

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES
UMR 7042

THÈSE

présentée par :

Maëva PICHON

soutenue le : 23 novembre 2018

pour obtenir le grade de :

Docteur de l'université de Strasbourg

Discipline/ Spécialité : Chimie Organique

Conception et synthèse d'minosucres multivalents bioactifs à motif glycoimidazole – Développement d'une méthode de déshydroxylation sélective

THÈSE dirigée par :

Mr COMPAIN Philippe

Professeur, Université de Strasbourg

THÈSE encadrée par :

Mme BODLENNER Anne

Maître de conférences, Université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

Mme PY Sandrine

Directrice de Recherche, Université Grenoble-Alpes

Mr VINCENT Stéphane

Professeur, Université de Namur

MEMBRES DU JURY :

Mr WEIBEL Jean-Marc

Professeur, Université de Strasbourg

Mme PY Sandrine

Directrice de Recherche, Université Grenoble-Alpes

Mr VINCENT Stéphane

Professeur, Université de Namur

Mr COMPAIN Philippe

Professeur, Université de Strasbourg

« Est érudit celui qui sait où il peut trouver ce qu'il ne sait pas »

GEORG SIMMEL

REMERCIEMENTS

Mes premiers remerciements vont à mon directeur de thèse, Philippe Compain, pour m'avoir accepté au sein de l'équipe SYBIO et ce dès mon stage de Master 2. Philippe est tout simplement le meilleur professeur que j'ai eu l'occasion d'avoir lors de ma formation. Il transmet son savoir, sa rigueur et ses conseils avec passion. Je le remercie également de m'avoir confié un sujet de thèse aussi intéressant qui me tenait à cœur et pour la confiance sans faille qu'il a eu en mon travail. Toutes ces réunions à temps incertain à parler de sciences et à apprendre de ses expériences, qui ont petit à petit forgé la jeune scientifique que je suis aujourd'hui, me manqueront. Merci pour son soutien indéfectible, toujours à l'écoute et toujours prêt à se rendre disponible. Merci pour tout.

Cette thèse n'aurait pu être menée à bien sans l'aide précieuse de mon encadrante de thèse Anne Bodlenner. Dès mon stage Master, Anne s'est montrée d'une grande écoute et un lien fort de confiance s'est très rapidement installé. Elle est extrêmement compréhensive et d'une grande délicatesse, ce qui fait d'elle, pour moi, la figure maternelle du laboratoire. Je la remercie pour tout le savoir qu'elle a pu me transmettre au sujet de l'enzymologie, de la rigueur de travail et de la confiance en soi. Merci également pour cette initiation au Qi Gong et à la méditation que tu as programmé au moment où j'en avais le plus le besoin.

Je remercie Sandrine Py et Stéphane Vincent d'avoir accepté de lire ce travail de thèse et de l'avoir évalué en tant que rapporteurs ainsi qu'à Jean-Marc Weibel de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse.

Un merci particulier à Fabien Stauffert que je considère comme mon mentor. Il m'a encadré lors de mon stage master et m'a transmis de nombreux conseils très précieux, que je m'empresse de transmettre aux stagiaires que je côtoie ou encadre. Fabien a véritablement été un modèle pour moi, si bien que l'on retrouve, apparemment, des traits de son travail dans le mien. Je suis arrivée au laboratoire en Master avec très peu d'expérience et j'ai réussi ensuite à obtenir une bourse me permettant de rester en thèse en fin de stage, en partie, grâce à lui.

J'adresse également mes remerciements à Damien Hazelard qui a toujours été disponible pour m'aider. Merci pour toutes ces discussions informelles qui égayaient les journées au laboratoire.

Merci beaucoup à Nicolas Kern qui m'a beaucoup appris scientifiquement et humainement. La complicité et la transparence de nos échanges me manqueront. Travailler à ses côtés a vraiment été une véritable chance. Je lui adresse à nouveau mes félicitations pour sa récente nomination en tant que chargé de recherches au sein de l'équipe. Le fait qu'il devienne un grand chercheur ne fait pour moi aucun doute. Je lui souhaite beaucoup de réussite et plein de thésards pour mener à bien tous les projets qu'il imagine à profusion.

J'adresse un remerciement spécial à Maciej Malinowski qui a tout simplement été le meilleur binôme de travail que j'ai pu avoir au laboratoire.

Je remercie le Pr. Frédéric Becq et la Dr.Khadidja Sidelarbi pour les tests réalisés dans le cadre de la mucoviscidose.

Je souhaite bon courage aux doctorants actuels du laboratoire, Damien Tardieu, Yan Liang et Marine Desnoyers, la toute nouvelle recrue. Damien T. a déjà fourni un travail conséquent sur son projet de thèse et il possède une culture scientifique absolument remarquable. Je lui souhaite de conserver cette soif de savoir qui fait de lui un très bon chimiste. Yan Liang est l'une des personnes les plus courageuses que j'ai eu l'occasion de rencontrer. Arrivée de Chine il y a seulement 1 an, elle a su prendre ses marques et a presque déjà atteint un de ces premiers objectifs de thèse. Je suis ravie d'avoir pu lui apporter mon aide lors de ses débuts et lui souhaite bon courage pour la suite. Je souhaite également à Marine un bon début de thèse, être encadrée par Mr. Kern n'est pas une chance donnée à tout le monde. Que cette thèse lui apporte confiance et réussite.

J'adresse également mes remerciements aux anciens du labo, Raphaël, Jérémy ou encore Mathieu qui ont su résister à mon débit de questions continu et conséquent. Merci également à tous les stagiaires que j'ai pu encadrer ou qui sont passés par le laboratoire : Claire, Dina, Juliane, Amélie, Adrien, Sébastien, Maria, Robin W, Robin H, Priscilla...

Merci à Sabine Chopin d'avoir accepté ma candidature en tant que monitrice des travaux pratiques de chimie organique. J'ai beaucoup apprécié cette expérience très enrichissante.

Merci à tous les collègues des autres bâtiments de recherche : Chloé, Julien, Dada, Paul, Lucas, Gaspard, Jordan, Joanna, Soufyan, Aabid, James, Marie-Charlotte, Lucie... et bien d'autres.

Merci à Emeric Wasielwski pour son aide lors de mes RMN difficiles de cyclodextrines ainsi que Bruno Vincent au campus Esplanade. Merci également à Mathieu Chessé pour son aide lors des différentes analyses qui n'ont pas toujours été évidentes.

Petite pensée pour la team Step Fallia, Lucie, Chloé, Joanna et Maria.

Un grand merci à Geoffrey, Marion et ainsi qu'à tous mes amis strasbourgeois : Hugo, Cécile, Eline, Clochette, Francis, Charlotte, Guillaume, Sophie...

Et bien sûr un grand merci au soutien sans faille de ma famille qui m'a tout simplement permis d'être là où j'en suis aujourd'hui.

Et je terminerai par un remerciement particulier qui ne nécessite pas d'explication : merci à Adrien.

TABLE DES MATIERES

Abréviations et acronymes

Introduction générale.....	1
I) Les iminosucres.....	2
1) Les sucres.....	2
2) Les glycomimétiques	2
3) Les iminosucres	3
4) Les iminosucres en tant que traitement	4
II) Les iminosucres multivalents	5
III) Plan de thèse.....	7

Chapitre 1 - A la recherche d'inhibiteurs puissants de glycosidases : vers la synthèse d' iminosucres multivalents.....

10

I) La multivalence	11
1) Définitions	11
a) Composé multivalent	11
b) L'effet multivalent.....	11
2) Multivalence chez le vivant	13
3) Mécanismes de l'effet multivalent pour les lectines.....	14
4) L'effet multivalent appliqué à des glycosidases	15
a) Iminosucres di- à tétravalents	16
b) Le premier effet multivalent quantifiable	17
c) Le premier effet multivalent puissant	18
d) Les meilleurs résultats connus à ce jour.....	19

i. Records sur l' α -mannosidase de Jack-bean et élucidation des causes de l'effet multivalent	19
ii. Nanoparticules	21
5) Applications thérapeutiques	22
a) Maladies de surcharge lysosomale	22
b) Mucoviscidose	24
c) Influenza virus	24
d) Cancers	24
e) Maladies neurodégénératives.....	25
6) Bilan – Question de recherche	26
II) A la recherche de puissants inhibiteurs de glycosidases	28
1) Les glycosidases.....	28
2) Interactions entre substrats et glycosidases	28
a) Mécanisme de l'hydrolyse de la liaison glycosidique.....	28
i. Mécanisme par inversion de configuration.....	29
ii. Mécanisme avec rétention de configuration	29
b) Mécanisme d'inhibition des glycosidases par les iminosucres	31
c) Critères pour mimer un état de transition	33
i. Distribution de charge et caractère trigonal de la position pseudo-anomérique.....	34
ii. Conformation de l'iminosucre.....	34
iii. Configuration.....	35
iv. Protonation <i>syn/anti</i>	36
3) Les glycosidases impliquées dans la maturation des glycoprotéines	36
a) Coupe d'une cellule eucaryote.....	36
b) Réticulum endoplasmique.....	37
c) Appareil de Golgi	38
d) Lysosome	38
4) Inhibiteurs puissants de mannosidases.....	39

a) DNJ, DMJ et pipéridines	40
b) Dérivés de pyrrolidines.....	40
c) Les bicycles	41
d) Les glyconoamidines.....	41
e) Les glycoimidazoles	43
III) La mucoviscidose	46
1) Découverte et élucidation de l'origine de la maladie	46
a) Historique	46
b) La protéine CFTR.....	46
c) Origine de la maladie.....	47
2) Symptômes et complications	47
3) Répartition géographique	48
4) La mutation $\Delta F508$	48
a) Les classes de mutation.....	48
b) La mutation $\Delta F508$	49
c) Maturation des protéines dans le RE	49
d) Devenir des protéines mutantes	50
5) Traitements existants.....	51
a) Quelques traitements symptomatiques.....	51
i. Infections pulmonaires.....	51
ii. Thérapie par remplacement d'enzyme	52
b) Traitements curatifs	52
6) Traitements à l'aide de correcteurs et/ou potentiateurs	52
a) Quelques chaperons pharmacologiques pour la mutation $\Delta F508$	52
b) Lumacaftor et Ivacaftor	53
i. Lumacaftor	53
ii. Ivacaftor (Kalydeco®)	53

iii. Lumacaftor/Ivacaftor (Orkambi®)	54
iv. Triple thérapie	54
c) Régulateurs de protéostase	55
d) Autres canaux transmembranaires	55
7) Cibles potentielles	55
a) Glucosidases du RE	55
b) Mannosidase du RE ?	58
IV) Conclusion de chapitre	59

Chapitre 2 - Synthèse de composés multivalents affins envers les mannosidases... 12

I) Synthèse d' iminosucres affins envers les mannosidases.....	61
1) Les glyconoamidines.....	61
a) Précédents de la littérature.....	61
i. L'intérêt pour les glyconoamidines	61
ii. Synthèse du squelette glyconoamidine	61
b) Synthèse réalisée au laboratoire	63
i. Schéma de rétrosynthèse.....	63
ii. Synthèse du thiolactame.....	64
iii. Synthèse des glyconoamidines.....	64
iv. Essais d'hydrogénation.....	65
c) Défis et problèmes	66
2) Les glycoimidazoles	67
a) Méthodes de synthèse du squelette imidazole	67
i. Formation via une forme ouverte de sucre à partir d'un imidazole fonctionnalisé	67
ii. Construction du cycle imidazole à partir d'un dérivé de sucre	69
b) Méthodes de fonctionnalisation du cycle imidazole.....	71
c) Synthèse stéréodivergente réalisée au laboratoire	72

i.	Schéma de rétrosynthèse	72
ii.	Formation D-Gluco- et D-Mannoimidazoles	72
iii.	Réactivité du cycle imidazole pour l'iodation et l'échange halogène/métal	73
d)	Couplage de Sonogashira	75
i.	Historique et mécanisme	75
ii.	Optimisation	76
e)	Modifications de l'espaceur en vue de la réalisation de CuAAC	78
3)	Bilan sur la synthèse des inhibiteurs glycoimidazoles.....	80
II)	Synthèse des composés multivalents.....	81
1)	CuAAC pour atteindre les composés multivalents	81
a)	Historique	81
b)	Mécanisme	81
c)	Autres réactions de chimie-click existantes	82
d)	Synthèse des plateformes	84
e)	Synthèse des composés multivalents.....	85
i.	Conditions expérimentales.....	85
ii.	Synthèse des inhibiteurs di-, tri- et tétravalents.....	85
iii.	Synthèse des analogues monovalents	87
2)	Déprotection des inhibiteurs multivalents acétylés.....	88
a)	Utilisation d'une résine basique échangeuse d'ions	88
b)	Déprotection par une solution d'ammoniaque dans le MeOH.....	89
III)	Evaluations biologiques	92
1)	Introduction à l'enzymologie	92
a)	Equation de Michaelis-Menten	92
b)	Les différents types d'inhibition	93
i.	Inhibition compétitive	93
ii.	Inhibition incompétitive	93

iii.	Inhibition non compétitive	94
c)	Méthodes de mesure graphique d'une constante d'inhibition.....	94
i.	Graphique de Dixon.....	94
ii.	Graphique de Lineweaver-Burk.....	95
2)	Inhibition de l' α -mannosidase de Jack-bean	96
a)	Conditions et matériel des tests.....	96
b)	Résultats des inhibiteurs « classiques »	97
i.	Composés monovalents	97
ii.	Di-, tri- et tétravalents	98
c)	Résultats des inhibiteurs de type « tight-binding ».....	100
i.	Qu'est-ce que le « tight binding » ?	100
ii.	Traitement classique du tétramannoimidazole	100
iii.	Traitement selon l'équation de Morrison du tétramannoimidazole	101
iv.	Constante d'inhibition révisée du trimannoimidazole.....	102
v.	Constantes d'inhibition des inhibiteurs tétradécavalents	103
d)	Bilan des K_i obtenus	104
3)	Tests biologiques sur la restauration de l'activité de la protéine CFTR	106
a)	Conditions des tests	106
b)	Résultats	106
IV)	Conclusion de chapitre	109

Chapitre 3 - Méthode de déshydroxylation en position α de groupements électro-attracteurs.....111

I)	Méthodes de déshydroxylation	113
1)	Méthodes de déshydroxylation sélectives connues	113
a)	Deux méthodes emblématiques utilisant un métal en quantité stœchiométrique	114
i.	Réaction utilisant l'iodure de samarium	114
ii.	Réaction de Barton-McCombie	117

b)	Via un intermédiaire α -iodo carbonyle	120
i.	Esters sulfoniques puis iodure de sodium.....	120
ii.	L'acide iodhydrique	121
iii.	L'iodure de triméthylsilyle.....	123
iv.	Phosphore-iode	127
v.	I_2 et PPh_3	128
vi.	Intermédiaire α -chloro	130
vii.	Bilan	131
c)	Via un intermédiaire radicalaire ou carbocation.....	131
i.	Réactions radicalaires.....	131
ii.	Via un carbocation.....	133
iii.	Utilisation de phosphites.....	136
d)	Méthodes enzymatiques	137
i.	Méthodes non sélectives à faible rendement.....	138
e)	Conclusion	138
2)	(Re) découverte au laboratoire	139
3)	Mécanisme proposé	139
4)	Optimisation	140
II)	Champ d'application de la méthode.....	142
1)	Résultats	142
2)	Cas particulier : les diols	145
3)	Cas particulier : les esters.....	148
4)	Essais infructueux et limite d'application.....	149
5)	Synthèse des substrats.....	151
a)	γ -Lactones et furanosides.....	151
b)	Malimide et tartarimides.....	152
c)	Pipéridines.....	153

d) Phosphonates et dihydroxacétones	154
III) Etude mécanistique	156
1) Essais de deutériation	156
a) Cas de la benzoïne	156
b) Cas de l'amide.....	157
2) Passage par un intermédiaire iodé.....	158
a) Isolement intermédiaire iodé.....	158
b) Désoxygénation à partir de l'intermédiaire iodé	158
3) Passage par un intermédiaire énolate	159
a) Réactif de Mander et bromure de benzyle	159
b) Silibinine et rétro addition-Michael	160
IV) Conclusion de chapitre.....	164
Conclusion générale.....	165
Partie Expérimentale.....	168
Bibliographie	233
Index des composés synthétisés	247

ABREVIATIONS ET ACRONYMES

ABC	ATP binding cassette
ADN	Acide désoxyribonucléique
AE	Acétate d'éthyle
AFM	Microscope à force atomique
AgaB	Agarase B
AIBN	Azobisisobutyronitrile
ARN	Acide ribonucléique
asc.	Ascorbate
ATP	Adénosine triphosphate
CaCC	Canal chlorure activé par le calcium
CE ₅₀	Concentration efficace médiane
CF	Mucoviscidose
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CI ₅₀	Concentration inhibitrice médiane
CuAAC	Cycloaddition azoture alcyne catalysée au cuivre
DAB-1	1,4-didésoxy-1,4-imino-D-arabitol
DCC	Dicyclohexylcarbodiimide
DCM	Dichlorométhane
DIBAL	Hydruure de diisobutylaluminium
DIPA	<i>N,N</i> -diisopropylamine
DLS	Dynamic Light Scattering
DMAP	4-Diméthylaminopyridine
DMDP	2,5-dihydroxyméthyl-3,4-dihydroxypyrrolidine
DMF	Diméthylformamide
DMJ	1-Désoxymannojirimycine
DNJ	1-Désoxynojirimycine
EDEM	ER-degradation enhancing α -mannosidase-like protein
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
ELLA	Dosage d'enzyme liée à une lectine
ERAD	Endoplasmic reticulum associated degradation
ERQC	Endoplasmic reticulum quality control
FEV ₁	Volume expiratoire maximum par seconde
GALNS	<i>N</i> -acétylgalactosamine-6-sulfatase
Gcase	β -glucocérébrosidase
GH	Glycoside hydrolase
Glc	Glucose
GlcNAc	<i>N</i> -acétylglucosamine
GM	α -mannosidase de l'appareil de Golgi
GT	Glycosyltransférase
HA	Hemagglutinine
HMPA	Héxaméthylphosphoramide
IDS	Iduronate-2-sulfatase
JB	Jack-bean
K _i	Constante d'inhibition
LAH	Tétrahydrualuminate de lithium
LB	Lineweaver-Burk
litt.	Littérature

LM	α -mannosidase du lysosome
Man	Mannose
MPB	Benzo[c]quinolizinium
MW	Micro-ondes
NA	Neuraminidase
NBD	Nucleotide binding domain
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NIS	<i>N</i> -iodosuccinimide
NJ	Nojirimycine
NMO	<i>N</i> -méthyl morpholine <i>N</i> -oxyde
PEG	Polyéthylène glycol
PERT	Pancreatic enzyme replacement therapy
PMB	Para-méthoxybenzène
ppFEV1	Pourcentage prédit de volume expiratoire par seconde
Quant.	Quantitatif
RE	Réticulum endoplasmique
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RP	Puissance relative
Rp/n	Puissance relative par inhitope
RuAAC	Ruthenium catalysed Azide-alkyne cycloaddition
sat.	Saturated solution
SMan	Thiomannosides
SuFEX	Sulfur Fluoride Exchange
t.a.	Température ambiante
TBAF	Fluorure de tétrabutylammonium
TBAI	Iodure de tétrabutylammonium
TBDMS	<i>Tert</i> -butyldiméthylsilyle
TBDMSCl	Chlorure de <i>tert</i> -butyldiméthylsilyle
THF	Tétrahydrofurane
TM	Tamis Moléculaire
TMB	Région transmembranaire
TMSCl	Chlorure de triméthylsilyle
TMSI	Iodure de triméthylsilyle
Tr	Trityle
Ts	Tosyle
UDP	Uridine diphosphate

INTRODUCTION GENERALE

I) Les iminosucres

1) Les sucres

Les sucres constituent la famille de molécules organiques la plus abondante dans la nature. Les sucres peuvent être présents à l'état de monomère dans les cellules mais sont la plupart du temps liés à d'autres molécules (glycoconjugués). Ce sont des éléments structurels de molécules biologiques clés tels que l'ARN ou l'ADN.^[1] Les glycoprotéines et les glycolipides sont les constituants majeurs de la partie externe de la membrane cellulaire des mammifères.^[2] Cette épaisse couche couvrant la surface de chaque cellule est nommée glycocalyx.^[3] Cette exposition permet leur implication dans la reconnaissance cellulaire (le glycode).^[4] Ces mécanismes sont, par exemple, à l'origine du fonctionnement de notre système immunitaire.

Les sucres sont également les substrats d'une famille d'enzymes impliquées dans de nombreux processus biologiques : les glycosidases, appelées également glycosides hydrolases (GH). Elles catalysent l'hydrolyse de la liaison O-glycosidique (Schéma 1)^[5] et sont localisées notamment dans le réticulum endoplasmique (RE), l'appareil de Golgi ou encore les lysosomes des cellules.

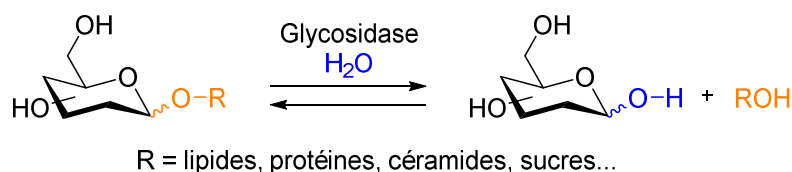


Schéma 1 Hydrolyse de la liaison O-glycosidique

Ces enzymes jouent un rôle essentiel dans la biosynthèse des protéines.^[6] Elles reconnaissent la partie glycanes des glycoprotéines et effectuent des coupures successives et sélectives menant progressivement à une glycoprotéine mature. Présentes également dans la salive et le système digestif, elles permettent de dégrader les sucres complexes en sucres simples et d'assimiler les nutriments.

Les rôles multiples des sucres en biologie ont naturellement mené les chimistes à imaginer des traitements thérapeutiques basés sur ces structures. Cependant, leur biodisponibilité est mauvaise puisque facilement hydrolysables. Dans le but de rendre ces composés plus stables *in vivo* et d'augmenter leur « druggabilité », les chimistes se sont tournés vers la synthèse de mimes de sucres, appelés les glycomimétiques.

2) Les glycomimétiques

Les glycomimétiques sont des analogues structuraux de sucres conçus pour mimer un substrat ou un ligand naturel à un état fondamental ou à un état de transition. Les glycomimétiques se composent de différentes familles de molécules dont les carbasucres, les C-glycosides, les thiosucres et les iminosucres (Figure 1). L'oxygène endocyclique est remplacé par un méthylène dans le cas des carbasucres, par un atome d'azote pour les iminosucres et par un atome de soufre pour les thiosucres. Le remplacement de l'oxygène anomérique par un méthylène constitue la famille des C-glycosides.

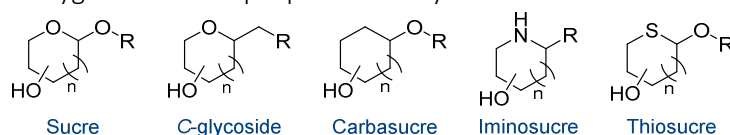


Figure 1 Les différentes familles de glycomimétiques

3) Les iminosucre

Les iminosucre représentent la famille la plus importante des glycomimétiques.^[1] Ce sont des molécules naturelles classées en 5 familles d'après leur taille de cycle et leur caractère mono ou bicyclique. Ces familles sont les suivantes : les pyrrolidines, les pipéridines, les indolizidines, les pyrrolizidines et les nortropanes (Figure 2).



Figure 2 Classes d'iminosucre naturels

Le groupe d'Inouye met en évidence en 1966 les propriétés antibiotiques du 5-amino-5-désoxy-D-glucopyranose, nommé trivialement nojirimycine (NJ) car isolé du *Streptomyces nojiriensis*.^[7,8] C'est le premier exemple d'iminosucre naturel. En 1974, la D-fagomine est extraite du sarrasin (*Fagopyrum esculentum* Moench), c'est le premier cas d'isolement d'un iminosucre à partir d'une plante.^[9]

Depuis ces découvertes, nombre d'iminosucre ont été extraits de bactéries, de champignons et principalement de plantes (Figure 3). En 1976, la 2,5-dihydroxyméthyl-3,4-dihydropyrrolidine (DMDP) (Figure 4) est isolée à partir des feuilles de *Derris elliptica*.^[10] La même année, la 1-désoxynojirimycine (DNJ), appelée également moraline, est extraite de feuilles de mûrier blanc (*Morus Alba*)^[11] et également de plusieurs bactéries,^[12] 10 ans après la publication de sa synthèse par l'équipe de Paulsen.^[13,14] Cette molécule se révèle être un bon inhibiteur d'un grand nombre d' α -glucosidases et de β -glucosidases.^[15,16]

L'équivalent en série D-manno de cette molécule, la 1-désoxymannojirimycine (DMJ) est extraite 3 ans plus tard de feuilles de *Lonchocarpus sericeus*.^[17] Des iminosucre bicycliques sont également isolés comme la castanospermine en 1981^[18] ou la swainsonine en 1982. La swainsonine est isolée à partir de plantes issu de la famille des Fabaceae appelée « Locoweed » en anglais.^[19] Sa capacité à inhiber les α -mannosidases du lysosome a été découverte à cause de plusieurs cas de locoïsme détectés chez des animaux ayant consommé ces plantes.

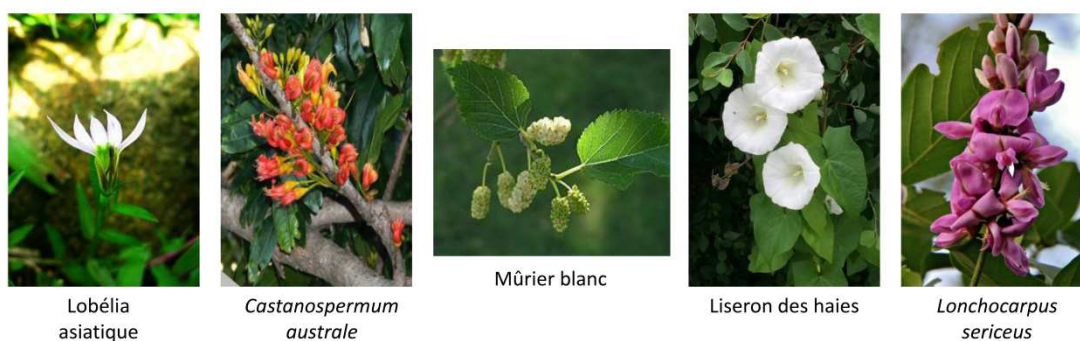


Figure 3 variétés de plantes dont sont extraits quelques iminosucre naturels

La kifunensine et l'australine sont isolés respectivement en 1987 et 1988, l'une produite par une actinobactérie^[20] et l'autre isolée du châtaignier australien (*Castanospermum australe*).^[21] Le premier exemple d'iminosucre naturel à squelette nortropane, la calystegine B1, est isolé en 1990 à partir du liseron des haies (*Calystegia Sepium*).^[22] Un exemple de bicyclic, fusionnant un cycle à 6 membres saturé et un cycle imidazole, naturel existe, la nagstatine, isolée en 1992, après fermentation de *Streptomyces*.^[23] Plus récemment, la broussetonine H, la radicamine A ont été extraites en 2002 du mûrier à papier et du lobelia asiatique respectivement.^[24] Le 6-C-(8-hydroxyoctyl)-DMDP est isolé en 2014 par le groupe de Ruo-Yun Chen.^[25] Dans l'article de Kato publié en 2015, ce n'est pas moins de 14 iminosucre différents qui ont été isolés à partir du châtaignier australien dont la castanospermine et l'australine.^[26]

Cette liste ne constitue qu'une sélection d'iminosucres à occurrence naturelle (Figure 4), puisque des centaines d'iminosucres ont déjà été isolés^[27] et beaucoup d'autres restent encore à l'être. Les iminosucres isolés avant l'année 2000 ont fait l'objet d'une revue.^[28]

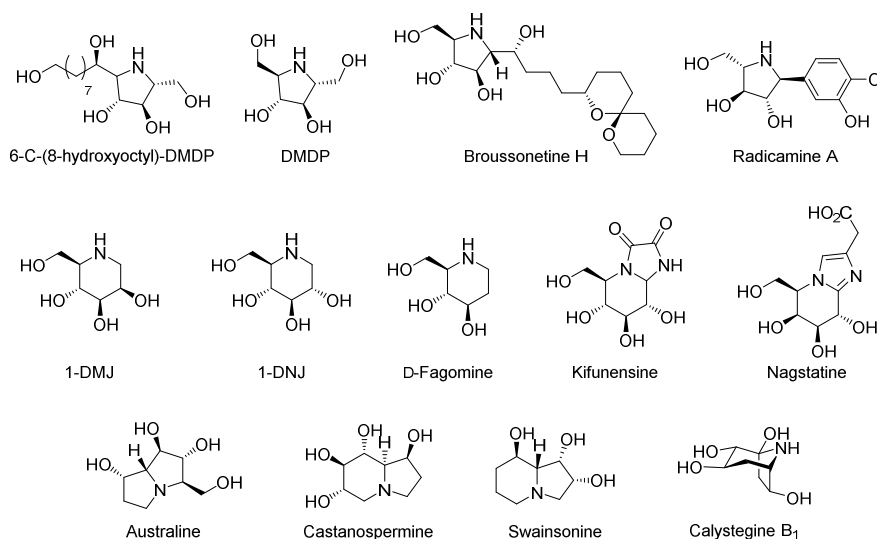


Figure 4 Exemples d'iminosucres naturels

4) Les iminosucres en tant que traitement

Les similarités structurales des iminosucres avec les sucres leur permettent d'interférer lors d'interactions sucre-protéines impliquées dans de nombreux processus biologiques. Les iminosucres ont initialement été étudiés en tant qu'antibiotiques.^[7,8] Ce n'est que 10 ans plus tard, en 1976, après la mise en évidence par la société allemande Bayer de propriétés inhibitrices de glycosidases, que des études biologiques ont été amorcées. Bon nombre d'exemples cités précédemment sont de bons inhibiteurs de glycosidases. La conception d'iminosucres, qui était initialement un exercice purement académique, devient alors un défi synthétique à but thérapeutique. La synthèse d'iminosucres naturels permet leur obtention à plus grande échelle. Les chimistes s'intéressent également à la conception et la synthèse de nouveaux iminosucres, basées sur des considérations structure-activité. Le caractère polyfonctionnalisé des iminosucres laisse place à une multitude de structures possibles dont la seule limite est l'imagination des chimistes.

La meilleure biodisponibilité et les bonnes propriétés pharmacocinétiques des iminosucres sont indéniables puisque trois composés ont déjà été autorisés sur le marché en tant que médicaments (Figure 5).

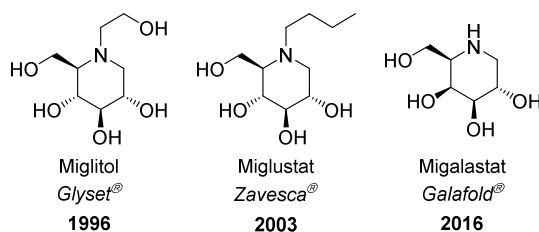


Figure 5 Iminosucres commercialisés en tant que traitement

Le Glyset®, premier iminosucré mis sur le marché en 1996, est utilisé dans le traitement du diabète de type II (non insulino-dépendant). Son action consiste en l'inhibition des glycosidases intestinales et en l'inhibition de la production d'insuline induite par le glucose.^[29] Le Zavesca® est utilisé

dans le traitement de la maladie de Gaucher de type I depuis 2003. C'est un inhibiteur de la glucosylcéramide synthase, une glucosyltransférase.^[30] Enfin le Galafold®, dernier iminosucre en date à avoir été introduit sur le marché en mai 2016,^[31] permet le traitement de la maladie de Fabry en restaurant l'activité des formes mutantes de l' α -galactosidase A chez les patients.^[32,33]

II) Les iminosucres multivalents

La multivalence est utilisée chez le vivant lors des interactions de type lectine-sucre à la surface des cellules. Les lectines sont des protéines, n'ayant pas d'activité catalytique, qui sont capables de se lier de manière réversible à des mono- ou polysaccharides. Elles possèdent en général plusieurs sites de reconnaissance. Ces interactions permettent, entre autres, l'adhésion intercellulaire et la reconnaissance d'éléments pathogènes.^[34] Les glucides étant exprimés en nombre à la surface des cellules, les lectines vont être capable de former simultanément de multiples liaisons rendant leur affinité et leur sélectivité beaucoup plus grandes. En effet, la constante de dissociation entre un sucre et une lectine seule est comprise entre 1 et 0,1 mM, tandis que cette valeur peut atteindre l'ordre du nanomolaire pour des lectines liées à plusieurs glucides simultanément. Cet effet est appelé effet cluster ou encore effet multivalent.^[35–38]

Récemment, les chimistes se sont intéressés à la synthèse d'inhibiteurs multivalents. Au laboratoire, ces clusters multivalents sont formés à partir d'un iminosucre et d'un bras espaceur fonctionnalisé par un groupement azoture en position terminale. L'iminosucre et le bras espaceur sont liés par réaction d'alkylation. L'entité, ligand plus espaceur, est greffée sur une plateforme possédant des groupements alcynes *via* réaction de cycloaddition azoture alcyne catalysée au cuivre (CuAAC) multiple (Figure 6).

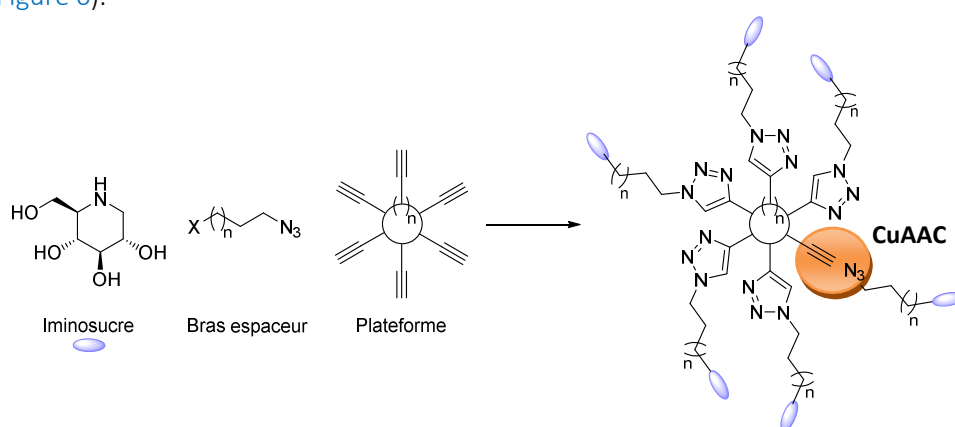


Figure 6 Schéma représentatif de la formation d'un composé multivalent au laboratoire

Si un système multivalent possédant par exemple 3 ligands a une affinité plus de 3 fois supérieure par rapport à celle du ligand monovalent pour la même cible, on parle alors d'effet multivalent. L'effet observé est supérieur à un simple effet statistique qui serait de 1 par ligand. L'effet multivalent peut également être accompagné d'une amélioration de la sélectivité, observée dans le cas des lectines.

Des effets multivalents ont été observés sur l'inhibition des glycosidases, ce qui est assez contre-intuitif puisque ces enzymes ont un site actif unique. En 2010, le laboratoire décrit le premier effet multivalent fort sur une glycosidase, l' α -mannosidase de Jack-bean (α -man de JB).^[39] Cette enzyme, extraite du haricot de Madagascar, est l'enzyme commerciale répondant le mieux au phénomène de multivalence connue à ce jour. Cet effet multivalent a été obtenu grâce à un composé 12-valent à motif

DNJ basé sur une plateforme de type fullerène. La valeur record d'effet multivalent sur une glycosidase a été obtenue en 2016 par le laboratoire pour un composé 36-valent à motif DNJ sur l'inhibition de l' α -mannosidase de Jack-bean.^[40] Ce composé s'est révélé près de 200 000 fois plus actif que son analogue monovalent. Si l'on considère l'inhibition du motif monovalent DNJ seul sur l' α -man de JB celle-ci est mauvaise puisque sa constante d'inhibition (K_i) est de 188 μ M.^[39] Pour chacun de ces deux cas, le fait de démultiplier le nombre de copies d'un inhibiteur peu affin et peu sélectif permet d'améliorer ces deux paramètres pour une cible donnée.

Que se passerait-il maintenant si un système multivalent était basé sur des ligands très affins pour leur cible ? Pourrions-nous atteindre des effets multivalents encore plus puissants ou au contraire plus faibles ? Ces questions constituent le cœur de mon projet de thèse.

Dans le but d'élucider ces questions, des composés multivalents à motif glycoimidazoles ont été synthétisés puis testés sur l' α -mannosidase de JB pour une étude fondamentale de l'effet multivalent. Ces mêmes composés ont été évalués sur la restauration de l'activité de la protéine mutante chez les patients atteints de la mucoviscidose, la protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator). L'objectif est de viser les glycosidases du RE impliquées dans la maturation des protéines et responsables de la destruction prématurée de la protéine CFTR.^[41]

III) Plan de thèse

Dans le premier chapitre de cette thèse seront développés le concept d'effet multivalent, avec les exemples les plus marquants du domaine. Le mécanisme général d'inhibition des glycosidases par les iminosucres sera décrit et les caractéristiques structurales d'un bon mime d'état de transition seront développés. Les principales mannosidases et glucosidases cellulaires humaines, impliquées dans la maturation des protéines, pouvant être ciblées pour une application thérapeutique seront listées. La possibilité d'établir un parallèle entre les enzymes commerciales utilisées pour les tests préliminaires d'inhibition et les enzymes humaines ciblées sera analysée. Les iminosucres décrits dans la littérature seront répertoriés dans le but d'effectuer une sélection de puissants inhibiteurs de glycosidases pour notre étude. Enfin, les conséquences et l'origine de la mucoviscidose seront développées. Les symptômes d'une mutation spécifique seront décrits ainsi que les différentes cibles thérapeutiques potentielles pouvant être visées par nos composés (Figure 7).

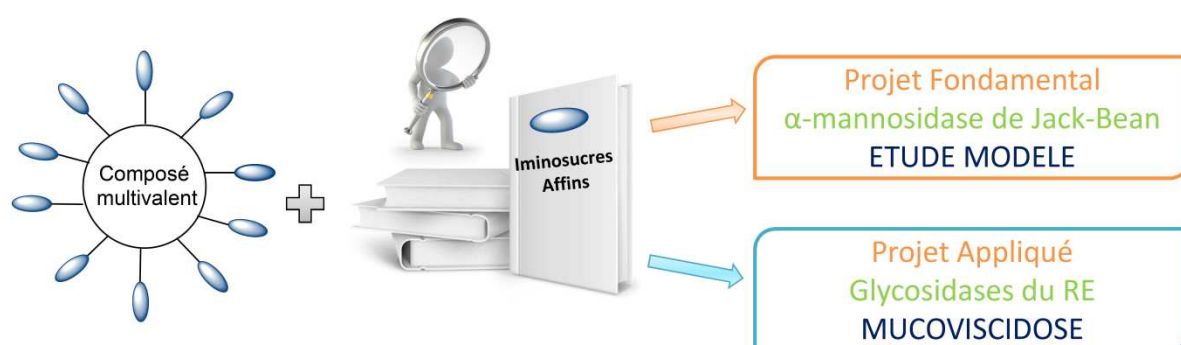


Figure 7 A la recherche d'inhibiteurs puissants de glycosidases pour synthétiser des clusters multivalents appliqués à l'étude modèle et au traitement de la mucoviscidose (Chapitre 1)

La synthèse de composés multivalents de type glycoimidazoles mono, di-, tri-, tétra- et 14-valents sera développée dans un second chapitre. Ces composés multivalents, en série *D-manno* et *D-gluco*, sont obtenus à l'aide d'une réaction de CuAAC. Le chapitre s'achèvera avec une discussion sur les résultats biologiques obtenus sur l'inhibition de l' α -mannosidase de Jack-bean et la restauration de l'activité la protéine CFTR (Figure 8).

