for 2h at room temperature. An additional amount of SO<sub>3</sub>-pyridine complex (62 mg, 0.39 mmol) was added and stirred for 16h at room temperature. The pyridine was then removed under reduced pressure. The crude product was solubilized in water, filtered, eluted on DOWEX Na<sup>+</sup> resin with H<sub>2</sub>O and lyophilized. The residue was dissolved in EtOH, filtered, and concentrated under vacuum. HPLC purification afforded compound **33** (18 mg, 24%) as a white powder.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.83 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 7.67 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H<sub>12</sub>), 7.58 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 4.28 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 3.87 (dd, *J* = 16.0, 11.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 3.70-3.67 (m, 2H, H<sub>1,7</sub>), 3.49 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.23 (bd, *J* = 12.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.13-2.09 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.01-1.93 (m, 2H, H<sub>2,3</sub>), 1.73-1.67 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 171.0 (C<sub>8</sub>), 170.7 (C<sub>6</sub>), 133.4 (C<sub>9</sub>), 132.3 (C<sub>12</sub>), 128.8 (2C<sub>11</sub>), 127.1 (2C<sub>10</sub>), 60.3 (C<sub>4</sub>), 57.4 (C<sub>1</sub>), 44.0 (C<sub>5</sub>), 40.7 (C<sub>7</sub>), 19.9 (C<sub>2</sub>), 19.0 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: 354.0760 ; found: 354.0767

**[α]<sub>D</sub>** : - 51.6° (6,1 mg/mL, MeOH)

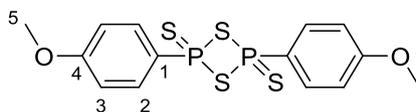
**HPLC purity** : 98.0%

**HPLC retention time** : 10.1 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 220 nm)

## IV. Compounds from chapter III

### Lawesson's reagent<sup>211</sup> (**34**)

---



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>P<sub>2</sub>S<sub>4</sub>

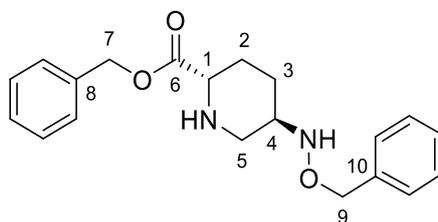
Molecular weight: 404.45 g.mol<sup>-1</sup>

A mixture of phosphorus sulfide P<sub>4</sub>S<sub>10</sub> (5.0 g, 11.2 mmol) and anisole (12.2 mL, 112 mmol) was heated at reflux temperature for 6h. After being cooled down to room temperature, the resulting precipitate was filtered and washed with diethyl ether and dichloromethane, yielding the Lawesson's reagent **34** (7.01 g, 77%) as a pale-yellow solid.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δ 7.63-7.57 (m, 4H, H<sub>2</sub>), 7.01-6.97 (m, 4H, H<sub>3</sub>), 3.79 (s, 6H, H<sub>5</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δ 161.2 (2C<sub>4</sub>), 132.4 (4C<sub>2</sub>), 125.5 (2C<sub>1</sub>), 113.5 (4C<sub>3</sub>), 55.19 (2C<sub>5</sub>)

## benzyl (2*S*,5*R*)-5-((benzyloxy)amino)piperidine-2-carboxylate (**35**)



Chemical formula: C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Molecular weight: 340.42 g.mol<sup>-1</sup>

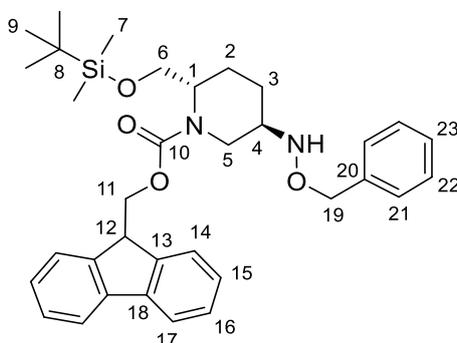
Sodium bicarbonate (390 mg, 4.65 mmol) was added to a solution of benzyl (2*S*,5*R*)-5-((benzyloxy)amino)piperidine-2-carboxylate oxalate (1.0 g, 2.32 mmol) in mixture of water (10 mL) and ethyl acetate (10 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 1h. EtOAc and H<sub>2</sub>O were added and the phases were separated. The organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated in vacuum to afford **35** (782 mg, 99%) as a white solid.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.38-7.27 (m, 10H, H<sub>Bn</sub>), 5.19-5.13 (m, 2H, H<sub>7</sub>), 4.68 (s, 2H, H<sub>9</sub>), 3.38-3.31 (m, 2H, H<sub>1,5</sub>), 3.01-2.96 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.44 (dd, *J* = 11.9, 9.7 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.12-2.07 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.95-1.90 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.60-1.52 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.33-1.25 (m, 1H, H<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 172.8 (C<sub>6</sub>), 137.8 (C<sub>10</sub>), 135.7 (C<sub>8</sub>), 128.6 (2C<sub>Bn</sub>), 128.3 (5C<sub>Bn</sub>), 128.2 (2C<sub>Bn</sub>), 127.8 (C<sub>Bn</sub>), 76.8 (C<sub>9</sub>), 66.5 (C<sub>7</sub>), 58.4 (C<sub>1</sub>), 57.0 (C<sub>4</sub>), 49.4 (C<sub>5</sub>), 28.0 (C<sub>2 or 3</sub>), 27.9 (C<sub>2 or 3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 341.1865 ; found: 341.1863

**(9H-fluoren-9-yl)methyl (2S,5R)-5-((benzyloxy)amino)-2-(((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate (36)**



**Chemical formula:** C<sub>34</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Si

**Molecular weight:** 572.82 g.mol<sup>-1</sup>

DIEA (433  $\mu$ L, 2.49 mmol) and Fmoc chloride (322 mg, 1.24 mmol) were added to a solution of compound **9** (400 mg, 1.18 mmol) in dichloromethane (31 mL) and the reaction mixture was stirred overnight at room temperature. Dichloromethane was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (9/1) as the eluent gave the compound **36** (666 mg, 94%) as a pale-yellow oil.

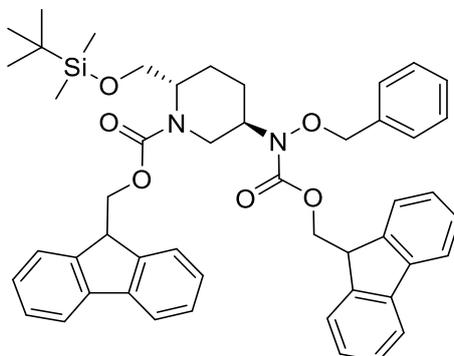
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.79 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H, H<sub>17</sub>), 7.67 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H<sub>14</sub>), 7.42 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H<sub>16</sub>), 7.39-7.28 (m, 7H, H<sub>15</sub>, <sub>21</sub>, <sub>22</sub>, <sub>23</sub>), 4.79-4.72 (m, 2H, H<sub>19</sub>), 4.56 (bs, 1H, H<sub>11</sub>), 4.41 (dd,  $J$  = 10.6, 6.9 Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 4.35-4.23 (m, 3H, H<sub>1</sub>, <sub>5</sub>, <sub>12</sub>), 3.73-3.66 (m, 2H, H<sub>6</sub>), 3.22 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 3.08 (bs, 1H, H<sub>5</sub>), 1.88-1.79 (m, 2H, H<sub>2</sub>, <sub>3</sub>), 1.68 (bs, 1H, H<sub>2</sub>), 1.58-1.53 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 0.94 (s, 9H, H<sub>9</sub>), 0.09 (2s, 6H, H<sub>7</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  156.4 (C<sub>10</sub>), 144.3 (C<sub>13</sub>), 144.2 (C<sub>13</sub>), 141.4 (2C<sub>18</sub>), 138.0 (C<sub>20</sub>), 128.6 (C<sub>23</sub>), 128.4 (2C<sub>21</sub> or <sub>22</sub>), 127.8 (2C<sub>21</sub> or <sub>22</sub>), 127.7 (2C<sub>15</sub>), 127.1 (2C<sub>16</sub>), 125.2 (2C<sub>14</sub>), 120.0 (2C<sub>17</sub>), 76.6 (C<sub>19</sub>), 67.4 (C<sub>11</sub>), 61.7 (C<sub>6</sub>), 54.1 (C<sub>4</sub>), 52.2 (C<sub>1</sub>), 47.5 (C<sub>12</sub>), 41.4 (C<sub>5</sub>), 25.9 (3C<sub>9</sub>), 21.8 (C<sub>3</sub>), 19.8 (C<sub>2</sub>), 18.2 (C<sub>8</sub>), -5.3 (C<sub>7</sub>), -5.4 (C<sub>7</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>34</sub>H<sub>45</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Si [M+H]<sup>+</sup>: 573.3149 ; found: 573.3137

**(9H-fluoren-9-yl)methyl (2S,5R)-5-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)(benzyloxy)amino)-2-(((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)methyl)piperidine-1-carboxylate (**36'**)**

---



Chemical formula: C<sub>49</sub>H<sub>54</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Si

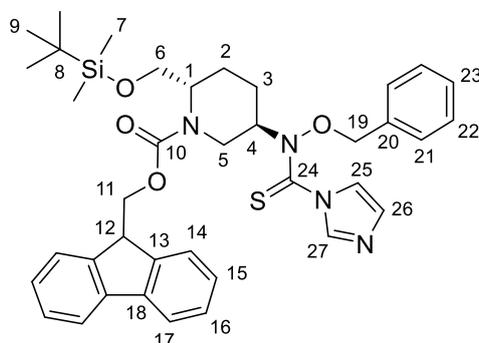
Molecular weight: 795.06 g.mol<sup>-1</sup>

Compound **36'** (30 mg, 3%) was isolated during the synthesis of compound **36**.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.80-7.72 (m, 4H), 7.64-7.55 (m, 3H), 7.47 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.44-7.32 (m, 5H), 7.31-7.21 (m, 8H), 4.78-4.75 (m, 1H), 4.71-4.61 (m, 3H), 4.29-4.19 (m, 5H), 4.08-4.03 (m, 2H), 3.72-3.63 (m, 2H), 3.43 (dd, *J* = 14.7, 5.8 Hz, 1H), 1.99-1.93 (m, 1H), 1.90-1.76 (m, 2H), 1.69-1.62 (m, 1H), 0.92 (s, 9H), 0.06 (2s, 6H)

**MS** calculated for C<sub>49</sub>H<sub>54</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Si [M+H]<sup>+</sup>: 795.4 ; found: 795.3

**(9H-fluoren-9-yl)methyl (2S,5R)-5-(N-(benzyloxy)-1H-imidazole-1-carbothioamido)-2-(((tert-butyl)dimethylsilyloxy)methyl)piperidine-1-carboxylate (37)**



**Chemical formula:** C<sub>38</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>SSi

**Molecular weight:** 682.96 g.mol<sup>-1</sup>

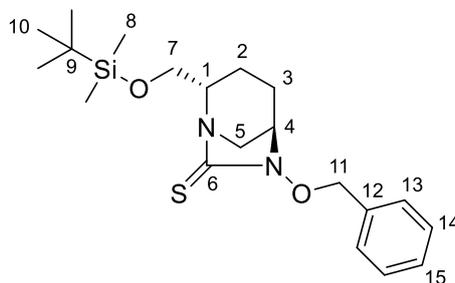
Thiocarbonyldiimidazole (347 mg, 1.95 mmol) and DIEA (452  $\mu$ L, 2.59 mmol) were added to a solution of compound **36** (743 mg, 1.30 mmol) in dichloromethane (26 mL) and the reaction mixture was stirred at room temperature for 16h. Then, an additional amount of thiocarbonyldiimidazole (231 mg, 1.30 mmol) and DIEA (226  $\mu$ L, 1.30 mmol) were added to the reaction mixture and stirred for 24h at room temperature. Dichloromethane was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (6/4) as the eluent gave the compound **37** (719 mg, 81%) as a yellow foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.15 (s, 1H, H<sub>27</sub>), 7.79-7.76 (m, 2H, H<sub>17</sub>), 7.54-7.50 (m, 3H, H<sub>14</sub>, 25), 7.43-7.36 (m, 2H, H<sub>16</sub>), 7.32-7.25 (m, 5H, H<sub>15</sub>, 22, 23), 7.08-7.03 (m, 3H, H<sub>21</sub>, 26), 5.22 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 4.46-4.41 (m, 5H, H<sub>5</sub>, 11, 19), 4.17-4.12 (m, 2H, H<sub>1</sub>, 12), 3.74 (bs, 1H, H<sub>6</sub>), 3.66-3.63 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 3.48 (dd,  $J$  = 15.2, 5.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.16 (bs, 1H, H<sub>3</sub>), 2.04-1.98 (m, 2H, H<sub>2</sub>, 3), 1.77-1.71 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 0.93 (s, 9H, H<sub>9</sub>), 0.07 (2s, 6H, H<sub>7</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  174.1 (C<sub>24</sub>), 155.6 (C<sub>10</sub>), 143.8 (C<sub>13</sub>), 143.7 (C<sub>13</sub>), 141.3 (C<sub>18</sub>), 141.2 (C<sub>18</sub>), 138.5 (C<sub>27</sub>), 132.1 (C<sub>20</sub>), 129.8 (2C<sub>21</sub>), 129.4 (C<sub>23</sub> or 26), 129.3 (C<sub>23</sub> or 26), 128.6 (2C<sub>22</sub>), 127.6 (2C<sub>15</sub>), 127.0 (2C<sub>16</sub>), 124.6 (2C<sub>14</sub>), 120.5 (C<sub>25</sub>), 119.9 (2C<sub>17</sub>), 79.0 (C<sub>19</sub>), 67.1 (C<sub>11</sub>), 62.8 (C<sub>6</sub>), 59.7 (C<sub>4</sub>), 52.8 (C<sub>1</sub>), 47.2 (C<sub>12</sub>), 43.3 (C<sub>5</sub>), 25.8 (3C<sub>9</sub>), 22.0 (C<sub>3</sub>), 21.2 (C<sub>2</sub>), 18.1 (C<sub>8</sub>), -5.5 (2C<sub>7</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>38</sub>H<sub>47</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>SSi [M+H]<sup>+</sup>: 683.3087 ; found: 683.3072

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-2-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-7-thione (38)**



Chemical formula: C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>SSi

Molecular weight: 392.63 g.mol<sup>-1</sup>

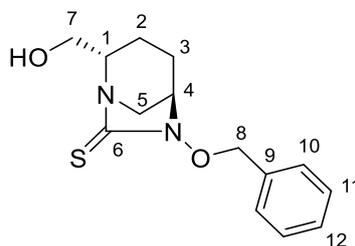
A solution of piperidine 20% in DMF (9.3 mL) was added to compound **37** (637 mg, 0.93 mmol) and the reaction mixture was stirred for 1h at room temperature. Ethyl acetate was then added and the organic layer was washed with water and brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (9/1) as the eluent gave the compound **38** (308 mg, 92%) as a yellow oil.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.44-7.40 (m, 2H, H<sub>13</sub>), 7.34-7.29 (m, 3H, H<sub>14, 15</sub>), 5.09 (s, 2H, H<sub>11</sub>), 3.88 (dd, *J* = 10.6, 4.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 3.78 (dd, *J* = 10.6, 4.8 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 3.48-3.45 (m, 2H, H<sub>1, 5</sub>), 3.33-3.31 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 2.94-2.91 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 1.98-1.90 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.85-1.80 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.65-1.53 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 0.82 (s, 9H, H<sub>10</sub>), 0.00 (2s, 6H, H<sub>8</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 195.8 (C<sub>6</sub>), 134.9 (C<sub>12</sub>), 129.7 (2C<sub>13</sub>), 129.1 (C<sub>15</sub>), 128.6 (2C<sub>14</sub>), 77.3 (C<sub>11</sub>), 66.6 (C<sub>7</sub>), 62.2 (C<sub>4</sub>), 59.6 (C<sub>1</sub>), 49.3 (C<sub>5</sub>), 25.9 (3C<sub>10</sub>), 20.8 (C<sub>3</sub>), 19.3 (C<sub>2</sub>), 18.1 (C<sub>9</sub>), -5.5 (C<sub>8</sub>), -5.6 (C<sub>8</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>20</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>SSi [M+H]<sup>+</sup>: 393.2032 ; found: 393.2015

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-2-(hydroxymethyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-7-thione (39)**



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S

Molecular weight: 278.37 g.mol<sup>-1</sup>

TBAF (368  $\mu$ L, 1.27 mmol) was added at 0°C to a solution of **38** (333 mg, 0.85 mmol) in THF (20 mL). The reaction mixture was stirred for 1h at 0°C, warmed to room temperature and concentrated in vacuo. The crude residue was purified by chromatography with DCM/MeOH (96/4) as the eluent, yielding compound **39** (229 mg, 97%) as a colorless oil.

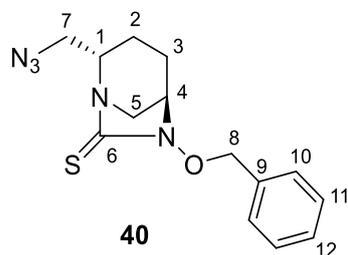
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.42-7.39 (m, 2H, H<sub>10</sub>), 7.33-7.30 (m, 3H, H<sub>11, 12</sub>), 5.09-5.04 (m, 2H, H<sub>8</sub>), 3.75-3.71 (m, 1H, H<sub>7</sub>), 3.65-3.57 (m, 2H, H<sub>1, 7</sub>), 3.40-3.38 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.08 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.96 (bd,  $J$  = 11.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 1.92-1.85 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.82-1.77 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.51-1.44 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.37-1.33 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  195.4 (C<sub>6</sub>), 134.5 (C<sub>9</sub>), 129.5 (2C<sub>10</sub>), 129.0 (C<sub>12</sub>), 128.4 (2C<sub>11</sub>), 77.3 (C<sub>8</sub>), 62.7 (C<sub>7</sub>), 61.6 (C<sub>4</sub>), 59.8 (C<sub>1</sub>), 47.7 (C<sub>5</sub>), 19.8 (C<sub>3</sub>), 19.0 (C<sub>2</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: 279.1167 ; found: 279.1155

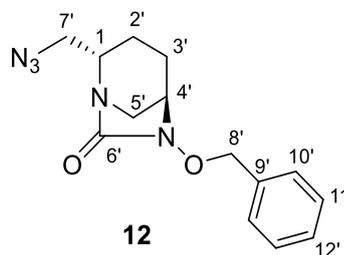
**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>** : +22.0° (5.3 mg/mL, MeOH)

**mixture of (2*S*,5*R*)-2-(azidomethyl)-6-(benzyloxy)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-7-thione (**40**) and (2*S*,5*R*)-2-(azidomethyl)-6-(benzyloxy)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-7-one (**12**)**



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>OS  
Molecular weight: 303,38 g.mol<sup>-1</sup>

+



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>  
Molecular weight: 287,32 g.mol<sup>-1</sup>

**NMR ratio : 7 / 1**

Methanesulfonyl chloride (83  $\mu$ L, 1.07 mmol), DMAP (8.7 mg, 0.07 mmol) and DIEA (372  $\mu$ L, 2.13 mmol) were added at 0°C to a solution of **39** (198 mg, 0.71 mmol) in DCM (14 mL). The reaction was stirred for 1h at 0°C. After being warmed to room temperature, DCM was added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The crude product was then solubilized in DMF (3 mL) and sodium azide (231 mg, 3.56 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 16h at 60°C. EtOAc was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated in vacuo. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (7/3) as the eluent gave a mixture of compound **40** and **12** (46 mg, 21%) as a white oil with an NMR ratio of 7/1.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.49-7.45 (m, 14H, H<sub>10</sub>), 7.42-7.30 (m, 26H, H<sub>10'</sub>, 11, 11', 12, 12'), 5.15-5.11 (m, 14H, H<sub>8</sub>), 5.03 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H, H<sub>8</sub>), 4.87 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H, H<sub>8</sub>), 3.72-3.67 (m, 7H, H<sub>1</sub>), 3.60 (dd,  $J$  = 12.7, 7.0 Hz, 7H, H<sub>7</sub>), 3.57-3.50 (m, 2H, H<sub>1'</sub>, 7'), 3.43 (dd,  $J$  = 12.7, 6.5 Hz, 7H, H<sub>7</sub>), 3.37-3.35 (m, 7H, H<sub>4</sub>), 3.34-3.30 (m, 2H, H<sub>4'</sub>, 7'), 3.04 (s, 14H, H<sub>5</sub>), 2.96 (s, 2H, H<sub>5'</sub>), 2.06-1.99 (m, 8H, H<sub>2, 3'</sub>), 1.98-1.95 (m, 1H, H<sub>2'</sub>), 1.93-1.87 (m, 7H, H<sub>3</sub>), 1.62-1.59 (m, 1H, H<sub>3'</sub>), 1.58-1.48 (m, 15H, H<sub>2, 2', 3</sub>)

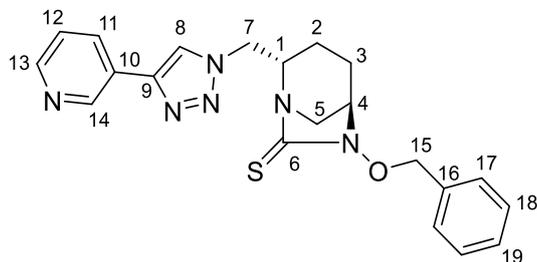
**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  195.3 (C<sub>6</sub>), 169.7 (C<sub>6'</sub>), 135.9 (C<sub>9</sub>), 134.8 (C<sub>9</sub>), 129.9 (2C<sub>10</sub>), 129.3 (3C, 2C<sub>10'</sub> and C<sub>12</sub>), 128.8 (3C, 2C<sub>11</sub> and C<sub>12'</sub>), 128.6 (2C<sub>11'</sub>), 78.2 (C<sub>8'</sub>), 77.6 (C<sub>8</sub>), 61.8 (C<sub>4</sub>), 58.5 (C<sub>4'</sub>), 57.7 (C<sub>1</sub>), 56.5 (C<sub>1'</sub>), 53.6 (C<sub>7</sub>), 53.1 (C<sub>7'</sub>), 48.2 (C<sub>5</sub>), 44.0 (C<sub>5'</sub>), 20.4 (C<sub>2'</sub>), 20.1 (C<sub>2 or 3</sub>), 20.0 (C<sub>2 or 3</sub>), 19.9 (C<sub>3'</sub>)

**HRMS** calculated for : C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>OS [M+H]<sup>+</sup>: 304.1232 ; found: 304.1225

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 288.1461 ; found: 288.1455

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-2-((4-(pyridin-3-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-7-thione (**41**)**

---



Chemical formula: C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>OS

Molecular weight: 406.51 g.mol<sup>-1</sup>

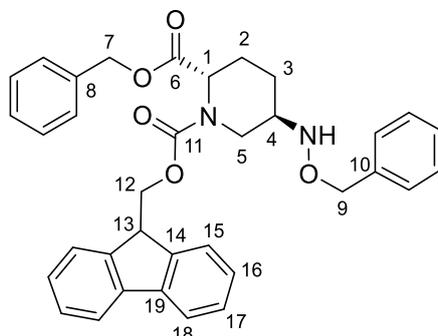
To a solution of mixture **40** and **12** (46 mg, 0.15 mmol) in THF (3 mL), were successively added 3-ethynylpyridine (31 mg, 0.30 mmol), sodium ascorbate (18 mg, 0.09 mmol) in water (500  $\mu$ L) and CuSO<sub>4</sub> (7 mg, 0.05 mmol) in water (500  $\mu$ L). The heterogeneous mixture was stirred at room temperature for 16h. EtOAc was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by flash chromatography with DCM/MeOH (96/4) as the eluent, yielding compound **41** (19 mg, 31%) as a white oil.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9.03 (s, 1H, H<sub>14</sub>), 8.57 (s, 1H, H<sub>13</sub>), 8.17 (s, 1H, H<sub>8</sub>), 8.16 (s, 1H, H<sub>11</sub>), 7.47-7.45 (m, 2H, H<sub>17</sub>), 7.41-7.35 (m, 4H, H<sub>12, 18, 19</sub>), 5.15-5.10 (m, 2H, H<sub>15</sub>), 4.69-4.59 (m, 2H, H<sub>7</sub>), 4.06-4.01 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.41 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 3.08-3.02 (m, 2H, H<sub>5</sub>), 2.09-2.02 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.99-1.94 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.68-1.57 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  195.2 (C<sub>6</sub>), 149.3 (C<sub>13</sub>), 147.2 (C<sub>14</sub>), 145.3 (C<sub>9</sub>), 134.7 (C<sub>16</sub>), 133.2 (C<sub>11</sub>), 129.9 (2C<sub>17</sub>), 129.5 (C<sub>19</sub>), 128.9 (2C<sub>18</sub>), 126.8 (C<sub>10</sub>), 123.9 (C<sub>12</sub>), 120.7 (C<sub>8</sub>), 77.7 (C<sub>15</sub>), 61.6 (C<sub>4</sub>), 57.9 (C<sub>1</sub>), 52.3 (C<sub>7</sub>), 47.7 (C<sub>5</sub>), 20.1 (C<sub>2</sub>), 19.7 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>N<sub>6</sub>OS [M+H]<sup>+</sup>: 407.1654 ; found: 407.1646