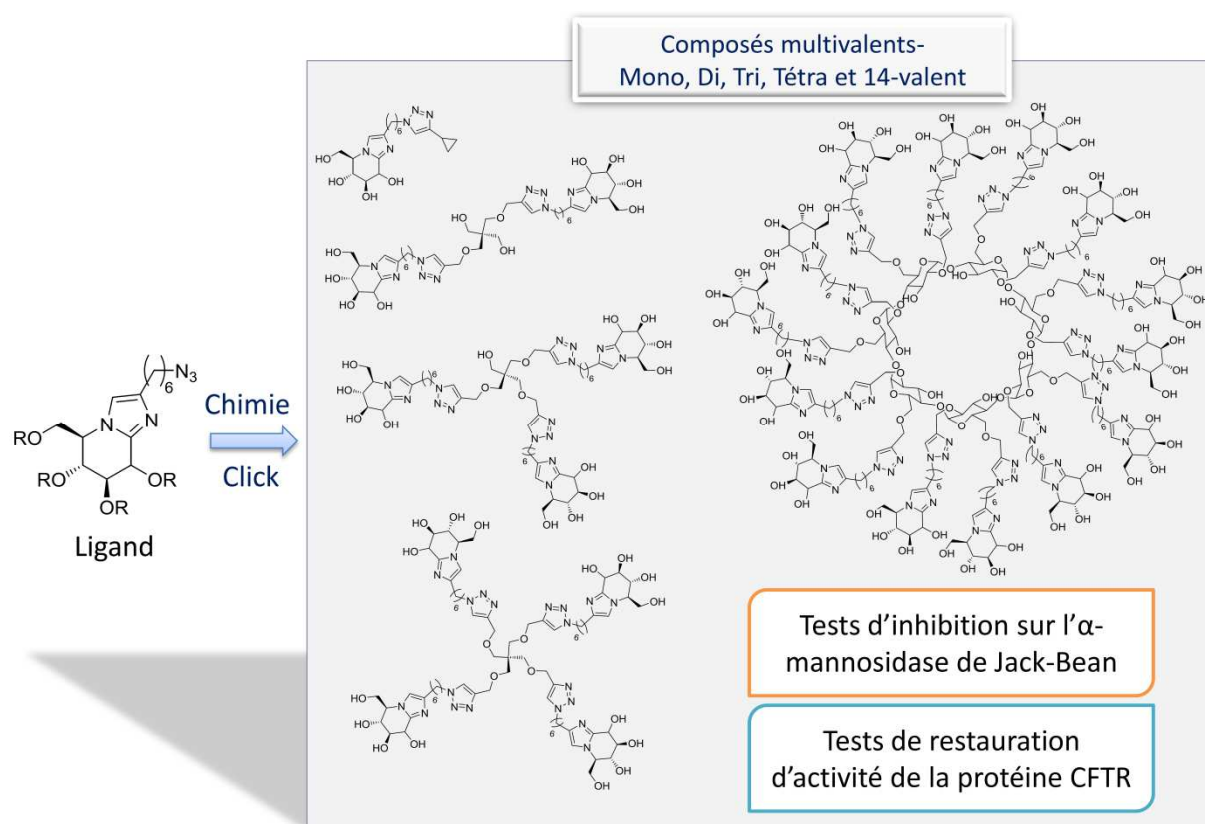


Figure 8 Synthèse de composés multivalents à motif glycoimidazole (Chapitre 2)

Finalement, le troisième et dernier chapitre de cette thèse sera axé sur la mise en lumière d'une méthodologie de déshydroxylation. En effet, la structure relativement complexe des sucres, avec leur haute densité de fonctions disposées selon une stéréochimie définie, permettent la découverte fortuite de réactions nouvelles. Parallèlement, l'utilisation des sucres naturels en tant que synthons organiques biosourcés soulève une nouvelle problématique chez les chimistes organiciens : la défonctionnalisation et plus particulièrement la déshydroxylation pour le cas de l'utilisation de sucres. Dans ce contexte, le laboratoire s'est intéressé à l'optimisation, à l'étude mécanistique et à l'élargissement du champ d'applications d'une méthode de déshydroxylation en position α de groupements électro-attracteurs, redécouverte fortuitement au laboratoire, utilisant le diiode, la triphénylphosphine et la pyridine (Figure 9).

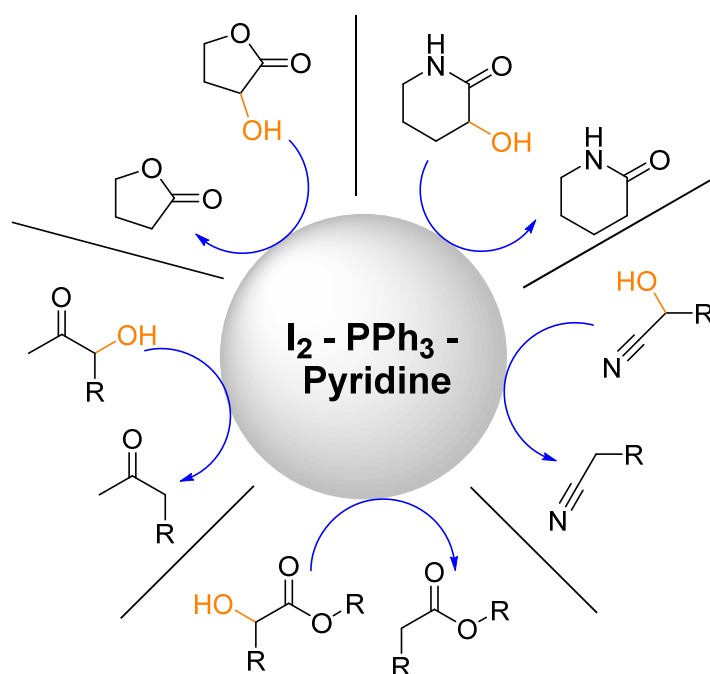


Figure 9 Méthode sélective de déshydroxylation en position α de groupements électro-attracteurs (Chapitre 3)

CHAPITRE 1

-

A LA RECHERCHE D'INHIBITEURS PUISSANTS DE GLYCOSIDASES : VERS LA SYNTHÈSE D'IMINOSUCRES MULTIVALENTS

I) La multivalence

1) Définitions

a) Composé multivalent

Un composé multivalent est une entité chimique possédant au moins deux copies d'une molécule bioactive (le ligand) séparées par un espaceur. Ces composés peuvent être linéaires, cycliques, dendritiques ou encore sphériques (Figure 10).

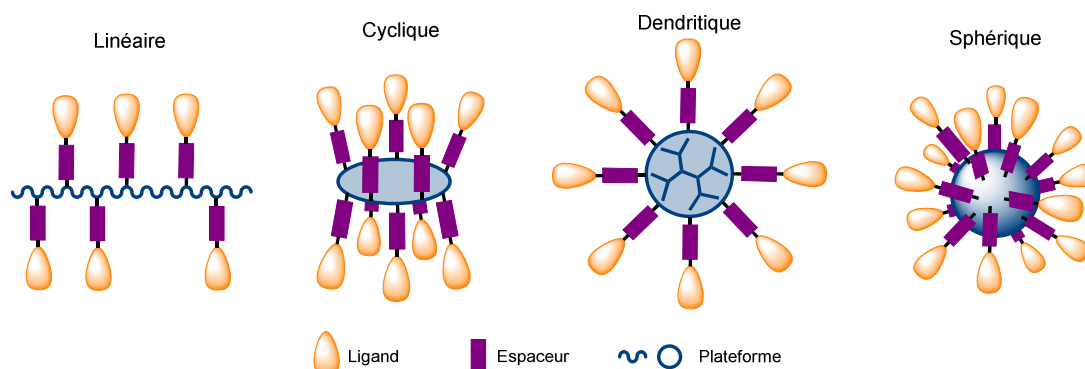


Figure 10 Composés multivalents linéaires, cycliques, dendritiques ou sphériques^[37]

Les plateformes peuvent être des structures purement organiques ou encore des nanoparticules. Dans le cas des nanoparticules, les ligands peuvent être immobilisés grâce à la présence, par exemple, d'une couche d'or externe permettant la liaison de ligands soufrés par formation de liaisons S-Au fortes.^[42]

Les espaceurs sont des chaînes organiques dont la longueur et la nature peuvent être modulées en fonction de la cible visée. Un espaceur flexible permet au système d'avoir de nombreuses conformations possibles dans l'espace permettant une liaison plus aisée des ligands envers leur cible. Un espaceur rigide abaisse l'entropie inhérente du système mais les ligands doivent être parfaitement dirigés vers leur cible pour que la liaison puisse avoir lieu.^[37]

Le design de l'architecture de l'inhibiteur multivalent est primordial puisque son activité en dépend. Une optimisation peut être réalisée :

- Sur la plateforme : taille, forme, valence, rigidité
- Sur l'espaceur : nature, longueur, rigidité, solubilité
- Sur le ligand : affinité, sélectivité, cible, fonction

L'ensemble du cluster doit être biocompatible pour éviter toute d'interaction gênante avec les cibles biologiques lors de tests.

b) L'effet multivalent

L'effet multivalent correspond au rapport d'affinité entre le composé multivalent et son analogue monovalent envers une même cible. Pour le caractériser, Whitesides propose en 1998^[43] un facteur d'amélioration β calculé en faisant le rapport entre la constante d'affinité du composé multivalent K_{multi} pour sa cible, sur la constante d'affinité du monovalent K_{mono} correspondant pour cette même cible (Équation 1).^[37]

$$\beta = \frac{K_{\text{multi}}}{K_{\text{mono}}}$$

Équation 1 Formule pour le calcul de la constante d'amélioration β

Le rapport de la constante d'inhibition du composé monovalent sur la constante d'inhibition du composé multivalent correspond à un facteur utilisé sous le nom de puissance relative (Relative Potency, Rp), inverse du facteur β qui compare des constantes d'affinité. Il peut correspondre à un rapport de constante d'inhibition (K_i) ou un rapport de concentration efficace ou inhibitrice médiane (CE_{50} ou CI_{50}). Pour évaluer l'efficacité propre à chaque ligand, ce rapport Rp est divisé par le nombre de ligands n du composé multivalent. Le Rp/n traduit donc l'efficacité relative du composé multivalent par ligand. Si sa valeur est de 1, il s'agit d'un effet statistique. Si sa valeur est inférieure à 1, on a un effet multivalent négatif. Si sa valeur est supérieure à 1, on parle d'effet multivalent positif. Par soucis de concision, par la suite, le terme positif ne sera plus nécessairement mentionné.

L'effet multivalent est donc en général associé à un effet positif mais ceci est une idée biaisée. Des exemples de coopérativité négative existent dans le cas de fixation allostérique sur une protéine.^[44] La fixation d'un premier ligand induit un changement de conformation spatiale de la protéine et modifie donc son activité et la structure des autres sites de liaisons potentiellement présents.

De nombreuses techniques pour la compréhension des interactions mises en jeu dans le phénomène de multivalence existent,^[37] en voici quelques exemples :

- **La titration calorimétrique isotherme** :^[45] une méthode de titrage mesurant la chaleur de réaction en fonction de la concentration en composé multivalent ajoutée sur une cible. Cette méthode permet de déterminer l'enthalpie (ΔH), l'entropie (ΔS) et l'enthalpie libre (ΔG) de liaison ainsi que la constante d'association entre le composé multivalent et sa cible. La stœchiométrie peut également être déterminée.
- **Dosage d'enzyme liée à une lectine (ELLA)** :^[46] le composé multivalent est immobilisé par adsorption non-spécifique sur une plaque ELISA (méthode immuno-enzymatique). Une lectine marquée, se fixant au composé multivalent, est ensuite ajoutée dans les puits. Les lectines libres non-liées sont éliminées par lavage, puis la quantité de lectines marquées liées est calculée par ajout d'un agent reconnaissant spécifiquement le marqueur de la lectine. Cette mesure peut se faire par fluorimétrie ou colorimétrie par exemple.^[47]
- **Microscope à force atomique (AFM)** :^[48] il permet d'estimer la force de liaison entre un ligand et un récepteur en mesurant la force de poussée et la distance intermoléculaire. Il permet également « d'observer » la formation d'agrégats à l'échelle du nanomètre par mesure de la force répulsive par contact entre une pointe, nommée cantilever, et l'échantillon testé.
- **Diffusion dynamique de la lumière (DLS)** :^[49] elle mesure le diamètre hydrodynamique des clusters en fonction du temps. Les molécules à analyser sont mises en suspension dans un liquide et un rayon laser est émis au travers de l'échantillon. Le mouvement brownien des molécules engendre la diffusion de la lumière laser à différentes intensités. L'analyse de ces fluctuations d'intensité mène à la vitesse du mouvement brownien et ainsi à la taille des particules par application de la relation de Stokes-Einstein. Elle permet également de déterminer la vitesse d'agrégation des composés mono et multivalents en solution.^[50]
- **Diffraction des rayons X (DRX)** : elle détermine la structure tridimensionnelle d'un composé grâce à son cristal et à la mesure des angles et de l'intensité des rayons X diffractés. La nature des atomes, les liaisons chimiques, l'agitation thermique et d'autres informations structurales peuvent être obtenues. Le co-cristal d'un composé multivalent avec sa cible permet de visualiser la stœchiométrie et les interactions mises en jeu.^[51,52]

De nombreuses autres méthodes existent dont certaines sont regroupées dans la revue de Haag.^[37]

2) Multivalence chez le vivant

Les lectines sont des protéines multimériques non catalytiques qui ont la capacité de se lier sélectivement et de manière réversible à des mono- ou polysaccharides (Figure 11). Ce type d'interaction permet la reconnaissance cellulaire impliquée dans la réponse immunitaire et les inflammations par exemple. La plupart des lectines sont capables de se lier spécifiquement aux antigènes présents sur les globules rouges et de les agglutiner.^[53] Cette caractéristique est utilisée dans les laboratoires d'analyses médicales pour la détermination des groupes sanguins.

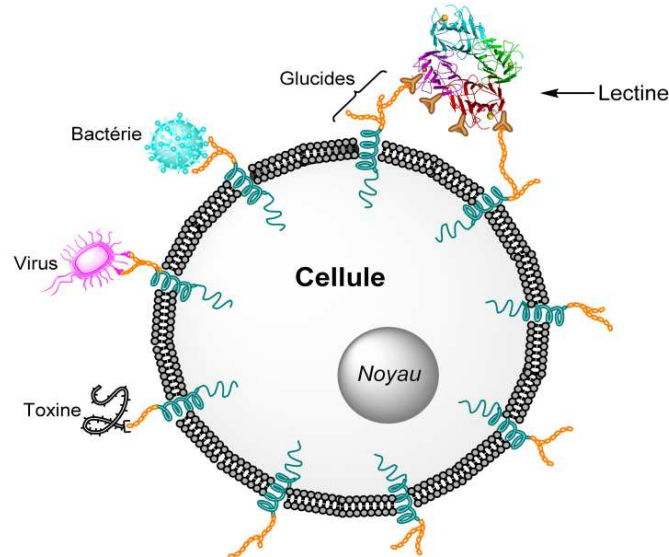


Figure 11 Schéma d'une cellule montrant les interactions du glycocalyx avec différents micro-organismes

Les lectines possèdent en général de multiples sites de reconnaissance pour contrebalancer leur faible affinité intrinsèque envers leurs cibles. En effet, la constante d'affinité d'une lectine et d'un sucre monovalent est de l'ordre de quelques milimolaires. Lors de liaisons multiples simultanées, la constante d'affinité peut atteindre des valeurs 10^6 fois plus importantes.^[35,54] Une forte affinité ligand-protéine est nécessaire pour le déclenchement d'une réponse physiologique spécifique. Ces fortes affinités et sélectivités sont atteintes grâce à des interactions multiples lectines-sucre.

Un autre exemple de l'importance de la multivalence chez le vivant est l'interaction entre un virus et une cellule hôte. Le virus a une très forte affinité pour les sites de liaisons multivalents à la surface des cellules. À l'approche de la cellule, le virus va se lier aux glucides exposés (Figure 12, phase I). La forme globulaire du virus et la création de liaisons supplémentaires va induire une courbure de la membrane cellulaire (Figure 12, phase II). Le virus peut alors entrer dans la cellule par endocytose (Figure 12, phase III) et contaminer la cellule hôte.^[37]

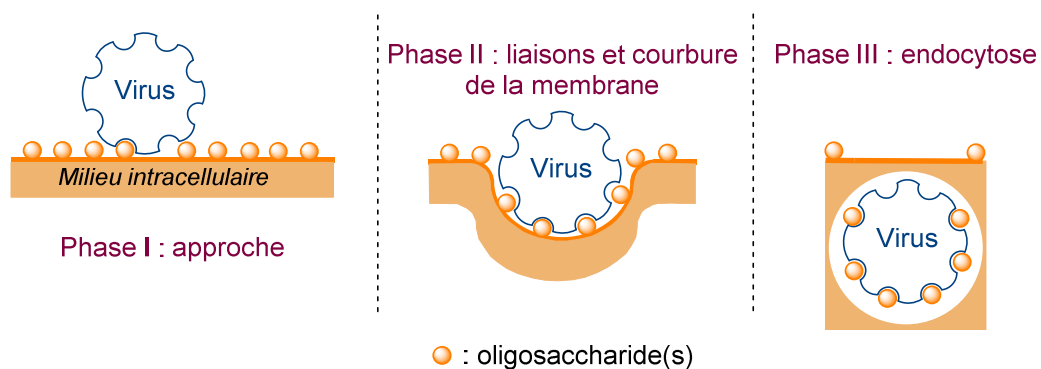


Figure 12 Dessin représentant l'internalisation d'un virus par liaisons avec les oligosaccharides exprimés en surface des cellules

Dans le cas du virus de la grippe, le virus se lie aux cellules hôtes par interaction de l'hémagglutinine trimérique, une glycoprotéine antigénique présente à sa surface, avec les résidus d'acide *N*-acétyl neuraminique présents à la surface des cellules hôtes.^[55]

3) Mécanismes de l'effet multivalent pour les lectines

Différentes hypothèses ont été postulées pour expliquer l'effet multivalent.^[55,56] Le passage par un mécanisme particulier dépend de la nature de la cible (avec un ou plusieurs sites récepteurs) et de la nature de l'espaceur (longueur et flexibilité). La combinaison de plusieurs effets peut être à l'origine de l'effet multivalent.

- Effet chélate (Figure 13 B)

L'effet chélate est l'effet le plus souvent mentionné pour expliquer l'affinité accrue des composés multivalents pour leur cible.^[57,58] Cet effet peut se produire si la cible possède plusieurs sites récepteurs. Une fois un premier ligand lié à la cible, la probabilité que d'autres ligands voisins puissent se lier devient plus grande de par leur proximité.^[37] Le « coût » entropique nécessaire à la liaison du composé multivalent pour sa cible est presque entièrement payé lors de la première liaison. La liaison des prochains ligands est alors facilitée.^[55]

- Phénomène de glissement (Figure 13 C)

La liaison des ligands avec les lectines est réversible. La proximité et le nombre de ligands disponibles favorisent la vitesse de formation d'une nouvelle fixation.^[59] On parle alors d'un effet de concentration autour du récepteur. L'alternance de l'état lié et de l'état non lié sera en faveur de l'état lié. Ce phénomène de glissement, encore appelé effet statistique ou re-liaison statistique, peut se produire dans le cas où un effet multivalent est observé sur une protéine possédant un seul site de reconnaissance ou encore si le composé multivalent n'est pas assez grand pour se lier à deux sites actifs simultanément.^[60]

- Liaison à un site secondaire (Figure 13 D)

Certaines lectines possèdent des sites secondaires qui peuvent être occupés par un ligand de manière simultanée à la liaison au site principal.^[61] Cet effet est similaire à un effet chélate, le ligand multimérique formant une sorte de pont entre le site principal et le site secondaire. Il peut se situer au niveau du site principal ou être éloigné à celui-ci.

- Phénomènes d'agrégation ou de « cross-linking » (Figure 13 E)

Lorsque le ligand multivalent a une taille suffisante, il est possible d'observer un phénomène d'agrégation.^[62,63] Un composé multivalent se lie à plusieurs lectines simultanément. Si la lectine est multimérique, le phénomène de « cross-linking » est également envisageable formant un réseau de plusieurs lectines et composés multivalents imbriqués les uns aux autres.

- Effet de stabilisation stérique (Figure 13 F)

Cet effet, découvert très tôt par Whitesides,^[64] reflète l'impossibilité d'une seconde molécule multivalente de s'approcher de la cible soit par encombrement stérique ou soit par répulsion chimique dans le cas de composé hétéromultivalents par exemple.^[65]

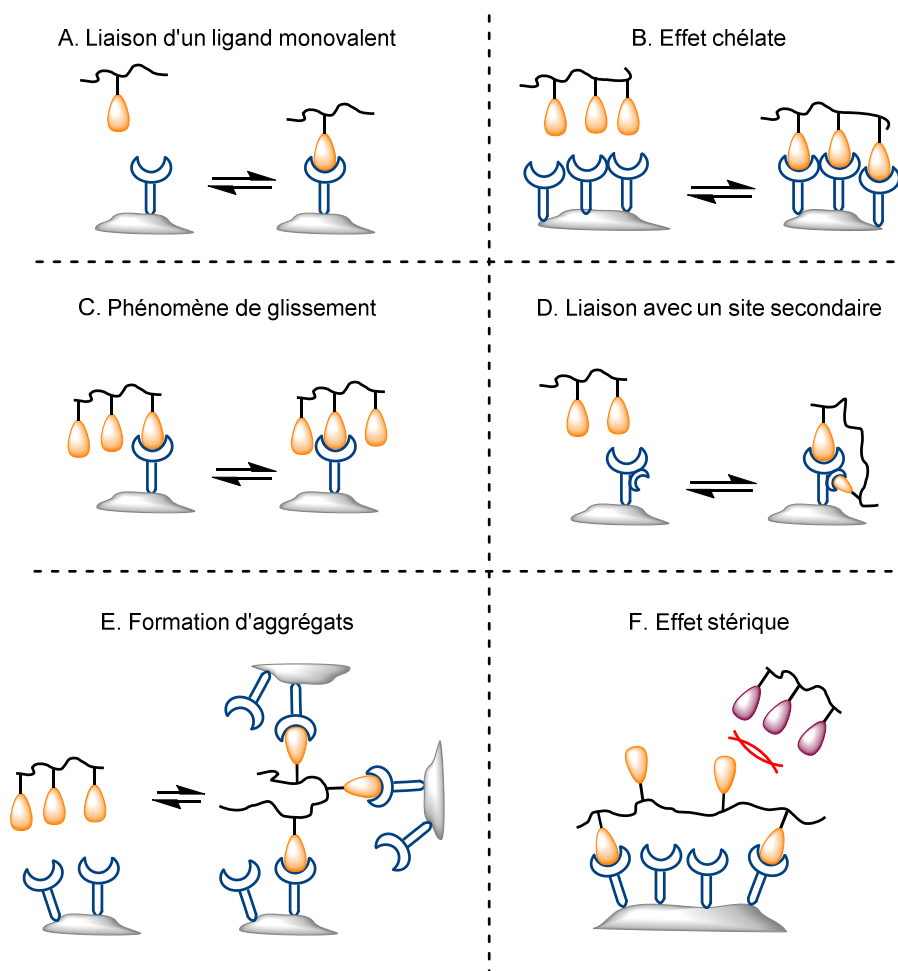


Figure 13 Différentes hypothèses pouvant expliquer l'effet multivalent

4) L'effet multivalent appliqué à des glycosidases

L'effet multivalent entre lectines et sucres a très largement été étudié depuis plusieurs dizaines d'années par la communauté scientifique.^[66] Les travaux de Bols *et al.*, publiés en 1999, où figure la phrase suivante : « We felt it was interesting to investigate the effect of multivalency on glycosidase inhibition », marque le début de l'étude de l'effet multivalent sur des glycosidases.^[67]

Par analogie avec les épitopes, Carmen Ortiz-Mellet a proposé le terme d'inhitope pour qualifier un ligand ayant un rôle d'inhibiteur.^[47] Le choix de l'inhitope pour la conception de composés multivalents ayant pour cible des glycosidases s'est tourné vers les glycomimétiques et plus particulièrement vers les iminosucres, connus pour leur capacité à inhiber les glycosidases. La difficulté de synthèse d'iminosucres multivalents, qui nécessitent souvent plus d'étapes comparé aux clusters multivalents glycosidiques, peut expliquer en partie l'étude tardive de l'effet multivalent sur des enzymes.^[68,69]

D'un point de vue théorique, essayer d'appliquer l'effet multivalent à l'inhibition d'une glycosidase peut sembler contre-intuitif. En effet, la plupart des glycosidases possèdent un site actif unique et souvent enfoui. L'effet chélate, effet considéré comme celui expliquant les R_p/n les plus élevés,^[57] n'est pas possible dans le cas des glycosidases monomériques. L'effet de cross-linking ne peut également plus avoir lieu. En revanche, la présence de liaisons non spécifiques à l'extérieur du site actif est très largement postulée,^[70] permettant de conserver l'hypothèse d'une inhibition par effet stérique.

Un historique des iminosucres multivalents synthétisés, du premier effet multivalent positif observé au record établi de nos jours, est présenté dans la partie suivante. Une sélection des avancées scientifiques du domaine ces 10 dernières années seront également décrites.

a) Iminosucres di- à tétravalents

Le premier exemple d'iminosucres divalents a été publié en 1998, par Johns and Johnson^[71] (Figure 14, 1). Dans leur article, ils décrivent la synthèse de 5 composés divalents à motif DMJ obtenus à l'aide d'une double réaction de Suzuki.

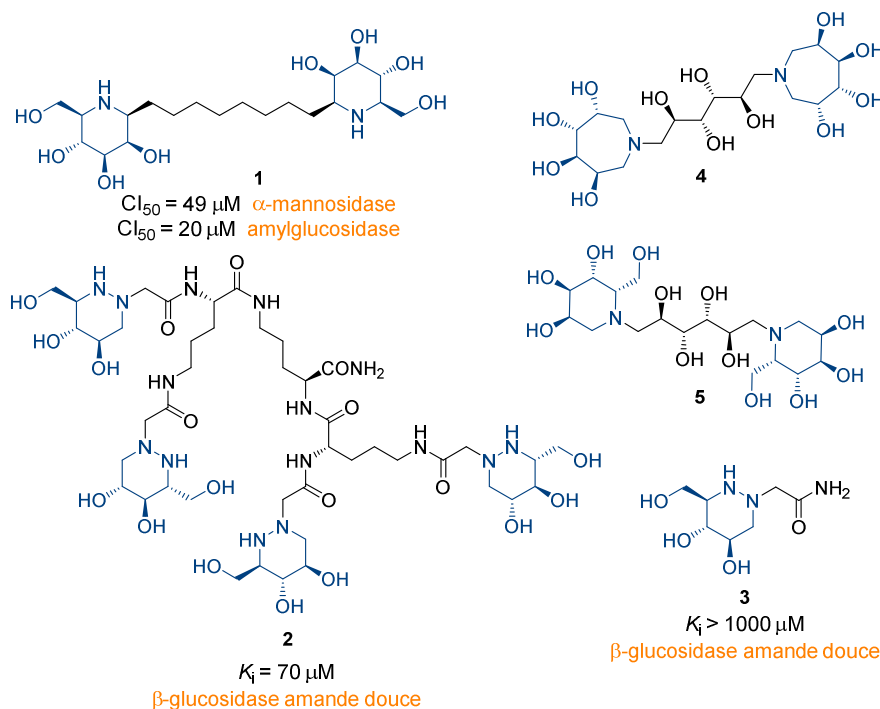


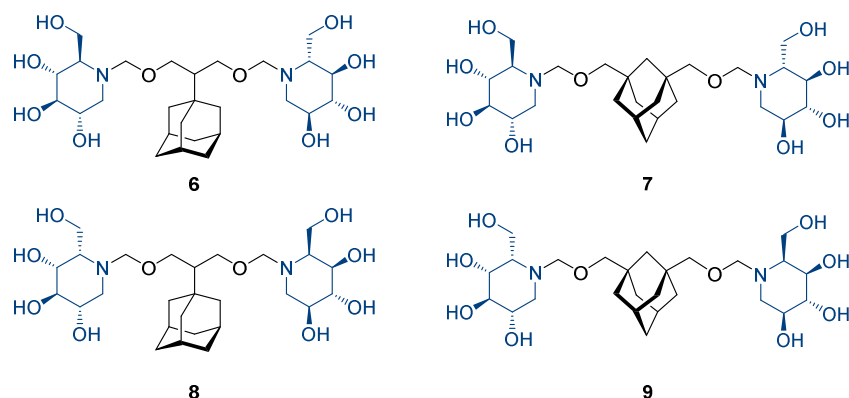
Figure 14 Premiers iminosucres divalents synthétisés

La CI_{50} est la concentration inhibitrice médiane qui correspond à la concentration nécessaire en inhibiteur pour baisser de moitié l'activité d'une enzyme. Seul le composé bis- β,β -DMJ **1** a été testé sur 7 glycosidases commerciales. Il a montré de bons résultats d'inhibition sur deux d'entre elles. Une valeur de CI_{50} de 49 μM sur une α -mannosidase et de 20 μM sur une amyloglucosidase.^[71] La valeur d'inhibition des composés monovalents correspondants n'ayant pas été testée, il est impossible de conclure quant à un possible effet multivalent.

Un an plus tard, le groupe de Bols prépare un composé tétravalent à motif 1-azafagomine sur une plateforme de type triornithine **2** (Figure 14).^[67] La synthèse de la plateforme a été réalisée par synthèse supportée sur phase solide. L'adressage des iminosucres sur la plateforme a été réalisé par *N*-alkylation régiosélective. Ce composé **2** montre une bonne inhibition sur la β -glucosidase d'amande avec un K_i de 70 μM . Son analogue monovalent correspondant **3** est en revanche un très mauvais inhibiteur de la β -glucosidase et la valeur du K_i trop élevée n'a pas pu être déterminée.^[68] Il est donc impossible de quantifier l'effet multivalent observé.

En 2003, l'équipe de Le Merrer publie la synthèse de deux composés divalents à motif D-mannoazepane **4** et L-glucopipéridine **5** (Figure 14).^[72] Les composés divalents sont obtenus par réaction sur un bis-époxyde rigidifié par un groupement acétal qui après déprotection en milieu acide mène à la formation de l'espaceur polyhydroxylé non hydrolysable. Les deux composés **4** et **5** ont été testés sur 4 glycosidases dont l' α -D-mannosidase de Jack bean et ils ne présentent aucune inhibition à 1mM.

En 2009, les groupes d'Aerts et Overkleeft publient la synthèse de 4 composés divalents : 2 à motif DNJ (**6** et **7**) et 2 dont le motif est la DNJ épimérisée en position C-5 (**8** et **9**) (Figure 15).^[73]

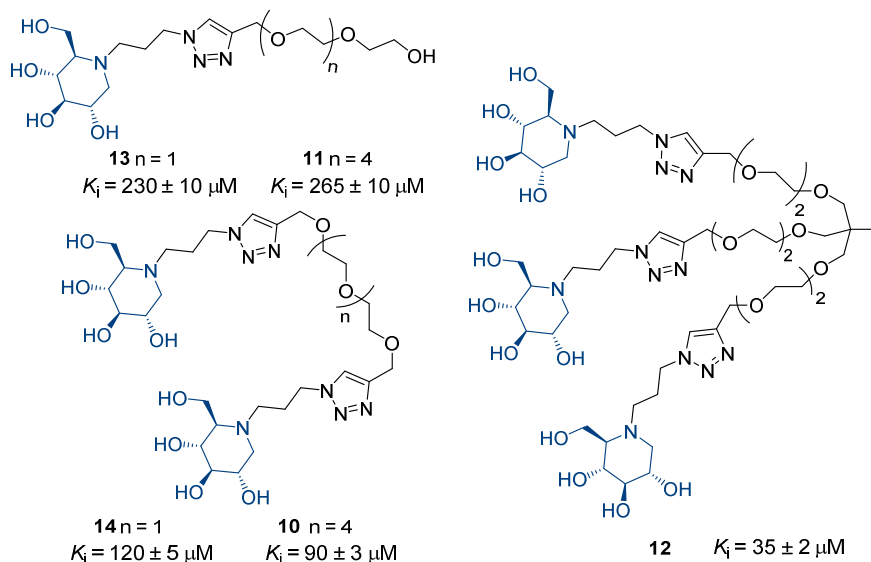
Figure 15 Composés divalents publiés par Aerts et Overkleeft^[73]

Ces composés ont été testés sur la glucosylcéramide synthase de mammifère, la β -glucocérébrosidase, la β -glucosidase 2, une sucrase, et l' α -glucosidase lysosomale. C'est le premier essai d'inhibition, pour des systèmes multivalents, sur des enzymes membranaires et lysosomales impliquées dans des maladies génétiques rares telles que la maladie de Gaucher^[74] et la maladie de Pompe^[75] ou encore le diabète de type II.^[76] Aucun effet multivalent n'a été observé, les composés divalents ayant des inhibitions du même ordre de grandeur que leur composé monovalent correspondant.

b) Le premier effet multivalent quantifiable

Le premier effet multivalent positif quantifiable a été décrit en 2009 par l'équipe de Kovensky et de Gouin.^[77]

Les composés multivalents ont été synthétisés *via* réaction de CuAAC. Un espaceur de type polyéthylène glycol a été choisi pour sa solubilité en milieu aqueux. Celui-ci empêche également l'adsorption non spécifique des protéines^[78] et permet ainsi d'éviter des interactions secondaires entre glycosidase et plateforme pouvant fausser les résultats biologiques. La DNJ est choisie comme inhibiteur pour sa capacité à inhiber un large panel de glycosidases (Figure 16).

Figure 16 Composés mono-, di- et trivalents à motif DNJ de Kovensky et Gouin et leur K_i envers l' α -mannosidase de Jack-bean^[77]

Des tests d'inhibition ont été réalisés pour chaque composé et la DNJ sur 9 enzymes commerciales différentes. Le composé divalent **10** a un K_i 3 fois inférieur au composé monovalent correspondant **11** sur l'inhibition de l' α -mannosidase de Jack-bean. Ce qui donne une inhibition relative

par iminosucre de 1,5. Pour le composé trivalent **12**, la constante d'inhibition est environ 7 fois inférieure au composé monovalent **13**. L'inhibition relative par iminosucre est de 2,2.

Si l'on compare maintenant les K_i obtenus sur l'isomaltase et l' α -mannosidase de Jack-bean avec le composé monovalent **11**, et les composés multivalents **10** et **12**, une augmentation de la sélectivité se dessine. En effet, les constantes d'inhibition augmentent et passent de 480 μ M, pour le composé monovalent, à 1440 μ M pour le trivalent, sur l'isomaltase. Inversement, pour l' α -mannosidase de Jack-bean, les K_i vont de 265 μ M à 35 μ M, respectivement.

Cet article montre pour la première fois l'existence d'un effet multivalent positif quantifiable sur l'inhibition d'une glycosidase par un iminosucre multivalent. L'effet est encore proche d'un effet statistique, loin des effets multivalents observés pour les interactions lectines-sucres.

c) Le premier effet multivalent puissant

Un an plus tard, le premier exemple d'effet multivalent puissant a été obtenu avec un composé à motif DNJ 12-valent greffés sur une plateforme fullerène (Figure 17).^[39]

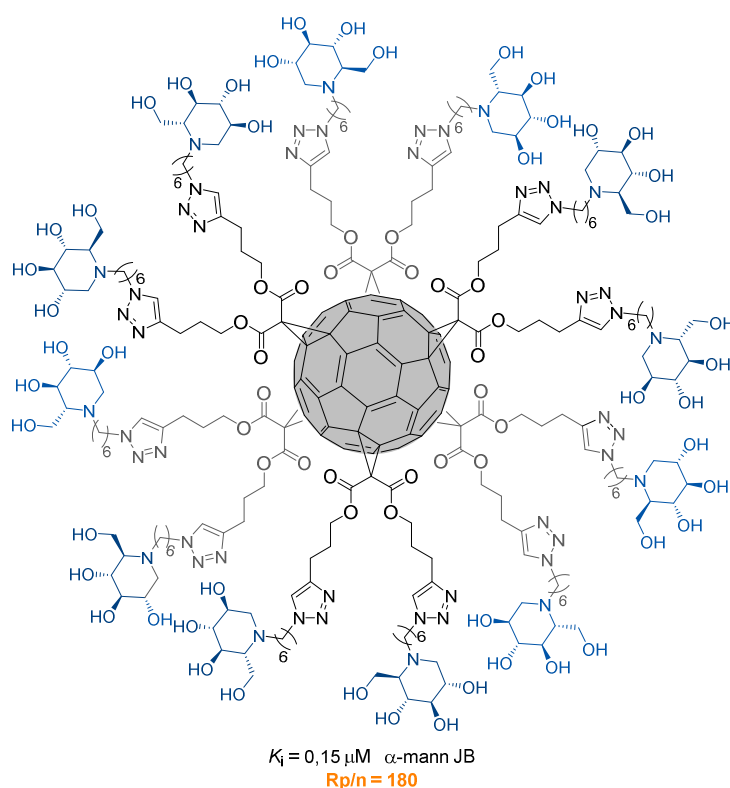


Figure 17 Cluster 12-valents à motif DNJ sur une plateforme fullerène C_{60}

Ce composé multivalent a été synthétisé *via* réaction de CuAAC. La répartition sphérique autour du fullerène permet une exposition homogène des inhibiteurs, précédemment utilisée dans le cas d'interaction lectines-sucres.^[79–81] Le composé a été testé sur 8 enzymes commerciales et les résultats ont montré le premier exemple d'un effet multivalent positif puissant: une inhibition relative par iminosucre de 180 sur l' α -mannosidase de Jack-bean. De plus, une inhibition par le composé multivalent a été observée sur l' α -galactosidase de café vert, avec un K_i de 84 μ M, alors que le composé monovalent correspondant ne présente aucune inhibition à des concentrations de 2 mM. Il s'agit d'un effet on/off. Il est à noter également que l'inhibition de la β -glucosidase d'amandes par le composé multivalent est défavorable par rapport au composé monovalent, il s'agit donc d'un effet multivalent négatif.

L'effet multivalent positif fort observé a encouragé les chimistes à synthétiser d'autres composés multivalents et à viser d'autres glycosidases pour mieux comprendre cet effet et en déterminer les limites.