**1-((9*H*-fluoren-9-yl)methyl) 2-benzyl (2*S*,5*R*)-5-((benzyloxy)amino)piperidine-1,2-dicarboxylate (**42**)**



**Chemical formula:** C<sub>35</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

**Molecular weight:** 562.67 g.mol<sup>-1</sup>

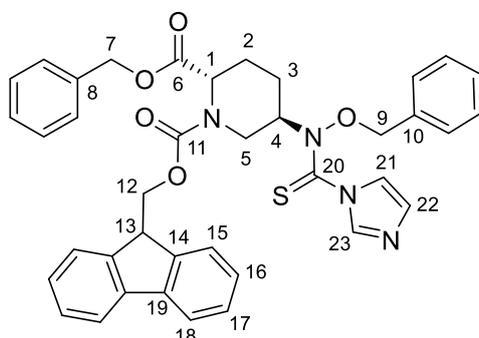
DIEA (1.15 mL, 6.60 mmol) and Fmoc chloride (854 mg, 3.30 mmol) were added to a solution of compound **35** (1.12 g, 3.30 mmol) in dichloromethane (80 mL) and the reaction mixture was stirred overnight at room temperature. Dichloromethane was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (8/2) as the eluent gave the compound **42** (1.84 g, 99%) as a white foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (rotamers) 7.70 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H, H<sub>18</sub>), 7.58-7.55 (m, 1H, H<sub>15</sub>), 7.49-7.45 (m, 1H, H<sub>15</sub>), 7.35-7.17 (m, 14H, H<sub>16, 17, Bn</sub>), 5.40 (bs, 1H, NH), 5.16-5.10 (m, 2H, H<sub>7</sub>), 4.96 (bs, 0.5H, H<sub>1</sub>), 4.73-4.60 (m, 2.5H, H<sub>1, 9</sub>), 4.48-4.45 (m, 0.5H, H<sub>12</sub>), 4.38 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H, H<sub>12</sub>), 4.29-4.26 (m, 1H, H<sub>5, 12</sub>), 4.21-4.19 (m, 1H, H<sub>5, 13</sub>), 4.15-4.12 (m, 0.5H, H<sub>13</sub>), 3.24 (d, *J* = 13.4 Hz, 0.5H, H<sub>5</sub>), 3.14-3.07 (m, 1.5H, H<sub>4, 5</sub>), 2.00-1.88 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 1.71-1.61 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.48-1.40 (m, 1H, H<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (rotamers) 171.1 (C<sub>6</sub>), 156.9, 156.0 (C<sub>11</sub>), 144.0 (C<sub>14</sub>), 143.8 (C<sub>14</sub>), 141.2 (2C<sub>19</sub>), 137.8 (C<sub>10</sub>), 135.5, 135.4 (C<sub>8</sub>), 128.5 (2C<sub>Bn</sub>), 128.4 (C<sub>Bn</sub>), 128.3 (3C<sub>Bn</sub>), 127.9 (2C<sub>Bn</sub>), 127.7 (2C<sub>Bn</sub>), 127.6 (2C<sub>16</sub>), 127.0 (2C<sub>17</sub>), 125.1, 125.0 (C<sub>15</sub>), 124.9, 124.8 (C<sub>15</sub>), 119.9 (2C<sub>18</sub>), 76.7, 76.5 (C<sub>9</sub>), 67.8, 67.5 (C<sub>12</sub>), 66.8 (C<sub>7</sub>), 54.4, 54.2 (C<sub>1</sub>), 52.9 (C<sub>4</sub>), 47.2, 47.1 (C<sub>13</sub>), 42.7, 42.4 (C<sub>5</sub>), 22.7, 22.6 (C<sub>3</sub>), 21.3, 21.1 (C<sub>2</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>35</sub>H<sub>35</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 563.2546 ; found: 563.2536

**1-((9H-fluoren-9-yl) methyl) 2-benzyl (2S,5R)-5-(N-(benzyloxy)-1H-imidazole-1-carbo-thioamido)piperidine-1,2-dicarboxylate (**43**)**



Chemical formula: C<sub>39</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S

Molecular weight: 672.80 g.mol<sup>-1</sup>

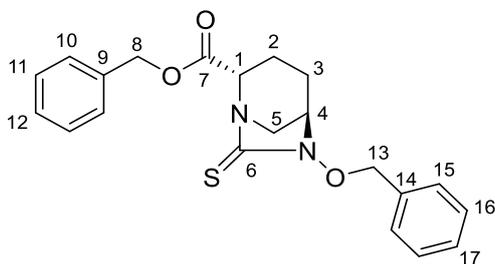
Thiocarbonyldiimidazole (1.13 g, 6.32 mmol) and DIEA (1.47 mL, 8.42 mmol) were added to a solution of compound **42** (2.37 g, 4.21 mmol) in dichloromethane (88 mL) and the reaction mixture was stirred at room temperature for 22h. Then, an additional amount of thiocarbonyldiimidazole (1.13 g, 6.32 mmol) and DIEA (1.47 mL, 8.42 mmol) were added to the reaction mixture and stirred for 22h at room temperature. Dichloromethane was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (6/4) as the eluent gave the compound **43** (2.50 g, 88%) as a yellow foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (rotamers) 8.13 (s, 1H, H<sub>23</sub>), 7.76-7.72 (m, 2H, H<sub>18</sub>), 7.54-7.47 (m, 3H, H<sub>15, 21</sub>), 7.41-7.15 (m, 12H, H<sub>Ar</sub>), 7.08-6.97 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 5.35 (bs, 0.5H, H<sub>4</sub>), 5.23-5.16 (m, 2H, H<sub>7</sub>), 5.10 (bs, 0.5H, H<sub>4</sub>), 4.95 (bs, 0.5H, H<sub>1</sub>), 4.74-4.57 (m, 2H, H<sub>1, 5, 9, 12</sub>), 4.44-4.22 (m, 3.5H, H<sub>5, 9, 12</sub>), 4.10 (bs, 1H, H<sub>13</sub>), 3.52 (bs, 1H, H<sub>5</sub>), 2.29-2.22 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 2.16-2.04 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 1.86 (bs, 1H, H<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (rotamers) 174.6, 174.3 (C<sub>20</sub>), 170.8 (C<sub>6</sub>), 156.2, 156.0 (C<sub>11</sub>), 143.8 (C<sub>14</sub>), 143.6 (C<sub>14</sub>), 141.3 (C<sub>19</sub>), 138.5 (C<sub>23</sub>), 135.3 (C<sub>8</sub>), 132.2, 131.9 (C<sub>10</sub>), 129.9 (2C<sub>Ar</sub>), 129.6 (2C<sub>Ar</sub>), 128.8 (2C<sub>Ar</sub>), 128.7 (2C<sub>Ar</sub>), 128.5 (C<sub>Ar</sub>), 128.2 (2C<sub>Ar</sub>), 127.8 (2C<sub>Ar</sub>), 127.2 (C<sub>Ar</sub>), 127.1 (C<sub>Ar</sub>), 124.8 (C<sub>15</sub>), 124.7 (C<sub>15</sub>), 120.5 (C<sub>21</sub>), 120.1 (C<sub>18</sub>), 79.3, 79.1 (C<sub>9</sub>), 67.9, 67.7 (C<sub>12</sub>), 67.2 (C<sub>7</sub>), 57.8 (C<sub>4</sub>), 54.3, 54.1 (C<sub>1</sub>), 47.1 (C<sub>13</sub>), 43.5, 43.3 (C<sub>5</sub>), 23.0 (C<sub>2 or 3</sub>), 22.7 (C<sub>2 or 3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>39</sub>H<sub>37</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: 673.2485 ; found: 673.2491

**benzyl (2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-thioxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxylate (44)**



Chemical formula: C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S

Molecular weight: 382.48 g.mol<sup>-1</sup>

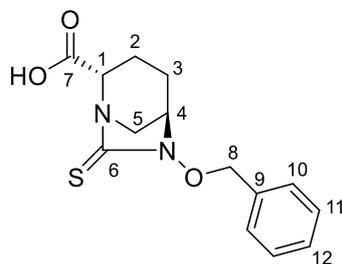
A solution of piperidine 20% in DMF (37 mL) was added to compound **43** (2.49 g, 3.70 mmol) and the reaction mixture was stirred for 1h at room temperature. Ethyl acetate was then added and the organic layer was washed with water and brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (9/1) as the eluent gave the compound **44** (1.01 g, 71%) as a pale-yellow oil.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.36-7.34 (m, 2H, H<sub>15</sub>), 7.27-7.17 (m, 8H, H<sub>10</sub>, 11, 12, 16, 17), 5.15-5.06 (m, 2H, H<sub>8</sub>), 5.03 (s, 2H, H<sub>13</sub>), 4.16 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 3.29-3.27 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.00-2.96 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 2.88 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.06-1.98 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.96-1.91 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.82-1.76 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.49-1.43 (m, 1H, H<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 193.3 (C<sub>6</sub>), 170.7 (C<sub>7</sub>), 135.3 (C<sub>9</sub>), 134.5 (C<sub>14</sub>), 129.7 (2C<sub>15</sub>), 129.2 (C<sub>17</sub>), 128.6 (2C<sub>10</sub> or 16), 128.5 (2C<sub>10</sub> or 16), 128.3 (3C, 2C<sub>11</sub> and C<sub>12</sub>), 77.4 (C<sub>13</sub>), 67.1 (C<sub>8</sub>), 61.6 (C<sub>4</sub>), 60.9 (C<sub>1</sub>), 50.8 (C<sub>5</sub>), 20.9 (C<sub>3</sub>), 19.9 (C<sub>2</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: 383.1429 ; found: 383.1421

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-thioxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxylic acid (45)**



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S  
Molecular weight: 292.35 g.mol<sup>-1</sup>

A solution of lithium hydroxide monohydrate (32 mg, 0.75 mmol) in water (1,8 mL) was added dropwise at -10°C to a solution of compound **44** (180 mg, 0.47 mmol) in mixture of acetone (4 mL) and water (800 µL). The reaction mixture was stirred for 3h at -10°C then quenched with HCl 2N until pH 8. Toluene and brine were added and the layers were separated. The aqueous layer was re-extracted with toluene, acidified to pH 3 using HCL 2N and the solution was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography using DCM/MeOH (96/4) to afford compound **45** (111 mg, 81%) as a white solid.

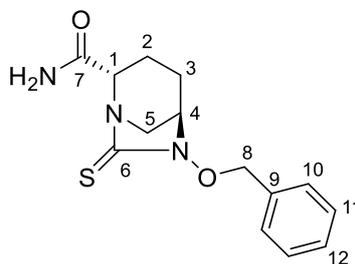
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, MeOD) δ 7.53-7.52 (m, 2H, H<sub>10</sub>), 7.42-7.37 (m, 3H, H<sub>11, 12</sub>), 5.18-5.13 (m, 2H, H<sub>8</sub>), 3.94 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 3.74-3.73 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.18 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.10-3.08 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 2.21-2.16 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 2.03-1.95 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.90-1.87 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.69-1.62 (m, 1H, H<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, MeOD) δ 194.7 (C<sub>6</sub>), 176.5 (C<sub>7</sub>), 136.2 (C<sub>9</sub>), 130.9 (2C<sub>10</sub>), 130.2 (C<sub>12</sub>), 129.6 (2C<sub>11</sub>), 78.4 (C<sub>8</sub>), 64.2 (C<sub>1</sub>), 63.0 (C<sub>4</sub>), 52.5 (C<sub>5</sub>), 22.3 (C<sub>3</sub>), 21.2 (C<sub>2</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: 291.0803 ; found: 291.0809

**[α]<sub>D</sub>** : +36.7° (4.9 mg/mL, MeOH)

**(2*S*,5*R*)-6-(benzyloxy)-7-thioxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxamide (46)**



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S  
Molecular weight: 291.37 g.mol<sup>-1</sup>

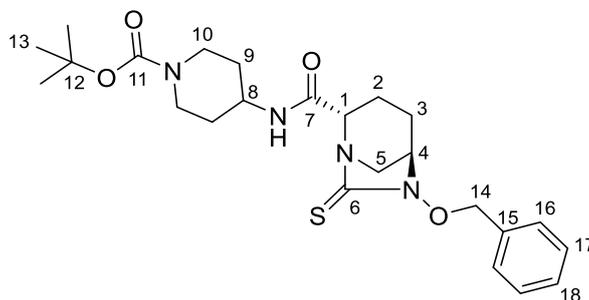
Ammonium chloride (48 mg, 0.89 mmol) and HOBT (90 mg, 0.67 mmol) were added to a solution of compound **45** (130 mg, 0.44 mmol) in DMF (2 mL). The reaction mixture has been cooled at 0°C and EDCI.HCl (128 mg, 0.67 mmol) and DIEA (155 μL, 0.89 mmol) were added, then stirred for 16h at room temperature. EtOAc was then added and the organic layer was washed with water and brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (1/9) as the eluent gave the compound **46** (85 mg, 66%) as a white solid.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.48-7.44 (m, 2H, H<sub>10</sub>), 7.40-7.36 (m, 3H, H<sub>11, 12</sub>), 6.76 (bs, 1H, NH<sub>2</sub>), 6.04 (bs, 1H, NH<sub>2</sub>), 5.17-5.12 (m, 2H, H<sub>8</sub>), 4.04 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 3.39-3.38 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 3.09 (bd, *J* = 11.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.85 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.34-2.29 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.94-1.84 (m, 2H, H<sub>2, 3</sub>), 1.57-1.50 (m, 1H, H<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 192.6 (C<sub>6</sub>), 172.4 (C<sub>7</sub>), 134.5 (C<sub>9</sub>), 129.8 (2C<sub>10</sub>), 129.4 (C<sub>12</sub>), 128.8 (2C<sub>11</sub>), 77.6 (C<sub>8</sub>), 61.9 (C<sub>1</sub>), 61.6 (C<sub>4</sub>), 51.3 (C<sub>5</sub>), 20.8 (C<sub>3</sub>), 17.2 (C<sub>2</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: 292.1120 ; found: 292.1113

**tert-butyl 4-((2S,5R)-6-(benzyloxy)-7-thioxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxamido)piperidine-1-carboxylate (47)**



**Chemical formula:** C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S

**Molecular weight:** 474.62 g.mol<sup>-1</sup>

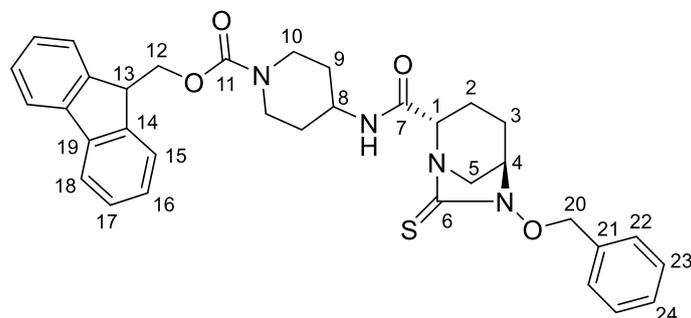
4-amino-1-Boc-piperidine (191 mg, 0.96 mmol) and HOBT (141 mg, 1.04 mmol) were added to a solution of compound **45** (254 mg, 0.87 mmol) in DMF (4 mL). The reaction mixture has been cooled at 0°C and EDCI.HCl (128 mg, 0.67 mmol) was added in portions, then stirred for 16h at room temperature. EtOAc was then added and the organic layer was washed with water and brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography using DCM/MeOH (99/1) as the eluent gave the compound **47** (371 mg, 90%) as a white foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.44-7.40 (m, 2H, H<sub>16</sub>), 7.35-7.31 (m, 3H, H<sub>17, 18</sub>), 6.59 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, NH), 5.14-5.08 (m, 2H, H<sub>14</sub>), 3.99-3.93 (m, 3H, H<sub>1, 10</sub>), 3.90-3.83 (m, 1H, H<sub>8</sub>), 3.35 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 3.01 (bd, *J* = 10.6 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.81-2.75 (m, 2H, H<sub>10</sub>), 2.70 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.33-2.28 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.89-1.78 (m, 4H, H<sub>2, 3, 9</sub>), 1.52-1.46 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.40 (s, 9H, H<sub>13</sub>), 1.31-1.20 (m, 2H, H<sub>9</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 192.7 (C<sub>6</sub>), 169.1 (C<sub>7</sub>), 154.9 (C<sub>11</sub>), 134.7 (C<sub>15</sub>), 129.9 (2C<sub>16</sub>), 129.5 (C<sub>18</sub>), 128.9 (2C<sub>17</sub>), 79.9 (C<sub>12</sub>), 77.7 (C<sub>14</sub>), 62.1 (C<sub>1</sub>), 61.7 (C<sub>4</sub>), 51.2 (C<sub>5</sub>), 47.1 (C<sub>8</sub>), 42.9 (2C<sub>10</sub>), 32.2 (C<sub>9</sub>), 32.0 (C<sub>9</sub>), 28.6 (3C<sub>13</sub>), 20.9 (C<sub>3</sub>), 17.3 (C<sub>2</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>24</sub>H<sub>35</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: 475.2379 ; found: 475.2370

**(9H-fluoren-9-yl)methyl 4-((2S,5R)-6-(benzyloxy)-7-thioxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxamido)piperidine-1-carboxylate (48)**



Chemical formula: C<sub>34</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S  
Molecular weight: 596.75 g.mol<sup>-1</sup>

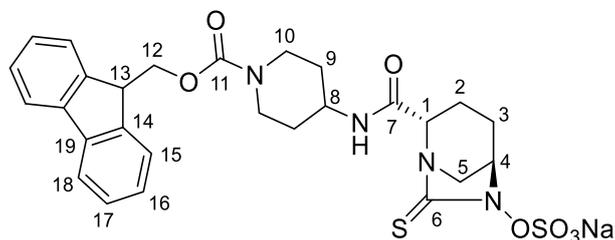
Trifluoroacetic acid (891  $\mu$ L, 11.6 mmol) was added dropwise at 0°C to a solution of **47** (307 mg, 0.65 mmol) in DCM (6.5 mL). The reaction mixture was stirred for 2h at 0°C then concentrated under vacuum. DIEA (338  $\mu$ L, 1.94 mmol) was added dropwise at 0°C to a solution of the resulting deprotected compound in DCM (16 mL), and stirred at 0°C for 15 min. Fmoc chloride (251 mg, 0.97 mmol) was then added and the reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for 16h. Dichloromethane was then added and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under vacuum. Purification by flash chromatography using cyclohexane/ethyl acetate (4/6) as the eluent gave the compound **48** (321 mg, 83%) as a white foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.74 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H<sub>18</sub>), 7.55 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H, H<sub>15</sub>), 7.48-7.44 (m, 2H, H<sub>22</sub>), 7.40-7.35 (m, 5H, H<sub>17</sub>, 23, 24), 7.30 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H<sub>16</sub>), 6.60 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H, NH), 5.18-5.11 (m, 2H, H<sub>20</sub>), 4.44 (bs, 2H, H<sub>12</sub>), 4.21 (t,  $J$  = 6.5 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 4.12-3.87 (m, 4H, H<sub>1</sub>, 8, 10), 3.39 (bs, 1H, H<sub>4</sub>), 3.07-3.02 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 2.91-2.84 (m, 2H, H<sub>10</sub>), 2.73 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.38-2.31 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.94-1.81 (m, 4H, H<sub>2,3,9</sub>), 1.57-1.48 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.30-1.16 (m, 2H, H<sub>9</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  192.5 (C<sub>6</sub>), 168.9 (C<sub>7</sub>), 155.0 (C<sub>11</sub>), 144.0 (2C<sub>14</sub>), 141.3 (2C<sub>19</sub>), 134.5 (C<sub>21</sub>), 129.7 (2C<sub>22</sub>), 129.3 (C<sub>24</sub>), 128.7 (2C<sub>23</sub>), 127.7 (2C<sub>17</sub>), 127.0 (2C<sub>16</sub>), 124.9 (2C<sub>15</sub>), 120.0 (2C<sub>18</sub>), 77.5 (C<sub>20</sub>), 67.1 (C<sub>12</sub>), 61.9 (C<sub>1</sub>), 61.5 (C<sub>4</sub>), 51.0 (C<sub>5</sub>), 47.4 (C<sub>13</sub>), 46.7 (C<sub>8</sub>), 42.9 (C<sub>10</sub>), 42.8 (C<sub>10</sub>), 31.8 (C<sub>9</sub>), 31.6 (C<sub>9</sub>), 20.8 (C<sub>3</sub>), 17.2 (C<sub>2</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>34</sub>H<sub>37</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: 597.2536 ; found: 597.2524

**sodium (2S,5R)-2-((1-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)piperidin-4-yl)carbamoyl)-7-thioxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (49)**



Chemical formula: C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>7</sub>S<sub>2</sub>

Molecular weight: 608.66 g.mol<sup>-1</sup>

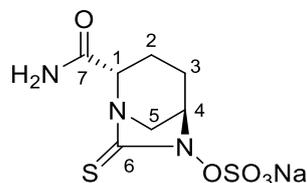
BCl<sub>3</sub> 1M in DCM (436  $\mu$ L, 0.44 mmol) was added dropwise at -78°C to a solution of compound **48** (52 mg, 0.09 mmol) in DCM (3 mL), and the reaction mixture was stirred at 0°C for 1h30. Then, the resulting mixture has been cooled to -78°C and MeOH (300  $\mu$ L) was added dropwise. The solvents were evaporated under reduced pressure at 0°C. A sulfur trioxide-pyridine complex (82 mg, 0.52 mmol) was added to a solution of deprotected compound in pyridine (1.5 mL) and the reaction mixture was stirred for 2h at room temperature. An additional amount of SO<sub>3</sub>-pyridine complex (27 mg, 0.17 mmol) was added and stirred for 16h at room temperature. The pyridine was then removed under reduced pressure. The crude product was solubilized in mixture of H<sub>2</sub>O/acetone, eluted on DOWEX Na<sup>+</sup> resin with H<sub>2</sub>O and lyophilized. HPLC purification afforded compound **49** (4.4 mg, 8%) as a white foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, MeOD)  $\delta$  7.81 (dd,  $J$  = 7.6, 0.9 Hz, 2H, H<sub>18</sub>), 7.61 (dd,  $J$  = 7.5, 1.0 Hz, 2H, H<sub>15</sub>), 7.41 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H, H<sub>17</sub>), 7.33 (td,  $J$  = 7.5, 1.1 Hz, 2H, H<sub>16</sub>), 4.57-4.47 (m, 3H, H<sub>4</sub>, H<sub>12</sub>), 4.24 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 3.99 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H, H<sub>1</sub>, H<sub>10</sub>), 3.91-3.79 (m, 2H, H<sub>8</sub>, H<sub>10</sub>), 3.39 (bd,  $J$  = 10.7 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.05 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.91-2.86 (m, 2H, H<sub>10</sub>), 2.23-2.18 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 2.03-1.99 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.97-1.89 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.83-1.68 (m, 3H, H<sub>3</sub>, H<sub>9</sub>), 1.34-1.22 (m, 2H, H<sub>9</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, MeOD)  $\delta$  194.7 (C<sub>6</sub>), 171.7 (C<sub>7</sub>), 156.8 (C<sub>11</sub>), 145.3 (2C<sub>14</sub>), 142.8 (2C<sub>19</sub>), 128.8 (2C<sub>17</sub>), 128.2 (2C<sub>16</sub>), 125.9 (2C<sub>15</sub>), 121.0 (2C<sub>18</sub>), 68.1 (C<sub>12</sub>), 63.5 (C<sub>1</sub>), 63.3 (C<sub>4</sub>), 51.4 (C<sub>5</sub>), (C<sub>13</sub> masked in methanol signal), 47.9 (C<sub>8</sub>), 43.9 (2C<sub>10</sub>), 32.2 (C<sub>9</sub>), 32.1 (C<sub>9</sub>), 21.4 (C<sub>3</sub>), 18.7 (C<sub>2</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 585.1478 ; found: 585.1459

## sodium (2*S*,5*R*)-2-carbamoyl-7-thioxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (**50**)



Chemical formula: C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>5</sub>S<sub>2</sub>

Molecular weight: 303.28 g.mol<sup>-1</sup>

BCl<sub>3</sub> 1M in DCM (494 μL, 0.49 mmol) was added dropwise at -78°C to a solution of compound **46** (48 mg, 0.16 mmol) in DCM (5 mL), and the reaction mixture was stirred at 0°C for 2h. Then, the resulting mixture has been cooled to -78°C and MeOH (500 μL) was added dropwise. The solvents were evaporated under reduced pressure at 0°C. A sulfur trioxide-pyridine complex (154 mg, 0.99 mmol) was added to a solution of deprotected compound in pyridine (3 mL) and the reaction mixture was stirred for 2h at room temperature. An additional amount of SO<sub>3</sub>-pyridine complex (51 mg, 0.33 mmol) was added and stirred for 16h at room temperature. The pyridine was then removed under reduced pressure. The crude product was solubilized in water, eluted on DOWEX Na<sup>+</sup> resin with H<sub>2</sub>O and lyophilized. HPLC purification on a reverse phase C18 Nucleosil column (250 mm x 21.2 mm, 5 μm) using a linear gradient (from 100% H<sub>2</sub>O to 100% CH<sub>3</sub>CN in 30 min) at a flow rate of 15 mL/min with UV detection at 214 nm, gave compound **50** (0.4 mg, 1%) as a white foam.

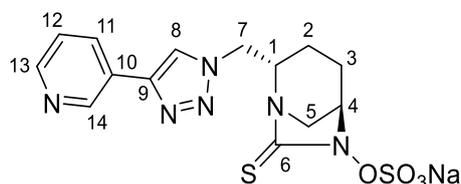
**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 4.54-4.52 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 4.22 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 3.51 (bd, *J* = 11.8 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.27 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.24-2.19 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 2.12-2.07 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 2.05-1.97 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.82-1.76 (m, 1H, H<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 280.0062 ; found: 280.0065

**HPLC purity** : 96.4%

**HPLC retention time** : 1.6 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 214 nm)

**sodium (2*S*,5*R*)-2-((4-(pyridin-3-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-7-thioxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octan-6-yl sulfate (**51**)**



Chemical formula: C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>4</sub>S<sub>2</sub>

Molecular weight: 418.42 g.mol<sup>-1</sup>

BCl<sub>3</sub> 1M in DCM (140 μL, 0.14 mmol) was added dropwise at -78°C to a solution of compound **41** (19 mg, 0.05 mmol) in DCM (2 mL), and the reaction mixture was stirred at 0°C for 2h. Then, the resulting mixture has been cooled to -78°C and MeOH (150 μL) was added dropwise. The solvents were evaporated under reduced pressure at 0°C. A sulfur trioxide-pyridine complex (44 mg, 0.28 mmol) was added to a solution of deprotected compound in pyridine (1 mL) and the reaction mixture was stirred for 2h at room temperature. An additional amount of SO<sub>3</sub>-pyridine complex (15 mg, 0.10 mmol) was added and stirred for 16h at room temperature. The pyridine was then removed under reduced pressure. The crude product was solubilized in water, eluted on DOWEX Na<sup>+</sup> resin with H<sub>2</sub>O and lyophilized. HPLC purification afforded compound **51** (0.6 mg, 3%) as a pale-yellow foam.