Une sélection des meilleurs résultats obtenus à ce jour est présentée dans la partie suivante.

d) Les meilleurs résultats connus à ce jour

L'inhibition de diverses glycosidases à l'aide de composés multivalents a très largement été étudiée. L' α -mannosidase de Jack-bean est la glycosidase répondant le mieux à l'effet multivalent. C'est donc assez logiquement que les composés multivalents ont été préférentiellement testé sur l' α -mannosidase de Jack-bean et que plusieurs études mécanistiques du phénomène de multivalence ont été réalisés grâce à cette enzyme.

i. Records sur l' α -mannosidase de Jack-bean et élucidation des causes de l'effet multivalent

Le second « record » d'effet multivalent inhibiteur, avec un Rp/n de 610, a été obtenu en 2011 lors de l'inhibition de l' α -mannosidase de Jack-bean par un composé 14-valent à motif DNJ **15** basé sur une plateforme β -cyclodextrine (Figure 18).^[82] Le record d'inhibition relative par iminosucre est pulvérisé en 2016, toujours sur l' α -mannosidase de Jack bean, avec un composé 36-valent à motif DNJ greffés sur une plateforme de type cyclopeptoïde **16** (Figure 18).^[40] Le Rp/n obtenu est de 4800 avec un K_i de 1,1 nM. Le composé **16** est donc près de 200 000 fois plus puissant que le composé monovalent de référence. Un plateau d'inhibition est également mis en évidence puisque les composés analogues de **16**, 42- et 48-valents ont un K_i équivalent au 36-valent. L'existence d'un plateau d'inhibition n'est pas surprenante puisque celle-ci a déjà été publiée dans le cas d'interactions lectine-sucre.^[83]

Les interactions du cluster 36-valent avec l'enzyme ont été analysées par microscopie électronique et ont montré la formation de complexes entre un composé multivalent et deux enzymes. Ces « complexes sandwichs » et leur formation a été confirmée par spectroscopie de masse et ultracentrifugation analytique.^[40]

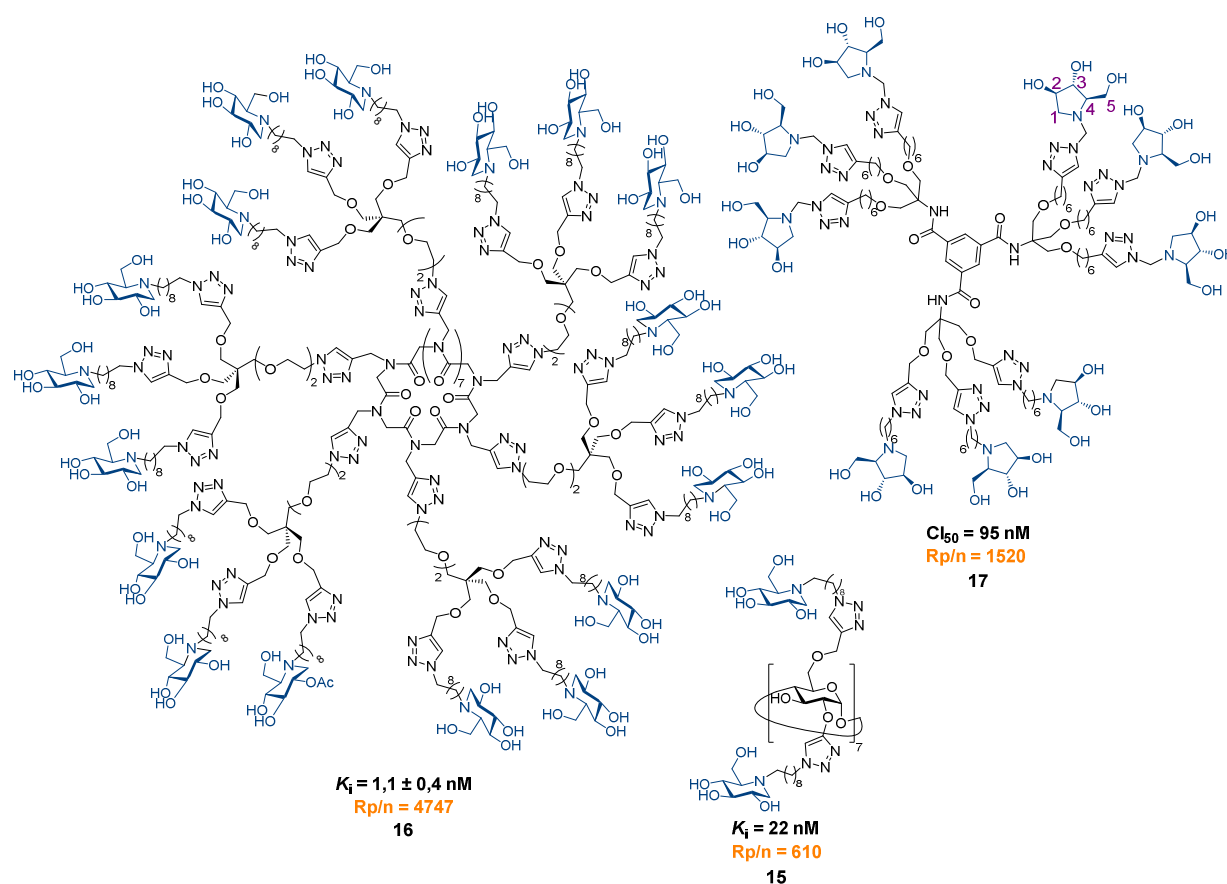


Figure 18 Sélection des meilleurs effets multivalents sur l' α -mannosidase de Jack-bean

L' α -mannosidase de Jack-bean est une métallo-enzyme dimérique symétrique dont chaque unité monomérique est formée d'une chaîne légère (light L) et d'une chaîne lourde (H heavy) faisant 44

et 66 kDa respectivement.^[84] Ci-après un schéma illustrant la formation du complexe sandwich (Schéma 2).

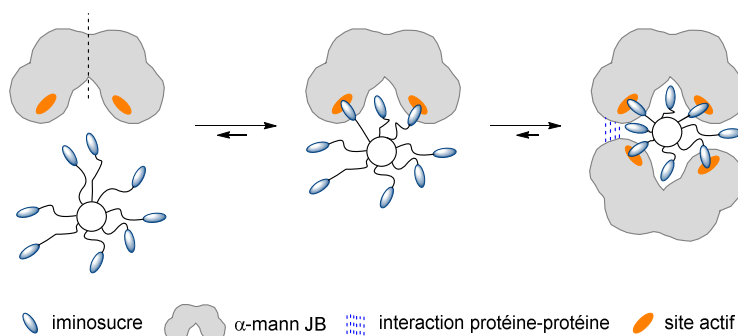


Schéma 2 Formation d'un complexe sandwich

Le composé multivalent pourrait se lier dans un premier temps avec les deux sites actifs de l'enzyme. La taille du composé multivalent permettrait à une seconde enzyme de venir se lier à deux autres inhitopes. Le complexe sandwich serait alors formé. La présence d'interactions protéine-protéine pourrait stabiliser le complexe (Schéma 2).

Le composé 36-valent a été récemment co-cristallisé avec l' α -mannosidase de Jack-bean et a permis d'obtenir sa première structure haute résolution par diffraction aux rayons-X^{*}.^[52] L'analyse du cristal de l' α -mannosidase de Jack-bean avec le composé multivalent prouve la formation du complexe sandwich et la présence d'un iminosucre dans chacun des 4 sites actifs. Cette étude n'a pas permis de mettre en évidence la présence d'un site de liaison secondaire proche du site actif, cependant, elle apporte des informations structurales quant aux interactions au sein du site actif et à sa proximité. La DNJ coordonne un atome de zinc *via* ses alcools en C2 et C3. La sphère de coordination octaédrique du métal est complétée par deux oxygènes provenant de résidus aspartate de la protéine et deux azotes provenant de résidus histidine de la protéine. L'effet multivalent record du composé 36-valent est donc expliquée par un effet chélate, le composé ayant la taille optimale pour se loger entre deux enzymes et les espaceurs étant assez longs et flexibles pour atteindre les quatre sites actifs. Les ligands qui ne sont pas liés à l'enzyme restent très proches des sites actifs et sont donc favorablement disposés pour se lier dès qu'un site actif n'est plus occupé. Un effet de glissement contribue donc sans doute également à l'effet multivalent (Schéma 2).

En 2017, les équipes de Cardona et Jiménez-Barbero, publient la synthèse d'un composé nonavalent dont l'épitope est le 1,4-didésoxy-1,4-imino-D-arabitol (DAB-1) **17** (Figure 18). Il montre une inhibition sur l' α -mannosidase de Jack-bean de l'ordre de la centaine de nanomolaires avec un CI_{50} de 95 nM.^[51] L'inhibition relative par iminosucre est de 1520, une valeur record pour un inhibiteur possédant une valence relativement basse. Une étude mécanistique est également réalisée en utilisant différentes techniques : par résonance magnétique nucléaire (Saturation Transfer Difference NMR), par des études de dynamique moléculaire et par microscopie électronique en transmission. La formation de cluster discret est également observée et des complexes en forme de S sont observés par microscopie électronique à transmission. Ces clusters correspondent à deux composés tétravalents interagissant avec 3 dimères de l'enzyme (Figure 19).

* Cette cocrystallisation succède au premier exemple publié en 2013 par le groupe de Robina *et al.* entre une α -L-fucosidase (*BtFuc2970*) et un composé trivalent à motif iminocyclitol ainsi que le composé monovalent correspondant.^[85]

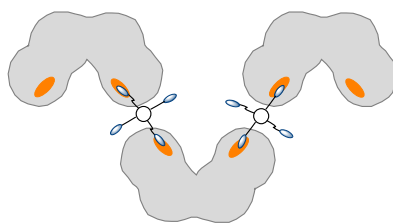


Figure 19 Interaction ligand tétravalent avec l' α -mannosidase de Jack-bean expliquant la forme S

Les études de dynamique moléculaire ont montré l'importance des groupements hydroxyles en C-2 et C-5 des iminosucres car ceux-ci interagissent avec l'ion zinc situé dans le site actif de l'enzyme. Les tests réalisés dans cet article sur des mannosidases humaines seront développés dans la partie suivante ([Chap 1. 5a](#))).

La différence entre formation d'un complexe sandwich ou formation d'un cluster en forme de S semble résider dans la taille du composé multivalent.

ii. Nanoparticules

Le premier exemple de nanoparticules décorées d'iminosucres multivalents a été publié en 2014 par l'équipe de Lecommandoux et notre laboratoire.^[86] Des motifs DNJ ont été greffés *via* CuAAC sur des polypeptides polypropargylés. Ces polypeptides ont ensuite été auto-assemblés par une méthode de déplacement de solvant qui consiste à ajouter une solution de copolymère dans du DMSO dans une eau distillée à 50 °C. Différentes micelles ont été obtenues en mélangeant les blocs de copolymères fonctionnalisés avec la DNJ et des glycopolypeptides fonctionnalisés avec du galactose dans différentes proportions. Leur inhibition a été testée sur l' α -mannosidase de Jack-bean et le K_i obtenu était de 0,15 μ M à partir de 66 % de blocs de copolymères fonctionnalisés avec la DNJ. Le pourcentage de DNJ a été déterminé par diffusion dynamique de la lumière. Un effet multivalent est observé mais il est difficilement quantifiable car le nombre de molécules de DNJ présentes sur la nanoparticule ne peut être déterminé précisément.

Très récemment, le groupe de Gouin a décrit la synthèse de nanoparticules magnétiques couvertes de ligands à motif thiomannosides (SMan), choisis car inertes par rapport à l'hydrolyse enzymatique, ou DNJ.^[87] Les nanoparticules sont des particules de Fe_3O_4 et les ligands sont greffés par co-précipitation. Les composés multivalents ont été testés sur l'agarase B (AgaB), une α -D-galactosidase. La particule couverte de thiomannoside est un bon inhibiteur ($K_i = 3,8 \mu\text{M}$) tandis que la particule couverte de DNJ améliore l'activité enzymatique d'un facteur 2,5. Les composés monovalents respectifs n'ont pas d'activité sur l'AgaB. Grâce à l'utilisation de particules magnétiques, il est possible après mélange du substrat, de l'enzyme et du composé multivalent, de récupérer facilement le produit de la réaction enzymatique par centrifugation puis application d'un champ magnétique attirant les particules liées à l'enzyme. Cet article montre la possibilité de moduler l'activité d'une galactosidase en l'inhibant ou en l'activant. C'est l'un des rares exemples d'activateurs de glycosidases.^[88–90] La possibilité de recycler les composés multivalents est un avantage indéniable.

D'autres groupes se sont intéressés à la synthèse de composés multivalents à l'aide de nanoparticules d'or. Les inhibiteurs 6-amino hyacinthacine **18** et 1,5-didésoxy-1,5-imino-D-xylitol **19** ont été utilisés ([Figure 20](#)) et les composés multivalents ont été testés sur l' α -mannosidase de Jack-bean par l'équipe de Robina.^[91] Aucun effet multivalent n'a été relevé mais l'activité inhibitrice des composés est tout de même conservée.

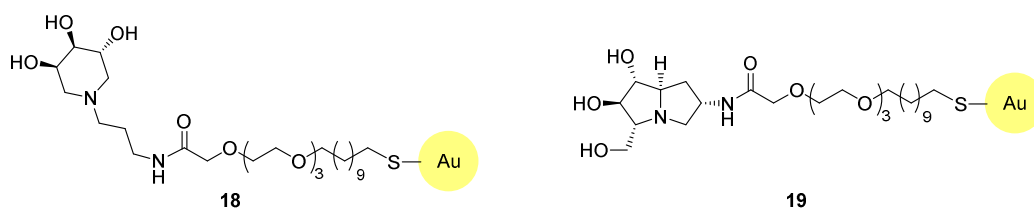


Figure 20 Nanoparticules d'or fonctionnalisées par des ligands à motif 1,5-didésoxy-1,5-imino-D-xylitol **18** et 6-amino hyacinthacine **19**

5) Applications thérapeutiques

La majorité des exemples précédents ont permis de prouver qu'il était possible d'améliorer l'inhibition des glycosidases grâce à des iminosucres multivalents, ce qui pouvait sembler initialement contre-intuitif. L'application de ces résultats probants à des glycosidases d'intérêt thérapeutique a donc été une suite naturelle et logique. Les iminosucres multivalents ont ainsi été testés sur différentes glycosidases humaines.^[69]

a) Maladies de surcharge lysosomale

Les maladies de surcharge lysosomale représentent environ 50 maladies génétiques rares et sont dues à la perte totale ou partielle de l'activité d'une enzyme lysosomale. Il en résulte que les substrats non métabolisés s'accumulent dans le lysosome créant des symptômes graves.

La plus répandue d'entre elles est la maladie de Gaucher avec une occurrence de 1 sur 60 000 naissances au niveau de la population mondiale.^[92] Cette maladie est causée par une mutation du gène codant la synthèse de l'enzyme lysosomale : la β -glucocerebrosidase (Gcase). Son rôle est de catalyser l'hydrolyse de la liaison glycosidique du glucosylcéramide. La GCase mutante montre seulement une perte partielle d'activité mais est tout de même détruite par le système contrôle-qualité du RE. Différents traitements sont possibles tels que ceux qui consistent au remplacement de l'enzyme mutée ou en l'inhibition de la synthèse du glucosylcéramide en amont.

Une nouvelle stratégie thérapeutique a émergé il y a une vingtaine d'années : la thérapie chaperon. Des inhibiteurs seraient capables de stabiliser la structure tridimensionnelle de l'enzyme mutante ciblée en se liant à celle-ci. L'enzyme mieux repliée pourrait alors passer les contrôles-qualité du réticulum endoplasmique (RE) sans être détruite.^[93] Cette explication a été adoptée par la majorité des scientifiques mais le groupe de Wei propose une hypothèse différente. Les chaperons chimiques permettraient à l'enzyme mutante d'être plus résistante face aux protéases présentes dans le lysosome plutôt que d'empêcher sa dégradation dans le RE.^[94]

La première étude de l'effet multivalent sur une enzyme clé de la maladie de Gaucher a été réalisée en 2012 par le laboratoire.^[95] Quatre composés hepta- ou 14-valent à motifs DNJ basés sur des plateformes β -cyclodextrine avec des espaceurs de 6 ou 9 carbones ont été testés en tant qu'inhibiteurs sur la ceredase, l'enzyme recombinante de la GCase. Le motif DNJ et la chaîne alkyle ont été choisis en se basant sur la *N*-nonyl DNJ (**20**) qui est le premier exemple de chaperon pharmacologique identifié dans le traitement de la maladie de Gaucher (Figure 21).^[96]

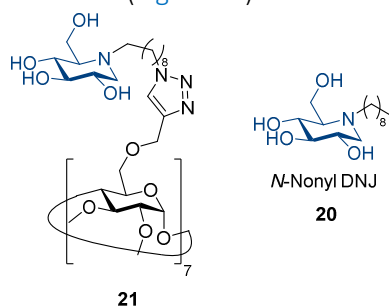


Figure 21 Composé heptavalent à motif DNJ et la *N*-nonyl DNJ comme chaperons pharmacologiques pour le traitement de la maladie de Gaucher

Les résultats *in vitro* de l'inhibition de la ceredase indiquent une excellente CI_{50} de 8 nM du composé **21** (Figure 21). Ce composé est, respectivement, 80 fois et 200 fois plus efficace que la *N*-nonyl DNJ **20** et le composé monovalent correspondant.[†] Il était supposé initialement que de bons inhibiteurs devraient être de bons chaperons, une étude d'inhibition préliminaire a donc été menée.^[98] La mesure de l'amélioration de l'activité de la GCCase *in vivo* a ensuite été réalisée sur des fibroblastes de patients atteints de la mutation N370S. Le composé heptavalent a bien pu atteindre le RE ainsi que le lysosome car une augmentation de l'activité d'un facteur 1,5 a été observée à une concentration de 10 μ M. A cette même concentration, la *N*-nonyl DNJ permet une amélioration de l'activité d'un facteur 2,4. On peut donc conclure que les composés montrant la plus forte inhibition ne sont pas nécessairement ceux qui montrent le meilleur effet chaperon.

Deux ans plus, tard, notre groupe publie une étude plus large avec différentes plateformes, en faisant varier la valence et la nature des ligands.^[97] Cette étude plus systématique confirme qu'une bonne inhibition ne corrèle pas toujours avec un bon effet chaperon. Parmi les composés multivalents testés, le composé tétravalent à motif DNJ **22** montre la meilleure amélioration d'activité avec un facteur 3,3 à une concentration de 10 μ M (Figure 22). Le résultat le plus intéressant est l'amélioration d'activité d'un facteur 3 obtenu pour un composé trivalent à motif DNJ peracétylé analogue à **22**, à une concentration de 1 μ M. Ce composé pourrait être plus facilement internalisé dans la cellule car moins hydrophile que l'équivalent hydroxylé. Il pourrait ainsi passer plus facilement les chaînes grasses de la membrane cellulaire. Cette molécule a un rôle de prodrogue, sa forme initiale protégée est inactive (aucune inhibition mesurée) alors que sa forme hydroxylée, après action des estérases cellulaires, est active.

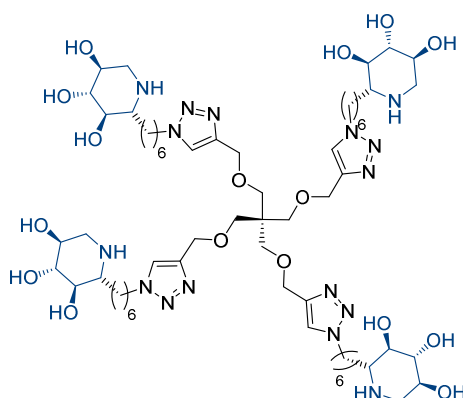


Figure 22 Tétravalent à motif DNJ **22**

Une autre étude restreinte à des petites valences a ensuite confirmé l'intérêt du concept de prodrogues.^[99]

Le premier exemple d'inhibiteur multivalent de *N*-acétylgalactosamine-6-sulfatase (GALNS) et iduronate-2-sulfatase (IDS) a été publié en 2016 par l'équipe de Cardona et Matassini.^[100] La déficience de ces enzymes cause le syndrome de Morquio A et la maladie de Hunter respectivement. La GALNS a un caractère dimérique, comme l'atteste sa structure obtenue par rayons X,^[101] ce qui en fait une bonne candidate pour un effet multivalent puissant par effet chélate.

Le composé nonavalent **17** (Figure 18) ainsi que son épimère *S* en position C-2 ont été testés sur ces deux enzymes et des inhibitions de l'ordre de la dizaine de micromolaires ont été obtenues. Le changement de configuration de la position 4 a une influence sur l'affinité du ligand pour la cible. La GALNS semble être plus sensible au composé 4R tandis que l'IDS est plus sensible au composé 4S. Le

[†] Les Rp/n de 10 et 30 obtenu pour ces tests sont à contraster. En effet, 2 ans plus tard est publié un Rp/n de seulement 2 pour la molécule **21** sur l'inhibition de la GCCase de placenta humain.^[97]

meilleur effet multivalent inhibiteur ainsi que la meilleure inhibition sont obtenus pour le composé **17 2S** avec un Cl_{50} de $31 \pm 2 \mu M$ ce qui correspond à un Rp/n de 20.

b) Mucoviscidose

En 2013 est publiée la première description d'un effet multivalent sur la correction d'un défaut de repliement d'une protéine dans une cellule.^[102] Les cibles thérapeutiques sont les α -glucosidases I et II du RE impliquées dans le contrôle-qualité des protéines et la destruction des protéines mutantes. Un Rp/n de 330 par iminosucre a été mesuré pour un composé trivalent à motif DNJ par rapport au monovalent correspondant sur la restauration de l'activité de la protéine CFTR, mutante chez les patients atteints de la maladie. Ce composé trivalent est également 225 fois plus efficace que la *N*-butyl DNJ (Miglustat), candidat clinique de référence en phase II en tant que correcteur de la protéine mutante. La concentration efficace médiane (CE_{50}) mesurée pour cet iminosucre multivalent est en effet de $0,5 \mu M$ contre $112 \mu M$ pour le miglustat. La concentration efficace médiane correspond à la concentration nécessaire en correcteur pour atteindre une restauration d'activité à hauteur de 50% par rapport à une activité normale. Ces résultats seront développés plus amplement lors de la dernière partie de ce chapitre ([Chap1](#) III) 7) a)).

c) Influenza virus

On peut également mentionner l'inhibition de la neuraminidase (NA), une des deux enzymes majoritairement présentes à la surface des virus de la grippe (influenzavirus) avec l'hémagglutinine (HA). L'enzyme HA aide à la fixation des cellules virales sur les cellules hôtes par des liaisons spécifiques avec l'acide sialique exprimé à leur surface. L'enzyme NA catalyse la coupure des liaisons acide sialique et permet la libération et la prolifération du virus. Le Zanamivir est un inhibiteur de la NA à l'échelle sub-micromolaire ($0,79 \mu M$) commercialisé sous le nom de Relenza ([Figure 23](#)).

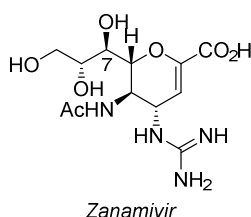


Figure 23 Structure du Zanamivir

La synthèse de composés di- à tétravalents à motif Zanamivir^[103–105] n'a pas permis d'observer un effet multivalent positif *in vitro*, mais, ces composés se sont révélés bien plus efficaces en tests *in vivo* dû à une agrégation des éléments pathogènes. Le composé dimérique relié par une chaîne alkyle de 14 carbones et fonctionnalisé en position 7 par un groupement carbamate montre une efficacité 100 fois meilleure pour la prévention de la réplication du virus une fois administré à des souris.^[103]

d) Cancers

Les groupes de Gouin,^[50] Cardona et Jiménez-Barbero^[51] se sont intéressés à l'inhibition de l' α -mannosidase II de l'appareil de Golgi (GM) sélectivement par rapport à l' α -mannosidase du lysosome (LM), dans le but d'un traitement anti-cancéreux. Le blocage de la métastase et de la croissance de la tumeur a été observé grâce à l'inhibition de l' α -mannosidase II de l'appareil de Golgi par la swainsonine.^[106] Dans ce contexte des composés multivalents ont été synthétisés à motif DNJ ou DAB-1 ([Figure 24](#)).

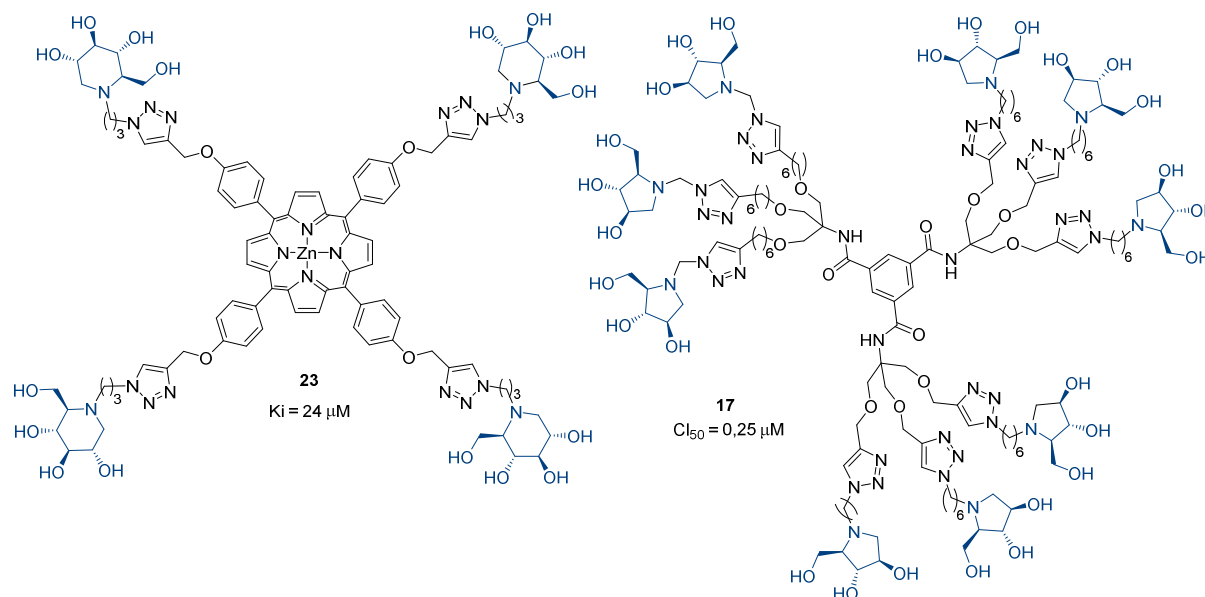


Figure 24 Composés tétra- et nonavalents et leur inhibition sur l' α -mannosidase de l'appareil de Golgi

Le groupe de Gouin a conçu le composé tétravalent à motif DNJ sur une plateforme porphyrine **23** dans le but d'induire de la rigidité (Figure 24). Son Rp/n sur l' α -mannosidase de Jack-bean est de 200, une valeur très élevée pour un composé de petite valence. Son pouvoir inhibiteur a également été testé sur GM et LM et une excellente sélectivité a été observée envers GM. En effet, le composé **23** inhibe uniquement la GM avec un K_i de 24 μM . Cette sélectivité est essentielle pour éviter tout effet secondaire dû à une déficience en LM induisant alors une mannosidose. Cette maladie causant des problèmes neurologiques par accumulation dans les cellules d'oligosaccharides riches en mannose a été observée après ingestion de swainsonine par exemple.^[107]

En 2017, les groupes de Cardona et Jiménez-Barbero^[51] testent des composés mono-, di-, tri- (Figure 25) et nonavalents **17** (Figure 18) sur GM et LM.

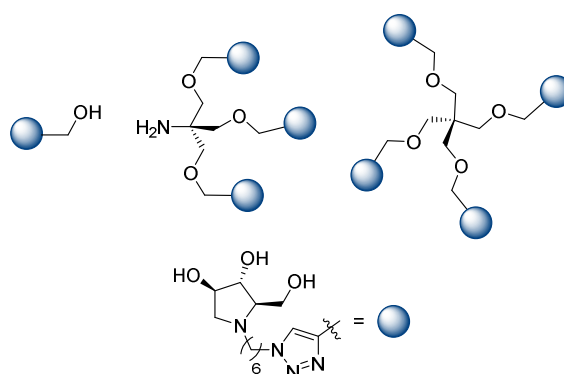


Figure 25 Structure des composés mono-, di- et trivalents testés sur GM et LM

La Cl_{50} mesurée sur GM, pour le composé nonavalent **17** (Figure 24), est de 0,25 μM soit 700 fois meilleure que le composé monovalent correspondant. Le Rp/n est donc de 78. Comme ses prédécesseurs, le composé nonavalent n'a aucun pouvoir inhibiteur envers la LM, ce qui n'est pas le cas pour les composés de plus petites valences.

e) Maladies neurodégénératives

Des iminosucres multivalents à motif azépane, cycle à 7 membres, possédant un groupement NHAc en position C-2 ont été synthétisés par les équipes de Blériot et Gouin, dans le but de cibler des hexosaminidases d'intérêt thérapeutique.^[108] Ces enzymes catalysent la coupure des résidus N-

acétylglucosamine terminaux de glycoconjugués et polysaccharides. Une absence ou perte d'activité de ces enzymes chez l'homme provoque des maladies neurodégénératives graves comme les maladies de Tay-Sachs et Sandhoff.^[109]

Deux, quatre ou huit motifs trihydroxy acétamidoazépane ont été greffés sur des plateformes PEG (24), méthyl glucoside (25) ou γ -cyclodextrine (26) respectivement (Figure 26). Une augmentation de l'effet multivalent en fonction de la valence des composés est observée sur différentes hexosaminidases. Les hexosaminidases de rein de bovin et de HL60 répondent positivement à la présentation multiple d'minosucres. Les Cl_{50} calculés sont, dans les deux cas, de l'ordre de la centaine de nanomolaires. Il n'y a pas de différence d'inhibition entre les composés di-, tétra- ou octavalent. Le Rp/n est donc plus élevé pour le composé divalent. L'inhibition des composés a été testée sur les β -hexosaminidases A et B (Hex AB) et *O*-GlcNAcase humaines et la NagZ provenant de bactérie. Une bonne sélectivité envers les Hex AB et des valeurs de Cl_{50} de l'ordre de la dizaine de nanomolaires ont été mesurées pour les 3 composés multivalents. La meilleure inhibition est obtenue avec le composé octavalent avec un Cl_{50} de 7 nM sur Hex AB. Une fois de plus, la multivalence permet de rendre un inhibiteur initialement non sélectif hautement sélectif pour une cible.

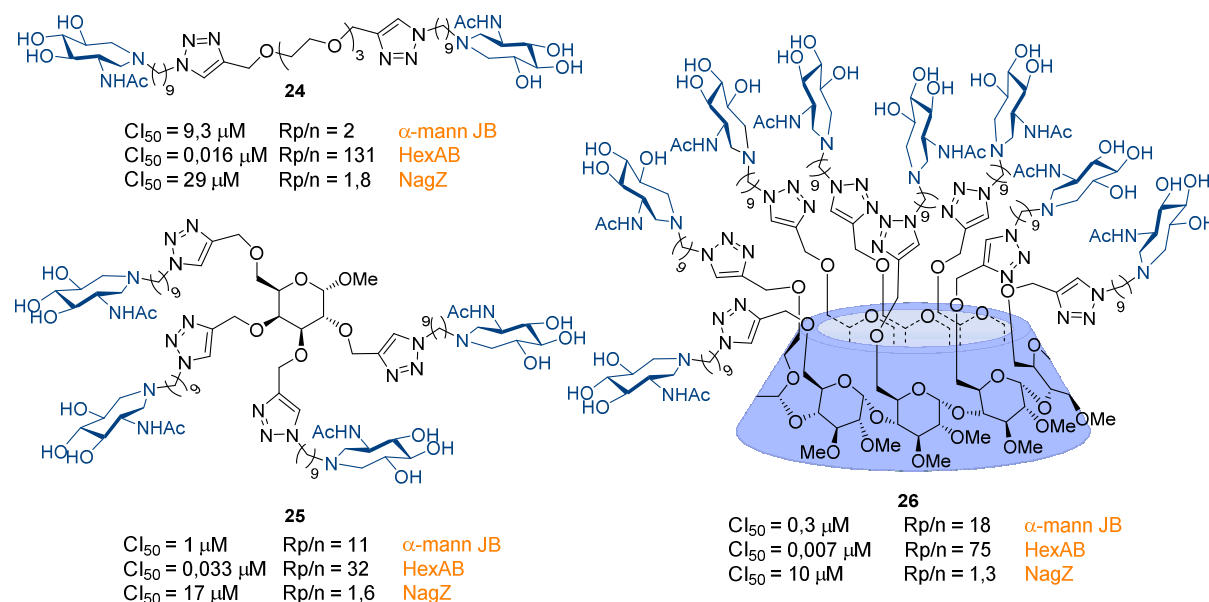


Figure 26 Composés multivalents à motif azépane

6) Bilan – Question de recherche

Le motif DNJ, majoritairement présent dans les exemples cités précédemment, a été choisi par le passé pour sa capacité à inhiber de nombreuses glycosidases et sa synthèse relativement courte. Les iminosucres multivalents à motif DNJ ont pu alors être testés sur un grand nombre de cibles différentes. De plus, la DNJ étant un inhibiteur peu sélectif des glycosidases, son utilisation en tant qu'inhitope permet également d'observer un effet de sélectivité en plus de l'effet multivalent sur l'inhibition. Le ligand DNJ est un ligand de référence car il a permis d'obtenir les meilleurs Rp/n décrits à ce jour sur une glycosidase.

La mise en évidence d'un plateau d'inhibition a encouragé les chimistes à trouver d'autres moyens d'abaisser les valeurs de K_i qu'en augmentant systématiquement la valence des composés.

Qu'advierait-il de tous les résultats obtenus précédemment si les composés multivalents étaient greffés de ligands très affins de la cible visée ? L'effet multivalent serait-il conservé, amélioré ou au contraire réduit ? Une meilleure sélectivité serait-elle observée ?

D'un point de vue thérapeutique, la sélectivité des iminosucres envers les enzymes ciblées est primordiale puisque des effets secondaires néfastes peuvent apparaître en cas d'inhibition à spectre trop large. Dans le but de viser des mannosidases et des glucosidases humaines, un travail de recherche bibliographique a été effectué pour identifier et choisir les meilleurs iminosucres permettant la synthèse de composés multivalents possédant des inhitopes très affins des glycosidases sélectionnées.

II) A la recherche de puissants inhibiteurs de glycosidases

1) Les glycosidases

Les enzymes sont des protéines qui catalysent des réactions chimiques ayant lieu dans le vivant. Elles sont constituées d'une séquence d'acides aminés précise qui leur confère une conformation 3D définie menant à une activité spécifique. La partie essentielle de l'enzyme, où ont lieu les réactions, est le site actif. Le substrat vient se lier spécifiquement à ce site actif, la réaction a lieu, puis le produit est libéré. L'enzyme peut alors à nouveau réagir avec un autre substrat (Schéma 3).

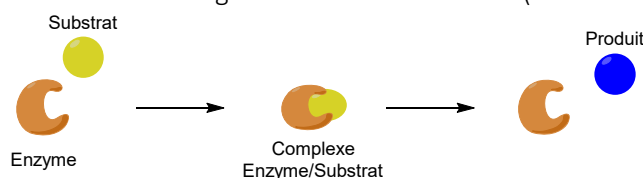


Schéma 3 Liaison du substrat à l'enzyme puis formation du produit

La liaison *O*-glycosidique est la liaison la plus stable parmi les biopolymères, et plus particulièrement entre deux motifs glucose. L'hydrolyse spontanée de cette liaison, présente dans la cellulose ou l'amidon, a un temps de demi-vie d'environ 5 millions d'années.^[110,111] Les glycosidases, également appelées glycosides hydrolases (GH), sont une classe particulière d'enzymes qui ont pour rôle de catalyser l'hydrolyse de la liaison *O*-glycosidique de polysaccharides et de glycoconjugués. Les enzymes sont capables d'atteindre des constantes de vitesse de l'ordre de 1000 s^{-1} , ce qui les place parmi les catalyseurs les plus efficaces du corps humain.

Lors du dernier recensement, en 2014, ce n'est pas moins de 159 274 séquences de glycosidases qui étaient répertoriées dans la littérature, 9221 d'entre-elles étant caractérisées dont 817 avec une structure 3D connue.^[112] Ces informations ont pu être collectées grâce au CAZy, une base de données créée en 1999 dans le but de répertorier et classer les enzymes interagissant avec des glucides par séquence et structure (voir <http://www.cazy.org/>). Les glycosidases sont classées en familles par comparaison de leur séquence d'acides aminés.^[113,114] Actuellement, il existe 153 familles de glycosidases. Les familles sont désignées par un simple nombre, par exemple, la famille GH38 correspond à la famille 38 des glycosides hydrolases. Un classement par structure tridimensionnelle de ces familles existe et forment les clans. Il en existe actuellement 17 et sont assignés par une lettre (GH-A à Q).

Quel est le mécanisme d'action général de ces enzymes ? Quels types d'interactions existe-il entre substrat et enzyme ? Les réponses, même partielles à ces questions, permettent la compréhension du mécanisme d'inhibition des iminosucres envers les glycosidases. Ces réponses sont également nécessaires afin d'anticiper l'efficacité d'un composé en tant qu'inhibiteur. Pour que la réaction de catalyse soit efficace, il faut que l'enzyme se lie plus fortement avec l'espèce transitoire qu'avec le substrat, comme l'explique Pauling en 1946.^[115] Un analogue d'état de transition devrait alors être un excellent inhibiteur.

2) Interactions entre substrats et glycosidases

a) Mécanisme de l'hydrolyse de la liaison glycosidique

L'état de transition de l'hydrolyse de la liaison glycosidique par une glycosidase ressemble, autant du point de vue de la conformation que de la charge, à un ion oxocarbenium (Schéma 4).^[111,116]

L'hydrolyse enzymatique de la liaison glycosidique s'effectue par catalyse acide. Deux résidus catalytiques essentiels sont mis en jeu : un donneur de proton et un nucléophile ou une base. Cette

hydrolyse peut s'effectuer avec inversion (Schéma 4) ou rétention (Schéma 5) de la configuration du carbone anomérique. Ces deux voies possibles ont été postulées par Koshland dès 1953.^[117]

Deux types de glycosidases existent, les exoglycosidases, effectuant la coupure de sucre terminaux, et les endoglycosidases, effectuant la coupure au sein d'une chaîne polysaccharidique.

i. Mécanisme par inversion de configuration

Dans le cas du mécanisme par inversion de configuration, la cavité du site actif doit être assez large pour qu'une molécule d'eau puisse être présente simultanément avec le substrat. Les deux résidus catalytiques sont alors placés à une distance d'environ 10,5 Å. Le résidu carboxylate a un rôle de base et permet la déprotonation de la molécule d'eau présente dans le site actif. Cette molécule va alors pouvoir attaquer la position anomérique du substrat, causant la rupture de la liaison glycosidique. La partie aglycone libérée est alors protonée par le second résidu carboxylique (Schéma 4).

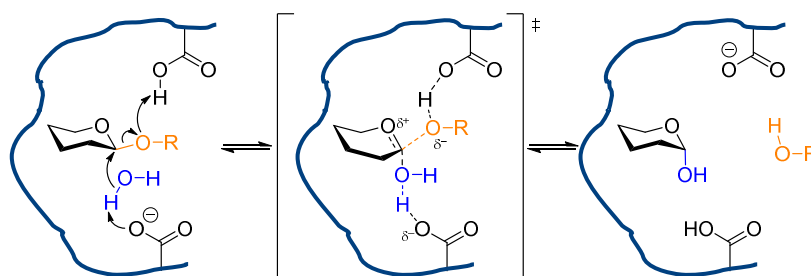


Schéma 4 Mécanisme général de l'hydrolyse de la liaison glycosidique avec inversion de configuration^[111]

ii. Mécanisme avec rétention de configuration

En ce qui concerne le mécanisme avec rétention de configuration, la coupure de composés β -D-glucosidiques est souvent représentée avec une protonation venant du plan supérieur au cycle du sucre et de manière perpendiculaire.^[117] Une étude sur plusieurs inhibiteurs a cependant montré qu'un grand nombre de glycosidases ne reprotonaient pas le substrat selon cette direction mais que la reprotonation était latérale.^[118] Par exemple, les GH appartenant à la famille GH-A ont une protonation dans le plan du sucre et non par la face supérieure du cycle.^[111] Cette protonation latérale est prouvée par structure 3D obtenue par diffraction des rayons X à partir d'un disaccharide cellobioimidazole **27** (Figure 27).^[119]

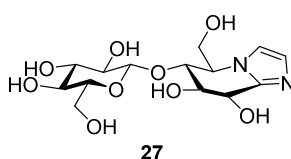


Figure 27 Dérivé de cellobiose ayant permis la preuve d'une protonation latérale

Deux types de protonation existent, la protonation *syn* et la protonation *anti*. Le caractère *syn* ou *anti* est défini par la position du donneur de proton par rapport à la liaison C1-O_{endo} qui vont se trouver du même côté ou de part et d'autre du plan défini par C-1, O_{exo} et H-1.^[120] Ci-après les mécanismes de l'hydrolyse de la liaison glycosidique par une glycosidase avec rétention de configuration, selon une protonation *syn* (Schéma 5) ou une protonation *anti* (Schéma 6).