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.90 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 8.50 (bs, 2H, H<sub>8</sub>, H<sub>13</sub>), 8.21 (dt, *J* = 8.1, 2.1 Hz, 1H, H<sub>11</sub>), 7.52 (dd, *J* = 8.0, 5.0 Hz, 1H, H<sub>12</sub>), 5.00 (dd, *J* = 14.8, 10.7 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.73 (dd, *J* = 14.5, 5.8 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 4.51-4.49 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 4.13-4.08 (m, 1H, H<sub>1</sub>), 3.61 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 3.29 (bd, *J* = 11.7 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.07-1.99 (m, 2H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>), 1.95-1.86 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 1.71-1.66 (m, 1H, H<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 196.2 (C<sub>6</sub>), 148.4 (C<sub>13</sub>), 145.8 (C<sub>14</sub>), 144.6 (C<sub>9</sub>), 134.5 (C<sub>11</sub>), 126.3 (C<sub>10</sub>), 124.5 (C<sub>12</sub>), 122.9 (C<sub>8</sub>), 62.9 (C<sub>4</sub>), 59.7 (C<sub>1</sub>), 51.1 (C<sub>7</sub>), 47.0 (C<sub>5</sub>), 19.4 (C<sub>2</sub>), 18.5 (C<sub>3</sub>)

**HRMS** calculated for C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup>: 395.0596 ; found: 395.0602

**HPLC purity** : 95.2%

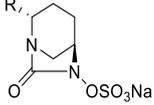
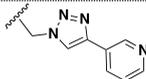
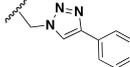
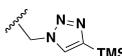
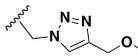
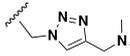
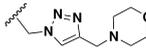
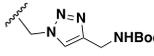
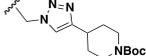
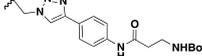
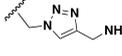
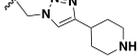
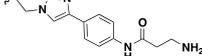
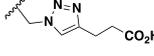
**HPLC retention time** : 10.3 min (Hypersil BDS C18, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 0:100 to 100:0 in 15 min, flow rate = 1.3 mL/min, λ = 220 nm)



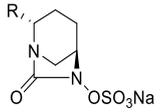
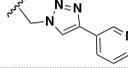
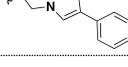
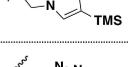
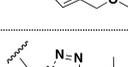
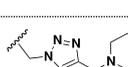
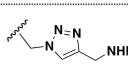
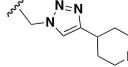
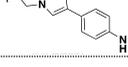
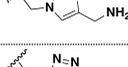
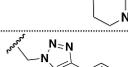
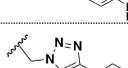
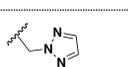
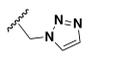
## **Annexes**

---

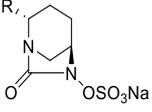
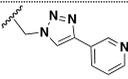
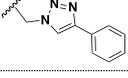
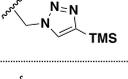
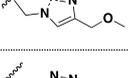
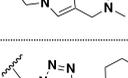
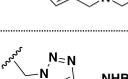
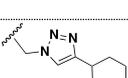
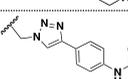
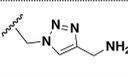
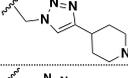
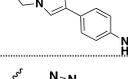
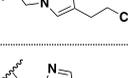
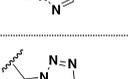


 <b>R =</b>	Efficacité de carbamylation (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	CMI de la céfamandole (µg/ml)	
		Avec TEM-1	Sans TEM-1
Sans inhibiteur	Non applicable	2	2,048
 avibactam	88,000 ± 2,000	2	2
 relebactam <b>21</b>	43,000 ± 1,000	2	4
 <b>15a</b>	1,400 ± 100	2	8
 <b>15b</b>	4,700 ± 1,000	4	16
 <b>15c</b>	370 ± 50	2	64
 <b>15d</b>	830 ± 50	2	16
 <b>15e</b>	780 ± 80	2	32
 <b>15f</b>	1,200 ± 100	2	8
 <b>15h</b>	2,800 ± 400	2	128
 <b>15i</b>	1,700 ± 200	2	256
 <b>15j</b>	3,700 ± 500	2	256
 <b>16h</b>	3,100 ± 200	4	4
 <b>16i</b>	3,600 ± 300	2	4
 <b>16j</b>	940 ± 150	2	32
 <b>15g</b>	720 ± 60	2	32
 <b>18a</b>	2,600 ± 300	2	16
 <b>18b</b>	1,200 ± 100	2	8

**Annexe 1.** Inhibition de la pénicillinase TEM-1 par les DBOs

 <b>R =</b>	<b>Inhibition de KPC-2</b>			<b>Inhibition de CTX-M-15</b>		
	Efficacité de carbamylation (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	CMI de l'aztréonam (µg/ml)		Efficacité de carbamylation (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	CMI de l'amoxicilline (µg/ml)	
		Avec KPC-2	Sans KPC-2		Avec CTX-M-15	Sans CTX-M-15
Sans inhibiteur	Non applicable	0.5	2,048	Non applicable	8	2,048
 avibactam	26,000 ± 1,000	0.25	0.5	130,000 ± 10,000	2	2
 relebactam <b>21</b>	10,000 ± 1,000	0.25	0.5	960 ± 80	2	16
 <b>15a</b>	550 ± 10	0.25	32	1,700 ± 400	2	32
 <b>15b</b>	930 ± 40	0.25	64	6,900 ± 2,000	8	64
 <b>15c</b>	97 ± 8	0.5	512	400 ± 10	8	1,024
 <b>15d</b>	18 ± 2	0.5	512	120 ± 40	8	256
 <b>15e</b>	120 ± 50	0.5	64	29 ± 5	4	256
 <b>15f</b>	190 ± 20	0.25	32	100 ± 10	8	64
 <b>15h</b>	540 ± 60	0.25	512	130 ± 10	8	1,024
 <b>15i</b>	830 ± 90	0.25	2,048	230 ± 30	8	4,096
 <b>15j</b>	1,100 ± 200	0.5	512	2,400 ± 200	8	768
 <b>16h</b>	120 ± 10	0.25	32	88 ± 13	4	128
 <b>16i</b>	340 ± 30	0.25	32	350 ± 60	4	64
 <b>16j</b>	180 ± 33	0.25	64	150 ± 10	4	128
 <b>15g</b>	70 ± 8	0.25	256	110 ± 10	2	96
 <b>18a</b>	350 ± 40	0.5	512	120 ± 10	4	512
 <b>18b</b>	280 ± 30	0.25	512	280 ± 10	8	64

**Annexe 2.** Inhibition de KPC-2 et CTX-M-15 par les DBOs

 <b>R =</b>	<b>Inhibition d'AmpC</b>			<b>Inhibition d'OXA-48</b>		
	Efficacité de carbamylation (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	CMI de la céfotaxime (µg/ml)		Efficacité de carbamylation (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	CMI de l'ertapénem (µg/ml)	
		Sans AmpC	Avec AmpC		Sans OXA-48	Avec OXA-48
Sans inhibiteur	Non applicable	0.125	256	Non applicable	< 0.03	8
 avibactam	18,000 ± 1,000	0.125	1	980 ± 60	< 0.03	0.5
 relebactam <b>21</b>	15,000 ± 2,000	0.125	0.25	Pas d'inhibition	< 0.03	8
 <b>15a</b>	85 ± 7	0.125	128	Pas d'inhibition	< 0.03	8
 <b>15b</b>	200 ± 10	0.25	128	110 ± 30	< 0.03	8
 <b>15c</b>	24 ± 1	0.125	64	Pas d'inhibition	< 0.03	16
 <b>15d</b>	15 ± 5	0.125	128	Pas d'inhibition	< 0.03	16
 <b>15e</b>	20 ± 8	0.125	64	Pas d'inhibition	< 0.03	8
 <b>15f</b>	31 ± 3	0.125	128	Pas d'inhibition	< 0.03	8
 <b>15h</b>	51 ± 8	0.125	128	210 ± 50	< 0.03	16
 <b>15i</b>	29 ± 6	0.125	128	210 ± 30	< 0.03	16
 <b>15j</b>	180 ± 20	0.125	128	150 ± 40	< 0.03	16
 <b>16h</b>	16 ± 2	0.125	128	Pas d'inhibition	< 0.03	8
 <b>16i</b>	26 ± 2	0.125	128	Pas d'inhibition	< 0.03	8
 <b>16j</b>	28 ± 13	0.25	64	Pas d'inhibition	< 0.03	4
 <b>15g</b>	99 ± 9	0.25	64	Pas d'inhibition	< 0.03	8
 <b>18a</b>	200 ± 20	0.125	32	150 ± 30	< 0.03	8
 <b>18b</b>	210 ± 20	0.125	16	140 ± 20	< 0.03	8

**Annexe 3.** Inhibition des β-lactamases de classe C (AmpC) et classe D (OXA-48) par les DBOs

## **Bibliographie**

---

- (1) A. Fleming, *Br. J. Exp. Pathol.* **1929**, *10*, 226-236
- (2) a) E. Chain, H.W. Florey, A.D. Gardner, N.G. Heatley, M.A. Jennings, J. Orr-Ewing, A.G. Sanders, *Lancet* **1940**, *236*, 226-228 b) E.P. Abraham, E. Chain, C.M. Fletcher, A.D. Gardner, N.G. Heatley, M.A. Jennings, H.W. Florey, *Lancet* **1941**, *238*, 177-189
- (3) J. Davies, D. Davies, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2010**, *74*, 417-433
- (4) A. E. Clatworthy, E. Pierson, D. T. Hung, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 541-548
- (5) M. I. Katz, L. V. Mueller, M. Polyakov, S. F. Weinstock, *Nat. Biotechnol.* **2006**, *24*, 1529-1531
- (6) a) J. O'Neill, Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations, *The Review on Antimicrobial Resistance* **2014** b) J. O'Neill, Tackling Drug-Resistant Infections Globally: final report and recommendations, *The Review on Antimicrobial Resistance* **2016**
- (7) D. G. Brown, H. J. Wobst, *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 2312-2338
- (8) A. Coates, Y. Hu, R. Bax, C. Page, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, *1*, 895-910
- (9) M. A. Kohanski, D. J. Dwyer, J. J. Collins, *Nat. Rev. Microbiol.* **2010**, *8*, 423-435
- (10) L. Brown, J. M. Wolf, R. Prados-Rosales, A. Casadevall, *Nat. Rev. Microbiol.* **2015**, *13*, 620-630
- (11) a) M. Shaku, C. Ealand, B. D. Kana, *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2020**, *10*, 603382 b) L. Faion, K. Djaout, R. Frita, C. Pintiala, F.-X. Cantrelle, M. Moune, A. Vandeputte, K. Bourbiaux, C. Piveteau, A. Herledan, A. Biela, F. Leroux, L. Kremer, M. Blaise, A. Tanina, R. Wintjens, X. Hanouille, B. Deprez, N. Willand, A. R. Baulard, M. Flipo, *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *200*, 112440
- (12) J.-V. Höltje, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1998**, *62*, 181-203
- (13) H. J. Rogers, *Bacteriol. Rev.* **1970**, *34*, 194-214
- (14) W. Vollmer, D. Blanot, M. A. de Pedro, *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 149-167
- (15) J. van Heijenoort, *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 503-519
- (16) H. Barreteau, A. Kovac, A. Boniface, M. Sova, S. Gobec, D. Blanot, *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 168-207
- (17) A. Bouhss, A. E. Trunkfield, T. D. H. Bugg, D. Mengin-Lecreux, *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 208-233
- (18) a) C. Goffin, J.-M. Ghuysen, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1998**, *62*, 1079-1093 b) E. Sauvage, F. Kerff, M. Terrak, J. A. Ayala, P. Charlier, *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, *32*, 234-258
- (19) J. van Heijenoort, *Glycobiology* **2001**, *11*, 25R-36R
- (20) S. A. Cochrane, C. T. Lohans, *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *194*, 112262
- (21) T. D. H. Bugg, D. Braddick, C. G. Dowson, D. I. Roper, *Trends Biotechnol.* **2011**, *29*, 167-173
- (22) D. J. Waxman, J. L. Strominger, *Ann. Rev. Biochem.* **1983**, *52*, 825-869
- (23) M. Lavollay, M. Arthur, M. Fourgeaud, L. Dubost, A. Marie, N. Veziris, D. Blanot, L. Gutmann, J.-L. Mainardi, *J. Bacteriol.* **2008**, *190*, 4360-4366
- (24) J.-L. Mainardi, M. Fourgeaud, J.-E. Hugonnet, L. Dubost, J.-P. Brouard, J. Ouazzani, L. B. Rice, L. Gutmann, M. Arthur, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 38146-38152

- (25) B. Glauner, J.-V. Höltje, U. Schwarz, *J. Biol. Chem.* **1988**, 263, 10088-10095
- (26) R. F. Pratt, *Cell. Mol. Life Sci.* **2008**, 65, 2138-2155
- (27) a) J.-L. Mainardi, J.-E. Hugonnet, F. Rusconi, M. Fourgeaud, L. Dubost, A. N. Mouni, V. Delfosse, C. Mayer, L. Gutmann, L. B. Rice, M. Arthur, *J. Biol. Chem.* **2007**, 282, 30414-30422 b) V. Dubée, S. Triboulet, J.-L. Mainardi, M. Ethève-Quellejeu, L. Gutmann, A. Marie, L. Dubost, J.-E. Hugonnet, M. Arthur, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, 56, 4189-4195
- (28) a) J. T. Park, J. L. Strominger, *Science* **1957**, 125, 99-101 b) D. J. Tipper, J. L. Strominger, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1965**, 54, 1133-1141
- (29) M. F. Chellat, L. Raguz, R. Riedl, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 6600-6626
- (30) A. Dalhoff, C. J. Thomson, *Chemotherapy* **2003**, 49, 105-120
- (31) G. N. Rolinson, *J. Antimicrob. Chemother.* **1988**, 22, 5-14
- (32) A. J. Wright, *Mayo Clin. Proc.* **1999**, 74, 290-307
- (33) G. G. Zhanel, A. R. Golden, S. Zelenitsky, K. Wiebe, C. K. Lawrence, H. J. Adam, T. Idowu, R. Domalaon, F. Schweizer, M. A. Zhanel, P. R. S. Lagacé-Wiens, A. J. Walkty, A. Noreddin, J. P. Lynch, J. A. Karlowky, *Drugs* **2019**, 79, 271-289
- (34) D. Y. Wang, M. I. Abboud, M. S. Markoulides, J. Brem, C. J. Schofield, *Future Med. Chem.* **2016**, 8, 1063-1084
- (35) F. M. Kahan, H. Kropp, J. G. Sundelof, J. Birnbaum, *J. Antimicrob. Chemother.* **1983**, 12, 1-35
- (36) M. Fukasawa, Y. Sumita, E. T. Harabe, T. Tanio, H. Nouda, T. Kohzuki, T. Okuda, H. Matsumura, M. Sunagawa, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, 36, 1577-1579
- (37) K. M. Papp-Wallace, A. Endimiani, M. A. Taracila, R. A. Bonomo, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, 55, 4943-4960
- (38) R. B. Sykes, C. M. Cimarusti, D.P. Bonner, K. Bush, D. M. Floyd, N.H. Georgopapadakou, W. H. Koster, W. C. Liu, W. L. Parker, P. A. Principe, M. L. Rathnum, W. A. Slusarchyk, W. H. Trejo, J. S. Wells, *Nature*, **1981**, 291, 489-491
- (39) a) R. B. Sykes, D. P. Bonner, K. Bush, N. H. Georgopapadakou, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1982**, 21, 85-92 b) R. B. Sykes, D. P. Bonner, *Am. J. Med.* **1985**, 78, 2-10
- (40) F. Reck, A. Bermingham, J. Blais, V. Capka, T. Cariaga, A. Casarez, R. Colvin, C. R. Dean, A. Fekete, W. Gong, E. Growcott, H. Guo, A. K. Jones, C. Li, F. Li, X. Lin, M. Lindvall, S. Lopez, D. McKenney, L. Metzger, H. E. Moser, R. Prathapam, D. Rasper, P. Rudewicz, V. Sethuraman, X. Shen, J. Shaul, R. L. Simmons, K. Tashiro, D. Tang, M. Tjandra, N. Turner, T. Uehara, C. Vitt, S. Whitebread, A. Yifru, X. Zang, Q. Zhu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, 28, 748-755
- (41) G. D. Wright, *BMC Biol.* **2010**, 8, 123
- (42) A. A. Medeiros, *Clin. Infect. Dis.* **1997**, 24, S19-S45
- (43) E. Tacconelli, E. Carrara, A. Savoldi, S. Harbarth, M. Mendelson, D. L. Monnet, C. Pulcini, G. Kahlmeter, J. Kluytmans, Y. Carmeli, M. Ouellette, K. Outtersson, J. Patel, M. Cavalieri, E. M. Cox, C. R. Houchens, M. Lindsay Grayson, P. Hansen, N. Singh, U. Theuretzbacher,

- N. Magrini, WHO Pathogens Priority List Working Group, *Lancet Infect. Dis.* **2018**, *18*, 318-327
- (44) S. M. Drawz, R. A. Bonomo, *Clin. Microbiol. Rev.* **2010**, *23*, 160-201
- (45) J. F. Fisher, S. Mobashery, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2016**, *6*, a025221
- (46) C. Gonzalez-Bello, D. Rodríguez, M. Pernas, A. Rodríguez, E. Colchon, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 1859-1881
- (47) E. P. Abraham, E. Chain, *Nature* **1940**, *146*, 837
- (48) T. Naas, S. Oueslati, R. A. Bonnin, M. L. Dabos, A. Zavala, L. Dortet, P. Retailleau, B. I. Iorga, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2017**, *32*, 917-919
- (49) R. P. Ambler, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **1980**, *289*, 321-331
- (50) J. F. Fisher, S. O. Meroueh, S. Mobashery, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 395-424
- (51) K. Bush, *Agents Chemother.* **2018**, *62*, e01076-18
- (52) B. G. Hall, M. Barlow, *Drug Resist. Updates* **2004**, *7*, 111-123
- (53) M.-R. Meini, L. I. Llarrull, A. J. Vila, *FEBS Lett.* **2015**, *589*, 3419-3432
- (54) M. F. Mojica, M.-A. Rossi, A. J. Vila, R. A. Bonomo, *Lancet Infect. Dis.* **2021**, *22*, e28-e34
- (55) K. Bush, P. A. Bradford, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2016**, *6*, a025247
- (56) L. Iannazzo, D. Soroka, S. Triboulet, M. Fonvielle, F. Compain, V. Dubée, J.-L. Mainardi, J.-E. Hugonnet, E. Braud, M. Arthur, M. Ethève-Quelquejeu, *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 3427-3438
- (57) K. Bush, P. A. Bradford, *Nat. Rev. Microbiol.* **2019**, *17*, 295-306
- (58) a) A. G. Brown, D. Butterworth, M. Cole, G. Hanscomb, J. D. Hood, C. Reading, G. N. Rolinson, *J. Antibiot.* **1976**, *29*, 668-669 b) C. Reading, M. Cole, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1977**, *11*, 852-857
- (59) L. Moreira Lima, B. Nascimento Monteiro da Silva, G. Barbosa, E. J. Barreiro, *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *208*, 112829
- (60) D. A. Leigh, K. Bradnock, J. M. Marriner, *J. Antimicrob. Chemother.* **1981**, *7*, 229-236
- (61) A. R. English, J. A. Retsema, A. E. Girard, J. E. Lynch, W. E. Barth, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1978**, *14*, 414-419
- (62) S. C. Aronoff, M. R. Jacobs, S. Jochenning, S. Yamabe, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1984**, *26*, 580-582
- (63) R. Wise, J. M. Andrews, K. A. Bedford, *J. Antimicrob. Chemother.* **1980**, *6*, 197-206
- (64) G. G. Zhanel, P. Chung, H. Adam, S. Zelenitsky, A. Denisuik, F. Schweizer, P. R. S. Lagacé-Wiens, E. Rubinstein, A. S. Gin, A. Walkty, D. J. Hoban, J. P. Lynch 3<sup>rd</sup>, J. A. Karlowsky, *Drugs* **2014**, *74*, 31-51
- (65) K. M. Papp-Wallace, C. R. Bethel, J. Caillon, M. D. Barnes, G. Potel, S. Bajaksouzian, J. D. Rutter, A. Reghal, S. Shapiro, M. A. Taracila, M. R. Jacobs, R. A. Bonomo, C. Jacqueline, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2019**, *63*, e00105-19
- (66) K. Coleman, *Curr. Opin. Microbiol.* **2011**, *14*, 550-555
- (67) Y. Mawal, I. A. Critchley, T. A. Riccobene, A. K. Talley, *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* **2015**, *8*, 691-707

- (68) D. E. Ehmann, H. Jahic, P. L. Ross, R.-F. Gu, J. Hu, G. Kern, G. K. Walkup, S. L. Fisher, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2012**, *109*, 11663-11668
- (69) N. P. Krishnan, N. Q. Nguyen, K. M. Papp-Wallace, R. A. Bonomo, F. van den Akker, *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0136813
- (70) S. D. Lahiri, S. Mangani, T. Durand-Reville, M. Benvenuti, F. De Luca, G. Sanyal, J.-D. Docquier, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, *57*, 2496-2505
- (71) A. Bonnefoy, C. Dupuis-Hamelin, V. Steier, C. Delachaume, C. Seys, T. Stachyra, M. Fairley, M. Guitton, M. Lampilas, *J. Antimicrob. Chemother.* **2004**, *54*, 410-417
- (72) T. Stachyra, M.-C. Péchereau, J.-M. Bruneau, M. Claudon, J.-M. Frère, C. Miossec, K. Coleman, M. T. Black, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 5132-5138
- (73) D. E. Ehmann, H. Jahic, P. L. Ross, R.-F. Gu, J. Hu, T. F. Durand-Réville, S. Lahiri, J. Thresher, S. Livchak, N. Gao, T. Palmer, G. K. Walkup, S. L. Fisher, *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 27960-27971
- (74) J.-D. Docquier, S. Mangani, *Drug Resist. Updat.* **2018**, *36*, 13-29
- (75) G. G. Zhanel, C. D. Lawson, H. Adam, F. Schweizer, S. Zelenitsky, P. R. S. Lagacé-Wiens, A. Denisuik, E. Rubinstein, A. S. Gin, D. J. Hoban, J. P. Lynch 3<sup>rd</sup>, J. A. Karlowsky, *Drugs* **2013**, *73*, 159-177
- (76) C. Mauri, A. E. Maraolo, S. Di Bella, F. Luzzaro, L. Principe, *Antibiotics* **2021**, *10*, 1012
- (77) T. A. Blizzard, H. Chen, S. Kim, J. Wu, R. Bodner, C. Gude, J. Imbriglio, K. Young, Y.-W. Park, A. Ogawa, S. Raghoobar, N. Hairston, R. E. Painter, D. Wisniewski, G. Scapin, P. Fitzgerald, N. Sharma, J. Lu, S. Ha, J. Hermes, M. L. Hammond, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 780-785
- (78) T. F. Durand-Réville, S. Guler, J. Comita-Prevoir, B. Chen, N. Bifulco, H. Huynh, S. Lahiri, A. B. Shapiro, S. M. McLeod, N. M. Carter, S. H. Moussa, C. Velez-Vega, N. B. Olivier, R. McLaughlin, N. Gao, J. Thresher, T. Palmer, B. Andrews, R. A. Giacobbe, J. V. Newman, D. E. Ehmann, B. de Jonge, J. O'Donnell, J. P. Mueller, R. A. Tommasi, A. A. Miller, *Nat. Microbiol.* **2017**, *2* (17104), 1-10
- (79) K. M. Papp-Wallace, N. Q. Nguyen, M. R. Jacobs, C. R. Bethel, M. D. Barnes, V. Kumar, S. Bajaksouzian, S. D. Rudin, P. N. Rather, S. Bhavsar, T. Ravikumar, P. K. Deshpande, V. Patil, R. Yeole, S. S. Bhagwat, M. V. Patel, F. van den Akker, R. A. Bonomo, *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 4067-4086
- (80) D. M. Livermore, S. Mushtaq, M. Warner, A. Vickers, N. Woodford, *J. Antimicrob. Chemother.* **2017**, *72*, 1373-1385
- (81) a) S. N. Maiti, D. Nguyen, J. Khan, R. Ling, Naeja Pharmaceutical, US20130225554, **2013**  
 b) T. Abe, T. Furuuchi, Y. Sakamaki, S. Inamura, A. Morinaka, Meiji Seika Pharma Co., JPWO2013180197, **2013**
- (82) A. Morinaka, Y. Tsutsumi, M. Yamada, K. Suzuki, T. Watanabe, T. Abe, T. Furuuchi, S. Inamura, Y. Sakamaki, N. Mitsuhashi, T. Ida, D. M. Livermore, *J. Antimicrob. Chemother.* **2015**, *70*, 2779-2786
- (83) E. M. Gordon, M. A. J. Duncton, M. A. Gallop, *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 10340-10344

- (84) T. F. Durand-Réville, J. Comita-Prevoir, J. Zhang, X. Wu, T. L. May-Dracka, J. A. C. Romero, F. Wu, A. Chen, A. B. Shapiro, N. M. Carter, S. M. McLeod, R. A. Giacobbe, J. C. Verheijen, S. D. Lahiri, M. D. Sacco, Y. Chen, J. P. O'Donnell, A. A. Miller, J. P. Mueller, R. A. Tommasi, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 12511-12525
- (85) A. B. Shapiro, N. Gao, *ACS Infect. Dis.* **2021**, *7*, 114-122
- (86) A. A. Miller, A. B. Shapiro, S. M. McLeod, N. M. Carter, S. H. Moussa, R. Tommasi, J. P. Mueller, *ACS Infect. Dis.* **2020**, *6*, 1389-1397
- (87) J. O'Donnell, A. Tanudra, A. Chen, D. Hines, R. Tommasi, J. Mueller, *ACS Infect. Dis.* **2020**, *6*, 1378-1388
- (88) D. T. Davies, S. Leiris, M. Zalacain, N. Sprynski, J. Castandet, J. Bousquet, C. Lozano, A. Llanos, L. Alibaud, S. Vasa, R. Pattipati, R. Valige, B. Kummari, S. Pothukanuri, C. De Piano, I. Morrissey, K. Holden, P. Warn, F. Marcoccia, M. Benvenuti, C. Pozzi, G. Tassone, S. Mangani, J.-D. Docquier, D. Pallin, R. Elliot, M. Lemonnier, M. Everett, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 15802-15820
- (89) D. T. Davies, M. Everett, *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54*, 2055-2064
- (90) H. Fu, H. Fang, J. Sun, H. Wang, A. Liu, J. Sun, Z. Wu, *Curr. Med. Chem.* **2014**, *21*, 3271-3280
- (91) P. A. Kiener, S. G. Waley, *Biochem. J.* **1978**, *169*, 197-204
- (92) A. Krajnc, P. A. Lang, T. D. Panduwawala, J. Brem, C. J. Schofield, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2019**, *50*, 101-110
- (93) S. J. Hecker, K. R. Reddy, M. Totrov, G. C. Hirst, O. Lomovskaya, D. C. Griffith, P. King, R. Tsivkovski, D. Sun, M. Sabet, Z. Tarazi, M. C. Clifton, K. Atkins, A. Raymond, K. T. Potts, J. Abendroth, S. H. Boyer, J. S. Loutit, E. E. Morgan, S. Durso, M. N. Dudley, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 3682-3692
- (94) O. Lomovskaya, D. Sun, D. Rubio-Aparicio, K. Nelson, R. Tsivkovski, D. C. Griffith, M. N. Dudley, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2017**, *61*, e01443-17
- (95) G. W. Langley, R. Cain, J. M. Tyrrell, P. Hinchliffe, K. Calvopina, C. L. Tooke, E. Widlake, C. G. Dowson, J. Spencer, T. R. Walsh, C. J. Schofield, J. Brem, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29*, 1981-1984
- (96) S. Dhillon, *Drugs* **2018**, *78*, 1259-1270
- (97) E. Lence, C. González-Bello, *Adv. Therap.* **2021**, *4*, 2000246
- (98) a) A. Krajnc, J. Brem, P. Hinchliffe, K. Calvopina, T. D. Panduwawala, P. A. Lang, J. J. A. G. Kamps, J. M. Tyrrell, E. Widlake, B. G. Saward, T. R. Walsh, J. Spencer, C. J. Schofield, *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 8544-8556 b) B. Liu, R. E. L. Trout, G.-H. Chu, D. McGarry, R. W. Jackson, J. C. Hamrick, D. M. Daigle, S. M. Cusick, C. Pozzi, F. De Luca, M. Benvenuti, S. Mangani, J.-D. Docquier, W. J. Weiss, D. C. Pevear, L. Xerri, C. J. Burns, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 2789-2801
- (99) a) S. J. Hecker, K. R. Reddy, O. Lomovskaya, D. C. Griffith, D. Rubio-Aparicio, K. Nelson, R. Tsivkovski, D. Sun, M. Sabet, Z. Tarazi, J. Parkinson, M. Totrov, S. H. Boyer, T. W. Glinka, O. A. Pemberton, Y. Chen, M. N. Dudley, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 7491-7507 b) O.