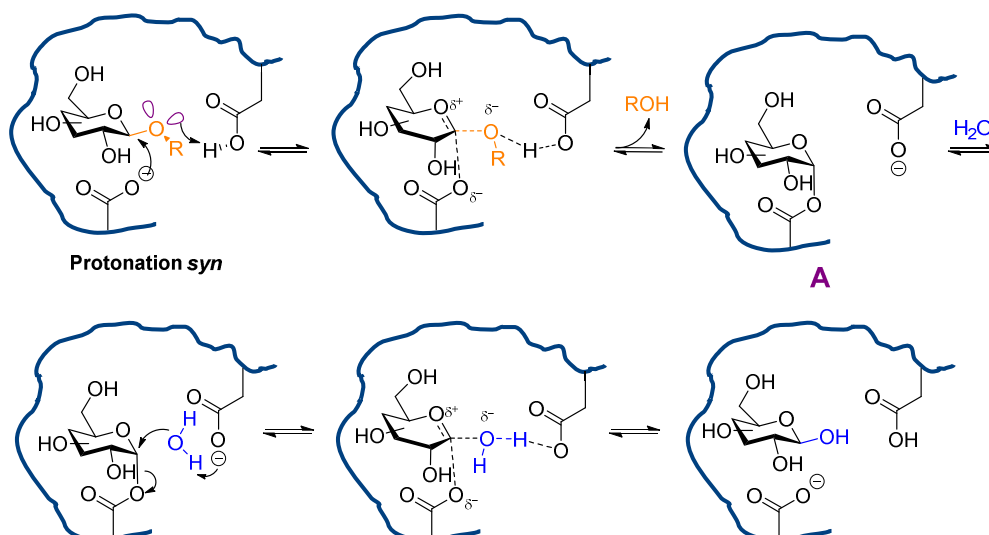


Schéma 5 Mécanisme général de l'hydrolyse de la liaison glycosidique avec rétention de configuration pour les β -glycosidases à protonation *syn*

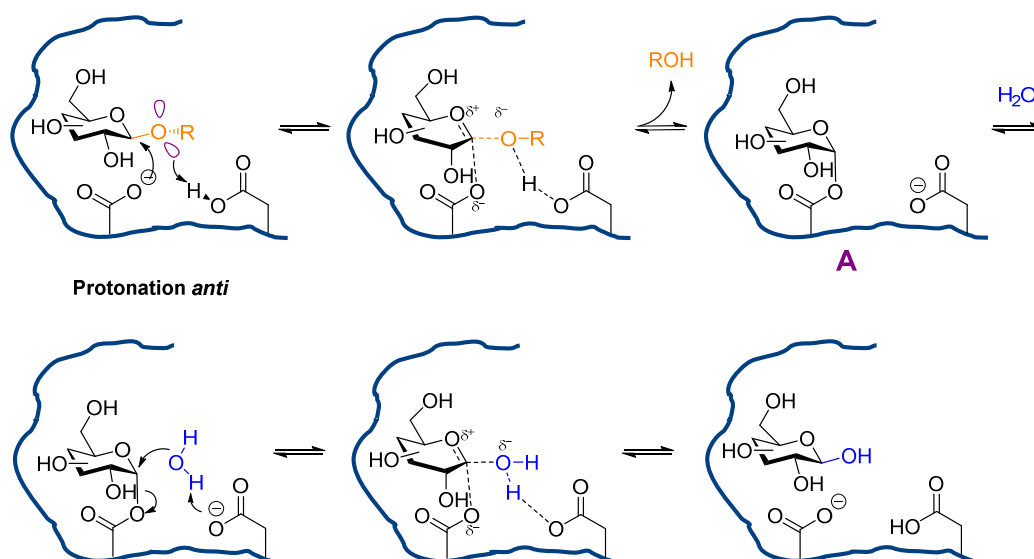


Schéma 6 Mécanisme général de l'hydrolyse de la liaison glycosidique avec rétention de configuration pour les β -glycosidases à protonation *anti*

Par opposition au mécanisme avec inversion de configuration, les résidus catalytiques d'une glycosidase avec rétention de configuration ne sont espacés que de 5,5 Å.^[111] Le résidu carboxylate présent dans le site actif attaque directement la position anomérique du sucre et on passe alors par la formation d'une liaison covalente entre le sucre et l'enzyme (Schéma 5 - A). Cette liaison est par la suite hydrolysée par une molécule d'eau provenant de l'extérieur du site actif. La rétention de configuration correspond plus exactement à une double inversion. L'existence de l'intermédiaire covalent A a pu être prouvée grâce à de multiples méthodes telles que des études cinétiques d'effets isotopiques,^[121] des expériences RMN ^{19}F ^[122] ou encore l'analyse DRX d'un complexe cristallin enzyme/substrat.^[123]

Les enzymes appartenant à une même famille catalysent la réaction d'hydrolyse avec rétention ou inversion de la position anomérique.^[124] Les glycosidases sont souvent spécifiques d'une orientation de liaison particulière au niveau de cette position. Les α -glycosidases vont reconnaître les sucres en configuration α et les β -glycosidases vont reconnaître ceux en configuration β .

Pour les sucres en série D, l'attaque du carboxylate sur la position anomérique se fait par la face supérieure du cycle pyranose pour les α -glycosidases et par la face inférieure au cycle pour les β -glycosidases (Figure 28).

Une légère différence dans la localisation de la charge de l'espèce oxocarbenium est observée lors des états de transition formés pour les α - et β -glycosidases avec rétention de configuration. Pour un composé de type glucose, dans le cas des β -glycosidases, l'interaction *syn* de l'oxygène du carboxylate avec le carbone anomérique et l'interaction du groupement hydroxyle en position C-2 avec le résidu carboxylate vont favoriser la position de la charge positive sur le carbone anomérique (Figure 28). Dans le cas d'un glucose α , cette interaction simultanée de la position OH en C-2 et du carboxylate avec la position anomérique n'est pas possible. En effet l'alcool en C-2 se situe de l'autre côté du plan par rapport au carboxylate effectuant l'attaque nucléophile (Figure 28). Dans ce cas, la charge positive se développe préférentiellement sur l'oxygène endocyclique.^[111]

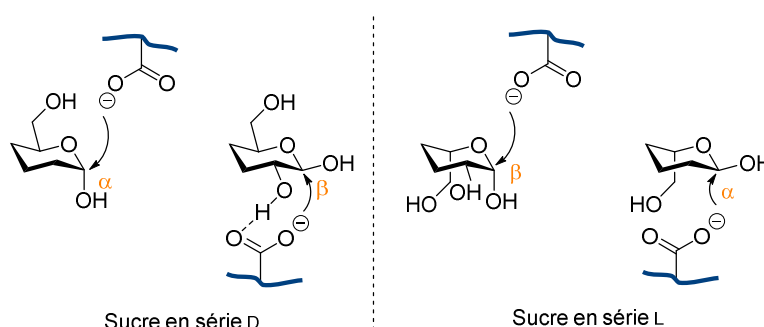


Figure 28 Liaison anomérique α ou β et position du carboxylate attaquant la position anomérique

b) Mécanisme d'inhibition des glycosidases par les iminosucres

Les iminosucres sont connus pour être de bons inhibiteurs de glycosidases.^[125] L'absence d'oxygène glycosidique leur permet d'être résistants face aux réactions d'hydrolyse. Le remplacement de l'oxygène endocyclique par un atome d'azote permet la liaison des iminosucres dans le site actif de l'enzyme grâce à des interactions électrostatiques fortes entre le résidu carboxylate et l'atome d'azote protoné (Figure 29).

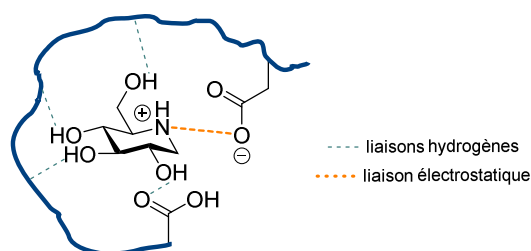


Figure 29 Interactions électrostatiques entre l'iminosucre protoné et le résidu carboxylate du site actif

Dès 1990, Ganem se penche sur l'importance de la protonation des iminosucre sur leur activité inhibitrice.^[126] Le pK_A de l'acide conjugué de **54** est de 10,6, et celui de **101** est d'environ 12 (Figure 30). Ces deux iminosucres, lors de tests d'inhibitions dans des solution tampons de pH variant de 4,6 à 7,0, sont entièrement protonés avant d'entrer dans le site actif et ont un K_i indépendant du pH. Le même test d'inhibition réalisé pour la DNJ (pK_A 6,7) indique lui un profil d'inhibition pH-dépendant avec des K_i allant de 370 à 18 μM sur la même β -glucosidase. A partir de ces résultats, le groupe de Ganem suppose que c'est la forme protonée de l'inhibiteur qui interagit avec l'enzyme.

Un an plus tard les pouvoirs d'inhibition du glucoamidoxime **56** et de la glucoamidrazone **55** sont évalués (Figure 30).^[127] Le glucoamidoxime **56** n'est pas protoné lors des tests enzymatiques, car celui-ci est moins basique, mais montre une inhibition comparable à celle de la glucoamidine **54**, envers la β -glucosidase (Figure 30). L'inhibition de **55** est indépendante du pH tandis que l'inhibition de **56** est pH-dépendante. La variation du pouvoir d'inhibition de **56** en fonction du pH corrèle avec la variation

de k_{cat}/K_M en fonction du pH de l'enzyme. Ce comportement est attendu pour un inhibiteur analogue de l'état de transition.^[128] La configuration du carbone pseudo-anomérique semble donc plus importante que la formation d'une charge positive.^[129]

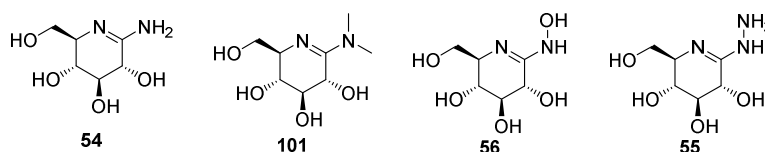


Figure 30 Glucoamidines synthétisées par Ganem *et al.*

En 1995, le groupe de Tellier montre que l'importance de la charge positive sur le pouvoir d'inhibition dépend de la source de l'enzyme.^[130] En effet, deux mécanismes sont possibles pour expliquer la formation de la paire ionique entre l'inhibiteur et le résidu carboxylate du site actif : l'inhibiteur basique est protoné par le milieu aqueux en fonction de son pK_A et sa forme cationique interagit avec le résidu carboxylate du site actif de l'enzyme (classe d'enzyme 1)) ou bien, l'enzyme se lie à la forme neutre de l'inhibiteur qui sera ensuite protoné par le résidu acide carboxylique du site actif (classe d'enzyme 2)).

Des études *in silico*, par les groupes de Cardona et Jiménez-Barbero, confirment la protonation d'iminosucres semblables (Figure 31) et la présence d'interactions électrostatiques.^[51] De plus, cet article met en lumière l'importance de la présence des groupements hydroxyles (dans leur cas, les OH en C-4 et C-6 de pyrrolidines se lient avec un atome de zinc présent dans le site actif des glycosidases de la famille GH38).^[51]

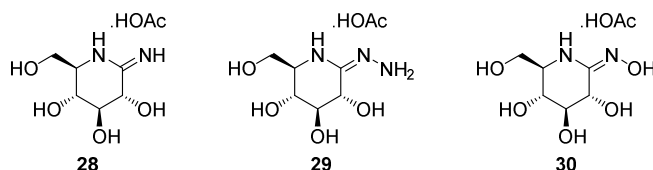


Figure 31 Gluconoamidines protonées de manière permanente (28 et 29) et moins basique (30)^[131]

Il est possible de rendre un iminosucre plus spécifique des α ou β -glycosidase en modifiant la position de l'azote endocyclique. Cette isomérisation de position explique pourquoi la DNJ est un meilleur inhibiteur d' α -glycosidases que de β -glycosidases (Figure 32).^[120] En effet, la charge positive, dans le cas de la DNJ, est située, par analogie, au niveau de l'oxygène endocyclique et est donc idéalement placée pour une liaison avec un carboxylate situé au niveau de la face supérieure du sucre. L'isofagomine a un profil d'inhibition opposé, expliqué par la position de la charge positive cette fois-ci située au niveau de la position pseudo-anomérique, qui pourra se lier à un carboxylate situé à sa face inférieure (Figure 32). Pour l'azafagomine, chaque azote pourra se lier avec un carboxylate sur sa face inférieure ou supérieure.

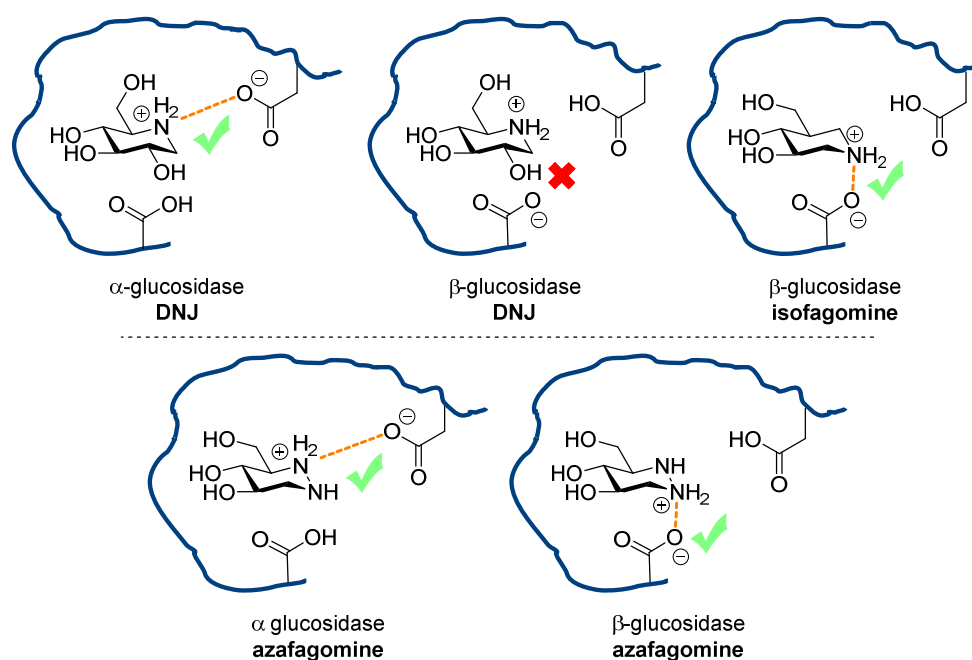


Figure 32 Interactions électrostatiques de la DNJ, de l'isofamine et de l'azafagomine avec des α ou β

Cette différence de spécificité est illustrée par des valeurs de CI_{50} mesurée pour chaque iminosucre sur l' α -glucosidase de levure de bière et la β -glucosidase d'amandes (Tableau 1).

Tableau 1 Valeurs de CI_{50} en μM des iminosucres présents en Figure 17^[120]

Enzyme	DNJ	Isfagomine	Azafagomine
α -glucosidase (levure de bière)	12,6	86	3,9
β -glucosidase (amandes)	47	0,1	0,65

La DNJ va inhiber préférentiellement l' α -glucosidase, l'isofagomine, à l'inverse, sera meilleur inhibiteur de la β -glycosidase. L'azafagomine est un bon inhibiteur d' α et de β -glycosidases avec une sélectivité pour cette dernière (Tableau 1).^[120]

Les iminosucres sont de bons inhibiteurs de glycosidases principalement grâce à la charge positive qui peut être portée par l'atome d'azote. Leur caractère polyol permet leur interaction avec le site actif de l'enzyme *via* des liaisons hydrogène avec d'autres résidus d'acides aminés ou des ions métalliques présents.

Cependant, les iminosucres protonés tels que la DNJ, DMJ, isofagomine ou azafagomine, n'ont pas la même géométrie que l'état de transition oxocarbenium. La modification de ces composés pour se rapprocher au plus près d'un mime l'état de transition permettrait d'obtenir des inhibiteurs plus puissants et plus sélectifs.

c) Critères pour mimer un état de transition

Cinq principaux facteurs sont suggérés comme ayant une contribution particulièrement importante pour donner un caractère d'état de transition à un inhibiteur :^[132,133]

- La distribution de la charge
- Le caractère trigonal du centre (pseudo)anomérique
- Une conformation en demi-chaîne (ou similaire)
- Une configuration relative adaptée des groupements hydroxy
- La capacité de l'hétéroatome anomérique à être protoné

i. Distribution de charge et caractère trigonal de la position pseudo-anomérique

En ce qui concerne la distribution des charges, la position de l'azote dans le cycle va influencer la sélectivité α ou β envers une glycosidase comme nous l'avons vu précédemment ([Chap 1\) II\) 2\) b\)](#)). Un iminosucre chargé positivement aura une meilleure inhibition qu'un substrat neutre. L'inhibiteur idéal doit être facilement protonable par les résidus carboxyliques des glycosidases ou le milieu physiologique.^[120]

Lors de la formation de l'état de transition oxocarbénium, la liaison entre l'oxygène endocyclique et C-1 prend un caractère de double liaison. La position anomérique tend alors à s'aplanir et le carbone a alors un caractère sp^2 . Une interaction charge-dipôle est alors favorisée entre le résidu carboxylate et le carbone anomérique selon un axe *quasi* perpendiculaire au plan formé par l'iminosucre. Dans le cas de l'inhibiteur glucotétrazole, conçu comme mime d'état de transition, on retrouve cette interaction (Figure 33).^[120]

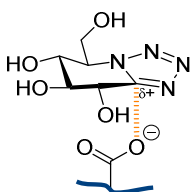


Figure 33 Interaction charge-dipôle avec un glucotetrazole

ii. Conformation de l'iminosucre

Etant données les inhibitions parfois modestes et la mauvaise sélectivité des iminosucre tels que la DNJ ou la DMJ, la conformation semble être un critère important pour la conception d'un inhibiteur puissant et sélectif.

Récemment, les groupes de Cairns, Rovira et Williams ont montré qu'une glycosidase pouvait hydrolyser des glycosides de conformations différentes *via* une suite d'états de transition distincts.^[134] Cette suite d'états de transition correspond à l'itinéraire conformationnel du substrat. Un même substrat sera hydrolysé selon différents itinéraires conformationnels en fonction de la glycosidase impliquée.^[135] Une glycosidase a donc un itinéraire bien défini pour chaque conformation de substrat se liant au site actif.

Les différentes conformations possibles et la possibilité de passer d'une forme à l'autre ont été décrites par Stoddart et Cremer-Pople selon 3 représentations différentes (Figure 34).

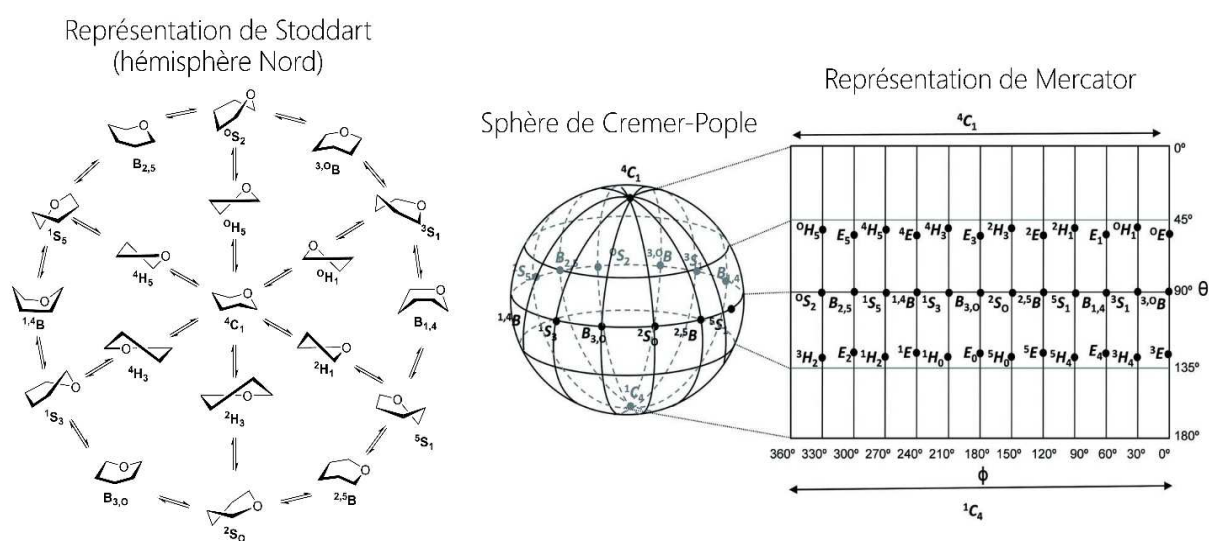


Figure 34 Représentations de Stoddart et Cremer-Pople avec sa projection Mercator illustrant les différentes conformations de pyranose^[136]

La représentation de Stoddart^[137] présente le défaut de ne pas rendre compte de la stabilité des différentes conformations entre elles et de ne pas représenter les conformations « enveloppes ». La représentation de Cremer-Pople^[138] et sa projection Mercator permettent en revanche, après calcul du « paysage énergétique » des différentes conformations, de définir les conformations privilégiées énergétiquement. Seul l'hémisphère nord de la sphère, correspondant au sucre en série D, est représenté (Figure 34) mais l'hémisphère sud existe avec en son centre la conformation 1C_4 .[‡]

Sinnott a été le premier à énoncer que les glycosidases devaient réaliser l'hydrolyse de la liaison glycosidique *via* une des conformations demi-chaise 4H_3 ou 3H_4 ou *via* les enveloppes correspondantes 4E et 3E , ou *via* des conformations ${}^{2,5}B$ ou $B_{2,5}$.^[121] Ces conformations sont celles qui correspondent le mieux à l'intermédiaire oxocarbenium avec C-5, H-5, O-1 et C-2 quasiment coplanaires.

Cette hypothèse est valide pour les α -glycosidases à rétention de configuration dont fait partie l' α -mannosidase de Jack-bean.

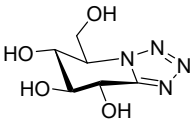
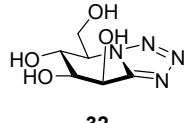
L'itinéraire conformationnel suivi par ces glycosidases est le suivant : ${}^4C_1 \rightarrow {}^4H_3 \rightarrow {}^1S_3 \rightarrow {}^4C_1$. Cet itinéraire est avéré pour les GH 31 α -glycosidases et les GH 27 α -galactosidases.^[116] L'isolement de l'intermédiaire covalent au sein de l' α -mannosidase de l'appareil de golgi (GH 38) en conformation 1S_5 , a permis d'établir l'itinéraire suivant ${}^0S_2 \rightarrow B_{2,5} \rightarrow {}^1S_5$.^[139]

Les hypothèses initiales de Sinnott ont été largement validées par de nombreuses publications.^[140–143] L'itinéraire d'un grand nombre de GH reste encore à découvrir. Il paraît clair, vu la diversité des GH, qu'un inhibiteur universel ne peut exister. L'analyse préalable de la conformation de l'état de transition possible d'une glycosidase permettrait la conception d'un inhibiteur affin et sélectif.

iii. Configuration

La configuration relative des groupements hydroxyles est importante pour la sélectivité de certaines glycosidases. La comparaison des inhibitions des D-*gluco*- et D-*manno*tétrazoles sur un panel d'enzymes commerciales permet d'illustrer cette sélectivité (Tableau 2).^[120]

Tableau 2 Constantes d'inhibition de D-*gluco*- et D-*manno*tétrazole 31 et 32 sur un panel d'enzymes commerciales

	Enzyme	GH	K_i en μM	
			D-Gluco 31	D-Manno 32
 31	α -glucosidase (levure)	13	1 300	100 000
	β -glucosidase (amandes)	1	200	-
	β -glucosidase (<i>Agrobacterium faecalis</i>)	1	1,4	6 000
 32	β -galactosidase (rein de bovin)	35	1,5	14 000
	α -mannosidase (amandes)	38	13 800	700
	β -mannosidase (escargot)	1	47 000	160

Le motif en série D-*gluco* est toujours meilleur inhibiteur envers les glucosidases par rapport au composé D-*manno* et inversement. L'inhibition à 1,5 μM de la β -galactosidase par le motif D-*gluco* est surprenante. Ce résultat peut laisser penser qu'il n'y a pas de sélectivité particulière de la position C-4 pour cette galactosidase. La famille GH 1 a une faible sélectivité D-*gluco*/D-*galacto* tandis que la GH 3

[‡] Nomenclature : si un chiffre est en exposant, cela signifie que le carbone correspondant au chiffre se trouve au-dessus du plan du cycle, à l'inverse, si un chiffre est en indice, le carbone concerné est alors situé en-dessous du plan. Les lettres indiquent la famille à laquelle appartient la conformation : C pour chaise, H pour demi-chaise (half-chair), S pour bateau-croisé (skew-boat), B pour bateau et E pour enveloppe.

montre une forte sélectivité pour les composés en série D-*gluco*.^[144] Les β -galactosidases de la GH 2 sont extrêmement sélectives envers les substrats de conformation D-*galacto*.^[145]

Synthétiser un inhibiteur dans la conformation spécifique à la cible devrait améliorer le pouvoir d'inhibition mais ne mènera pas nécessairement à une bonne sélectivité.

iv. Protonation *syn*/*anti*

Chaque famille de glycosidase a une protonation *syn* ou *anti* définie. Cette protonation intervient sur l'hétéroatome en position glycosidique. La structure de l'iminosucre peut induire une sélectivité entre ces deux types de protonation si l'une est impossible ou défavorisée. Par exemple, le composé *gluco* 1,2,3-triazole n'a pas d'hétéroatome protonable à l'endroit où devrait se situer l'oxygène glycosidique (Figure 35). Cette caractéristique le rend mauvais inhibiteur de la β -glucosidase d'amande avec un K_i supérieur à 8 mM. A l'inverse, le glucoimidazole, dont le doublet de l'azote est parfaitement positionné pour une protonation latérale en *anti*, est un bon inhibiteur avec une inhibition de 0,1 μ M.^[120] La connaissance de l'orientation de la protonation d'une glycosidase est importante pour concevoir un inhibiteur puissant.

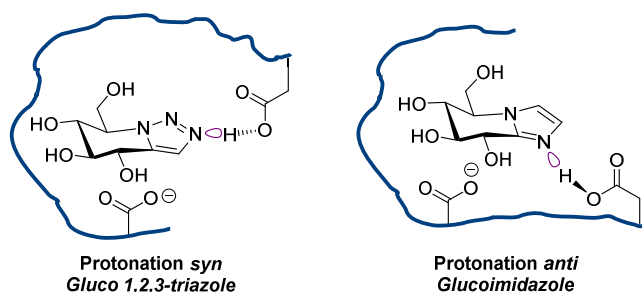


Figure 35 Exemple de sélectivité entre protonation *syn* ou *anti* induite par la structure de l'iminosucre

3) Les glycosidases impliquées dans la maturation des glycoprotéines

La synthèse d'inhibiteurs toujours plus puissants a un intérêt certain en recherche fondamentale. Ces nouveaux inhibiteurs peuvent permettre d'améliorer la compréhension du fonctionnement des glycosidases, en obtenant par exemple des cristaux de complexes enzyme/substrat avec des glycosidases dont l'itinéraire conformationnel n'est pas encore connu.

Les glycosidases jouent un rôle très important chez le vivant puisqu'elles sont impliquées dans de nombreux processus biologiques. Un des buts de la synthèse de leurs inhibiteurs est la conception de nouveaux agents thérapeutiques. Inhiber des glycosidases peut avoir un effet bénéfique sur de nombreuses maladies : maladies lysosomales, diabète, cancers, VIH, ou encore mucoviscidose.

Dans un but de sélection, nous présenterons les glycosidases cellulaires, principalement des glucosidases et mannosidases, ayant des rôles dans la maturation des protéines.^[146] Celles-ci se situent dans le réticulum endoplasmique, dans l'appareil de Golgi ou encore les lysosomes.

a) Coupe d'une cellule eucaryote

Une partie des glucosidases et mannosidases humaines se situent au sein des cellules. Pour mieux visualiser l'agencement des différents composants de la cellule entre eux, ci-après la coupe d'une cellule eucaryote (Figure 36) :

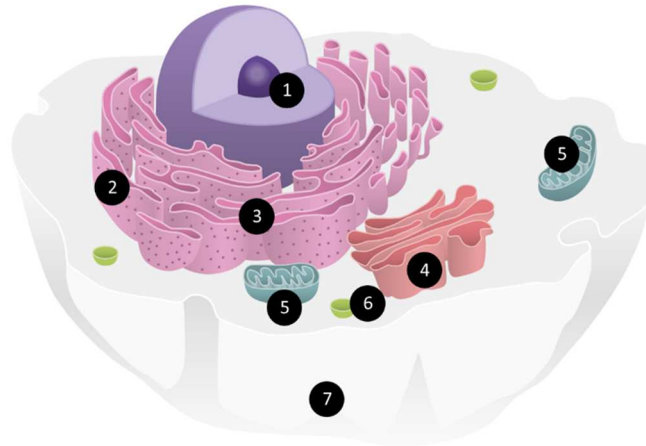


Figure 36 Coupe d'une cellule eucaryote. © Victoria Denys/CEA.fr

- **1 Le noyau** : Contient le matériel génétique
- **2 Les ribosomes** : Assurent la synthèse des protéines en décodant l'ARN messenger issu du noyau
- **3 Réticulum endoplasmique** : Organite lié à la membrane nucléaire où a lieu le début de la synthèse des protéines.
- **4 L'appareil de Golgi** : Lieu de fin de maturation des protéines et régulation du transport vésiculaire
- **5 Mitochondries** : Permet la respiration cellulaire et la production d'énergie
- **6 Les lysosomes** : Organites responsables du recyclage des substances à détruire
- **7 Membrane plasmique** : Délimitation de la cellule contenant le cytoplasme. Le cytoplasme comprend le cytosol, principalement composé d'eau, et des organites cellulaires présents.

b) Réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique est un organite présent uniquement chez les cellules eucaryotes et lié à la membrane du noyau. C'est dans le RE qu'a lieu la biosynthèse des protéines et le contrôle qualité des protéines avant leur transfert, *via* des vésicules, vers l'appareil de Golgi.

Le ribosome traduit l'ARN messenger issu du noyau en chaîne d'acides aminés formant ainsi les protéines. Celles-ci sont ensuite fonctionnalisées par un oligosaccharide $\text{Glu}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ (Figure 37) par liaison du motif N-acétylglucosamine terminal sur un résidu asparagine.

Figure 37 Oligosaccharide greffé sur les protéines naissantes dans le RE

Le résidu N-glycane subit ensuite différentes coupures spécifiques par les glucosidases I et II du RE. Ces hydrolyses permettent à la glycoprotéine d'être reconnue par deux lectines chaperonnes, la calnexine et la calréticuline, qui vont aider à son repliement pour atteindre sa forme tridimensionnelle finale. Des coupures spécifiques par la mannosidase I du RE ont ensuite lieu mais leur rôle a longtemps été controversé. Dans la revue de Ellgaard et Helenius en 2003,^[41] toute coupure par une mannosidase mène à la dégradation de la protéine par le système de dégradation associé au RE (ERAD). Des études

plus récentes en 2005^[147] et 2007^[148] indiquent que, pour être reconnue par le ERAD, la glycoprotéine doit subir plusieurs coupures de résidus mannose. Un article récent spécifie que la coupure du résidu mannose terminal de la branche centrale B (Figure 37), est un signal de sécrétion vers l'appareil de Golgi, tandis que la coupure d'un résidu mannose sur la branche A ou C est un signal vers la dégradation de la protéine.^[149,150] La localisation de la mannosidase I du RE est controversée car supposée se situant au niveau de l'appareil de Golgi^[151] ou encore dans les vésicules de contrôle-qualité.^[152] Le fonctionnement détaillé du contrôle-qualité du RE (ERQC) et du système de dégradation associé au RE (ERAD) seront développés dans la partie suivante dans le cadre de la mucoviscidose (Chap1) III) 5) d)).

L' α -glucosidase I du RE appartient à la famille GH 63 et au clan GH-G.^[153] L' α glucosidase II du RE appartient à la famille GH 31^[154] tandis que l' α -mannosidase I du RE appartient à la famille GH 47.

c) Appareil de Golgi

Lieu de synthèse des glycoprotéines et des sphingolipides chez les eucaryotes, l'appareil de Golgi régule le transport vésiculaire.

L'endo α -mannosidase de l'appareil de Golgi est la seule enzyme impliquée dans la maturation des protéines qui effectue une coupure interne à l'oligosaccharide initialement greffé à la protéine naissante (Figure 37). Elle est capable de couper la liaison entre deux résidus mannoses menant à la formation directe de la glycoprotéine $\text{Man}_8\text{GlcNAc}_2$ à partir d'une glycoprotéine $\text{Glu}_{1-3}\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$. Cette mannosidase appartient à la famille GH 99.^[155]

Les α -mannosidases IA et IB de l'appareil de Golgi ont pour rôle d'hydrolyser les résidus mannoses nécessaires à la maturation des protéines provenant du RE. L' α -mannosidase IA coupe préférentiellement le résidu mannose central de la glycoprotéine $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ sur la branche B. Les résidus mannoses terminaux de la branche A, portant initialement les résidus glucoses, et de la branche C sont clivés par l' α -mannosidase IB, menant à un mélange. Les α -mannosidases I de l'appareil de Golgi appartiennent à la famille GH 47.

L' α -mannosidase II de l'appareil de golgi appartient à la famille GH 38. Elle intervient après le greffage d'un motif GlcNAc par la GlcNAc transférase I sur la glycoprotéine $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$. La coupure s'effectue alors sur une glycoprotéine de type $\text{GlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2$.^[155] Comme décrit précédemment (Chap 1) I) 5) d)), cibler cette dernière permet de bloquer la croissance de cellules cancéreuses et leur métastase. Des résultats prometteurs ont déjà été obtenus avec la swainsonine^[106] ou encore les composés nonavalents à motif DAB-1.^[51]

d) Lysosome

Les lysosomes sont de petits organites cellulaires responsables de la digestion intra-cellulaire. Ils permettent de nettoyer le cytosol des déchets inutiles à la cellule et pouvant causer des effets néfastes en cas d'accumulation.

L' α -D-glucosidase du lysosome appartient à la famille GH 31.^[156] Elle a pour rôle de dégrader le glycogène, un polymère composé de glucose, en résidus glucoses assimilables par le corps. La mutation du gène codant pour cette protéine provoque un manque d' α -D-glucosidase lysosomale qui se caractérise par une accumulation de glycogène dans les lysosomes. Ce dysfonctionnement est à l'origine de la maladie de Pompe.^[156] Des études sont réalisées pour synthétiser des chaperons pharmacologiques restaurant l'activité de la glycosidase et de bons effets ont été observés grâce à des dérivés de la DNJ.^[157]

L' α -mannosidase du lysosome appartient à la famille GH 38.^[158] Elle hydrolyse les résidus mannoses lors du catabolisme des glycoprotéines. Un manque de cette enzyme cause l'accumulation d'oligosaccharides possédant un large nombre de résidus mannose causant la formation de vacuoles et aboutissant à une α -mannosidose, une maladie génétique pouvant s'avérer létale.

La β -mannosidase lysosomale appartient à la famille GH 2.^[156] Elle a pour rôle de cliver la liaison glycosidique β entre un résidu mannose et un résidu N-acétylglucosamine, présent dans toutes les N-

glycoprotéines. La déficience de cette glycosidase cause la β -mannosidose, une maladie peu répandue dont les symptômes ne sont pas encore parfaitement établis.^[159]

D'autres glucosidases et mannosidases sont bien sûr présentes dans le corps humain. On peut par exemple citer les glucosidases intestinales, appartenant à la famille GH 31,^[154] qui ont été ciblées pour la mise en place d'un traitement contre le diabète et qui a permis la mise sur le marché du médicament Diastabol® (Miglitol) (Figure 38).

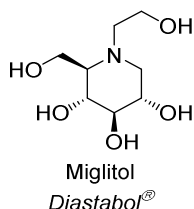


Figure 38 Structure du miglitol

Des mannosidases sont également présentes dans le cytosol^[155] ou encore dans le cristallin de l'œil.^[160]

Pour des raisons de coûts et d'éthique, les inhibiteurs synthétisés sont testés sur des enzymes commerciales avant d'être testés sur des cellules humaines. Le parallèle entre enzyme commerciale et enzyme humaine peut se faire en fonction des familles GH. Des enzymes appartenant à la même famille, selon le classement CAZy, partagent des séquences d'acides aminés similaires pouvant mener à un comportement comparable face à un substrat donné. Cette hypothèse est une base de travail même si l'expérience montre parfois des différences de sélectivité au sein d'une même famille (GM et LM de la famille GH 38 pour les traitements anti-cancéreux).^[51]

La conception de nouveaux inhibiteurs puissants peut se baser sur les critères énoncés précédemment (Chap1 II) 2) c)) pour espérer atteindre un pouvoir d'inhibition et une sélectivité élevée. Des tests réalisés sur des enzymes commerciales appartenant à la même famille de GH que l'enzyme d'intérêt ciblée permettent de juger l'efficacité de molécules avant des tests additionnels sur des cellules animales ou humaines.

4) Inhibiteurs puissants de mannosidases

Avec pour objectif notre étude modèle, la recherche d'inhibiteurs puissants de mannosidases s'est concentrée sur l'inhibition de l' α -mannosidase de Jack-bean, appartenant à la famille GH 38. Nous avons réalisé une sélection des meilleurs inhibiteurs décrits dans la littérature à notre connaissance. Par soucis de comparaison, seuls les K_i seront mentionnés. Les inhibitions des dérivés DMJ et DNJ seront indiqués au titre de référence.

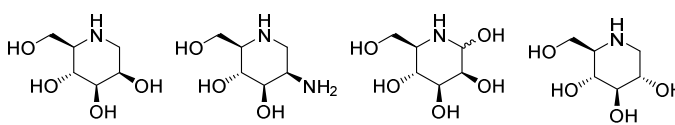
Notre point de départ a été le travail colossal réalisé par Ekhardt, Fechter, Hadwiger, Mlaker, Stütz, Tauss et Wrodnigg, publié en 1999, regroupant 400 inhibiteurs de glycosidases décrits dans la littérature ainsi que les résultats d'inhibition sur toutes les enzymes commerciales testées. Ces tables clôturent l'ouvrage « Iminosugars as Glycosidase Inhibitors ». ^[161] Le but de ma thèse étant de synthétiser des composés multivalents, la sélection d'un inhibiteur puissant se fera également grâce à l'identification d'un point d'attache aisé pour la fixation d'un espaceur. Ci-après sont référencés, par taille et structure de cycle, les iminosucres ayant une inhibition inférieure à 10 μ M envers l' α -mannosidase de Jack-bean. Tous les K_i référencés dans les tableaux suivants (Tableau 4 à Tableau 9) sont indiqués en μ M.

a) DNJ, DMJ et pipéridines

Les valeurs des constantes d'inhibition de la DNJ, DMJ et de deux analogues sont décrites ci-dessous ([Tableau 3](#)) :

Tableau 3 DNJ, DMJ et analogues (K_i en μM)

Cycles à 6

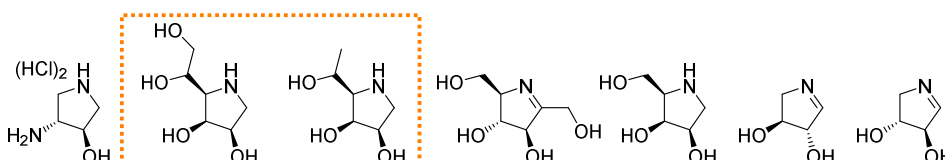


Enzyme	DMJ	52	53	DNJ
α -mannosidase (Jack-Bean)	600	20	1,2	1 000

Les constantes d'inhibition de la DMJ et de la DNJ sont respectivement au minimum 60 à 100 fois supérieures par rapport aux iminosucres référencés dans les différents tableaux, ci-après.

b) Dérivés de pyrrolidines

Plusieurs iminosucres de type pyrrolidines avec une inhibition inférieure à 10 μM ont été décrits dans la littérature.^[161,162] Si l'on compare les pyrrolidines **34** et **35**, il semble que la présence de l'alcool primaire en position 6 n'ait pas d'influence sur le pouvoir d'inhibition du composé puisque l'équivalent désoxy **35** a une inhibition légèrement meilleure ([Tableau 4](#)). Il est donc envisageable de fonctionnaliser cet alcool dans le but d'y insérer un espaceur possédant un groupement azoture terminal disponible pour une CuAAC. Les composés **36**, **38** et **39**, possédant une insaturation endocyclique et donnant un caractère sp^2 à la position pseudo-anomérique, n'ont pas une différence d'inhibition notable avec le composé **37**, et ne sont pas meilleurs inhibiteurs que **34** et **35** ([Tableau 4](#)).^[163] Le caractère sp^2 de la position anomérique n'améliore pas le pouvoir d'inhibition envers l' α -mannosidase de Jack-bean dans le cas d'iminosucres à motif pyrrolidine.

Tableau 4 K_i d'iminosucres de type pyrrolidine en μM


Enzyme	33	34	35	36	37	38	39
α -mannosidase (Jack-bean)	40 $\pm$ 10	0,76	0,5	17 $\pm$ 1	7	2	5

Des recherches approfondies ont été réalisées sur ces dérivés de pyrrolidines utilisés comme agents anti-cancéreux. Ils montrent, pour certains, des constantes d'inhibitions de quelques centaines de nanomolaires envers l' α -mannosidase de Jack-bean ([Tableau 5](#)).^[164–166] Le dérivé méthylé **42** est 20 fois meilleur en tant qu'inhibiteur que son analogue hydrogéné **41** ([Tableau 5](#)). L'alkylation de l'azote du lactame semble donc bénéfique sur le pouvoir d'inhibition. Si l'on compare maintenant **40** et **41**, passer d'une fonction amide à une fonction amine améliore le pouvoir d'inhibition d'un facteur 30 ([Tableau 5](#)). On peut alors supposer que la *N*-alkylation du composé **40** pourrait mener à une baisse de la constante d'inhibition. Le point d'ancrage du bras espaceur pour la synthèse de composés multivalents pourrait donc être l'azote endocyclique. Le composé **40** est le meilleur candidat retenu pour la famille des pyrrolidines.