- Lomovskaya, R. Tsivkovski, D. Sun, R. Reddy, M. Totrov, S. Hecker, D. Griffith, J. Loutit, M. Dudley, *Front. Microbiol.* **2021**, *12*, 697180
- (100) R. E. Trout, A. Zulli, E. Mesaros, R. W. Jackson, S. Boyd, B. Liu, J. Hamrick, D. Daigle, C. L. Chatwin, K. John, L. McLaughlin, S. M. Cusick, W. J. Weiss, M. E. Pulse, D. C. Pevear, G. Moeck, L. Xerri, C. J. Burns, *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 10155-10166
- (101) a) M. Everett, N. Sprynski, A. Coelho, J. Castandet, M. Bayet, J. Bougnon, C. Lozano, D. T. Davies, S. Leiris, M. Zalacain, I. Morrissey, S. Magnet, K. Holden, P. Warn, F. De Luca, J.-D. Docquier, M. Lemonnier, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2018**, *62*, e00074-18 b) S. Leiris, A. Coelho, J. Castandet, M. Bayet, C. Lozano, J. Bougnon, J. Bousquet, M. Everett, M. Lemonnier, N. Sprynski, M. Zalacain, T. D. Pallin, M. C. Cramp, N. Jennings, G. Raphy, M. W. Jones, R. Pattipati, B. Shankar, R. Sivasubrahmanyam, A. K. Soodhagani, R. R. Juventhala, N. Pottabathini, S. Pothukanuri, M. Benvenuti, C. Pozzi, S. Mangani, F. De Luca, G. Cerboni, J.-D. Docquier, D. T. Davies, *ACS Infect. Dis.* **2019**, *5*, 131-140
- (102) a) D. T. Davies, S. Leiris, N. Sprynski, J. Castandet, C. Lozano, J. Bousquet, M. Zalacain, S. Vasa, P. K. Dasari, R. Pattipati, N. Vempala, S. Gujjewar, S. Godi, R. Jallala, R. R. Sathyap, N. A. Darshanoju, V. R. Ravu, R. R. Juventhala, N. Pottabathini, S. Sharma, S. Pothukanuri, K. Holden, P. Warn, F. Marcoccia, M. Benvenuti, C. Pozzi, S. Mangani, J.-D. Docquier, M. Lemonnier, M. Everett, *ACS Infect. Dis.* **2020**, *6*, 2419-2430 b) S. Das, A. Johnson, L. McEntee, N. Farrington, A. Kirby, J. Unsworth, A. Jimenez-Valverde, R. Kolamunnage-Dona, J. Bousquet, L. Alibaud, C. Sable, M. Zalacain, M. Everett, W. Hopea, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2020**, *64*, e01076-20
- (103) E. Romero, S. Oueslati, M. Benchekroun, A. C. A. D'Hollander, S. Ventre, K. Vijayakumar, C. Minard, C. Exilie, L. Tlili, P. Retailleau, A. Zavala, E. Elisée, E. Selwa, L. A. Nguyen, A. Pruvost, T. Naas, B. I. Iorga, R. H. Dodd, K. Cariou, *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *219*, 113418
- (104) T. Nishimura, T. Kawahara, N. Kagaya, Y. Ogura, H. Takikawa, H. Suenaga, M. Adachi, T. Hirokawa, T. Doi, K. Shin-ya, *Org. Lett.* **2021**, *23*, 4415-4419
- (105) L. Peilleron, K. Cariou, *Org. Biomol. Chem.*, **2020**, *18*, 830-844
- (106) a) M. Lampilas, J. Aszodi, D. A. Rowlands, C. Fromentin, Aventis Pharma, WO0210172, **2002** b) J. Aszodi, M. Lampilas, C. Fromentin, D. A. Rowlands, Aventis Pharma, FR2835186, **2003** c) M. Lampilas, J. Aszodi, D. A. Rowlands, C. Fromentin, Aventis Pharma, US20030199541, **2003**
- (107) H. C. Beyerman, P. Boekee, *Rec. Trav. Chim.* **1959**, *78*, 648-658.
- (108) a) A. Priour, A. Bonnet, G. Oddon, A. Mazurie, Novexel, WO2009090320, **2009** b) A. Priour, A. Bonnet, G. Oddon, A. Mazurie, Novexel, FR2921060, **2009**
- (109) M. Ball, A. Boyd, G. J. Ensor, M. Evans, M. Golden, S. R. Linke, D. Milne, R. Murphy, A. Telford, Y. Kalyan, G. R. Lawton, S. Racha, M. Ronsheim, S. Hong Zhou, *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20*, 1799-1805
- (110) J. E. Baldwin, R. M. Adlington, C. R. A. Godfrey, D. W. Gollins, J. G. Vaughan, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1434-1435
- (111) Q. Yang, M. Sheng, J. J. Henkelis, S. Tu, E. Wiensch, H. Zhang, Y. Zhang, C. Tucker, D. E. Ejeh, *Org. Process Res. Dev.* **2019**, *23*, 2210-2217

- (112) J. A. Boyd, J. H. Cherryman, M. Golden, Y. B. Kalyan, G. R. Lawton, D. Milne, A. J. Phillips, S. Racha, M. S. Ronsheim, A. Telford, S. H. Zhou, M. G. Dedhiya, AstraZeneca, WO2012172368, **2012**
- (113) T. Wang, L.-D. Du, D.-J. Wan, X. Li, X.-Z. Chen, G.-F. Wu, *Org. Process Res. Dev.* **2018**, *22*, 1738-1744
- (114) I. K. Mangion, R. T. Ruck, N. Rivera, M. A. Huffman, M. Shevlin, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5480-5483
- (115) S. P. Miller, Y.-L. Zhong, Z. Liu, M. Simeone, N. Yasuda, J. Limanto, Z. Chen, J. Lynch, V. Capodanno, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 174-177
- (116) a) Z. Liu, N. Yasuda, L. Yang, A. Klapars, K. R. Campos, Merck & Co., WO2016089718, **2016** b) J. Yin, M. Weisel, Y. Ji, Z. Liu, J. Liu, D. J. Wallace, F. Xu, B. D. Sherry, N. Yasuda, *Org. Process Res. Dev.* **2018**, *22*, 273-277 c) J. Y. L. Chung, D. Meng, M. Shevlin, V. Gudipati, Q. Chen, Y. Liu, Y.-H. Lam, A. Dumas, J. Scott, Q. Tu, F. Xu, *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 994-1000
- (117) J. Kim, T. Itoh, F. Xu, Z. E. X. Dance, J. H. Waldman, D. J. Wallace, F. Wu, R. Kats-Kagan, A. R. Ekkati, A. P. J. Brunskill, F. Peng, P. S. Fier, J. V. Obligation, B. D. Sherry, Z. Liu, K. M. Emerson, A. J. Fine, A. V. Jenks, M. E. Armenante, *Org. Process Res. Dev.* **2021**, *25*, 2249-2259
- (118) S.-W. Yang, X. Linghu, E. Smith, J. Pan, V. Sprague, J. Su, *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 2838-2841
- (119) M. Furegati, S. Nocito, F. Reck, A. Casarez, R. Simmons, H. Schuetz, G. Koch, *Org. Process Res. Dev.* **2020**, *24*, 1244-1253
- (120) A. M. King, D. T. King, S. French, E. Brouillette, A. Asli, J. A. N. Alexander, M. Vuckovic, S. N. Maiti, T. R. Parr Jr., E. D. Brown, F. Malouin, N. C. J. Strynadka, G. D. Wright, *ACS Chem. Biol.* **2016**, *11*, 864-868
- (121) Z. Iqbal, L. Zhai, Y. Gao, D. Tang, X. Ma, J. Ji, J. Sun, J. Ji, Y. Liu, R. Jiang, Y. Mu, L. He, H. Yang, Z. Yang, *Beilstein J. Org. Chem.* **2021**, *17*, 711-718
- (122) Y. Gao, Y. Liu, Z. Iqbal, J. Sun, J. Ji, L. Zhai, D. Tang, J. Ji, L. He, Y. Mu, H. Yang, Z. Yang, *ChemistrySelect* **2021**, *6*, 1174-1178
- (123) M. Fujiu, K. Yokoo, T. Aoki, S. Shibuya, J. Sato, K. Komano, H. Kusano, S. Sato, M. Ogawa, K. Yamawaki, *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 9650-9660
- (124) M. Fujiu, K. Yokoo, J. Sato, S. Shibuya, K. Komano, H. Kusano, S. Sato, T. Aoki, N. Kohira, S. Kanazawa, R. Watari, T. Kawachi, Y. Hirakawa, D. Nagamatsu, E. Kashiwagi, H. Maki, K. Yamawaki, *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 9496-9512
- (125) M. Fujiu, K. Yokoo, J. Sato, S. Shibuya, K. Komano, H. Kusano, S. Sato, T. Aoki, N. Kohira, S. Miyagawa, T. Kawachi, K. Yamawaki, *ACS Infect. Dis.* **2020**, *6*, 3034-3047
- (126) F. Reck, A. Bermingham, J. Blais, A. Casarez, R. Colvin, C. R. Dean, M. Furegati, L. Gamboa, E. Growcott, C. Li, S. Lopez, L. Metzger, S. Nocito, F. Ossola, K. Phizackerley, D. Rasper, J. Shaul, X. Shen, R. L. Simmons, D. Tang, K. Tashiro, Q. Yue, *ACS Infect. Dis.* **2019**, *5*, 1045-1051
- (127) L. Chu, C. Ohta, Z. Zuo, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 10886-10889

- (128) H. Xiong, B. Chen, T. F. Durand-Réville, C. Joubran, Y. W. Alelyunas, D. Wu, H. Huynh, *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 1143-1147
- (129) B. M. Trost, D. B. Horne, M. J. Woltering, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5987-5990
- (130) S. B. Garber, J. S. Kingsbury, B. L. Gray, A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8168-8179
- (131) a) E. J. Corey, M. Chaykovsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1353-1364 b) Y. G. Gololobov, A. N. Nesmeyanov, V. P. Iysenko, I. E. Boldeskul, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 2609-2651
- (132) A. L. Gemal, J.-L. Luche, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5454-5459
- (133) S. E. Denmark, J. P. Edwards, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6974-6981
- (134) H. McGuire, S. Bist, N. Bifulco, L. Zhao, Y. Wu, H. Huynh, H. Xiong, J. Comita-Prevoir, D. Dussault, B. Geng, B. Chen, T. F. Durand-Réville, S. Guler, Entasis Therapeutics, US9309245, **2016**
- (135) Y. Ito, T. Hirao, T. Saegusa, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 1011-1013
- (136) N. Levy, J.-M Bruneau, E. Le Rouzic, D. Bonnard, F. Le Strat, A. Caravano, F. Chevreuil, J. Barbion, S. Chasset, B. Ledoussal, F. Moreau, M. Ruff, *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 4742-4754
- (137) J. Aszodi, M. Lampilas, B. Musicki, A. D. Rowlands, P. Collette, Aventis Pharma, WO02100860, **2002**
- (138) P. Levasseur, J. L. Pace, K. Coleman, J. Lowther, Novoxel, US20100092443, **2010**
- (139) T. F. Durand-Réville, A. A. Miller, J. P. O'Donnell, X. Wu, M. A. Sylvester, S. Guler, R. Iyer, A. B. Shapiro, N. M. Carter, C. Velez-Vega, S. H. Moussa, S. M. McLeod, A. Chen, A. M. Tanudra, J. Zhang, J. Comita-Prevoir, J. A. Romero, H. Huynh, A. D. Ferguson, P. S. Horanyi, S. J. Mayclin, H. S. Heine, G. L. Drusano, J. E. Cummings, R. A. Slayden, R. A. Tommasi, *Nature* **2021**, *597*, 698-702
- (140) J. Comita-Prevoir, T. F. Durand-Réville, S. Guler, J. Romero, M. Sylvester, R. Tommasi, C. Velez-Vega, X. Wu, J. Zhang, Entasis Therapeutics, WO2018208769, **2018**
- (141) H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021
- (142) M. Colombo, I. Peretto, *Drug Discov. Today* **2008**, *13*, 677-684
- (143) U. Chiacchio, A. Padwa, G. Romeo, *Curr. Org. Chem.* **2009**, *13*, 422-447
- (144) a) V. V. Fokin, P. Wu, *Aziridines and Epoxydes in Organic Synthesis* **2006**, 443-477 b) A. Megia-Fernandez, M. Ortega-Munoz, F. Hernandez-Mateo, F. Santoyo-Gonzalez, *Adv. Synth. Catal.* **2012**, *354*, 1797-1803
- (145) a) H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Transition Met. Org. Synth.* **2004**, *2*, 275-336 b) C. E. Hoyle, A. B. Lowe, C. N. Bowman, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1355-1387 c) Y. Zhu, Q. Wang, R. G. Cornwall, Y. Shi, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 8199-8256 d) D. P. Nair, M. Podgorski, S. Chatani, T. Gong, W. Xi, C. R. Fenoli, C. N. Bowman, *Chem. Mater.* **2014**, *26*, 724-744
- (146) a) J. Collins, Z. Xiao, M. Müllner, L. A. Connal, *Polym. Chem.* **2016**, *7*, 3812-3826 b) P. Elías-Rodríguez, V. Pingitore, A. T. Carmona, A. J. Moreno-Vargas, D. Ide, S. Miyawaki, A. Kato, E. Álvarez, I. Robina, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 8863-8873
- (147) M. S. Singh, S. Chowdhury, S. Koley, *Tetrahedron* **2016**, *72*, 1603-1644
- (148) L. I. Smith, *Chem. Rev.* **1938**, *23*, 193-285