Tableau 5 Dérivés de pyrrolidines anti-cancéreux (K_i en μM)

2008, <i>Bioorg. Med. Chem</i>				
Enzyme		40	41	42
α -mannosidase (Jack-bean)		0,135	4	0,206

2005, <i>J. Med. Chem</i>						
Enzyme		43	44	45	46	47
α -mannosidase (Jack-bean)		7,4	2,3	1,2	1,35	7

2003, <i>Helv. Chim. Act.</i>			
Enzyme		48	49
α -mannosidase (Jack-bean)		2,5	3,5

c) Les bicycles

En ce qui concerne la swainsonine et ses dérivés (Tableau 6), leur synthèse longue de plus de dix étapes^[167,168] est un réel frein vers la synthèse de composés multivalents. Leur fonctionnalisation semble en revanche possible, grâce à la présence de groupements hydroxyles disponibles et n'ayant pas une influence bénéfique sur le pouvoir d'inhibition (composés **50** et **51** comparés à la swainsonine).

Tableau 6 Swainsonine et dérivés (K_i en μM)

Bicycles				
Enzyme		50	51	Swainsonine
α -mannosidase (Jack-Bean)		0,8	0,5	0,155

d) Les glyconoamidines

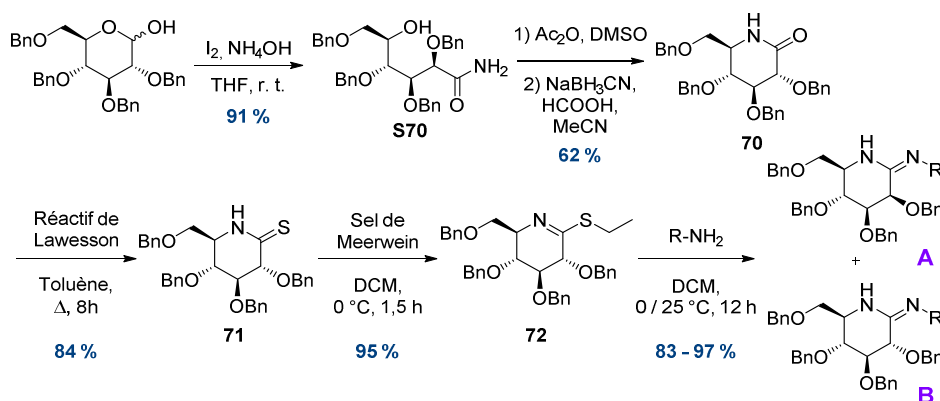
Pour le cas des glyconoamidines (Tableau 7), les composés **58** et **59** possèdent, respectivement, un groupement amidrazone et amidoxime, pouvant être fonctionnalisés. La comparaison avec le dérivé *N*-benzylé **57** montre que la présence d'hydrogène en position α de l'hétéroatome glycosidique semble améliorer le pouvoir d'inhibition en série *D-manno*. Il serait donc préférable d'effectuer la synthèse de composés multivalents à partir de l'iminosucre **58** qui, même après fonctionnalisation, conserverait un hydrogène disponible pour des liaisons faibles avec le site actif.

Les glyconoamidines sont d'excellents inhibiteurs de l' α -mannosidase de Jack-bean avec une inhibition de seulement 6 nM pour la mannoamidine **67** (Tableau 7).^[169] C'est la meilleure inhibition envers une α -mannosidase référencée à ce jour pour un inhibiteur non multivalent. Il est à noter une amélioration du pouvoir d'inhibition par un facteur 10 entre la série *D-gluco* (**61**, **62** et **63**) et la série *D-manno* (**67**, **68** et **69**). Les composés type amidine bicycliques, **65a** et **65b**, sont les seuls à présenter une sélectivité entre α et β mannosidases.

Tableau 7 Les glyconoamidines, d'excellents inhibiteurs de l' α -mannosidase de Jack-bean (K_i en μM)

Cycles à 6 Type amidine						
Enzyme	54	55	56	57	58	59
α -mannosidase (Jack-bean)	9 $\pm$ 1	3,1	12	0,55	0,17 $\pm$ 0.02	0,15
Série D-gluco						
Enzyme	60	61 n = 2	62 n = 3	63 n = 4	64a	65a
α -mannosidase (Jack-bean)	2,3	0,06	0,09	0,12	1,7	8,8
Série D-manno						
Enzyme	66	67 n = 2	68 n = 3	69 n = 4	64b	65b
α -mannosidase (Jack-bean)	0,11	0,006	0,019	0,012	0,08	6,0

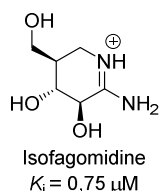
La mannoamidine **67** est obtenue en 4 étapes à partir du tétra-*O*-benzyl-D-glucono- δ -lactame (**70**) après débenzylation des glyconoamidines **A** et **B** par hydrogénation catalytique (Schéma 7). Ce δ -lactame, dont la synthèse est bien maîtrisée au laboratoire, est classiquement obtenu en 3 étapes à partir du tétra-*O*-benzyl-D-glucopyranose commercial à une échelle de la dizaine de grammes avec un rendement global de 56 %.^[39,170]

Schéma 7 Synthèse de glyconoamidines à partir du D-glucono- δ -lactame **38**^[169]

La possibilité de faire varier le groupement R au moment de l'ajout de l'amine sur le thioéther intermédiaire **72** permet d'envisager l'introduction de divers espaces pour parvenir à la réalisation de composés multivalents.

De plus, grâce à la réaction d'épimérisation ayant lieu lors de l'ajout de l'amine, la synthèse est stéréodivergente. Il est donc possible de réaliser des composés multivalents en série *D-gluco* et *D-manno*.

L'isofagomidine a également une constante d'inhibition inférieure au micromolaire (Figure 39)^[171] mais a un pouvoir inhibiteur entre 50 à 100 fois moins important que les mannoamidines.

Figure 39 Inhibition de l'isofagomidine envers l' α -mannosidase de Jack-bean

e) Les glycoimidazoles

Une autre famille possédant des constantes d'inhibition remarquables est décrite dans la littérature, la famille des glycoimidazoles. L'intérêt général pour la synthèse de ces iminosucres à structure bicyclique originale a été déclenché par l'isolement en 1992, après fermentation de *Streptomyces*,^[23] d'un iminosucre naturel représentant la famille des glycoimidazoles : la nagstatine (Figure 40). Cette molécule possède une excellente inhibition envers la *N*-acetyl- β -D-glucosaminidase avec un K_i de 17 nM.^[172,173]

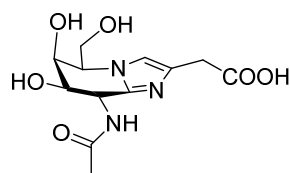


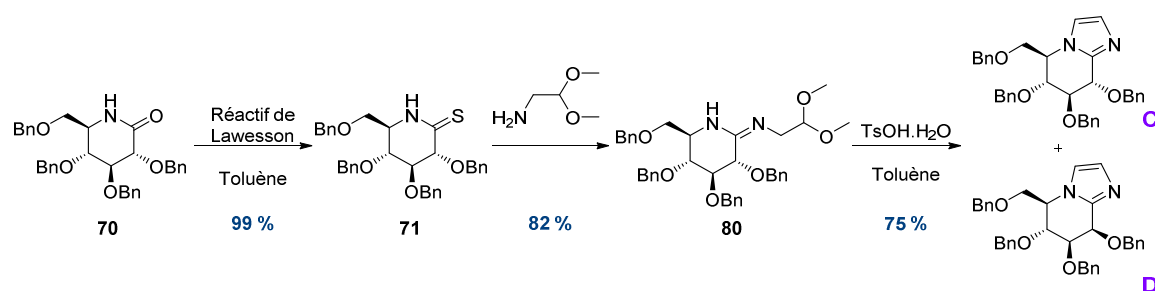
Figure 40 Structure de la nagstatine

En s'appuyant sur sa structure, les chimistes, et plus particulièrement le groupe de Vasella, se sont intéressés à la préparation d'iminosucres similaires en série *D-manno* pour cibler les mannosidases et *D-gluco* pour les glucosidases. Les glycoimidazoles font parties des meilleurs inhibiteurs de β -glucosidases identifiées à ce jour,^[174] avec des constantes d'inhibition allant jusqu'à 0,11 nM.^[175] En série *D-manno*, les tests d'inhibition sur l' α -mannosidase de Jack-bean montrent des inhibitions sub-micromolaires (Tableau 8). Le remplacement du groupement hydroxyle en position C-2 par une amine diminue le pouvoir d'inhibition d'un facteur 2 (composé **74**).^[176] Il est difficile de conclure quant à l'effet sur l'inhibition de la présence d'un ester ou d'un acide en position terminale de la chaîne greffée au cycle de l'imidazole, puisque qu'à partir de 2 carbones de distance entre le noyau aromatique et la fonction ester ou acide, les constantes d'inhibition sont équivalentes.^[177] De plus, les composés **78** et **79** atteignent une valeur de constante d'inhibition égale à celle du mannoimidazole « nu » (**73**).^[178]

Tableau 8 Mannoimidazole référence et mannoimidazoles avec fonction acide ou ester (K_i en μM)

Enzyme	Mannoimidazole de référence			Mannoimidazoles avec fonction acide		Mannoimidazoles avec fonction ester	
	73	74	75	76 R = Me	77 R = H	78 R = Me	79 R = H
α -mannosidase (Jack-Bean)	0,6	1,22	1,33	0,91	1,85	0,60	0,78

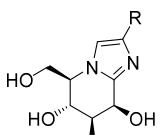
Tout comme les glyconoamidines, les glycoimidazoles sont obtenus en 4 étapes à partir du D-glucono- δ -lactame **70** après débenzylation par hydrogénation catalytique des gluco- et mannoimidazoles **C** et **D** (Schéma 8). La synthèse est stéréodivergente et permet d'envisager la synthèse de composés multivalents en série *D-gluco* et *D-manno*.

Schéma 8 Synthèse des glycoimidazoles^[179]

L'utilisation de mannoimidazole pour la synthèse de composés multivalents est envisageable grâce à la fonctionnalisation possible du cycle imidazole. L'influence de différents groupements a été testée en 2003 par Vasella et Terinek sur les mannoimidazoles (Tableau 9).^[180]

La présence d'un groupement aromatique semble améliorer le pouvoir d'inhibition de l'iminosucre (comparaison de **81** avec **84**, **85** et **86**), mais la rigidité imposée par une triple liaison est défavorable (composé **83**). Les meilleures inhibitions sont observées avec les composés **90** et **91** possédant respectivement un groupement nitro en position *para* ou un phényle lié à une amine secondaire (Tableau 9).

Tableau 9 Inhibition envers l' α -mannosidase de Jack-bean de mannoimidazoles (K_i en μM)

						
Enzyme	81 R = CH ₂ OH	82 R = I	83 R = C $\equiv$ CPh	84 R = CH ₂ OPh	85 R = (CH ₂) ₂ Ph	86 R = CH=CHPh
α -mannosidase (Jack-bean)	3,78	3,5	2,41	0,273	0,23	0,15
Enzyme	87 R = CHN ₃	88 R = CH ₂ OC ₆ H ₄ (3-NO ₂)	89 R = CH ₂ OC ₆ H ₄ (2-NO ₂)	90 R = CH ₂ OC ₆ H ₄ (4-NO ₂)	91 R = CH ₂ NHPh	
α -mannosidase (Jack-bean)	0,78	0,125	0,094	0,041	0,068	

En complément de ces exemples, une revue récente fait le bilan des différents inhibiteurs de glycosidases n'appartenant pas à la famille des iminosucres.^[181] A titre de comparaison, la meilleure constante d'inhibition mesurée à ce jour pour un iminosucre est de 0,64 pM envers une α -fucosidase.^[182]

Notre choix d'un inhibiteur puissant envers les mannosidases, pour la synthèse de composés multivalents, s'est tourné vers les familles des mannoamidines et des mannoimidazoles. La première est notre priorité puisqu'elle montre la meilleure inhibition à ce jour envers l' α -mannosidase de Jack-bean. Les deux voies de synthèse de ces composés sont très proches et partagent le même intermédiaire commun avancé, le thioamide **71**, accessible en une étape à partir du D-glucono- δ -lactame **70**, obtenu à l'échelle du gramme au laboratoire.^[39] De plus, ces deux synthèses sont stéréodivergentes et permettent la préparation d'iminosucres en série D-*gluco* et D-*manno*, ouvrant la possibilité à des tests d'inhibition de nos composés sur diverses cibles.

Afin d'introduire un bras espaceur, les glyconoamidines pourront être fonctionnalisées lors de la réaction de formation de la fonction amidine par ajout d'une amine, préalablement modifiée. Les glycoimidazoles pourront être fonctionnalisés par couplage, faisant intervenir la réactivité du noyau aromatique imidazole. Ces deux structures ont également l'avantage de présenter de nombreux critères de mimes d'état de transition, en témoignent les nombreuses études réalisées sur des motifs glycoimidazole, dans le but de comprendre le mécanisme d'inhibition de certaines enzymes.^[119,133,134,174]

Nous avons ainsi défini un inhitope présentant un K_i de l'ordre du nanomolaire pour la synthèse d'une nouvelle famille de composés multivalents. Leur rôle sera de répondre aux questions de recherche déjà énoncées : qu'advierait-il de l'inhibition relative par iminosucre si les composés multivalents étaient porteurs de ligands très affins de la cible visée ? L'effet multivalent serait-il conservé, amélioré ou au contraire réduit ?

Pour répondre à ces questions les composés multivalents synthétisés seront testés sur l'inhibition de l' α -mannosidase de Jack-bean. Ils seront également testés sur un cas d'intérêt thérapeutique : le défaut de repliement d'une protéine causant la mucoviscidose. La découverte, l'explication des symptômes et des traitements existants et à venir pour cette maladie font l'objet de la partie suivante. La mutation la plus répandue, sa cause fondamentale, ainsi que les cibles pouvant être visées par des inhibiteurs seront détaillés. Les premiers résultats obtenus sur cette maladie, déjà brièvement mentionnés auparavant ([Chap 1 I\) 5\) b\)](#)), seront développés.

III) La mucoviscidose

1) Découverte et élucidation de l'origine de la maladie

a) Historique

La mucoviscidose, ou cystic fibrosis (CF) en anglais, a été reconnue comme maladie génétique mortelle depuis les années 1930 grâce au travail de pionniers tels que Fanconi (1936),^[183] Andersen (1938)^[184] et Blackfan et May (1938).^[185] C'est une maladie autosomique récessive, deux allèles mutants doivent être portés par les chromosomes (non sexuels) d'une même paire pour que la maladie s'exprime. Deux parents porteurs sains, ne possédant qu'un allèle mutant, peuvent donner naissance à un enfant malade. Dans le cas de la CF, c'est un segment du chromosome 7 contenant le gène CFTR codant pour la protéine du même nom qui est touché par une mutation.^[186] L'identification de ce gène CFTR mutant comme cause de la maladie a été réalisée en 1989 par le Dr. Tsui.^[187]

b) La protéine CFTR

La protéine CFTR est un polypeptide de 1480 acides aminés et dont la masse molaire est d'environ 180 kDa lorsque celle-ci est entièrement glycosylée.^[188] La protéine CFTR est une protéine transmembranaire multi-domaines contenant deux domaines pouvant lier des nucléotides (NBDs Nucleotide Binding Domain 1 et 2), deux régions transmembranaires (TMD1 et 2) et un domaine de régulation hautement chargé (R) (Figure 41).

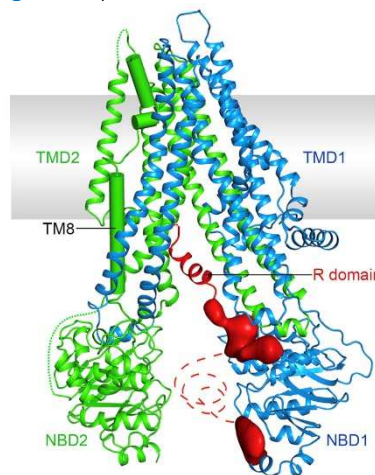


Figure 41 Dessin représentant la structure de la protéine CFTR^[189]

Elle appartient à la famille des « ATP binding cassette » (ABC) et est donc ATP dépendante. L'adénosine triphosphate (ATP) est le nucléotide représentant la source d'énergie nécessaire aux réactions biochimiques se déroulant chez les êtres vivants. Cette énergie est libérée par hydrolyse de l'ATP menant à de l'adénosine diphosphate et un résidu phosphate. L'ouverture du canal a lieu, uniquement après phosphorylation du domaine R par la protéine kinase A, lorsqu'un premier ATP se lie au NBD1. Cette ATP est ensuite hydrolysée lorsque qu'un second ATP se lie au NBD2, l'état le plus actif du canal est atteint. La seconde molécule d'ATP est ensuite hydrolysée menant à la fermeture du canal.^[188]

La protéine CFTR est une protéine possédant de multiples fonctions dans la circulation des électrolytes et le transport transépithélial. Elle a un rôle de canal ionique et permet le transport actif d'ions chlorures au travers de la membrane apicale des cellules épithéliales.^[190] Elle régule également l'absorption d'ions sodiums en contrôlant l'activité du canal sodique épithélial (ENaC).^[191]

Sa structure tridimensionnelle a été établie par cryo-microscopie électronique (Figure 41). Les structures 3D de la protéine naturelle ouverte ou fermée ainsi que son analogue mutante devrait apporter des éléments importants dans l'identification de cibles potentielles pour le design de

composés actifs.^[192] Les structures aux rayons-X des protéines mutantes et naturelles montrent de nombreuses similitudes.^[193]

c) Origine de la maladie

Les formes les plus graves de la mucoviscidose sont liées à la *quasi* absence ou l'absence totale de protéine CFTR à la membrane plasmique. Si le gène CFTR est muté, la protéine CFTR a un mauvais repliement lors de sa biosynthèse et sera reconnue comme déficiente par le système contrôle-qualité du réticulum endoplasmique (ERQC). Ce système s'assure que seules les protéines bien repliées continuent leur biosynthèse vers l'appareil de Golgi pour atteindre ensuite leur destination finale. La protéine mutante, même fonctionnelle, sera alors détruite prématurément.^[194]

L'absence de protéine CFTR active à la surface des cellules épithéliales induit une augmentation de la concentration en ions chlorure dans le milieu intracellulaire. Cette différence de concentrations entre le milieu extra et le milieu intracellulaire va provoquer un phénomène d'osmose asséchant ainsi la paroi externe de la membrane plasmique. Cet assèchement provoque une augmentation de la viscosité du mucus, son épaissement et l'impossibilité pour les stéréocils de disperser les substances sécrétées par la cellule et d'effectuer la clairance des sécrétions.

2) Symptômes et complications

En 2017, l'espérance de vie des patients était d'environ 38 ans, en 2000 elle était de 31 ans^[195] et seulement de 10 ans en 1962.

La mucoviscidose atteint les poumons, l'intestin, le foie, le pancréas et quelques glandes exocrines. Une sueur à fort taux de chlorure, une insuffisance touchant les glandes exocrines du pancréas, des inflammations et infections chroniques des voies respiratoires supérieures sont des caractéristiques communes de cette maladie.^[196] Cette sueur au goût très salé a été l'un des premiers indicateurs de cette maladie et ce dès le XVII^{ème} siècle.^[197] La mesure de la concentration en électrolytes contenus dans la sueur, appelé test de la sueur, permet de diagnostiquer la maladie et est utilisée encore aujourd'hui comme l'un des tests les plus fiables de dépistage avec l'analyse génétique.^[198]

Lorsque la protéine CFTR est absente ou son activité sévèrement réduite, les sécrétions pulmonaires, gastro-intestinales et du système reproducteur sont déshydratées et donc visqueuses. Près de 98 % des patients masculins sont infertiles.^[194] Les femmes ont une fertilité normale, mais certaines ne peuvent supporter une grossesse sans atteintes graves à leur santé.

Des troubles de la respiration, dus au mucus formé dans les bronches, sont systématiquement observés. L'expectoration de ce mucus grâce au tapis muco-ciliaire est observée quotidiennement chez près de la moitié des patients adultes.^[199] L'hémoptysie, rejet de sang lors de toux, est très commune chez les patients et s'accompagnent souvent de douleurs thoraciques. Cette insuffisance respiratoire peut rendre le patient totalement inapte à l'effort, le forçant ainsi à être dépendant d'une source d'oxygène externe.^[195] La cause principale des décès vient d'infections bactériennes pouvant se développer dans le mucus présent dans les poumons.^[194,195]

L'hippocratisme digital, doigts gonflés et ongles courbés vers la face palmaire, est également un phénotype commun. Près de 50 % des patients atteints de la CF souffrent de cirrhose et 25 % des patients âgés de plus de 30 ans souffrent également de diabète.^[195]

Le système digestif est également touché. Les complications gastro-intestinales peuvent aller de la pancréatite à l'ulcère gastro-duodéal en passant par l'intussusception, l'entrée d'une portion d'intestin dans un autre.^[195] Une insuffisance pancréatique qui induit une malabsorption des nutriments est très souvent observée. Cette malabsorption concerne les protéines, le calcium ou encore la vitamine D menant à un fort risque d'ostéoporose et à des carences sévères, s'accompagnant de perte de poids.

Au niveau des glandes sudoripares, la protéine CFTR a un rôle différent. Elle permet l'absorption des ions Cl^- , Na^+ et de l'eau limitant la sudation. Son absence à la surface des cellules épithéliales est responsable du taux élevé de chlorure dans la sueur, lui conférant un goût très salé, et provoque des risques de déshydratation chez les patients.^[197]

Un déséquilibre des électrolytes dans le sang provoque une déshydratation, une augmentation du rythme cardiaque, de la fatigue, une grande faiblesse et une faible pression sanguine.

3) Répartition géographique

La mucoviscidose est plus répandue dans la population caucasienne à l'échelle mondiale, par rapport aux autres populations. En effet, une étude effectuée en 1997 sur la population américaine a montré une incidence de la mucoviscidose approximativement de 1 naissance sur 3 200 pour les enfants caucasiens contre 1 naissance sur 90 000 pour les enfants asiatiques.^[200] Les manifestations cliniques sont identiques entre les différents groupes ethniques.

Si l'on se concentre sur la répartition géographique de la mucoviscidose en Europe, on peut très nettement observer la présence d'un foyer dont la prévalence est élevée, en Irlande et en Grande-Bretagne, avec une prévalence de 2,98 et 1,37 / 10 000 naissances respectivement (Tableau 10). A l'inverse, les plus faibles prévalences sont observées en Finlande et en Lettonie, 0,123 et 0,104 respectivement, avec environ 1 naissance sur 25 000.

Tableau 10 Prévalence de la mucoviscidose relevée en 2004 dans différents pays européens^[201]

	Population en 2004 (en milliers)	Nombre de patients (CF)	Prévalence (/10 000)	Incidence estimée
France	60 424	4 533	0,750	1: 4 700
Irlande	3 970	1 182	2,98	1: 1 353
Allemagne	82 425	6 835	0,829	1: 3 330
Finlande	5 215	64	0,123	1: 25 000
Belgique	10 348	1 065	1,03	1: 2 850
Grande-Bretagne	60 271	8 284	1,37	1: 2 381
Lettonie	2 306	24	0,104	
Italie	58 057	5 064	0,872	1: 4 238

4) La mutation ΔF508

a) Les classes de mutation

Approximativement 2 000 mutations ont été identifiées dans le gène CFTR, mais beaucoup sont très rares et toutes ne mènent pas à l'observation de manifestations cliniques.^[202]

Ces mutations ont été regroupées en classes selon le degré d'atteinte de la mutation sur la quantité, le transport ou la fonction de la protéine CFTR.^[188,191] Pour chaque classe, un exemple de mutation a été précisé entre parenthèses.

- **Classe I** : Absence complète de la protéine CFTR due à un défaut de production (ex : G542X)
- **Classe II** : Défaut de repliement et de transport de la protéine CFTR ainsi qu'une perte d'activité partielle ou totale de la protéine mutante (ex : ΔF508)

- **Classe III** : Absence de courant chlorure au travers de la protéine CFTR ou probabilité d'ouverture très faible (ex : G551D)
- **Classe IV** : Réduction de la conductance en ions chlorures (ex : R117H)
- **Classe V** : Réduction de la production de la protéine CFTR mais une activité de canal chlorure similaire à la protéine naturelle (ex : 3849+10kbC<T)
- **Classe VI** : Altère la stabilité de la protéine CFTR à la membrane en accélérant le recyclage des protéines.

Les classes I, II et III sont les mutations engendrant les symptômes les plus sévères.

b) La mutation $\Delta F508$

La mutation la plus fréquente dans la population caucasienne est la mutation $\Delta F508$. Elle appartient aux classes II et III ([Chap1. III\) 4\) a\)](#)) et correspond à la délétion d'une phénylalanine en position 508 de la protéine CFTR. Elle a deux conséquences majeures : un repliement et un transport anormal de la protéine CFTR qui limite son insertion dans la membrane cellulaire et un mauvais fonctionnement du canal chlorure.^[203]

Cette mutation est retrouvée dans plus de 70 % des allèles correspondants à la CF.^[188] Seulement 1% des protéines mutantes atteignent la membrane plasmique sans être dégradées dans le RE.^[204] Les protéines CFTR atteignant la membrane plasmique ont une stabilité réduite^[205] et une efficacité en tant que canal chlorure amoindrie.^[203] Une fois adressée à la membrane, le temps de demi-vie de la protéine naturelle est de 24h contre seulement 4h dans le cas de la protéine mutante.^[206] L'observation de protéines CFTR présentes à la membrane plasmique *in vivo*,^[207] même avec une activité réduite, laisse espérer des possibilités d'amélioration de son activité ou encore d'augmenter le nombre de protéines atteignant la membrane.

c) Maturation des protéines dans le RE

La synthèse des glycoprotéines débute dans le réticulum endoplasmique avec le transfert d'un oligosaccharide ($\text{Glu}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$), préalablement formé, sur un résidu Asn de la chaîne polypeptidique constituant la protéine nouvellement bio-synthétisée par le ribosome ([Schéma 9 - Etape 1](#)).^[208] Cette coiffe glucidique augmente la solubilité des protéines non encore repliées et facilite donc leur maturation. La première étape de développement consiste en la coupure du résidu glucose terminal par l' α -glucosidase I du RE ([Schéma 9 – Etape 2](#)). Le second résidu glucose est ensuite coupé grâce à l' α -glucosidase II du RE ([Schéma 9 – Etape 3](#)). La glucosidase I est liée à la membrane plasmique tandis que la glucosidase II est soluble dans le lumen du RE.^[155] La glycoprotéine avec un résidu glucose terminal peut alors entrer dans le cycle Calnexine/Calréticuline, deux lectines chaperonnes favorisant le repliement de la glycoprotéine. La calnexine est transmembranaire tandis que son homologue, la calréticuline, est soluble dans le lumen du RE. Pendant ce cycle le dernier résidu glucose est hydrolysé par l' α -glucosidase II.^[209] Ce clivage est responsable de la dissociation entre la glycoprotéine et la calnexine/calréticuline ([Schéma 9 - Etape 4](#)).

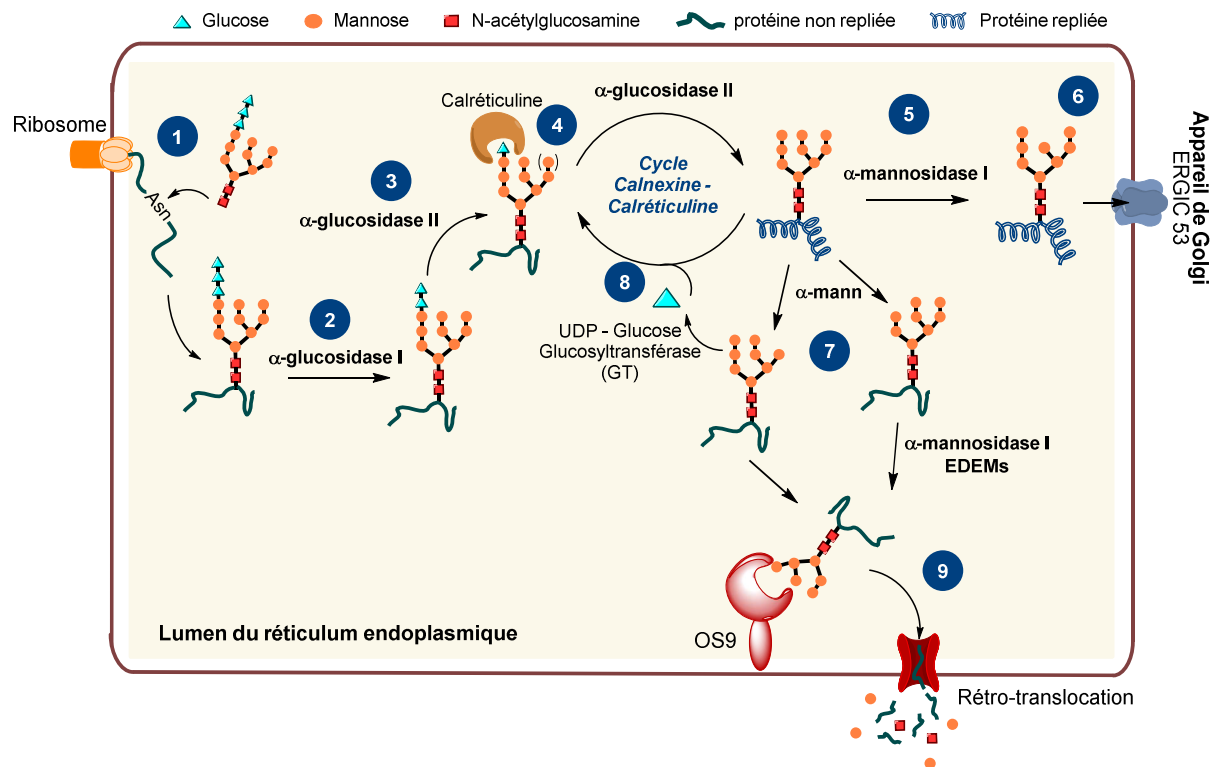


Schéma 9 Biosynthèse et maturation des glycoprotéines dans le RE. Etapes de l'ERQC et de l'ERAD

La protéine correctement repliée subit une dernière coupure d'un résidu mannose sur sa branche centrale, nommée branche B, par l' α -mannosidase I du RE (Schéma 9 – Etape 5).^[149] La protéine mature est alors transportée vers l'appareil de Golgi par le compartiment intermédiaire entre l'ER et Golgi, l'ERGIC 53, où elle subira des coupures supplémentaires (Schéma 9 – Etape 6).

d) Devenir des protéines mutantes

La protéine CFTR, même chez un individu sain, est encline à des erreurs de repliement. En effet, son efficacité de repliement est seulement de 20 %.^[197,210] Dans le cas d'un patient atteint de la mutation $\Delta F508$, la protéine CFTR mutante ne pourra pas se replier correctement, à cause de la délétion de la phénylalanine dans sa chaîne d'acides aminés. La protéine sera alors dirigée vers le système ERAD, constitué des étapes 7 et 9 du Schéma 9, en vue de sa destruction.

La distinction entre protéine native et protéine mal repliée se fait grâce à des molécules possédant des capteurs sélectifs. Parmi ces molécules figurent les molécules chaperonnes et des enzymes. Les chaperonnes permettent d'aider au repliement de la protéine en augmentant son temps de rétention dans le RE. Ce temps de rétention accru permet d'augmenter les chances de repliement de la protéine ou de l'envoyer à la dégradation après marquage. Les ubiquitines ligases ont pour rôle de marquer les protéines mal repliées par une ubiquitine, une petite protéine donnant le signal vers la dégradation. Au contraire, un résidu glucose, ajouté au résidu N-glycane, donne un signal de rétention. Plus une protéine passe du temps sous forme non-replée, moins celle-ci a de chances de quitter le RE sous forme native.^[41]

C'est l'UDP-glucose (l'uridine diphosphate glucose glucosyltransférase), une glycoprotéine glucosyltransférase (GT), qui est responsable de la re-glucosylation du substrat, si celui-ci est mal replié, pour qu'il puisse à nouveau se lier à la calnexine ou à la calréticuline (Schéma 9 - 8). Cette re-glucosylation n'a lieu que sur des protéines mal repliées et sur la branche A de la partie glycane.^[211] Les cycles de glucosylation et dé-glucosylation continuent jusqu'à ce que la protéine ait atteint sa forme native ou qu'elle ait été marquée pour la dégradation augmentant ainsi le temps de résidence des protéines mal repliées dans le RE.

L' α -(1,2)-mannosidase I du RE peut effectuer la coupure d'un résidu mannose sur la branche A, B ou C de l'oligosaccharide dépourvu de résidu glucose à la sortie du cycle calnexine/calréticuline. La coupure du résidu mannose terminal de la branche A empêche toute reglucosylation par la GT et met donc fin au cycle avec les molécules chaperonnes. La protéine mal repliée va alors être reconnue par l'ERAD. La coupure du motif mannose terminal de la branche C favorise la liaison avec la lectine osteosarcoma-amplified 9 (OS9) impliquée dans le processus de dégradation. Au contraire, la coupure du résidu mannose situé sur la branche centrale favorise la liaison avec la lectine cargo ERGIC 53. Cette coupure spécifique est donc un signal de sécrétion vers l'appareil de Golgi (Figure 42).^[149]

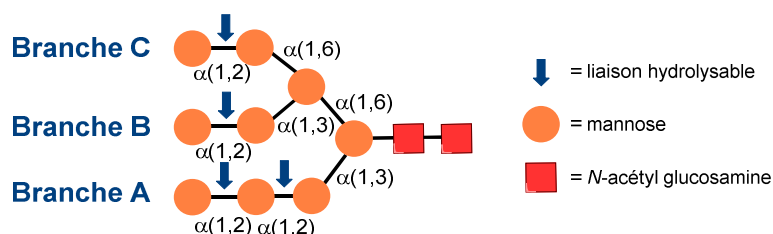


Figure 42 Sites de coupure hydrolytique possibles sur la partie N-glycane dépourvue de glucose à la sortie du cycle calnexine

Les EDEMs 1, 2 et 3 sont des lectines dont le rôle était initialement attribué à la reconnaissance de glycoprotéines, partiellement démannosylées après le cycle calnexine, et à la coupure de résidus mannoses. Cependant, aucune des EDEMs ne montre une activité semblable à une mannosidase *in vitro*.^[212,213] Elles aideraient, en réalité, les coupures effectuées par la mannosidase I du RE.^[214,215] La liaison aux EDEMs est un point de non-retour pour les protéines mal repliées.

La sortie du RE vers l'appareil de Golgi doit se faire sous forme native. Les protéines mal repliées, au lieu d'être bloquées dans le RE, vont être reconnues par le système ERAD (Schéma 9 - 9). Celles-ci subissent alors une rétro-translocation et sont dégradées dans le cytosol par les protéasomes. Les protéines mal repliées sont retenues dans le RE grâce à des interactions possibles avec des résidus hydrophobes, type cystéine, exprimées à leur surface. Elles peuvent également s'agréger entre elles. L'agrégarion dans le RE est le plus souvent irréversible et mène directement à l'apparition de symptômes.^[41]

La compréhension des mécanismes mis en jeu lors de la maturation des protéines permet d'envisager des traitements ciblant les glycosidases responsables de la destruction prématurée de la protéine CFTR dans le cas de la mucoviscidose.

5) Traitements existants

De nombreux traitements pour la mucoviscidose ont été mis en place depuis la découverte de la maladie. Ces traitements sont exclusivement des traitements symptomatiques mais ne traitent pas la cause fondamentale de la maladie. On considère qu'au moins 25 % de fonction résiduelle de la protéine CFTR est nécessaire pour réduire les symptômes cliniques.^[197] L'espérance de vie des patients atteints de la mucoviscidose étant de plus en plus grande, les traitements symptomatiques leur permettent d'améliorer leurs conditions de vie et leur intégration sociale.

a) Quelques traitements symptomatiques

i. Infections pulmonaires

La prévention et la régulation des infections pulmonaires peut se faire grâce à un traitement antibiotique. Ces antibiotiques visent les bactéries qui se développent dans les poumons et qui sont la cause principale des décès chez les patients atteints de CF. Ce traitement est délivré principalement par

voie aérosol ou par nébulisation. Beaucoup d'antibiotiques différents existent comme la tobramycine, la colomycine, le gentamycine, l'amikacine ou encore la levofloxacine.^[216] Il est également possible d'améliorer la fonction respiratoire en fluidifiant l'expectoration par un traitement à base de protéine naturelle, la dornase alfa, commercialisé sous le nom de Pulmozyme.

ii. Thérapie par remplacement d'enzyme

De 80 à 90 % des patients atteints de CF ont besoin d'une thérapie de remplacement des enzymes pancréatiques pour empêcher les problèmes de malnutrition. En effet, le pancréas n'est pas capable de synthétiser les enzymes nécessaires à la digestion. Cette malnutrition induit une perte de poids et un manque en vitamines et autres nutriments causant un état de faiblesse générale rendant les patients plus vulnérables.^[217] Cette thérapie, nommée PERT (pancreatic enzyme replacement therapy),^[218] est utilisée en cas d'insuffisance pancréatique depuis les années 1930. Les enzymes administrées, lipase, amylase et protéase, proviennent principalement de porcs. L'environnement acide de l'estomac peut désactiver les enzymes, c'est pourquoi une administration par gélules gastro-résistantes a été développée. La métabolisation d'une partie des lipides, glucides et protéines est alors possible.^[217]

b) Traitements curatifs

La thérapie génique, pour corriger les mutations du gène CFTR, a été envisagée. Une thérapie de ce type serait idéale puisque ciblant la cause fondamentale de la maladie. Mais, en 20 années de recherche, seule une étude a atteint la phase clinique IIb et permet la stabilisation du volume expiratoire forcé par seconde (FEV₁) sur une durée de 1 an.^[216]

La seule méthode existante menant à une guérison durant plusieurs années est la transplantation. Des transplantations pulmonaire, cardiaque ou hépatique peuvent être réalisées. Elles sont soumises à de nombreux critères de sélection^[195] et très peu de patients peuvent en bénéficier. Cette méthode est efficace mais est risquée pour le patient et est une solution à moyen terme.

La nécessité de trouver d'autres traitements accessibles au plus grand nombre de patients et moins risqués est donc importante.

6) Traitements à l'aide de correcteurs et/ou potentiateurs

Les correcteurs sont de petites molécules ayant la capacité de corriger le défaut de repliement de la protéine CFTR et donc de restaurer son adressage à la membrane. Les correcteurs se liant directement à la protéine CFTR en la stabilisant sont définis comme des chaperons pharmacologiques. Ceux qui affectent la correction par d'autres mécanismes sont des modulateurs de protéostase.^[219] La protéostase provient de la fusion des mots protéine et homéostasie et regroupe toutes les entités impliquées dans le système de génération et de maintenance des protéines correctement repliées. Les régulateurs de protéostase ont le désavantage d'être moins sélectifs que les chaperons pharmacologiques car ils vont affecter la biosynthèse de toutes les protéines sans distinction.

Les potentiateurs améliorent l'activité des protéines CFTR ayant atteint la membrane plasmique par liaison avec celles-ci en modifiant leur fréquence d'ouverture.^[220]

Dans la revue de Rafeeq, ce n'est pas moins de 15 correcteurs en phase-clinique qui ont été référencés.^[221] Ces correcteurs visent diverses mutations par un mécanisme d'action encore incertain. Dans la revue de Leal, les thérapies envisageables pour chaque classe de mutation sont listées et détaillées.^[222]

a) Quelques chaperons pharmacologiques pour la mutation $\Delta F508$

Plusieurs chaperons pharmacologiques ont été identifiés pour la mutation $\Delta F508$, comme VRT-325,^[223,224] VRT-532,^[225] benzo[c]quinolizinium (MPB)^[226] et Corr-4a^[225] (Figure 43). Les deux composés VRT modulent l'activité de canaux CFTR reconstitués et purifiés.^[227,228] Le MPB permet d'améliorer

l'activité du canal.^[229] Le Corr-4a bloque les interactions spécifiques entre les segments transmembranaires de la protéine CFTR.^[225]

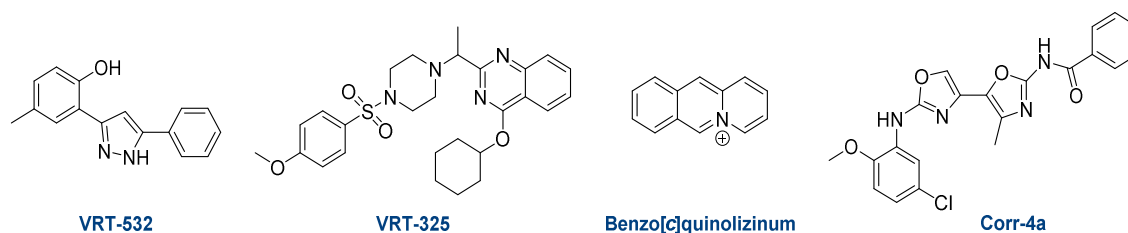


Figure 43 Chaperons pharmacologiques pour la mutation $\Delta F508$

b) Lumacaftor et Ivacaftor

Le Lumacaftor et l'Ivacaftor sont des molécules développées par le groupe Vertex Pharmaceuticals, VX-809 et VX-770 respectivement, pour le traitement de la mucoviscidose (Figure 44). Ces molécules ont d'abord été utilisées séparément puis des tests cliniques ont été initiés sur l'utilisation du couple Ivacaftor/Lumacaftor en vue d'étudier leur synergie. En effet, dans le cas de la mutation $\Delta F508$ par exemple, le traitement idéal nécessite un correcteur, pour éviter la dégradation de la protéine lors de sa biosynthèse, ainsi qu'un potentiateur pour améliorer l'efficacité de la protéine une fois adressée à la membrane.

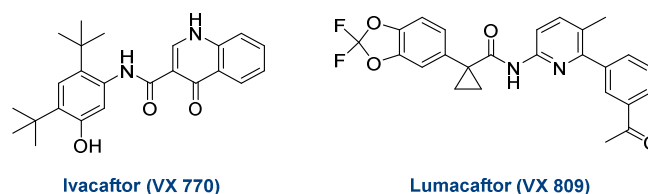


Figure 44 Structures de l'Ivacaftor et du Lumacaftor

i. Lumacaftor

Le Lumacaftor est utilisé en tant que correcteur de la protéine CFTR. Il améliore la conformation globale de la protéine et sa stabilité thermique.

Les résultats de la phase clinique IIa, sur la mutation $\Delta F508$, montrent qu'à haute concentration, 600 mg par jour pendant 56 jours, le lumacaftor permet une amélioration modeste du transport des ions chlorure mesuré pour les glandes sudoripares grâce au test de la sueur. Cependant, aucune amélioration significative de la FEV₁ et aucune baisse du nombre de complications respiratoires ne sont observés.^[230]

Le Lumacaftor, malgré son efficacité modeste, sert néanmoins de référence dans les expériences où d'autres correcteurs sont testés.^[194]

ii. Ivacaftor (Kalydeco®)

L'Ivacaftor, dont le nom commercial est le Kalydeco®, est un potentiateur de la protéine CFTR. Son autorisation de mise sur le marché a eu lieu en France en 2012. Il est utilisé chez les patients atteints de la mutation G551D, la troisième mutation la plus répandue.^[231] Cette mutation affecte la protéine CFTR en diminuant sa probabilité d'ouverture. Elle appartient à la classe III.

Le traitement à l'Ivacaftor a permis d'atteindre une activité de la protéine CFTR mutée équivalente à environ 30 à 40 % de l'efficacité de la protéine CFTR normale.^[232] Une réduction significative de la concentration en ions chlorures de la sueur a été mesurée, entre -48 à -53 mmol de Cl⁻ par litre. De plus, une amélioration de 10 % du volume expiratoire maximum par seconde a pu être mesurée ainsi qu'une amélioration de l'état nutritionnel des patients. Ces effets positifs s'accompagnent également d'une

diminution des exacerbations de la maladie, du nombre d'hospitalisations, de l'atteinte par des colonies bactériennes et la fréquence de lésions structurelles pulmonaires.^[197]

Son utilisation est maintenant étendue à 9 autres mutations appartenant à la classe III.^[233] Ce traitement n'est pas efficace sur les patients atteints de la mutation $\Delta F508$,^[234] même si l'ivacaftor améliore la probabilité d'ouverture de la protéine CFTR,^[235] car trop peu de protéines atteignent la membrane cellulaire.

iii. Lumacaftor/ivacaftor (Orkambi®)

La thérapie par combinaison de ces deux molécules, une correctrice et une potentiatrice, nommée Orkambi, est utilisée uniquement sur les patients homozygotes atteints de la mutation $\Delta F508$.^[236] Son autorisation de mise sur le marché a été obtenue en 2015.^[237]

Un essai en phase clinique II, réalisé sur 1108 patients, a montré une amélioration globale de l'état de santé de patients homozygotes atteints de la mutation $\Delta F508$. Les complications pulmonaires sont 30 à 39 % moins fréquentes avec le traitement. Le nombre d'hospitalisations et l'utilisation d'antibiotiques par intra-veineuse sont réduits. La FEV₁ est améliorée d'environ 5 %.^[236]

Les premiers résultats des effets de l'Orkambi® en essais cliniques^[237,238] sont mitigés avec des effets négatifs sur le système respiratoire.^[239] Douze patients ayant des troubles respiratoires ont subi un traitement avec l'Orkambi®. Des problèmes accrus de respiration ont été observés chez 10 patients après 24 h et seulement au bout de 4 h pour la moitié d'entre eux. Au bout d'un mois, 3 patients ont dû arrêter le traitement pour cause de difficultés respiratoires dont un ne retrouvant pas son volume d'expectoration forcé initial au bout d'un mois.^[238]

Des conclusions similaires ont été tirées par l'équipe de Hubert montrant que 30 % d'un panel de 53 patients ont dû arrêter le traitement et 51 % ont subi des troubles respiratoires importants.

Le diabète induit par la mucoviscidose est une complication supplémentaire fréquente chez les patients. Le manque d'insuline induit par la maladie peut être due à une conséquence physique de la destruction des fibres du pancréas ou à une affectation de la sécrétion d'insuline. L'effet de l'Orkambi sur la métabolisation du glucose et la sécrétion d'insuline a été étudié par le groupe de Thomassen.^[240]

Des tests de tolérance oraux et intraveineux au glucose ainsi que le test de la sueur ont été réalisés pour évaluer l'effet du traitement sur un panel de 5 patients. Ces tests ont été réalisés entre 6 à 8 semaines après le début du traitement avec l'Orkambi. Une prise de poids est observée chez tous les patients. En revanche, aucune conclusion ne peut être déduite en ce qui concerne la tolérance au glucose et la sécrétion d'insuline. En effet, l'influence du traitement semble être spécifique au patient car des effets positifs, négatifs ou inefficaces ont été observés. Le panel trop restreint et l'absence de suivi antérieur de longue durée étudiant les variations naturelles de tolérance au glucose et sécrétion d'insuline peuvent expliquer l'absence de conclusion de cet article.^[240]

iv. Triple thérapie

Les correcteurs peuvent être classés en deux sous-familles : les correcteurs C-1 et les correcteurs C-2. Les correcteurs C-1 visent au plus tôt le repliement de la protéine CFTR au sein du RE tandis que les correcteurs C-2 ont d'autres mécanismes d'actions complémentaires en agissant par exemple au niveau de l'appareil de Golgi ou des vésicules de transport.^[206] Le groupe Vertex Pharmaceuticals a initié plusieurs triples thérapies associant tezacaftor (VX 661)(Figure 45)(correcteur C-1), ivacaftor (Figure 44)(potentiateur) et VX-440, VX-152, VX-659 ou VX-445 (correcteurs C-2). Les essais cliniques montrent une amélioration du FEV₁ de 9,5, 7,3,^[241] 13,3 et 13,8 % respectivement chez des patients homozygotes atteints de $\Delta F508$. La concentration en ions chlorure de la sueur a également été abaissée. Les « tri-thérapies » comprenant le VX-659 et le VX-445 sont actuellement en phase clinique III.

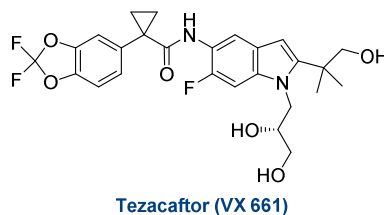


Figure 45 Structure du tezacaftor

D'autres combinaisons, double ou triple, font l'objet d'un rapport récent.^[242] Ces tests ont montré que le Lumacaftor se liait au NBD1 de la protéine CFTR. La combinaison du Lumacaftor et de RDR1 (Figure 46) augmente l'expression de la protéine CFTR de 140 % par rapport au Lumacaftor seul. La combinaison de multiples correcteurs testée sur différentes mutations peut permettre de mieux identifier les cibles de chaque molécule, chaque molécule ciblant un endroit différent de la protéine. Un traitement mutation-dépendant peut alors être envisagé si les cibles et le rôle des molécules peuvent être prédits.^[242]

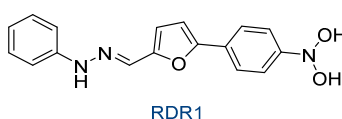


Figure 46 Structure RDR1

c) Régulateurs de protéostase

L'utilisation d'inhibiteurs du protéasome, comme le bortezomib (Velcade)[®], permet de sauver une petite quantité de protéines CFTR de la dégradation mais conduit à une accumulation de celles-ci dans le lumen du RE.^[243] N'atteignant pas la membrane apicale, elles ne peuvent remplir leur fonction.

Le miglustat, déjà utilisé en tant que traitement pour la maladie de Gaucher, a fait l'objet d'études en phase clinique II pour le traitement de patients atteints de la mutation $\Delta F508$. Un des essais cliniques avec contrôle placebo^[244] ne montre aucun effet du traitement sur la différence de potentiel de l'épithélium nasal.^[245] Cette conclusion doit être considérée avec précaution puisque la mesure de potentiel de l'épithélium nasal n'était pas reproductible et encline à des erreurs de mesure. Des études supplémentaires sont nécessaires pour conclure quant à l'efficacité du miglustat. Les effets secondaires les plus fréquents engendrés par le traitement sont le déclenchement de diarrhées, causées par l'inhibition des sucrares, maltases et lactases intestinales.^[244]

d) Autres canaux transmembranaires

D'autres canaux à chlorure existent au sein des membranes épithéliales comme le canal chlorure activé par le calcium (CaCC). La stimulation des CaCC pourrait permettre de compenser l'absence d'activité de la protéine CFTR et de réguler la concentration en chlorure entre les milieux *intra* et *extra* cellulaire.

D'autres scientifiques ont également envisagé la synthèse de canaux artificiels présentant l'avantage d'une thérapie mutation-indépendante.^[206]

7) Cibles potentielles

a) Glucosidases du RE

Différents correcteurs de la protéine CFTR ont été testés et permettent à la protéine d'atteindre la membrane cellulaire.^[191,194] L'équipe du Pr. Becq a montré en 2006 la capacité de la *N*-butyl DNJ (Miglustat) et de la castanospermine à prévenir l'interaction de la protéine mutante avec la calnexine de 75 et 50 % respectivement^[246] en comparaison avec des cellules traitées à 27 °C, une procédure

connue pour sauver la protéine CFTR de la dégradation.^[247] La restauration de l'activité du canal CFTR, mesurée par une technique à efflux d'iode 125 (¹²⁵I), est équivalente entre des cellules traitées avec le miglustat ou à basse température (27 °C). Les tests ont été réalisés *in vitro* sur des cellules épithéliales humaines et de souris.

Le miglustat étant connu pour être un inhibiteur de glycosidases, on peut supposer que son action est d'empêcher la déglucosylation par inhibition de la glucosidase I ou II du RE, cette dernière intervenant lors du cycle calnexine. Le fait qu'une diminution de l'interaction entre la protéine mutante et la calnexine induise une augmentation de l'activité du canal ionique suggère que l'interaction avec la calnexine n'est pas indispensable à la restauration de l'activité du canal. La protéine, immature ou repliée *via* l'implication d'un autre chaperon ou d'une autre voie de repliement, pourrait sortir du RE et atteindre la membrane plasmique, soit par passage par l'appareil de Golgi, soit par une voie alternative. Le miglustat a été en phase clinique II, pour une application aux porteurs de la mutation $\Delta F508$, dans les laboratoires d'Actelion Pharmaceuticals.

En 2010 a été publié le premier effet multivalent fort sur l'inhibition d'une glycosidase.^[39] En 2006, l'équipe du Pr Becq publie une valeur de CE_{50} de 112 μM pour le miglustat sur la correction de la protéine CFTR. Dans le but d'obtenir de meilleurs correcteurs, le laboratoire a voulu appliquer le concept de multivalence à la restauration de la protéine CFTR en visant les glycosidases du RE. Des composés multivalents (mono, tri, tétra et hepta) à motifs DNJ ont été synthétisés dans le but d'être testés en tant que correcteurs de la protéine CFTR (Figure 47).^[102]

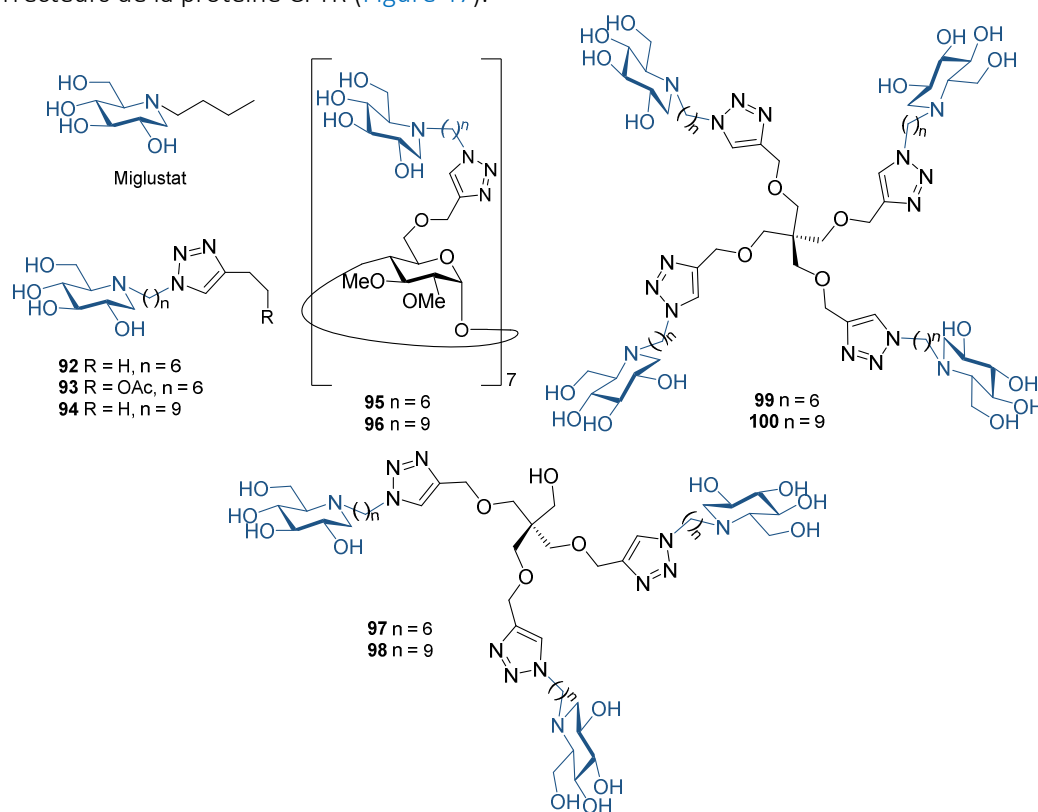


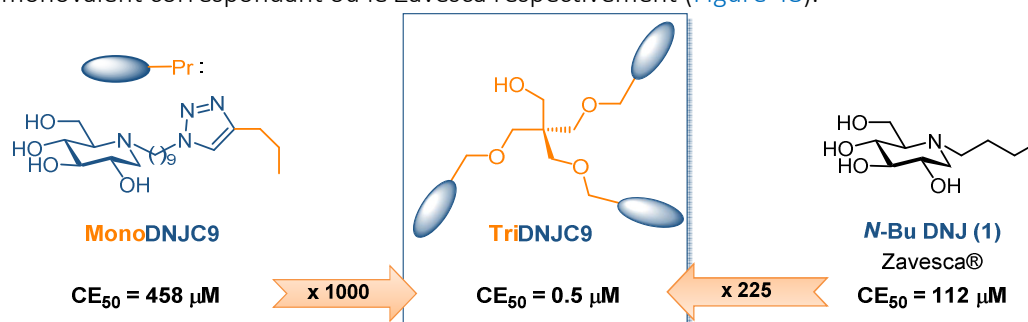
Figure 47 Iminosucres multivalents à motif DNJ testés sur la correction de la protéine CFTR

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant (Tableau 11). La meilleure restauration d'activité a été obtenue pour le composé trivalent avec une longueur de chaîne de 9 carbones (**98**) avec une CE_{50} de 0,5 μM . Augmenter la longueur de chaîne à 9 carbones au lieu de 6 mène à une amélioration de l'activité pour les composés tri et tétravalents d'un facteur 2 tandis qu'une détérioration de l'activité correctrice est observée pour les composés monovalents et heptavalents.

Tableau 11 CE₅₀ en μM obtenues pour les iminosucre multivalents à motif DNJ

Iminosucre	Valence	Longueur espaceur	CE ₅₀
1	1	-	112
92	1	C ₆	12
93	1	C ₆	20
97	3	C ₆	1
99	4	C ₆	110
95	7	C ₆	71
94	1	C ₉	458
98	3	C ₉	0,5
100	4	C ₉	49
96	7	C ₉	-

On remarque que le composé trivalent DNJ C9 est respectivement 1000 et 225 fois meilleur correcteur que le monovalent correspondant ou le Zavesca respectivement (Figure 48).

Figure 48 CE₅₀ mesurées sur des composés en série D-glucosyl sur la correction de la protéine CFTR

L'activité correctrice relative par iminosucre est donc de 330 pour le TriDNJC9 comparé au monovalent correspondant. Cette valeur est élevée et constitue le premier exemple d'effet multivalent positif sur le défaut de repliement d'une protéine au sein d'une cellule. Ces résultats prouvent que les iminosucre multivalents, au moins jusqu'à 7 copies, peuvent traverser la membrane plasmique pour atteindre le milieu intracellulaire et pénétrer dans le RE.

La concentration en oligosaccharides libres Glc₁Man₄GlcNAc₁ et Glc₃Man₅GlcNAc₁ a été mesurée pour déterminer si la correction de la protéine CFTR provenait de l'inhibition des glucosidases du RE. Le Glc₁Man₄GlcNAc₁ est un marqueur biochimique de l'inhibition de l' α -glucosidase II. La présence de Glc₃Man₅GlcNAc₁ indique quant à elle l'inhibition de l' α -glucosidase I du RE.^[248] Les résultats (Tableau 12) indiquent que le miglustat inhibe majoritairement la glucosidase II mais inhibe également la glucosidase I. Le composé monovalent est moins bon inhibiteur des glucosidases I et II que le miglustat. Les composés multivalents inhibent seulement faiblement la glucosidase II du RE. Ces données supportent l'idée que l'activité correctrice des composés multivalents n'est pas dû à un effet multivalent sur l'inhibition des glucosidases contrairement à l'hypothèse de départ de cette étude.

Tableau 12 Concentration en oligosaccharides libres après traitement de cellules HL60 par 50 μ M d'minosucre multivalents C9

Iminosucre	Glc ₁ Man ₄ GlcNAc ₁ [pmol/mg]	Glc ₃ Man ₅ GlcNAc ₁ [pmol/mg]
Miglustat	162	77
Mono	52,3	27,4
Tri	27,6	2,8
Tetra	27,0	4,3

Plusieurs tests de potentiation ont été réalisés pour tenter de déterminer la cible visée par les composés multivalents et de comprendre l'origine de l'effet multivalent observé. Les cellules CF-KM4 traitées avec un mélange de composé monovalent C9 et trivalent C9 montrent une activité correctrice équivalente aux cellules traitées avec seulement 1 de ces 2 composés. Ce résultat implique que le composé monovalent et le composé trivalent partagent le même mécanisme d'inhibition car une synergie serait attendue en cas de cibles différentes. Des tests de compétition avec d'autres inhibiteurs connus de l'ERQC ont été réalisés (Tableau 13). La forte potentiation du composé trivalent en mélange avec la *N*-Butyl DMJ ou la MG132, connus pour inhiber le protéasome, indique que celui-ci n'agit pas sur celui-ci. L'absence de potentiation en co-traitement avec la castanospermine ou la thapsigargin démontre que ces composés agissent sur le cycle calnexine.

Tableau 13 Tests de potentiation entre monovalent C9, trivalent C9 et d'autres inhibiteurs de l'ERQC

+ : potentiation faible, ++ : potentiation moyenne, +++ : potentiation forte, n.s : potentiation non significative

	MG132	<i>N</i> -Bu DMJ	Thapsigargin	Castanospermine
Monovalent	+	+	n.s.	n.s.
Trivalent	++	+++	n.s.	n.s.
	Protéasome		Cycle calnexine	

b) Mannosidase du RE ?

Sachant que des effets secondaires indésirables sont récurrents chez les patients traités avec le miglustat à cause de l'inhibition des glucosidases intestinales, on peut aussi imaginer inhiber l' α mannosidase I du RE dans le but d'empêcher la protéine de rentrer dans l'ERAD.

L'inhibition de l'ERAD peut également se faire en réduisant l'activité^[249] ou la quantité de mannosidases et d'EDEMs dans le RE. La kifunensine et la DMJ^[250] sont connues pour être des inhibiteurs de l' α -mannosidase I du RE.^[251,252] Plusieurs études montrent que l'inhibition de l' α -mannosidase I du RE par un de ces deux iminosucre permet de bloquer la dégradation des glycoprotéines mutantes.^[251] La DMJ est le premier inhibiteur décrit dans la littérature permettant de bloquer la coupure de résidus mannose sur des glycoprotéines complexes par inhibition des mannosidases IA/IB *in vivo*.^[250]

La possibilité de secourir la protéine CFTR en ciblant les mannosidases I du RE est une hypothèse de travail. Les effets secondaires observés liés à l'inhibition des glucosidases intestinales devraient être évités. C'est pourquoi le second volet de ce sujet est de tester des composés multivalents affins des mannosidases sur la correction de l'activité de la protéine CFTR en faisant l'hypothèse que ceux-ci pourront cibler les mannosidases I du RE.

IV) Conclusion de chapitre

L'application du concept de multivalence à l'inhibition de glycosidases par des inhibiteurs multivalents est récente. En 2009 le premier effet multivalent est décrit ($R_p/n = 2,2$),^[77] suivi un an plus tard par le premier effet multivalent puissant avec un R_p/n de 180.^[39] L'efficacité relative par iminosucre obtenue grâce à des inhibiteurs multivalents ne cessera d'augmenter jusqu'à atteindre une valeur record de 4800, en 2016.^[40]

Les effets multivalents positifs les plus forts ont été mesurés sur l'inhibition de l' α -mannosidase de Jack-bean, une enzyme commerciale appartenant à la famille GH 38. L'obtention d'une structure à haute résolution (à 2,0 Å) par cristallographie aux rayons-X de cette enzyme permet d'expliquer, en partie, la cause de l'effet multivalent :^[52] un effet chélate est observé menant à la formation d'un complexe dit « sandwich ».

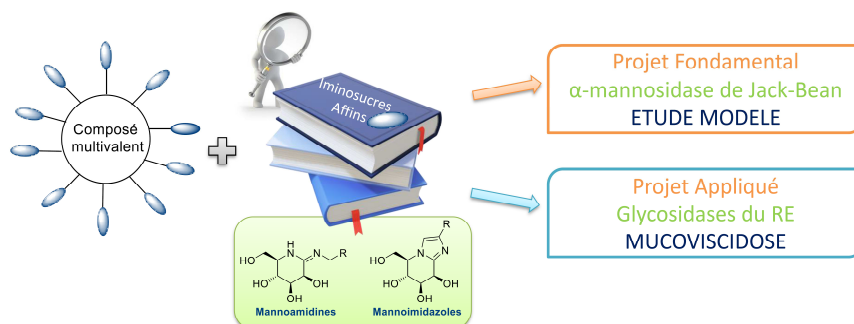
Différentes stratégies existent pour augmenter l'effet multivalent d'un cluster comme notamment la modification de la plateforme. En effet, celle-ci régit la valence, la répartition géométrique des ligands et le volume de l'inhibiteur multivalent. Quelques articles ont montré l'existence d'un plateau dans l'inhibition des iminosucres multivalents envers les glycosidases.^[40,108] Il est donc nécessaire d'utiliser une autre stratégie que l'augmentation de la valence pour améliorer encore l'effet multivalent.

Jusqu'à présent, les meilleurs effets multivalents ont été observés sur l' α -mannosidase de Jack-bean grâce à des inhibiteurs multivalents à motif DNJ, peu affine pour leur cible (K_i compris entre 190 et 320 μ M).^[39,40] La question à laquelle nous voulons répondre dans cette thèse est la suivante : « Quelle conséquence sur l'effet multivalent aurait le remplacement du motif DNJ par un iminosucre très affin des mannosidases ? » Cette stratégie, encore peu explorée dans la littérature, a été choisie par le laboratoire dans le but de synthétiser des iminosucres multivalents de nouvelle génération.

La recherche bibliographique d'iminosucres affins de mannosidases a mené à deux candidats prometteurs : les mannoamidines et les mannoimidazoles. Ces deux composés possèdent un intermédiaire de synthèse avancé commun et facilement accessible au laboratoire. De plus, leur synthèse est stéréodivergente et permet d'obtenir des iminosucres en série D-*gluco* et D-*manno*, permettant d'envisager de multiples cibles thérapeutiques.

Les composés multivalents basés sur la DNJ ont été appliqués à la mucoviscidose. Ils sont supposés interagir avec le cycle calnexine, permettant la sauvegarde de la protéine CFTR, protéine déficiente chez les patients atteints par la maladie. La seconde cible des composés multivalents de nouvelle génération, basés sur des mannoamidines ou des mannoimidazoles, sera le système contrôle qualité du RE dans le cadre de la recherche de correcteurs plus puissants.

La conception et la synthèse des composés multivalents à motif glyconoamidine ou glycoimidazole font l'objet du second chapitre de cette thèse. Les résultats biologiques obtenus sur l'inhibition de l' α -mannosidase de Jack-bean et sur la correction de la protéine CFTR seront également présentés et commentés.



CHAPITRE 2

-

SYNTHESE DE COMPOSES MULTIVALENTS AFFINS ENVERS LES MANNOSIDASES

I) Synthèse d'iminosucre affins envers les mannosidases

1) Les glyconoamidines

a) Précédents de la littérature

i. L'intérêt pour les glyconoamidines

Dès 1990, Ganem décrit la synthèse et l'activité inhibitrice de deux amidines dérivées du D-glucose.^[126] Ces composés (**54** et **101**) se révèlent être de bons inhibiteurs de β -glucosidase, pour des composés n'ayant pas de mime de la partie aglycone, avec des valeurs de K_i respectives de 8 et 83 μ M (Figure 49).

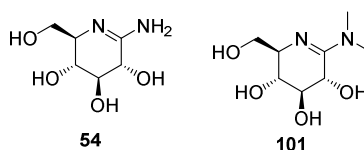


Figure 49 Glucoamidines synthétisées par Ganem *et al*

En 1992, Ganem s'est intéressé à la synthèse de glycoamidines en série D-manno. La D-mannoamidrazone est le premier inhibiteur puissant de l' α -mannosidase du RE avec un CI_{50} de 1 μ M. Il montre également une inhibition envers l' α -mannosidase de Jack-bean de 170 nM, envers l' α -mannosidase de mung bean de 400 nM, envers la β -mannosidase de champignon de 150 nM, envers l' α -mannosidase I et II de l'appareil de Golgi de 4 μ M et 100 nM respectivement.^[253]

Ces iminosucre adoptent une conformation 4H_3 se rapprochant de l'intermédiaire oxocarbenium avec un aplatissement au niveau du carbone anomérique. Ils ont alors été considérés comme des mimes de l'état de transition.

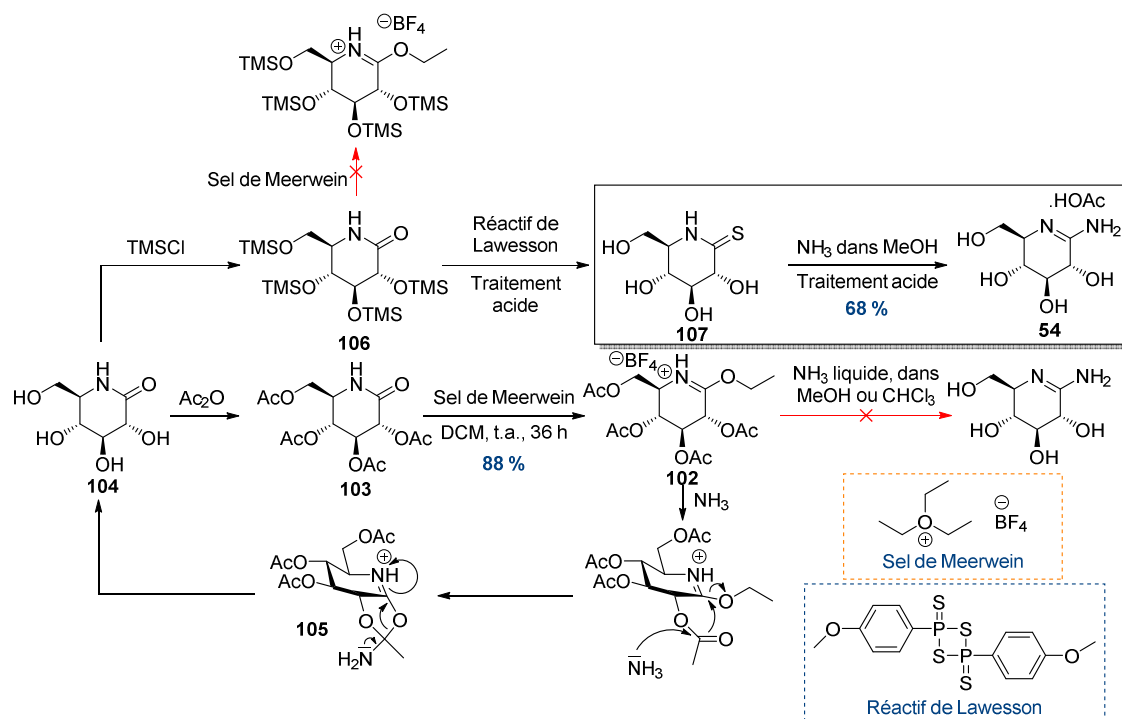
Les meilleurs inhibiteurs de l' α -mannosidase de Jack-bean, identifiés à ce jour, font partie de la famille des mannoamidines.

ii. Synthèse du squelette glyconoamidine

Diverses voies de synthèse ont été explorées avant de pouvoir atteindre les glyconoamidines désirées. En 1993, Ganem publie la synthèse de la glucoamidine **54**, de la glucoamidrazone **55**, de la N,N-diméthyl-D-glucoamidine **101** et de la glucoamidoxime **56**, ainsi que leurs analogues correspondants en série D-manno et D-galacto (Figure 49).

La synthèse des différents glyconoamidines avait été envisagée *via* l'intermédiaire carboximide **102**, obtenu avec un rendement de 88 % par action du sel de Meerwein sur le D-glucono- δ -lactame peracétylé **103** (Schéma 10). Ce δ -lactame a été obtenu par oxydation de la nojirimycine puis protection. La réaction du carboximide **102** en présence d'ammoniac, en conditions strictement anhydres, ne mène pas à la glyconoamidine désirée mais au δ -lactame déprotégé **104**. Cette ammonolyse peut s'expliquer par une assistance anchimérique du groupement OAc en position C-2 et par passage par un intermédiaire bicyclique **105**.

Pour éviter cette assistance, les groupements acétates ont été remplacés par des groupements silyles (Schéma 10). Malheureusement, ces groupements ne résistent pas aux conditions utilisées lors de la réaction avec le sel de Meerwein. Le lactame silylé **106** a alors été converti en thiolactame déprotégé **107** par réaction avec le réactif de Lawesson puis traitement acide. Le thiolactame a permis d'obtenir avec succès le squelette glyconoamidine recherché. L'utilisation d'ammoniac dans le MeOH mène à la glucoamidine **54** avec un rendement de 68 % (Schéma 10). La diméthylamine, l'hydrazine et l'hydroxylamine permettent d'obtenir respectivement la N,N-diméthyl-D-glucoamidine **101**, la glucoamidrazone **55** et la glucoamidoxime **56**, avec des rendements de 85, 78 et 75 %.

Schéma 10 Essais de synthèse vers la formation de glyconoamidines^[254]

L'obtention des mannoamidines, suivant le même chemin synthétique à partir du thiolactame en série *D-manno*, est moins aisée à cause d'un phénomène d'épimérisation observé lors de l'ajout d'ammoniac ou de diméthylamine (Schéma 11). Seule la gluconoamidine **54** a pu être isolée avec un rendement de 70 %.

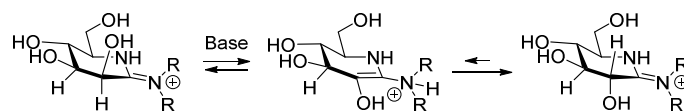
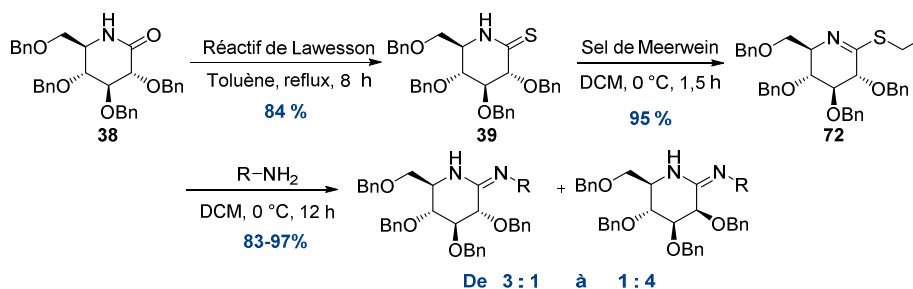


Schéma 11 Epimérisation de la position C-2

Cette épimérisation peut s'expliquer par l'acidité du proton en position C-2 et sa déprotonation facilitée par sa position axiale en α de l'amidinium favorisant l'équilibre tautomérique. L'utilisation de nucléophiles plus réactifs, tels que l'hydrazine et l'hydroxylamine, permet d'éviter ce phénomène d'épimérisation.

Toutes les glyconoamidines décrites dans la littérature sont obtenues à partir de substrats basés sur un squelette de type sucre et plus particulièrement à partir de lactames ou de thiolactames. Le passage par un intermédiaire thiolactame a été très largement suivi par de nombreux laboratoires.^[255–259]

En 2004, le groupe de Mioskowski publie la synthèse de nouvelles glyconoamidines (Schéma 12).^[255] Une légère modification est apportée par rapport à la synthèse de Ganem en utilisant des groupements protecteurs OBn pour faciliter la purification et améliorer la stabilité des composés. De plus, le thiolactame est converti en thioimide, par réaction avec le sel de Meerwein, pour faciliter l'addition nucléophile de l'amine sur le carbone pseudo-anomérique. La formation d'un thioimide intermédiaire a également été nécessaire lors de la synthèse publiée par Tellier en 1995.^[130] Un phénomène d'épimérisation a été observé en série *D-gluco* et rend alors cette synthèse stéréodivergente. Moduler la quantité d'amine ajoutée lors de l'étape de création de la fonction amidine permet de favoriser la formation d'un épimère par rapport à l'autre. Travailler avec un excès d'amine (1,8 équivalents) favorise la formation de la mannoamidine, en revanche travailler avec uniquement 1 équivalent d'amine favorise la formation de la glucoamidine.

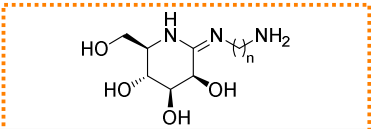
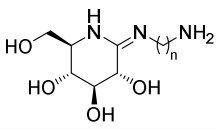
Schéma 12 Synthèse de glyconoamidines d'après Mioskowski *et al.*^[255]

La même synthèse réalisée à partir du D-mannothiolactame fournit les mêmes rendements et diminue l'épimérisation lors de l'ajout de l'amine d'après les auteurs.

La plupart des glycosidases possèdent deux résidus carboxylates, l'un ayant un rôle d'acide et l'autre ayant un rôle de base. Lorsque l'amidine est protonée, celle-ci peut interagir avec seulement un des deux résidus. Les auteurs ont fait l'hypothèse que l'ajout d'une fonction amine proche du carbone pseudo-anomérique pourrait permettre une interaction ionique avec le second résidu carboxylate. Il était attendu que la liaison, et donc le pouvoir d'inhibition, d'un tel inhibiteur soit grandement amélioré si cette seconde interaction ionique se produisait.

L'ajout de diamines monoprotégées sur le thioimide **72** ou son analogue en série *D-manno*, a permis, après plusieurs étapes de déprotection, d'obtenir une fonction amine reliée à l'azote exocyclique par un court espaceur. Ces mannoamidines montrent les meilleures inhibitions envers l' α -mannosidase de Jack-bean, par un iminosucre monovalent, décrites à ce jour dans la littérature (Tableau 14).

Tableau 14 Inhibition en μM des gluco et mannoamidine possédant une fonction amine supplémentaire

Enzyme						
	67 n = 2	68 n = 3	69 n = 4	61 n = 2	62 n = 3	63 n = 4
α -mannosidase (Jack-bean)	0,006	0,019	0,012	0,06	0,09	0,12

Nous nous sommes donc inspirés de ces structures pour concevoir de nouveaux iminosucres multivalents affins de mannosidases.

b) Synthèse réalisée au laboratoire

i. Schéma de rétrosynthèse

La synthèse envisagée au laboratoire a été inspirée du travail décrit en 2004 par Heck et Mioskowski.^[255] Il a été prévu que la construction des iminosucres multivalents serait réalisée *via* CuAAC avec des plateformes polyalcynes, comme dans les travaux précédents.^[260–263] Pour cela, il était alors nécessaire de concevoir un ligand, greffé d'un espaceur fonctionnalisé par un groupement azoture (Schéma 13). Ce groupement azoture peut être obtenu par transfert de groupement diazo à partir d'une amine en utilisant par exemple l'azoture d'imidazole-1-sulfonyl, utilisé comme alternative à l'azoture de triflyle, particulièrement explosif. L'azoture d'imidazole-1-sulfonyl a été décrit pour la première fois, en tant que réactif de transfert de diazo, par Goddard-Borger en 2007.^[264] Ce réactif est explosif à l'état sec mais ses analogues chlorhydrate ou hydrogénosulfate sont stables.^[265,266] Ce transfert de groupement diazo est la réaction formelle inverse de la réaction de Staudinger.

Les fonctions amines pourraient être déprotégées par hydrolyse acide de groupements Boc. Le glyconoamidine acétylé serait obtenu à partir de son analogue polyhydroxylé obtenu après hydrogénation catalytique du composé tétrabenzylé. La protection d'une fonction amine par un

carbamate au cours de l'hydrogénation catalytique est décrite par Vankar *et al.*^[267] Enfin, la formation de l'amidine est envisagée selon la procédure décrite par Heck et Mioskowski^[255] en modifiant uniquement la longueur du bras espaceur par rapport à la publication, en utilisant une diamine monoprotégée d'une longueur de 6 carbones.

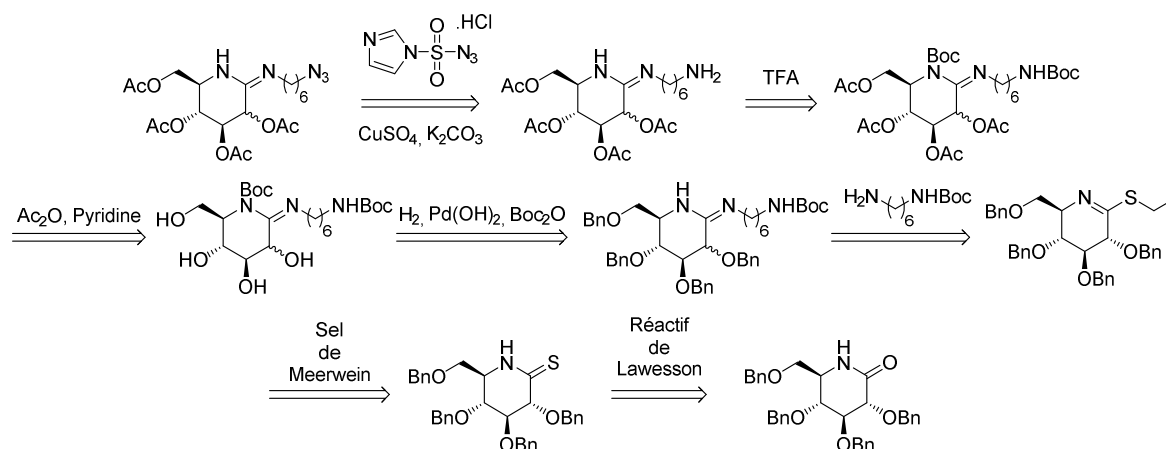


Schéma 13 Rétrosynthèse envisagée pour l'obtention des glyconoamidines utilisables dans une réaction de CuAAC

ii. Synthèse du thiolactame

Le thiolactame **71** a été obtenu à partir du D-glucono- δ -lactame **70** via une réaction de thionation. La réalisation des conditions décrites par Li^[268] ou encore Vasella^[269], en présence de 0,75 équivalent de réactif de Lawesson dans du toluène à température ambiante pendant 28 h permet d'atteindre le thiolactame **71** avec des rendements compris entre 65 et 88 %. Le rendement énoncé par la littérature de 99 % n'a jamais pu être obtenu. L'application d'autres conditions décrites plus récemment,^[270] en présence de pyridine et de tamis moléculaire, ont permis d'atteindre le thiolactame **71** avec un rendement proche d'un rendement quantitatif (Schéma 14). Une faible fraction de **71** en mélange avec un sous-produit résultant de l'épimérisation du centre C-2 a pu quelques fois être isolée.