- (149) a) R. Huisgen, *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 357-369 b) R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, 2, 565-598 c) R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, 2, 633-645
- (150) H.C. Kolb, K. B. Sharpless, *Drug Discov. Today* **2003**, 8, 1128-1137
- (151) A. Michael, *J. Prakt. Chem.* **1893**, 48, 94-95
- (152) R. Huisgen, R. Knorr, L. Möbius, G. Szeimies, *Chem. Ber.* **1965**, 98, 4014-4021
- (153) C. W. Tornoe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3057-3064
- (154) V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2596-2599
- (155) B. T. Worrell, J. A. Malik, V. V. Fokin, *Science* **2013**, 340, 457-460
- (156) L. Jin, D. R. Tolentino, M. Melaimi, G. Bertrand, *Sci. Adv.* **2015**, 1, e1500304
- (157) B. Schulze, U. S. Schubert, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 2522-2571
- (158) F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V. V. Rostovtsev, L. Noodleman, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 210-216
- (159) D. C. Kennedy, C. S. McKay, M. C. B. Legault, D. C. Danielson, J. A. Blake, A. F. Pegoraro, A. Stolow, Z. Mester, J. P. Pezacki, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 17993-18001
- (160) T. R. Chan, R. Hilgraf, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Org. Lett.* **2004**, 6, 2853-2855
- (161) V. Hong, S. I. Presolski, C. Ma, M. G. Finn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 9879-9883
- (162) a) J. E. Hein, J. C. Tripp, L. B. Krasnova, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 8018-8021 b) C. Spiteri, J. E. Moses, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 31-33
- (163) L. Zhang, X. Chen, P. Xue, H. H. Y. Sun, I. D. Williams, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, G. Jia, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 15998-15999
- (164) L. K. Rasmussen, B. C. Boren, V. V. Fokin, *Org. Lett.* **2007**, 9, 5337-5339
- (165) B. C. Boren, S. Narayan, L. K. Rasmussen, L. Zhang, H. Zhao, Z. Lin, G. Jia, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 8923-8930
- (166) M. M. Majireck, S. M. Weinreb, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 8680-8683
- (167) P. Liu, R. J. Clark, L. Zhu, *J. Org. Chem.* **2018**, 83, 5092-5103
- (168) P. Destito, J. R. Couceiro, H. Faustino, F. Lopez, J. L. Mascarenas, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, 56, 10766-10770
- (169) S. Ferrini, J. Z. Chandanshive, S. Lena, M. C. Franchini, G. Giannini, A. Tafi, M. Taddei, *J. Org. Chem.* **2015**, 80, 2562-2572
- (170) M. Lamberti, G. C. Fortman, A. Poater, J. Broggi, A. M. Z. Slawin, L. Cavallo, S. P. Nolan, *Organometallics* **2012**, 31, 756-767
- (171) J. R. Johansson, T. Beke-Somfai, A. S. Stalsmeden, N. Kann, *Chem. Rev.* **2016**, 116, 14726-14768
- (172) W. G. Kim, M. E. Kang, J. B. Lee, M. H. Jeon, S. Lee, J. Lee, B. Choi, P. M. S. D. Cal, S. Kang, J.-M. Kee, G. J. L. Bernardes, J.-U. Rohde, W. Choe, S. Y. Hong, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 12121-12124
- (173) W. G. Kim, S.-Y. Baek, S. Y. Jeong, D. Nam, J. H. Jeon, W. Choe, M.-H. Baik, S. Y. Hong, *Org. Biomol. Chem.* **2020**, 18, 3374-3381
- (174) G. C. Tron, T. Pirali, R. A. Billington, P. L. Canonico, G. Sorba, A. A. Genazzani, *Med. Res. Rev.* **2008**, 28, 278-308

- (175) Y. Bourne, H. C. Kolb, Z. Radic, K. B. Sharpless, P. Taylor, P. Marchot, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 1449-1454
- (176) R. G. Micetich, S. N. Maiti, P. Spevak, T. W. Hall, S. Yamabe, N. Ishida, M. Tanaka, T. Yamazaki, A. Nakai, K. Ogawa, *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1469-1474
- (177) R. C. Mearman, C. E. Newall, A. P. Tonge, *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 885-891
- (178) E. Caselli, C. Romagnoli, R. Vahabi, M. A. Taracila, R. A. Bonomo, F. Prati, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 5445-5458
- (179) N. Q. Nguyen, N. P. Krishnan, L. J. Rojas, F. Prati, E. Caselli, C. Romagnoli, R. A. Bonomo, F. van den Akker, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2016**, *60*, 1760-1766
- (180) a) E. Caselli, F. Fini, M. L. Introvigne, M. Stucchi, M. A. Taracila, E. R. Fish, K. A. Smolen, P. N. Rather, R. A. Powers, B. J. Wallar, R. A. Bonomo, F. Prati, *ACS Infect. Dis.* **2020**, *6*, 1965-1975 b) M. L. Introvigne, M. A. Taracila, F. Prati, E. Caselli, R. A. Bonomo, *ChemMedChem* **2020**, *15*, 1283-1288
- (181) Z. Edo, L. Iannazzo, F. Compain, I. L. de la Sierra-Gallay, H. van Tilbeurgh, M. Fonvielle, F. Bouchet, E. Le Run, J.-L. Mainardi, M. Arthur, M. Ethève-Quellejeu, J.-E. Hugonnet, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 8081-8086
- (182) Y. S. Hwang, J.-Q. Gu, A. Jain, S. Garad, J. P. Sizemore, Cubist Pharmaceuticals, US9120795 B2, **2015**
- (183) G. Singh, S. Singh Mangat, J. Singh, A. Arora, R. K. Sharma, *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 903-909
- (184) P. A. Crooks, S. G. Kottayil, A. M. Al-Ghananeem, S. R. Byrn, D. A. Butterfield, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 4291-4295
- (185) P. K. Deshpande, S. S. Pawar, S. Bhawsar, R. D. Yeole, S. Bhagwat, M. V. Patel, Wockhardt Limited, WO2015052682, **2015**
- (186) S. Ohnmacht, P. Nava, R. West, R. Parker, J. Atkinson, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 7631-7638
- (187) F. Bouchet, H. Atze, M. Fonvielle, Z. Edo, M. Arthur, M. Ethève-Quellejeu, L. Iannazzo, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 5257-5273
- (188) a) Y. Zhang, R. P. Hsung, M. R. Tracey, K. C. M. Kurtz, E. L. Vera, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1151-1154 b) X. Zhang, Y. Zhang, J. Huang, R. P. Hsung, K. C. M. Kurtz, J. Oppenheimer, M. E. Petersen, I. K. Sagamanova, L. Shen, M. R. Tracey, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4170-4177
- (189) A. M. Cook, C. Wolf, *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 2377-2392
- (190) Y.-L. Chen, P. Sharma, R.-S. Liu, *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 3187-3190
- (191) Y. Gao, G. Wu, Q. Zhou, J. Wang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 2716-2720
- (192) a) G. Gasser, N. Metzler-Nolte, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2012**, *16*, 84-91 b) Y. Ching Ong, S. Roy, P. C. Andrews, G. Gasser, *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 730-796 c) Y. Lin, H. Betts, S. Keller, K. Cariou, G. Gasser, *Chem. Soc. Rev.* **2021**, *50*, 10346-10402
- (193) S.-W. Yang, X. Linghu, E. Smith, J. Pan, V. Sprague, J. Su, *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 2838-2841
- (194) H. Staudinger, J. Meyer *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635-646
- (195) E. Saxon, C. R. Bertozzi, *Science* **2000**, *287*, 2007-2010

- (196) F. L. Lin, H. M. Hoyt, H. van Halbeek, R. G. Bergman, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2686-2695
- (197) E. Saxon, J. I. Armstrong, C. R. Bertozzi, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2141-2143
- (198) B. L. Nilsson, L. L. Kiessling, R. T. Raines, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1939-1941
- (199) a) C. Grandjean, A. Boutonnier, C. Guerreiro, J.-M. Fournier, L. A. Mulard, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 7123-7132 b) A. Bianchi, A. Bernardi, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4565-4577 c) F. Nisic, M. Andreini, A. Bernardi, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 5744-5751 d) S. Liu, K. J. Edgar, *Biomacromolecules* **2015**, *16*, 2556-2571 e) S. Zhu, Z. Guo, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 3063-3066
- (200) T. Yamashita, T. Kuranaga, M. Inoue, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 2170-2173
- (201) a) A. Tam, R. T. Raines, *Methods Enzymol.* **2009**, *462*, 25-44 b) G. J. L. Bernardes, L. Linderoth, K. J. Doores, O. Boutureira, B. G. Davis, *ChemBioChem* **2011**, *12*, 1383-1386 c) Z. A. Wang, Y. Kurra, X. Wang, Y. Zeng, Y.-J. Lee, V. Sharma, H. Lin, S. Y. Dai, W. R. Liu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 1643-1647
- (202) a) C. Kitoun, M. Fonvielle, N. Sakkas, M. Lefresne, F. Djago, Q. Blancart Remaury, P. Poinot, M. Arthur, M. Ethève-Quelquejeu, L. Iannazzo, *Org. Lett.* **2020**, *22*, 8034-8038 b) C. Kitoun, M. Fonvielle, M. Arthur, M. Ethève-Quelquejeu, L. Iannazzo, *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.* **2021**, *1*, e42, doi: 10.1002/cpz1.42
- (203) A. Kumar, G. Ye, Y. Ahmadibeni, K. Parang, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7915-7918
- (204) Y. Ikeda, E. J. Behrman, *Synth. Commun.* **2008**, *38*, 2276-2284
- (205) M. Patra, G. Gasser, *Nat. Rev. Chem.* **2017**, *1*, 0066
- (206) M. A. Sierra, L. Casarrubios, M. C. de la Torre, *Chem. Eur. J.* **2019**, *25*, 7232-7242
- (207) A. D. Kosal, E. E. Wilson, B. L. Ashfeld, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 12036-12040
- (208) F. Bouchet, H. Atze, M. Arthur, M. Ethève-Quelquejeu, L. Iannazzo, *Org. Lett.* **2021**, *23*, 7755-7758
- (209) T. Ozturk, E. Ertas, O. Mert, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5210-5278
- (210) F. A. Larik, A. Saeed, U. Muqadar, P. A. Channar, *J. Sulfur Chem.* **2017**, *38*, 206-227
- (211) I. Thomsen, K. Clausen, S. Scheibye, S.-O. Lawesson, *Org. Synth.* **1984**, *62*, 158-160
- (212) V. J. Patil, R. Tadiparthi, S. Birajdar, S. Bhagwat, Wockhardt Limited, WO2013038330, **2013**
- (213) I. Van Daele, H. Munier-Lehmann, P. M. S. Hendrickx, G. Marchal, P. Chavarot, M. Froeyen, L. Qing, J. C. Martins, S. Van Calenbergh, *ChemMedChem* **2006**, *1*, 1081-1090
- (214) Y. G. Gu, Y. He, N. Yin, D. C. Alexander, J. B. Cross, C. A. Metcalf III, R. Busch, Cubist Pharmaceuticals, US20130289012, **2013**
- (215) P. Gordillo Guerra, P. Clerici, L. Micouin, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 7689-7694
- (216) L. Le Corre, J.-C. Kizirian, C. Levraud, J.-L. Boucher, V. Bonnet, H. Dhimane, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3388-3398
- (217) P. A. Reddy, O. F. Schall, J. R. Wheatley, L. O. Rosik, J. P. McClurg, G. R. Marshall, U. Slomczynska, *Synthesis* **2001**, *7*, 1086-1092
- (218) G. Acquaah-Harrison, S. Zhou, J. V. Hines, S. C. Bergmeier, *J. Comb. Chem.* **2010**, *12*, 491-496

- (219) G. A. Molander, F. Cadoret, *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 2199-2202
- (220) M. X.-W. Jiang, M. Rawat, W. D. Wulff, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 5970-5971
- (221) B. S. L. Collins, M. G. Suero, M. J. Gaunt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 5799-5802
- (222) Y. Zhao, J. Jin, P. W. H. Chan, *Adv. Synth. Catal.* **2019**, 361, 1313-1321
- (223) X. Nie, G. Wang, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 4734-4741
- (224) L. Zhu, Y. Yu, Z. Mao, X. Huang, *Org. Lett.* **2015**, 17, 30-33
- (225) J. Zhang, H. Wang, M. Xian, *Org. Lett.* **2009**, 11, 477-480
- (226) A. M. Ahad, S. M. Jensen, J. C. Jewett, *Org. Lett.* **2013**, 15, 5060-5063
- (227) J. Jiang, M. Taniguchia, J. S. Lindsey, *New J. Chem.* **2015**, 39, 4534-4550