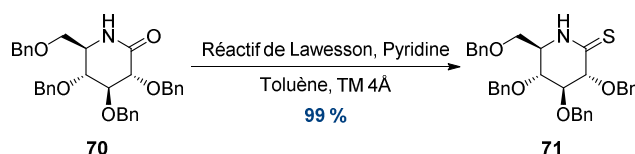


Schéma 14 Synthèse du thiolactame **71** par réaction de thionation

iii. Synthèse des glyconoamidines

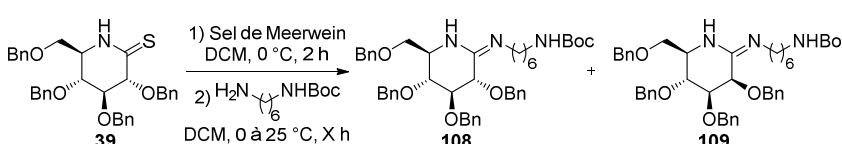
Le thiolactame obtenu **71** a ensuite été engagé dans la réaction permettant la formation de la fonction amidine. Les différents rendements en gluco- et mannoamidines obtenus sont décrits dans le tableau suivant (Tableau 15). La première ligne du tableau, surlignée en beige, correspond aux conditions optimales décrites dans la littérature (Tableau 15 – Entrée 1).^[255] Un premier essai en suivant ces conditions, mais avec un temps de réaction plus important, n'a pas permis d'isoler les produits voulus (Tableau 15 – Entrée 2). Un second essai en respectant scrupuleusement le temps indiqué par l'article a permis d'obtenir seulement 18 % du mélange des deux épimères (Tableau 15 – Entrée 3). Leur séparation n'a pas été possible.

La quantité de sel de Meerwein a ensuite été augmentée pour s'assurer de l'achèvement de la première étape et 0,6 équivalent d'amine ont été ajoutés lors de la seconde étape. Le groupe de Striegler^[259] mentionne la dégradation de leurs composés en série D-*galacto* lorsque la procédure de purification suivie est la procédure décrite par Mioskowski *et al.*, utilisant une chromatographie sur gel de silice.^[255]

L'utilisation d'oxyde d'aluminium basique leur a permis d'éviter cette dégradation. Dans notre cas, la silice utilisée lors de la purification par chromatographie a alors été neutralisée par ajout d'ammoniaque. La glucoamidine **108** a été isolée avec un rendement de 17 % et la mannoamidine **109** avec un rendement de 43 % (Tableau 15 – Entrée 4). L'éluant utilisé lors de la colonne était un éluant ternaire contenant 1 % d'ammoniaque. Celui-ci est biphasique et rend la reproductibilité de la purification difficile. Cet éluant a alors été modifié pour un mélange ternaire Acétonitrile/Méthanol/Ammoniaque. Malgré une séparation satisfaisante sur CCM, seule la glucoamidine **108**, éluant la première, a pu être isolée avec un rendement de 21 % (Tableau 15 – Entrée 5). Un ajustement du temps de réaction par rapport aux meilleures conditions observées jusqu'alors (Tableau 15 – Entrée 4) a permis d'obtenir les glyconoamidines avec un rendement global de 52 % avec un ratio 4 :1 en faveur de la mannoamidine **109** (Tableau 15 – Entrée 6).

A ce stade, la synthèse a été poursuivie malgré une nécessité certaine d'optimisation de la purification des glyconoamidines.

Tableau 15 Tableau des résultats obtenus pour la formation des glyconoamidines



Entrée	Temps	Eq. Sel de Meerwein	Eq. amine	Purification	η 108	η 109
1	8 h	1	1,8	DCM/MeOH 98:2	22 %	66 %
2	21 h	1,1	1,8	DCM/MeOH 97:3	-	-
3	8 h	1,1	1,8	DCM/MeOH 97:3	18 % mélange	-
4	24 h	1,8	2,4	DCM/MeOH 98:2 + 1% NH ₃ aq.	17 %	43 %
5	45 h	1,35	2,9	MeCN/MeOH/NH ₃ aq. 60:1:1	21 %	-
6	17 h	1,2	1,8	DCM/MeOH 98:2 + 1% NH ₃ aq.	10 %	42 %

iv. Essais d'hydrogénation

Le premier essai de débenzylation a été réalisé en suivant les conditions décrites par Vankar *et al.*^[267] permettant de protéger l'azote endocyclique et de débenzyler les groupements hydroxyles en un pot (Schéma 15). Malheureusement, l'analyse par RMN du brut réactionnel n'a montré aucun avancement de la réaction.

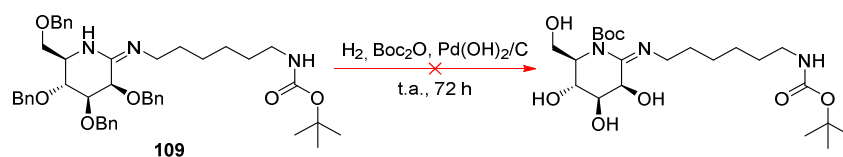


Schéma 15 Essai de débenzylation par hydrogénation catalytique

La reproduction des conditions d'hydrogénation décrites par Mioskowski *et al.*^[255] par le groupe de Striegler ne leur a pas permis d'obtenir la galactoamidine débenzylée désirée.^[259] Conforté par des observations RMN, le groupe de Striegler fait l'hypothèse de la formation d'un complexe palladium-amidine empêchant alors la réaction d'hydrogénation catalytique d'avoir lieu (Schéma 16).

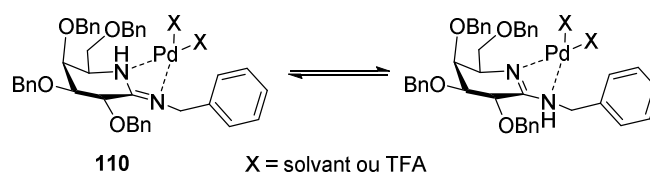


Schéma 16 Structure supposée d'un complexe palladium-amidine^[259]

Pour éviter cet empoisonnement du catalyseur par l'amidine, l'amine endocyclique a été protégée par un groupement Boc avec un rendement de 71 % (Schéma 17) en suivant le protocole de Takeushi *et al.*^[271] A nouveau, l'essai de débenzylation a échoué ne montrant aucun signe d'avancement après 72h par analyse RMN (Schéma 17).

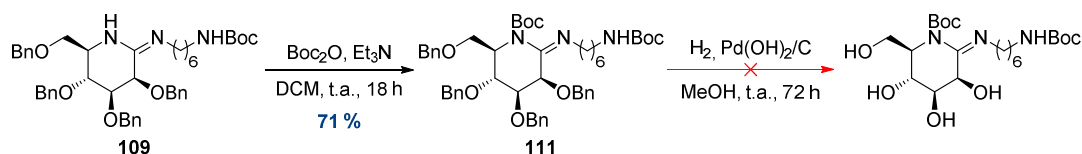


Schéma 17 Protection de l'amidine et essai de débenzylation

Lors d'un nouvel essai, le catalyseur de Pearlman a été remplacé par du palladium sur charbon, comme décrit par Mioskowski *et al.*^[255], mais à nouveau aucun produit de débenzylation n'a pu être isolé.

Le groupe de Striegler, rencontrant le même problème, a tenté d'augmenter la quantité de catalyseur Pd/C de 30 % à 1 ou 2 équivalents ou encore de réaliser la réaction sous une pression de 10 ou 25 atm, mais aucune de ces conditions n'a fonctionné.^[259] L'ajout d'HCl dans le milieu a également été inefficace. C'est en présence de TFA et de 2 équivalents de Pd/C que le groupe de Striegler a réussi à déprotéger la galactoamidine **110**.

Ces dernières conditions n'ont pas encore été testées au laboratoire.

c) Défis et problèmes

Après purification puis évaporation des fractions contenant les gluco- et mannoamidines à l'évaporateur rotatif, un sous-produit correspondant à l'élimination d'un groupement OBn a été identifié par analyse ESI-MS au cours de la réaction entre la diamine protégée et le thiolactame **71**.

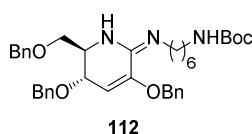


Figure 50 Produit d'élimination d'un groupement benzyle supposé identifié par spectroscopie de masse

La déprotection des iminosucres multivalents peracétylés est classiquement réalisée au laboratoire par le biais d'une résine basique échangeuse d'ions (Chap 3. II) 2) a)). L'observation de la décomposition totale d'une glucoamidine peracétylée lors de la réaction de déprotection des acétates en condition basique par le groupe de Ueda^[258] laisse envisager la possible fragilité de la fonction amidine lors de l'étape finale de déprotection prévue pour nos composés multivalents.

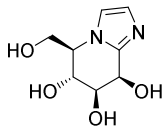
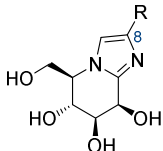
Pour vérifier la stabilité des glyconoamidines, le composé **109** a été solubilisé dans du méthanol et mis à réagir pendant trois jours avec de l'Amberlite IRA 400 OH⁻, résine utilisée pour la déprotection de groupements acétates au laboratoire. Après analyse par ESI-MS, le produit d'élimination **112** (Figure 50), a été identifié mais aucun rendement n'est associé.

De plus, l'application des meilleures conditions de formation des glyconoamidines donne des résultats variables avec des rendements moyens voire faibles. Au vu de la difficulté de purification des glyconoamidines, du problème de débenzylation par hydrogénation rencontré et de l'instabilité des produits dans les conditions prévues pour la déprotection finale des composés multivalents, nous avons décidé de choisir une nouvelle cible synthétique.

2) Les glycoimidazoles

La seconde famille d'iminosucres ayant été identifiée comme affine envers les mannosidases était la famille des glycoimidazoles. Le mannoimidazole « nu » **73** a un K_i de 0,6 μM et des K_i allant jusqu'à 0,04 μM peuvent être atteints par fonctionnalisation de la position C-8 située sur le cycle imidazole ([Tableau 16](#)).

Tableau 16 Rappel des K_i des mannoimidazoles envers l' α -mannosidase de Jack-bean en μM

			
Enzyme	73	90 R = CH ₂ OC ₆ H ₄ (4-NO ₂)	91 R = CH ₂ NHPh
α -mannosidase (Jack-bean)	0.6	0,041	0,068

Les glycoimidazoles sont des molécules bicycliques possédant un cycle dérivé de sucre et un cycle imidazole fusionnés. La synthèse de ces composés peut se faire soit par formation du cycle dérivé de sucre à partir d'un substrat possédant le cycle imidazole, soit par formation du cycle imidazole à partir d'un substrat dérivé de sucre.

a) Méthodes de synthèse du squelette imidazole

i. Formation via une forme ouverte de sucre à partir d'un imidazole fonctionnalisé

La méthode utilisée par Tatsuta pour effectuer la synthèse de mannoimidazoles et de glucoimidazoles débute par une attaque nucléophile de l'imidazole lithié **113** sur le L-xylofuranose benzylé **114** causant l'ouverture de l'hémiacétal ([Schéma 18](#)). Les dérivés du L-gulose **115** et du L-idose **116** sont obtenus respectivement avec des rendements de 64 et 19 % ([Schéma 18](#)).^[272]

Les dérivés imidazole **115** et **116** sont activés sélectivement par ajout de chlorure de benzènesulfonyle. La déprotection du groupement trityle en présence d'acide acétique, libéré lors de la protection de l'alcool libre restant, permet une réaction de cyclisation intramoléculaire menant au squelette bicyclique. Le D-mannoimidazole **117** et le D-glucoimidazole **118** sont obtenus respectivement à partir du dérivé L-gulose **115** et L-idose **116** ([Schéma 18](#)).

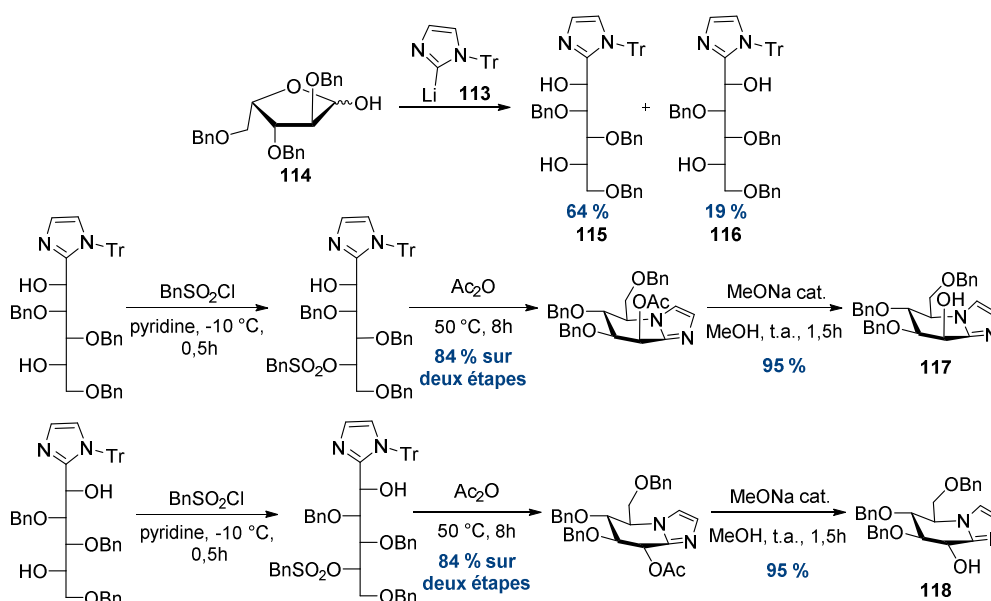
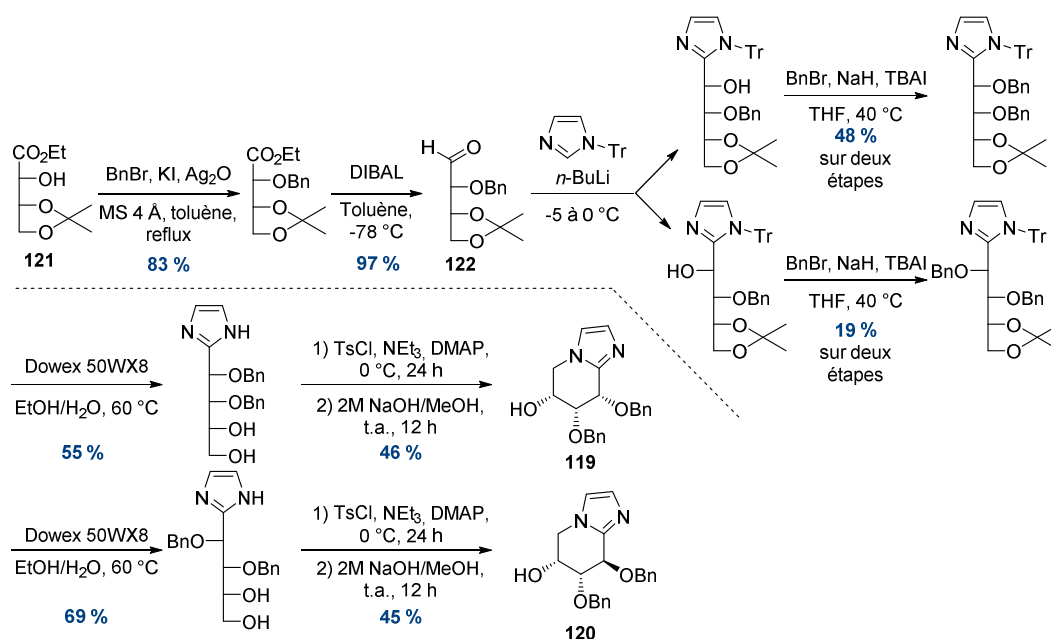
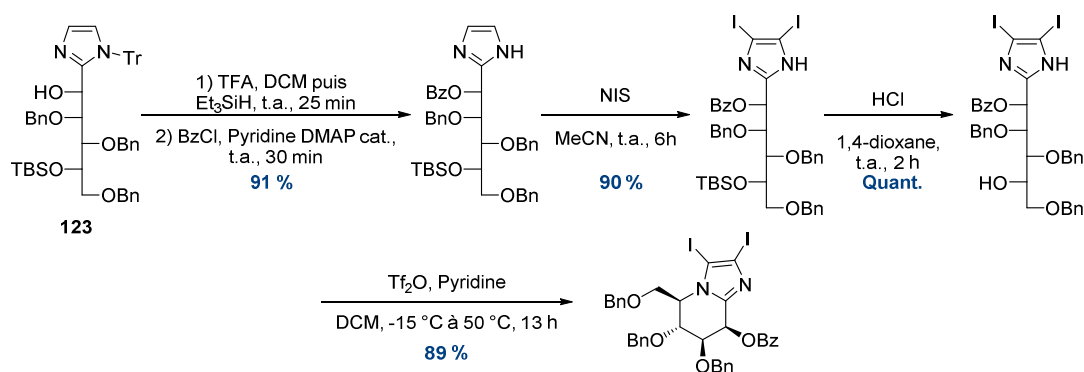


Schéma 18 Synthèse des D-manno et D-glucoimidazoles par Tatsuta

Tschamber et Streith proposent une voie de synthèse vers des composés D-riboimidazole **119** ou encore D-arabino **120** (Schéma 19).^[273] La synthèse débute par une protection de l'éthyl D-érythronate **121** puis la réduction de l'ester en aldéhyde. L'imidazole *N*-tritylé est ensuite déprotoné à l'aide de *n*-butyl lithium, permettant une attaque nucléophile sur l'aldéhyde **122**. Le groupement hydroxyle libre formé est ensuite protégé par un groupement benzyle. Le groupement acétal et le groupement trityle sont ensuite déprotégés en milieu acide à l'aide d'une résine échangeuse d'ions. Le composé est alors *N*- et *O*-tosylé, de manière sélective sur l'alcool primaire. L'intermédiaire ditosylé dissous dans un mélange NaOH/MeOH mène au produit de cyclisation intramoléculaire (Schéma 19).

Schéma 19 Synthèse squelette glycoimidazole par Tschamber et Streith^[273]

La méthode utilisée par van Aalten (Schéma 20)^[274] possède des similitudes avec celle de Tschamber et Streith. Le composé **123** est obtenu après attaque nucléophile de l'imidazole lithié sur l'aldéhyde correspondant. La fonctionnalisation du cycle imidazole est réalisée, avant cyclisation, par bis-iodation à l'aide de NIS. La cyclisation est effectuée par ajout d'anhydride triflique et de pyridine (Schéma 20).

Schéma 20 Méthode de cyclisation et fonctionnalisation par van Aalten^[274]

L'équipe de Tschamber, décrit en 2006, une autre façon de former le cycle imidazole (Schéma 21).^[275] La conversion du L-arabinose (**124**) en diéthylthioacétate s'effectue par une double attaque d'éthanethiol sur la position anomérique. Après benzylation des alcools, le dithioacétal est ensuite hydrolysé en aldéhyde. La fonctionnalisation du cycle imidazole dépend directement de la dicétone

utilisée lors de la réaction de condensation menant au cycle aromatique. La cyclisation est ensuite réalisée selon une méthode similaire à celles énoncées précédemment (Schéma 21).

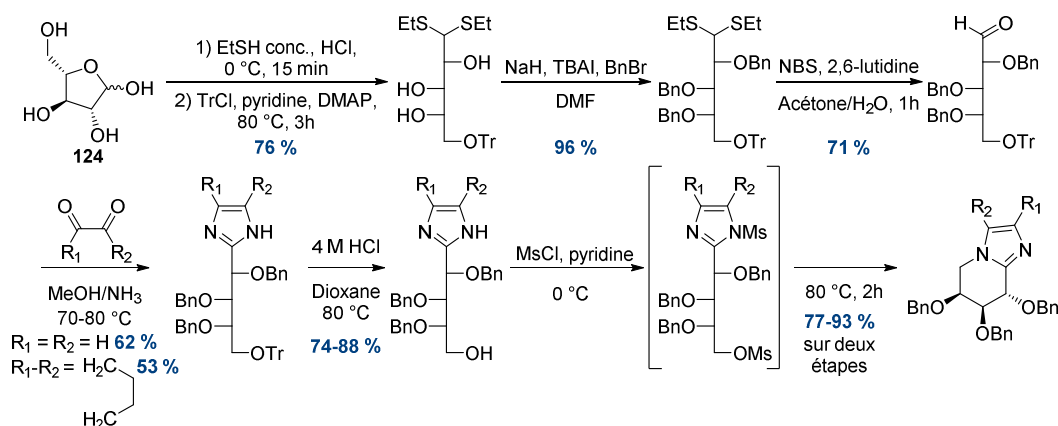
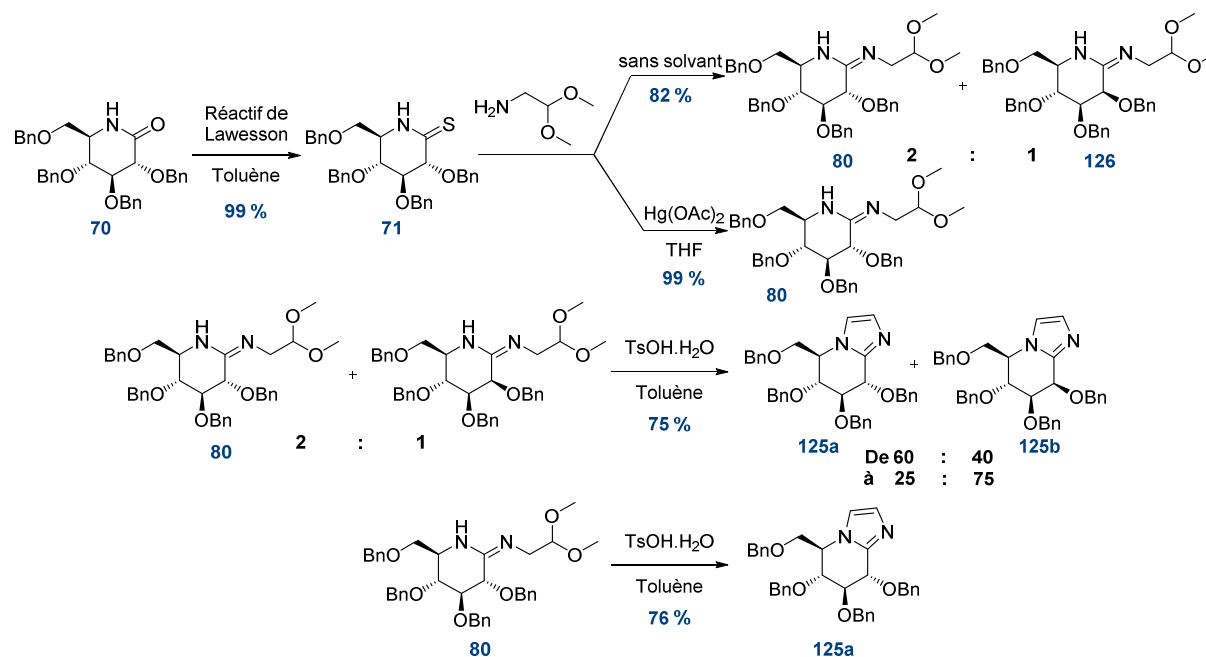


Schéma 21 Méthode de synthèse de glycoimidazole par Tschamber^[275]

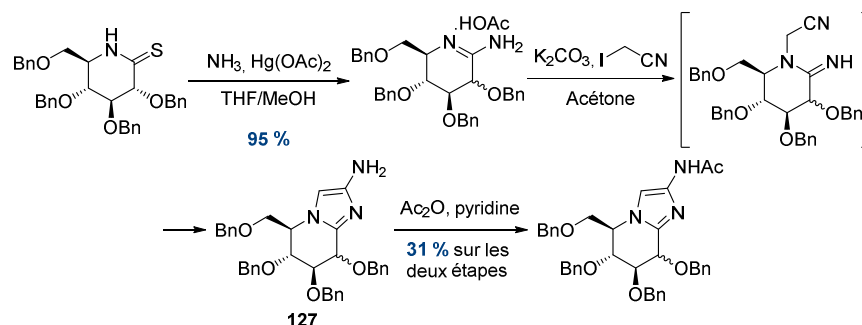
Enfin, la stratégie envisagée par Yadav, publiée en 2010,^[276] s'appuie sur la méthode de condensation entre l'aldéhyde et la dicétone décrite par Tschamber^[275] (Schéma 21) et consiste en la condensation de D-glucose ou D-xylose sur une benzoïne, en présence d'acétate d'ammonium et d'acide oxalique. La réaction est réalisée sous irradiations micro-ondes et ne nécessite pas de solvant.

ii. Construction du cycle imidazole à partir d'un dérivé de sucre

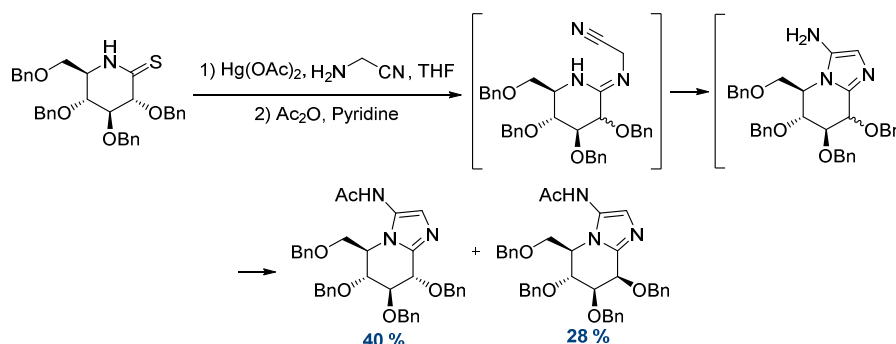
L'approche de Vasella est différente et débute avec le tétra-*O*-benzyl-D-glucono- δ -lactame,^[269] obtenu en 3 étapes dans notre laboratoire à l'échelle du gramme (Schéma 7 – p. 42). Le lactame subit une réaction de thionation grâce au réactif de Lawesson (Schéma 22). Le thiolactame **71** est obtenu avec un rendement *quasi* quantitatif. Une addition nucléophile sur le carbone pseudo-anomérique par action du diméthylacétal de l'aminoacétaldéhyde mène au squelette glyconoamidine. La réaction, réalisée sans solvant, mène à l'obtention d'un mélange 2:1 *D-gluco* et *D-manno*amidine avec un rendement de 82 %. Cette réaction d'épimérisation peut être évitée en ajoutant de l'acétate de mercure au milieu. La gluconoamidine est alors obtenue avec un rendement de 99 %. La déprotection de l'acétal en milieu acide permet une cyclisation menant à la formation des glycoimidazoles (Schéma 22). Le *ratio* entre les deux épimères *D-gluco* et *D-manno* varie en fonction des conditions réactionnelles. L'ajout d'eau dans le milieu diminue la quantité de mannoimidazole formé à moins de 10 % (76 % pour le *gluco*imidazole **125a**). Si la solution est plus concentrée, et sans ajout d'eau, la réaction est plus lente mais le mélange est enrichi en mannoimidazole.

Schéma 22 Synthèse du squelette glycoimidazole selon Vasella^[269]

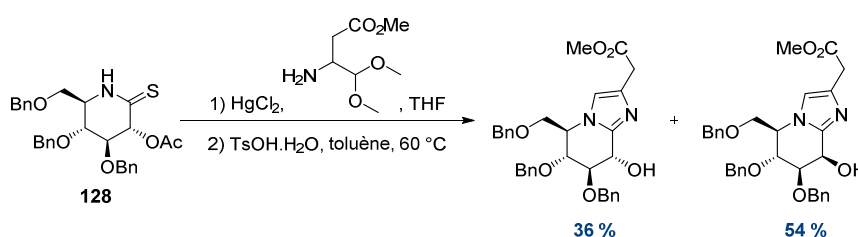
En 1999, le groupe de Vasella publie une alternative vers la synthèse de glycoimidazoles, toujours à partir d'un thioamide.^[277] La cyclisation permettant la formation de l'imidazole s'effectue par alkylation de l'amidine par l'iodure de cyano-méthyle. La fonction nitrile peut être portée par l'azote endocyclique et l'amine nucléophile situé à la place de l'oxygène glycosidique (Schéma 23) ou inversement avec la fonction nitrile portée par l'azote exocyclique (Schéma 24). L'intermédiaire **127** possédant une amine libre est instable,^[277] il est donc acétylé dès sa formation.

Schéma 23 Autre méthode décrite par Vasella en 1999^[277]

La formation de l'amidine préalablement fonctionnalisée avec un groupement cyano, par utilisation de d'aminoacétonitrile, permet d'obtenir les D-glucosidazoles et D-mannosidazoles avec de meilleurs rendements, après acétylation (Schéma 24).

Schéma 24 Seconde méthode décrite par Vasella en 1999^[277]

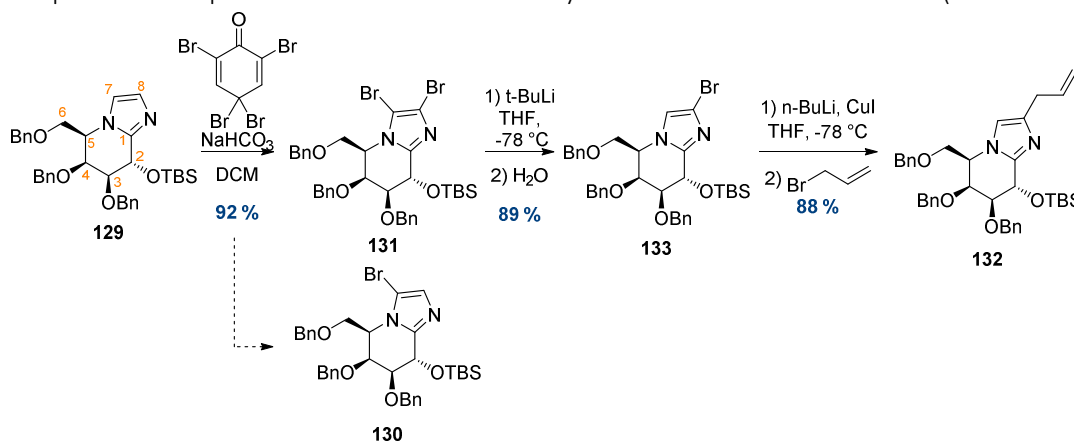
En 2004,^[278] le groupe de Vasella combine formation du cycle imidazole et présence d'un bras sur celui-ci en faisant réagir le thioamide avec un aminoacétaldéhyde fonctionnalisé (Schéma 25). La réaction est réalisée à partir d'un thioamide protégé sélectivement par un groupement acétate en position C-2.

Schéma 25 Alternative proposée en 2004 par Vasella^[278,279]

La synthèse du tétra-*O*-benzyl-D-glucono- δ -lactame **70** étant déjà optimisée au laboratoire,^[39,170] la méthode de synthèse pour la formation du squelette glycoimidazole utilisée lors de ma thèse a été inspirée par celle publiée par Vasella en 1997.^[269]

b) Méthodes de fonctionnalisation du cycle imidazole

Tatsuta a utilisé une réaction de bromation pour fonctionnaliser le cycle imidazole (Schéma 26). L'introduction régiosélective d'un groupement alkyl en position C-8 du glycoimidazole a été tentée à l'aide de nombreuses conditions.^[280] La position C-7 est généralement connue pour être plus réactive que la position C-8.^[281] C'est pourquoi, un essai de bromation sélective à partir de **129** mène au produit bromo C-7 non désiré **130**. Grâce à un excès de 2,4,4,6-tétrabromo-2,5-cyclohexadiénone, le produit dibromé **131** est obtenu avec un rendement de 92 %. La lithiation régiosélective, s'appuyant sur la différence de réactivité entre les positions C-7 et C-8, permet après hydrolyse d'obtenir le produit bromé en C-8 avec un rendement de 89 %. Le composé allylique **132** est obtenu à partir du dérivé organocuprate de **133** par action sur le bromure d'allyle avec un rendement de 88 % (Schéma 26).

Schéma 26 Fonctionnalisation du cycle imidazole par Tatsuta^[280]

La méthode de Vasella^[282] employée pour fonctionnaliser le cycle imidazole est analogue à la méthode de Tatsuta. Celui-ci utilise le *N*-iodosuccinimide pour ioder le noyau aromatique (Schéma 27). De la même manière, la réaction d'iodation débute sur le carbone C-7 puis sur le carbone C-8, après réaromatisation du cycle. La méthode de fonctionnalisation utilisant le NIS sera la plus souvent utilisée dans la littérature.^[268,274,275,282–284] Cette méthode a été choisie par notre laboratoire pour la fonctionnalisation du cycle imidazole.

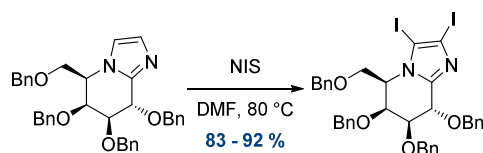


Schéma 27 Méthode fonctionnalisation au NIS du cycle imidazole par Vasella^[282]

c) Synthèse stéréodivergente réalisée au laboratoire

i. Schéma de rétrosynthèse

D'après les différentes synthèses déjà décrites dans la littérature, la cible visée par le laboratoire et les synthèses déjà optimisées au sein de l'équipe, la préparation envisagée pour atteindre un inhibiteur appartenant à la famille des glycoimidazoles est décrite ci-dessous (Schéma 28).

Le groupement azoture terminal sera installé *via* S_N2 à l'aide d'un bon groupement partant X. Les benzyles seront remplacés par des acétates car une poly-débenzylation totale est plus difficilement réalisable^[50,82] qu'une poly-saponification sur les composés multivalents finaux. Le greffage du bras espaceur sur le ligand pourra être réalisé par réaction de couplage de Sonogashira. Le cycle imidazole sera fonctionnalisé à l'aide de NIS puis action d'un réactif de Grignard, pour avoir la sélectivité en position C-8. Enfin, le squelette glycoimidazole sera obtenu par réaction de la 2,2-diméthoxyéthylamine sur un thiolactame perbenzylé (Schéma 28).

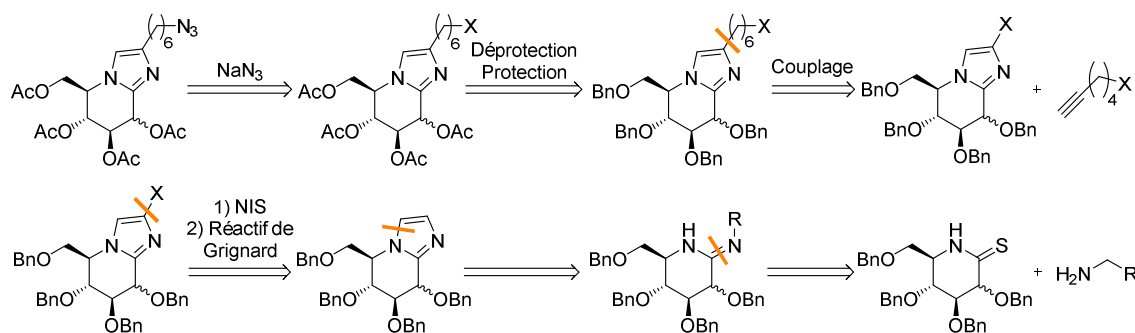


Schéma 28 Schéma de la rétrosynthèse choisie pour la préparation de ligands glycoimidazole

ii. Formation D-Gluco et D-Mannoimidazoles

Vasella indique, dans son article de 1997,^[269] que l'ajout d'eau lors de la réaction de cyclisation en présence de l'acide paratoluènesulfonique, diminue la quantité en mannoimidazole formé. Or, c'est le composé que nous cherchons à obtenir majoritairement. La réaction de cyclisation a donc été réalisée avec du toluène anhydre.

Nous avons commencé par tester les conditions décrites par Vasella (Tableau 17 – Entrée 1). Les glycoimidazoles sont obtenus avec un rendement de 77 % (75 % litt.) et un *ratio* de 2 : 1 en faveur de la formation du glucoimidazole **125a**. Si la température est augmentée et le temps de réaction réduit, les D-gluco et D-mannoimidazoles sont obtenus avec un *ratio* identique mais avec un rendement plus intéressant de 93 % (Tableau 17 – Entrée 2). L'augmentation de la concentration augmente légèrement la proportion en composé mannoimidazole **125b** formé mais le rendement global est abaissé de 10 %

(Tableau 17 – Entrée 3). En réaugmentant à nouveau le temps de réaction pour la cyclisation, le *ratio* 3 : 2 en faveur du glucoimidazole est conservé et les rendements sont améliorés à environ 95 % (Tableau 17 – Entrées 4 et 5). L'application de ces conditions à l'échelle du gramme permet d'obtenir les glycoimidazoles **125a** et **125b** avec un rendement global de 81 % (Tableau 17 – Entrée 6). Le complément « a » au numéro de molécule indique que l'espèce est en série D-*gluco* et le complément « b » indique que l'espèce est en série D-*manno*.

Les rendements obtenus étant excellents, même à l'échelle du gramme, et le ratio 3 : 2 permettant de poursuivre en parallèle la synthèse des inhibiteurs en série D-*gluco* et D-*manno*, les conditions choisies sont les suivantes : temps 1 au minimum de 20h, temps 2 compris entre 60 et 70 heures, température de la réaction de cyclisation de 60 °C à une concentration de 0,07 mol/L (Tableau 17).

La présence d'aminoacétaldéhyde résiduel lors de l'étape de cyclisation mène au D-glucono- δ -lactame **70** en mélange avec son analogue épimérisé en position C-2. Ce retour au lactame a été observé par Vasella en 2004 et décrit comme étant dû à la décomposition du carboximide formé lors de la réaction.^[285] Dans leur cas, l'ajout de triéthylamine et de tamis moléculaire a permis d'éviter la formation du lactame. La 2,2-diméthoxyéthylamine, soluble dans l'eau,^[269] a été éliminé du brut réactionnel par lavages aqueux.

Tableau 17 Tableau d'optimisation pour la formation des D-*gluco* et D-*manno*amidines à partir du thiolactame **39**

Entrée	Substrat	Tps 1	Tps 2	T° 2	C (mol/L)	η	η 125a	η 125b	Ratio D- <i>gluco</i> /D- <i>manno</i>
1	275 mg	25 h	2,5 j	50 °C	0,06	77 %	44 %	23 %	2 : 1
2	145 mg	24 h	26 h	60 °C	0,04	93 %	60 %	33 %	2 : 1
3	210 mg	24 h	26 h	60 °C	0,1	84 %	51 %	33 %	3 : 2
4	280 mg	20 h	63 h	60 °C	0,07	96 %	58 %	38 %	3 : 2
5	590 mg	20 h	63 h	60 °C	0,07	94 %	55 %	39 %	3 : 2
6	1,2 g	3,5 j	70 h	60 °C	0,07	81 %	48 %	33 %	3 : 2

iii. Réactivité du cycle imidazole pour l'iodation et l'échange halogène/métal

Le cycle imidazole peut être activé par des réactions de substitution électrophile aromatique. L'addition d'un électrophile sur le cycle imidazole est régiosélective et a lieu préférentiellement sur le carbone C-7 car l'intermédiaire de Wheland correspondant est plus stable.^[281] L'utilisation d'une faible quantité de NIS (< 5 éq.) mène au produit monoiodé en position C-7 majoritairement, en mélange avec le composé diiodé.^[282] Le composé monoiodé en position C-8 n'est jamais observé dans ces conditions. L'ajout d'un large excès de NIS (10 éq.) est donc nécessaire pour qu'une double substitution électrophile aromatique puisse avoir lieu sur les carbones C-7 et C-8 (Schéma 29).[§]

[§] Pour éviter la dégradation du NIS, sensible à la lumière, les réactions ont été réalisées sous une enceinte opaque.

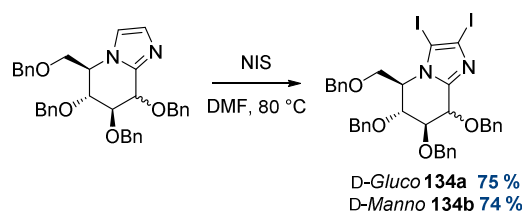


Schéma 29 Diiodation du cycle imidazole

Une fois le composé diiodé obtenu, la prochaine étape de réaction consiste en un échange régiosélectif halogène métal suivi de l'hydrolyse de l'espèce organomagnésienne formée pour obtenir le composé monoiodé en position C-8.

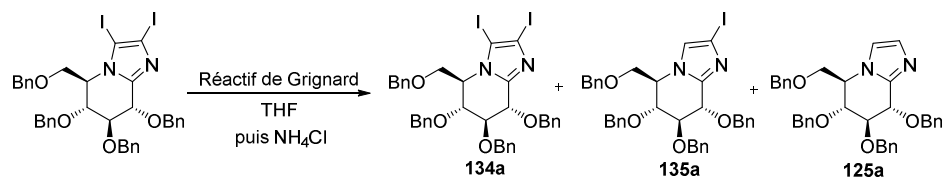
Le premier échange I/Mg aura alors lieu sur le carbone C-7, comme décrit dans la littérature.^[281] Après le premier échange I/Mg, la densité électronique du cycle aromatique augmente ce qui ralentit le second échange.^[286] Néanmoins, ce second échange a pu être observé dans la littérature^[283] et lors de certains essais réalisés au laboratoire (Tableau 18).

Le protocole suivi initialement (Tableau 18 – Entrée 1) était celui décrit par Vasella en 2003.^[283] Le rendement obtenu en produit monoiodé **135a** était de 57 % contre 88 % décrit dans la littérature.^[283] Le produit de double échange halogène-métal est obtenu avec un rendement de 32 % contre 10 % par la méthode de Vasella. Pour l'essai suivant, la quantité initiale du réactif de Grignard a été réduite. De plus, la température d'ajout du réactif a été abaissée à 0 °C puisque la réactivité des organomagnésiens est fortement dépendante de la température de réaction (Tableau 18 – Entrée 2). Le suivi réactionnel a montré que la conversion du substrat n'était pas totale, l'ajout successif de 6 fractions de 0,1 équivalent de EtMgBr espacées de 2 heures n'a pas permis d'améliorer la conversion du substrat. La solution initialement orange translucide est également devenue trouble. Le produit a été obtenu avec un rendement de 54 % et 25 % de substrat de départ a été isolé. La quantité de réactif de Grignard initialement ajoutée a alors été augmentée à 1,6 équivalents pour pallier ce manque de réactivité (Tableau 18 – Entrée 3). Cependant, 41 % de substrat de départ n'ayant pas réagi a été isolé. L'observation de solides blancs en suspension et la solution devenant trouble au fur et à mesure de l'ajout de réactif, sans amélioration de la conversion du composé diiodé, laisse supposer une réaction de décomposition du réactif de Grignard. La présence d'impuretés dans le réactif utilisé ou une réaction de β -élimination pourrait expliquer ce problème de conversion. Le bromure d'éthylmagnésium a alors été remplacé par le chlorure d'isopropylmagnésium.

Le rendement obtenu, en réutilisant les conditions décrites dans la littérature,^[283] s'en est alors trouvé nettement amélioré (71 %) (Tableau 18 – Entrée 4). Un temps de réaction trop long mène à une chute de rendement (Tableau 18 – Entrée 5) tandis qu'un temps de réaction court (30 minutes) mène à un rendement élevé de 83 % (Tableau 18 – Entrée 6). En passant à l'échelle du gramme, le temps de réaction est doublé (Tableau 18 – Comparaison entrées 6 et 11). Abaisser la température d'ajout du réactif de Grignard et la température de réaction permet d'augmenter le rendement en produit monoiodé **135a** jusqu'à 84 % dans les conditions optimisées à partir de 1,2 g de substrat. En effet, les réactions d'échange halogène-magnésium peuvent se produire à des températures inférieures à 0 °C, ce qui limite les réactions secondaires parasites.^[286]

L'application des conditions optimales obtenues en série D-*gluco* à la série D-*manno* permet d'obtenir le composé monoiodé **135b** avec des rendements élevés compris entre 70 et 79 %.

Tableau 18 Tableau d'optimisation de l'échange halogène métal régiosélectif sur le glucodiiodimidazole



Entrée	Substrat	Réactif	Eq.	η 134a	η 135a	η 125a	Tps	T°
1	100 mg	EtMgBr	1,2	-	57 %	32 %	40 min	25 °C
2	110 mg	EtMgBr	1,15 + 0,6	25 %	54 %	-	15 h	0 à 25 °C
3	100 mg	EtMgBr	1,6 + 0,5	41 %	51 %	-	3 h	-5 à 0 °C
4	102 mg	<i>i</i> PrMgCl	1,2	5 %	71 %	-	1 h	-10 à 0 °C
5	96 mg	<i>i</i> PrMgCl	1,2	9 %	58 %	-	2 h	-15 °C
6	93 mg	<i>i</i> PrMgCl	1,1	-	83 %	-	30 min	-15 °C
7	385 mg	<i>i</i> PrMgCl	1,1	-	60 %	-	2 h	-15 °C
8	383 mg	<i>i</i> PrMgCl	1,1	5 %	73 %	5 %	1 h	-5 °C
9	840 mg	<i>i</i> PrMgCl	1,1	3 %	76 %	2 %	1 h	-5 °C
10	1 g	<i>i</i> PrMgCl	1,1	12 %	71 %	-	1 h	-10 °C
11	1,2 g	<i>i</i> PrMgCl	1,1	6 %	84 %	-	1 h	-15 à -10 °C

d) Couplage de Sonogashirai. Historique et mécanisme

Le couplage de Sonogashira a été décrit en 1975 par Sonogashira, Tohda et Hagihara.^[287] Les auteurs se sont inspirés des travaux publiés par des pionniers du domaine, Stephens et Castro.^[288] Ils décrivent, en 1963, la substitution d'iodure aromatique par des acétylures de cuivre dans le but de synthétiser des diphenylacétylènes et des hétérocycles. Les réactions sont réalisées au reflux de la pyridine sous atmosphère inerte. Les conditions dures et la difficulté de préparation des acétylures de cuivre limitent le champ d'application de cette réaction.

La publication de Sonogashira et Hagihara succède de peu les travaux de Cassar^[289] et Heck^[290] décrivant, de manière indépendante, la même réaction de substitution, avec des catalyseurs similaires, permettant d'obtenir des acétylures aromatiques ou vinyliques (Schéma 30). Le couplage de Heck est réalisé en présence de $\text{Pd}(\text{OAc})_2(\text{PPh}_3)_2$ en tant que catalyseur, d'une amine en tant que base, à des températures d'environ 100 °C. La procédure de Cassar nécessite un catalyseur au nickel(0) ou au palladium(0), respectivement $\text{Ni}(\text{PPh}_3)_3$ ou $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, du méthanolate de sodium en tant que base et des températures élevées. L'ajout d'une quantité catalytique de cuivre dans le milieu réactionnel permet d'accélérer la réaction et de la réaliser à des températures plus faibles, voire à température ambiante.

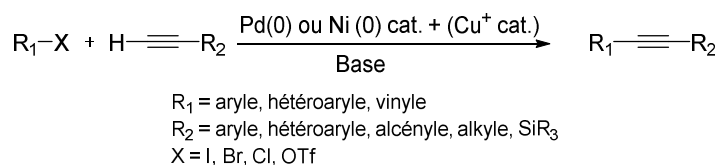


Schéma 30 Schéma général des réactions de Cassar, Heck et Sonogashira

Le mécanisme décrit pour le couplage de Sonogashira est le suivant (Schéma 31). L'espèce active lors de la réaction est le palladium(0). Si du palladium(II) est utilisé, celui-ci est d'abord réduit en palladium(0) par une double substitution par des acétylures de cuivre, puis élimination réductrice

formant le produit d'homocouplage, un diyne, et le palladium(0) (Schéma 31 - 1). L'addition oxydante du premier partenaire de couplage (Schéma 31 - 2), la transmétallation entre le complexe de palladium halogéné et l'acétylure de cuivre (Schéma 31 - 3), formé à l'aide d'une base, de type amine, et d'halogénure de cuivre (Schéma 31 - 4), permet après métathèse (Schéma 31 - 5) et élimination réductrice (Schéma 31 - 6) d'obtenir le produit de couplage désiré.

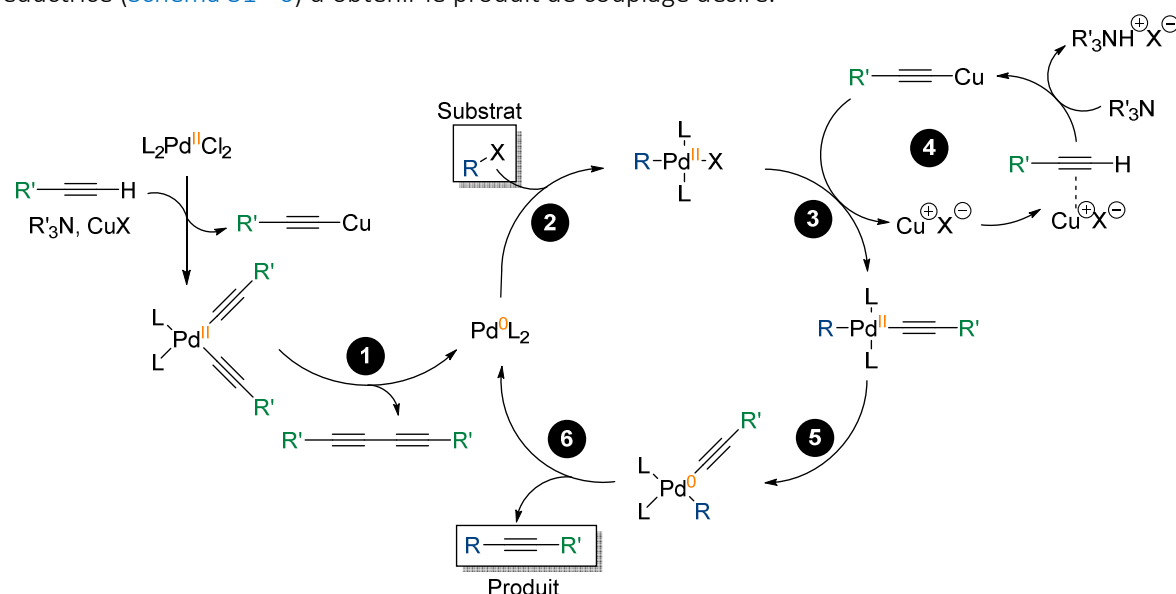


Schéma 31 Mécanisme du couplage de Sonogashira^[291,292]

Des revues très complètes décrivant l'application et les conditions réactionnelles du couplage de Sonogashira en synthèse organique ont été publiées.^[292,293]

ii. Optimisation

Dans le cadre de notre synthèse, un travail d'optimisation a été réalisé sur le couplage de Sonogashira entre l'iodo glucoimidazole **135a** et le 6-chloro-1-hexyne.

Les conditions initiales suivies sont celles décrites dans les articles de Vasella et de Li,^[268,282,283] 5% de Pd(PPh₃)₄, 10 % de CuI, 5 équivalents de base, 6 équivalents d'alcyne, dans du DMF (c = 0,05 mol/L) à 80°C pendant 2 à 3 heures (Tableau 19 – Entrée 1). La conversion du substrat n'étant pas totale, du palladium et du cuivre ont à nouveau été ajoutés dans le milieu à trois reprises, ainsi que 1,5 équivalents d'alcyne. La réaction, arrêtée au bout de 78 h a permis d'obtenir le composé désiré avec 42 % de rendement (Tableau 19 – Entrée 1). Le second essai a été réalisé en effectuant deux ajouts du système CuI-Base-Alcyne avec un espacement de 5 h. Le produit **136a** a été obtenu avec un bon rendement de 86 % (Tableau 19 – Entrée 2). Les mêmes conditions appliquées sur une échelle plus importante ont mené à une baisse de rendement (64 %) (Tableau 19 – Entrée 3). Malgré l'augmentation de la charge en palladium, les rendements ne sont pas améliorés (Tableau 19 – Entrée 4 et 5). Les milieux concentrés favorisant les réactions intermoléculaires, un essai a été réalisé en multipliant par 4 la concentration du milieu. Le rendement obtenu de 60 % est similaire aux précédents résultats obtenus (Tableau 19 – Entrée 6). Deux autres essais réalisés à des températures différentes permettent d'établir clairement qu'une température élevée n'est pas favorable à la formation du produit de couplage désiré (Tableau 19 – Entrées 7 et 8). De plus, une fraction importante de produit réduit **125a** a pu être isolée (Tableau 19 – Entrée 7). Le changement du catalyseur pour le Pd(PPh₃)₂Cl₂ ne montre pas d'augmentation significative du rendement (Tableau 19 – Entrée 9). C'est finalement le remplacement de la triéthylamine par la diisopropylamine qui provoque une nette amélioration des rendements obtenus, compris alors entre 76 et 84 % (Tableau 19 – Entrées 10 à 15). L'application de ces conditions à plus

grande échelle, 0,8 g de substrat, permet d'obtenir le produit **136a** voulu avec un rendement de 79 % (Tableau 19 – Entrée 15).

L'isolement d'une fraction, parfois non négligeable (Tableau 19 – Entrée 6), d'un sous-produit iodé a été réalisée. L'analyse RMN de cette fraction n'a pas permis d'identifier clairement sa structure.

Tableau 19 Optimisation du couplage de Sonogashira sur le glucoimidazole monoiodé

Entrée	Substrat	CuI	Catalyseur	Base (éq.)	Eq. hexyne	C (mol/L)	Tps	T°	η 136a	η 137	η 125a
1	40 mg	0,45	Pd(PPh ₃) ₄ 21 %	Et ₃ N (5)	4,5	0,05	78 h	80 °C	42 %	-	-
2	27 mg	0,24	Pd(PPh ₃) ₄ 5 %	Et ₃ N (10)	6	0,05	32 h	40 °C	86 %	-	-
3	104 mg	0,2	Pd(PPh ₃) ₄ 5 %	Et ₃ N (10)	7	0,05	24 h	40 °C	64 %	-	-
4	293 mg	0,2	Pd(PPh ₃) ₄ 10 %	Et ₃ N (10)	8	0,05	24 h	60 °C	56 %	4 %	-
5	181 mg	0,1	Pd(PPh ₃) ₄ 34 %	Et ₃ N (6)	5	0,05	17 h	80 °C	41 %	mix	-
6	44 mg	0,1	Pd(PPh ₃) ₄ 5 %	Et ₃ N (5)	3,2	0,18	17 h	60 °C	60 %	24 %	-
7	121 mg	0,1	Pd(PPh ₃) ₄ 5 %	Et ₃ N (5)	3,5	0,06	17 h	60 °C	66 %	3 %	23 %
8	139 mg	0,1	Pd(PPh ₃) ₄ 5 %	Et ₃ N (5)	3,5	0,06	24 h	80 °C	41 %	-	-
9	106 mg	0,1	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ 5 %	Et ₃ N (6)	4	0,06	14 h	40 °C	69 %	-	28 %
10	69 mg	0,1	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ 5 %	DIPA (5)	4	0,06	24 h	40 °C	84 %	-	-
11	262 mg	0,1	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ 5 %	DIPA (5)	4	0,06	18 h	40 °C	78 %	5%	-
12	280 mg	0,1	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ 5 %	DIPA (5)	4	0,06	23 h	40 °C	80 %	-	-
13	175 mg	0,1	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ 5 %	DIPA (5)	4	0,06	16 h	40 °C	76 %	-	-
14	340 mg	0,1	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ 5 %	DIPA (5)	5	0,06	16 h	40 °C	77 %	-	-
15	840 mg	0,1	Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ 5 %	DIPA (5)	4	0,06	17 h	40 °C	79 %	-	-

L'ajout de cuivre lors de la réaction de Sonogashira montre quelques inconvénients. En effet, le cuivre est difficile à éliminer du brut réactionnel et la présence de traces de dioxygène ou d'agent oxydant dans le milieu réactionnel conduit à la formation du produit d'homocouplage entre deux acétylures de cuivre par couplage de Glaser.^[294,295] Même si ce produit d'homocouplage a été observé pour chaque essai réalisé, trouver des conditions réactionnelles sans cuivre n'a pas été nécessaire.

En effet, la formation de ce sous-produit est particulièrement problématique dans le cas où l'alcyne vrai utilisé comme partenaire de couplage nécessite de nombreuses étapes de synthèse ou est onéreux, ce qui n'est pas le cas ici. Néanmoins, de nombreuses réactions n'utilisant pas de cuivre et pouvant s'effectuer en présence de dioxygène existent.^[293,296]

Les meilleures conditions obtenues en série D-*gluco* (Tableau 19 – Entrées 10 et 15) appliquées en série D-*manno* ont permis d'obtenir le produit désiré **136b** avec un rendement de 76 % sur une échelle de 180 mg.

e) Modifications de l'espaceur en vue de la réalisation de CuAAC

L'étape clé permettant la synthèse des inhibiteurs multivalents étant la CuAAC, la fonctionnalisation de l'espaceur par un azoture terminal est nécessaire. Par une réaction d'hydrogénation, l'alcyne a été réduit en alcane conjointement au changement de groupement protecteur entre benzyle et acétate, réalisé dans le but de faciliter la future déprotection des iminosucres multivalents (Schéma 32). Le brut réactionnel obtenu après hydrogénation est directement engagé, après filtration, dans une réaction d'acétylation.

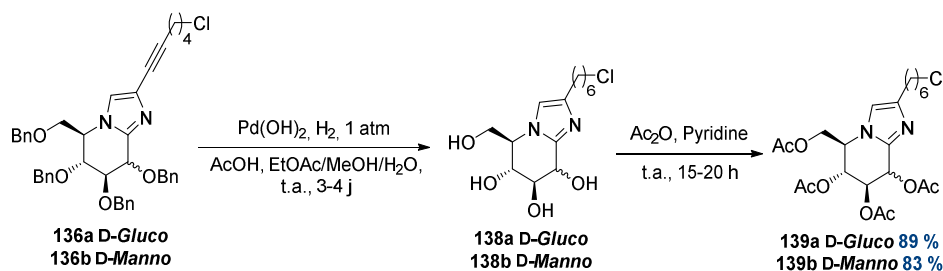


Schéma 32 Hydrogénation puis acétylation des glycoimidazoles

Les conditions d'hydrogénation initialement suivies sont celles décrites par Vasella en 2003, pour un produit similaire, avec un rendement de 80 %.^[283] Ces conditions permettent la déprotection des groupements benzyles simultanément à la réduction de l'alcyne en alcane (Schéma 32). La réalisation de cette réaction d'hydrogénation sur des composés similaires est exclusivement décrite dans la littérature à une pression minimum de 6 bars. Malgré la réalisation de l'hydrogénation sous pression, Vasella mentionne, en 2000, la difficulté d'arriver à l'achèvement de cette réaction.^[282] Par exemple, pour un des essais décrits dans l'article, après 68 h de réaction à 6 bars, le brut réactionnel isolé contenait un mélange de produits partiellement débenzylés. L'alcyne était lui partiellement réduit en alcène. L'ajout de catalyseur frais n'a pas permis d'améliorer le rendement en produit débenzylé. Les groupements hydroxyles ont finalement été déprotégés par ajout d'une solution de BCl_3 .^[282]

La réaction au laboratoire a été réalisée à pression atmosphérique. Le catalyseur n'est alors plus utilisé en quantité catalytique mais en quantité stœchiométrique. Pour chaque essai, le produit totalement hydrogéné (**138a** et **138b**) a été acétylé directement en présence d'anhydride acétique et de pyridine. La réaction a été réalisée à température ambiante pour une durée comprise entre 15 et 20 heures de réaction.

Le premier essai d'hydrogénation après 4 jours de réaction permet d'obtenir le produit déprotégé puis acétylé avec un rendement de 68 % sur deux étapes (Tableau 20 – Entrée 1). Un second essai avec une quantité inférieure de catalyseur, 3,6 équivalents, montre une réaction incomplète même après 6 jours de réaction. Un équivalent de catalyseur a été ajouté puis la réaction a été arrêtée au bout de 4 jours. Le produit a été obtenu avec un rendement de 64 % (Tableau 20 – Entrée 2), toujours en deçà de ce qui était décrit dans la littérature, en considérant que la réaction d'acétylation est *quasi* quantitative. Augmenter la quantité de substrat initiale utilisée semble faciliter la réaction avec un rendement atteignant 87 % sur deux étapes (Tableau 20 – Entrée 3). Un essai réalisé dans les mêmes conditions que précédemment a montré une issue différente. L'avancement de la réaction s'est arrêté au bout de 3 jours même après ajout de 2 équivalents supplémentaires de catalyseur. Le milieu a donc été filtré puis une seconde hydrogénation a été réalisée sur le brut réactionnel. Le rendement obtenu après trois jours supplémentaires de réaction était faible avec seulement 46 % de produit acétylé (Tableau 20 – Entrée 4). La reproduction des conditions utilisées en entrée 3 mène à des résultats contrastés sans explications rationnelles évidentes (Tableau 20 – Entrées 6-9). Les rendements sont compris entre 42 et 78 % et il a parfois été nécessaire de réengager le brut réactionnel, après filtration et concentration, pour que la réaction se poursuive.

Lors des différentes filtrations sur Célite, la présence d'impuretés inorganiques a pu être observée après évaporation du brut réactionnel. Ces impuretés semblent se dissoudre et passer dans le milieu

réactionnel lorsque celui-ci contient un acide, comme l'acide acétique ou encore HCl. Le lavage de la Célite par l'acide utilisé lors de la réaction avant filtration du milieu réactionnel permet d'amoindrir la quantité d'impuretés dissoutes mais ne permet pas de les éviter totalement. Le brut réactionnel a alors été filtré sur une couche de silice pour éviter cette contamination qui a probablement un fort impact sur le rendement de la réaction d'acétylation et pourrait expliquer les fluctuations dans les rendements obtenus.

La réalisation des conditions optimales (4,5 équivalents de $\text{Pd}(\text{OH})_2$) à plus grande échelle et avec filtration du milieu sur une couche de silice aboutit à de bons rendements, 89 et 83 %, comparables à ceux annoncés dans la littérature (Tableau 20 – Entrées 10 et 11).

Tableau 20 Conditions de la réaction d'hydrogénation

Entrée	Série	Masse substrat	Eq. $\text{Pd}(\text{OH})_2$	Temps	Filtration	Rendement sur les deux étapes
1	D-Gluco	28 mg	4,4	4 j	Célite	68 %
2	D-Gluco	52 mg	3,6 + 1	6 j + 4 j	Célite	64 %
3	D-Gluco	150 mg	4,5	4 j	Célite	87 %
4	D-Gluco	176 mg	1) 4,5 + 2 2) 4	1) 3 j + 4 j 2) 3 j	Célite	46 %
5	D-Gluco	215 mg	4,6	2,5 j	Célite	78 %
6	D-Gluco	200 mg	1) 4,5 2) 3,4	1) 4 j 2) 12 h	Célite	67 %
7	D-Gluco	210 mg	1) 4,5 2) 4,5	1) 4 j 2) 1,5 j	Célite	71 %
8	D-Manno	130 mg	1) 4,5 2) 4,5	1) 2,5 j 2) 3 j	Célite	42 %
9	D-Gluco	260 mg	4,5	4,5 j	Célite	42 %
10	D-Gluco	650 mg	4,5	3 j	Silice	89 %
11	D-Manno	710 mg	4,5	3 j	Silice	83 %

La dernière étape permettant d'atteindre un iminosucre « clickable » est la substitution nucléophile du chlore terminal par un groupement azoture. Cette $\text{S}_{\text{N}}2$ est facilitée grâce à l'ajout d'iodure de tétrabutylammonium dans le milieu. De plus, la réaction a été réalisée à une concentration comprise entre 0,17 et 0,2 mol/L. Les rendements obtenus dans les deux séries sont quantitatifs et le produit (**140a** ou **140b**) ne nécessite pas de purification.

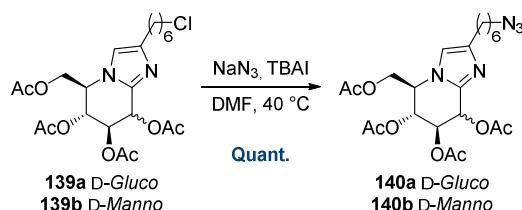


Schéma 33 Substitution du chlore terminal par un groupement azoture

3) Bilan sur la synthèse des inhibiteurs glycoimidazoles

Les meilleures conditions utilisées pour chaque étape de synthèse sont décrites dans le schéma suivant (Schéma 34). Le rendement global sur les 9 étapes à partir du D-glucono- δ -lactame **70** est de 32 % en série D-*gluco* et de 26 % en série D-*manno*. Toutes les réactions ont été réalisées au moins une fois sur 1 mmol de substrat, à l'exception de la réaction utilisant du NaN_3 , et ceci pour des raisons de sécurité.

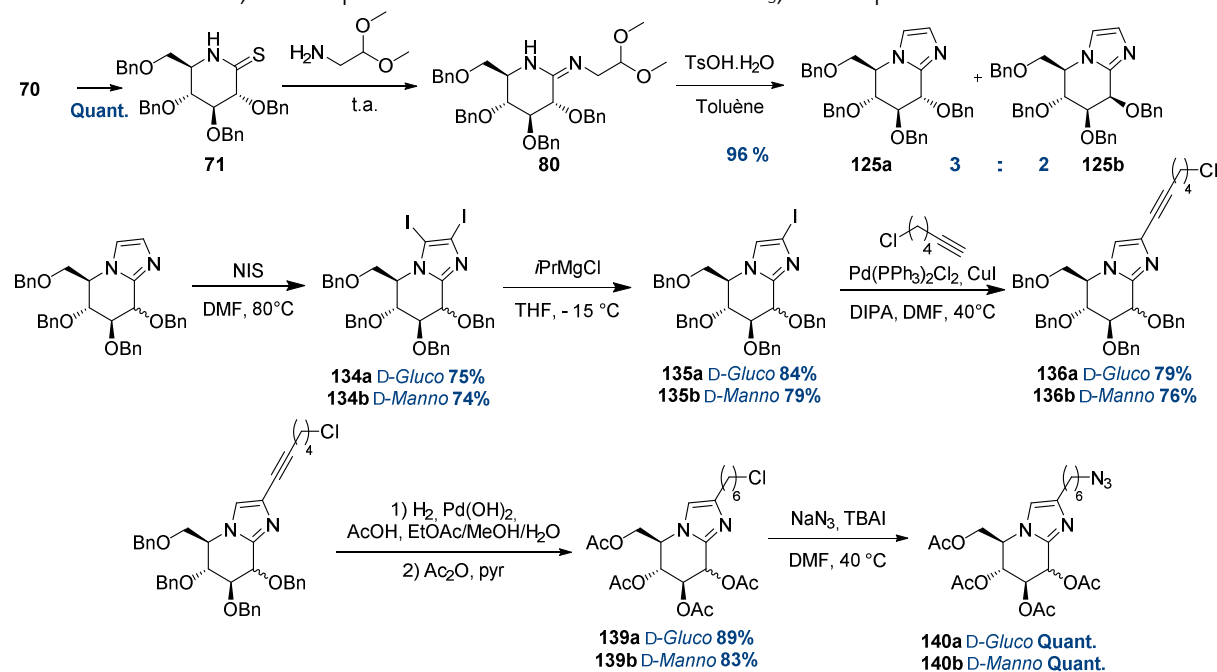


Schéma 34 Schéma global de synthèse des gluco- et mannoimidazoles

II) Synthèse des composés multivalents

1) CuAAC pour atteindre les composés multivalents

a) Historique

La cycloaddition azoture-alcyne catalysée au cuivre, appelée CuAAC, a été décrite simultanément mais de manière indépendante par Sharpless et Fokin^[297] et le groupe de Meldal^[298] en 2002. Cette réaction, inspirée de la cycloaddition de Huisgen,^[299,300] permet grâce à l'ajout de cuivre, une régiosélectivité de la réaction. Le 1,2,3-triazole résultant de la cycloaddition (3+2) entre un alcyne et un triazole en présence de cuivre(I) est uniquement le régioisomère 1,4-disubstitué. Il est également possible de synthétiser l'autre régioisomère 1,5-disubstitué de manière régiosélective en utilisant du ruthénium(II) à la place du cuivre. Cette réaction est nommée RuAAC (Ruthenium catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition) et a été décrite en 2005 également par Sharpless et Fokin (Schéma 35).^[301]

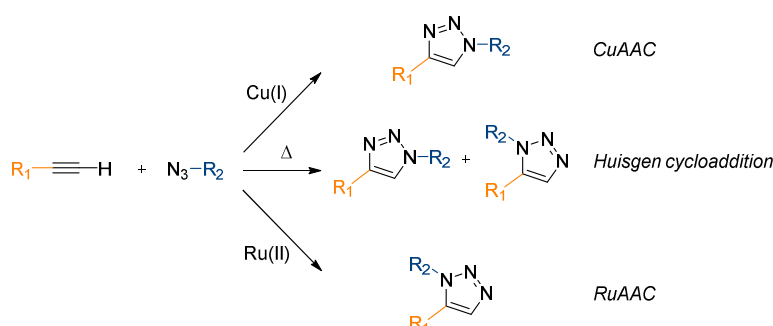


Schéma 35 Régiosélectivité des 1,2,3-triazoles obtenus par cycloaddition [3+2] entre un alcyne et un azoture

Cette réaction fait partie des réactions de chimie-click car elle répond à plusieurs critères :^[302]

- Rendement élevé et économie d'atomes
- Réaction irréversible, rapide et générale
- Conditions expérimentales simples, sous air, sans solvant ou avec solvant non toxique
- Pas de création de liaison C-C
- Substrats de départ stables et faciles d'accès
- Purification simple (recristallisation)

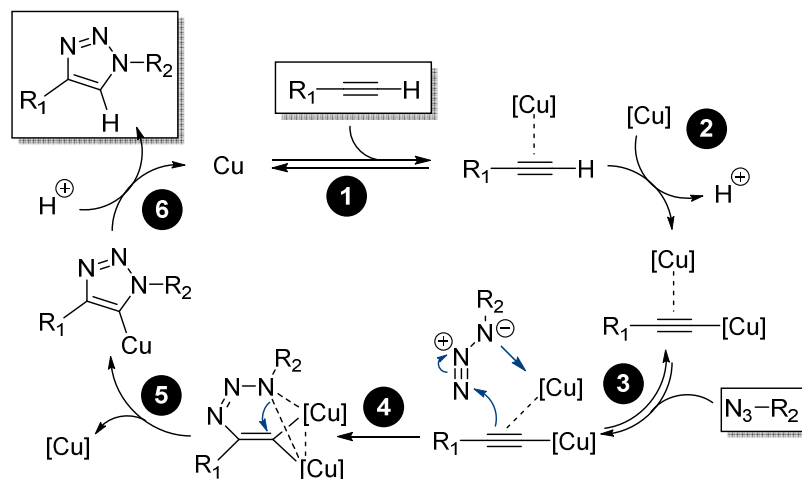
La force motrice de la réaction de CuAAC s'explique de manière thermodynamique. L'enthalpie libre des réactifs est supérieure à l'enthalpie libre des produits qui sont plus stables, avec une différence de plus de 20 kcal/mol. L'ajout de cuivre lors de la cycloaddition permet d'abaisser l'énergie d'activation de la réaction de 10 kcal/mol par rapport à la réaction de Huisgen. La CuAAC est environ 10⁷ fois plus rapide et peut fonctionner à température ambiante.

b) Mécanisme

La CuAAC a rapidement eu un large succès en chimie de synthèse. Malgré sa très large utilisation, le mécanisme de cette cycloaddition catalysée au cuivre est longtemps resté non entièrement élucidé. En 2013, Fokin^[303] et Berg^[304] apportent des précisions et des observations aux précédents mécanismes postulés. Le mécanisme supposé par Fokin est décrit ci-après (Schéma 36).

Le mécanisme débute par la formation d'un complexe π entre l'alcyne et le cuivre(I) (Schéma 36 - 1). L'alcyne est alors activé et son pK_a passe de 25 à 15. Un second équivalent de cuivre forme ensuite une liaison σ avec l'alcyne formant un alcynure de cuivre. L'espèce est alors composée de deux

atomes de cuivre (Schéma 36 - 2). Une preuve du passage par ce complexe à deux cuivres a été apportée en 2015 par l'équipe de Bertrand grâce à l'isolement de l'acétylure π,σ -bis(Cu).^[305] L'azoture est ensuite complexé au cuivre (Schéma 36 - 3) et subit une attaque nucléophile de l'alcyne sur l'azote terminal (Schéma 36 - 4). Une élimination réductrice (Schéma 36 - 5) puis protonolyse de la liaison C-Cu permet d'obtenir le triazole de manière régiosélective (Schéma 36 - 6).

Schéma 36 Mécanisme de la réaction de CuAAC^[303]

L'espèce active lors de la CuAAC est le cuivre(I). Or, celui-ci est thermodynamiquement instable et peu facilement s'oxyde en cuivre(II). L'espèce Cu(II) est inactive pour effectuer la CuAAC et peut engendrer des réactions parasites telles que des réactions d'homocouplage (Schéma 37).

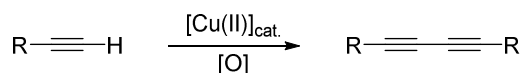


Schéma 37 Réaction d'homocouplage en présence de cuivre et de dioxygène

Pour s'affranchir de ces réactions parasites, le Cu(I) est préparé *in situ* à l'aide d'ascorbate de sodium à partir du sulfate de cuivre. L'ascorbate de sodium est un réducteur. L'oxydation de l'ascorbate de sodium a lieu en présence de Cu(II) ou de dioxygène, s'effectue dans l'eau et permet la libération de deux électrons permettant la réduction de deux équivalents de Cu(II) (Schéma 38).

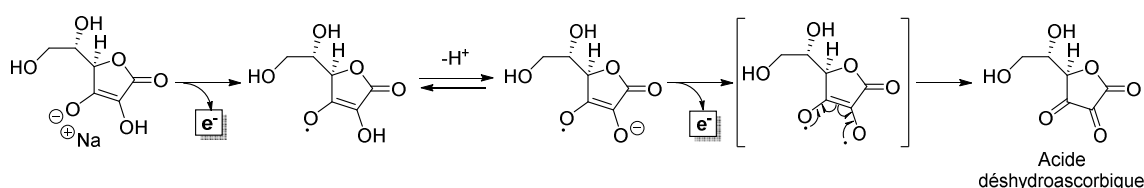


Schéma 38 Oxydation de l'ascorbate de sodium en acide déshydroascorbique

c) Autres réactions de chimie-click existantes

Environ deux tiers des iminosucres multivalents connus à ce jour ont été synthétisés à l'aide de la CuAAC.^[306] La présence d'atomes d'azotes sur les iminosucres et la bonne complexation du cuivre par le motif triazole laissent envisager une contamination hautement probable du composé multivalent par des résidus de cuivre. Les composés multivalents synthétisés jusque là ont été traités à l'aide de NH_3 complexant le cuivre. Une analyse par spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP Inductively Coupled Plasma) réalisée sur différents composés dont le composé 36-valent à motif DNJ basé sur une plateforme cyclopeptide^[40] a permis de doser le cuivre résiduel qui était à une concentration de 60 ppm. Cette concentration est faible comparée aux concentrations obtenues par Marra en 2014, pour des composés tétravalents basés sur des calixarènes, comprises entre 1410 et 780 ppm, par utilisation

de l'EDTA. Ces mesures valident donc l'efficacité de la méthode de complexation à l'ammoniaque puis filtration au travers d'une couche de silice. Une teneur en cuivre même faible peut être gênante dans un contexte médical. Le cuivre devient nuisible si sa concentration est supérieure à 30 ppm, par voie parentérale, ou supérieure à 300 ppm, par voie orale.** Des alternatives à l'utilisation de la CuAAC existent.

La formation d'oxime par réaction entre un aldéhyde et un substrat possédant un groupement oxyamine est également une réaction efficace pour greffer plusieurs épitopes sur une plateforme (Schéma 39). La réaction peut être réalisée en milieu aqueux dans des conditions légèrement acides.^[307] La fonction oxime est stable et plus résistante à l'hydrolyse que les fonctions imines et hydrazones par exemple. Cette méthode sans métal a servi récemment dans la synthèse d'inhibiteurs multivalents de glycosidases basés sur des chaînes peptidiques linéaires ou cycliques.^[306]

L'utilisation de nanoparticules d'or peut également permettre d'atteindre des composés multivalents sans ajout de catalyseur métallique lors de la synthèse. Des ligands greffés d'un espaceur fonctionnalisé par un thiol terminal peuvent s'auto-assembler autour d'une nanoparticule d'or par formation de liaisons Au-S stables.^[308]

La réaction des fluorures de soufre(VI) face à des attaques nucléophiles,^[309] nommée SuFEX (Sulfur Fluoride Exchange) a récemment été remise en lumière et reconnue comme « une autre bonne réaction pour la chimie-click » par Sharpless (Schéma 39).^[310] Les fluorures de soufre sont simples à préparer, ne sont pas sensibles à la présence d'air ou d'eau, sont résistants à l'hydrolyse en milieu acide ou basique et possèdent une réactivité importante face à divers nucléophiles. Les sulfonamides, formés par attaque d'une amine sur un fluorure de soufre, sont connus pour leur application en chimie médicinale comme motif essentiel au développement d'agents thérapeutiques.^[311] La réalisation de biomolécules multivalentes par la biais de SuFEX a été décrite récemment par Marra et Dondoni.^[312]

Ces quelques exemples ne représentent qu'une sélection. D'autres réactions telles que la thiol-ène click (Schéma 39),^[313] la réaction hétéro Diels-Alder ou encore la sulfo-click, entre un thioacide et un azoture de sulfonyle, sont décrites et répondent aux critères d'une réaction « click ».

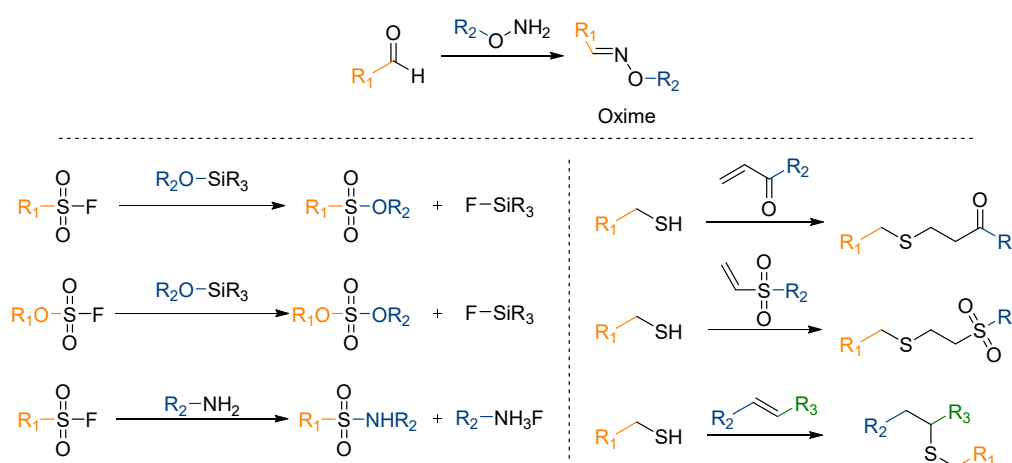


Schéma 39 Oxime ligation, SuFEX et Thiol-ène click

** Issu du rapport de la conférence internationale sur l'harmonisation des exigences techniques pour l'enregistrement de médicaments pour l'homme :

www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3D/Q3D_Step_4.pdf

d) Synthèse des plateformes

Les plateformes utilisées pour la synthèse des composés di-, tri- et tétravalents sont des plateformes basées sur le pentaérythritol. Pour obtenir une plateforme tétravalente, le substrat est entièrement propargylé à l'aide de bromure de propargyle et de NaH selon les conditions décrites dans la littérature (Schéma 40).^[314] Il n'a pas été nécessaire de synthétiser à nouveau la plateforme tétrapropargylée **141** car disponible en quantité suffisante au laboratoire.

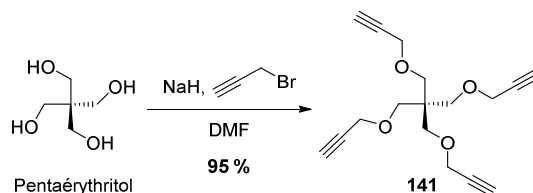
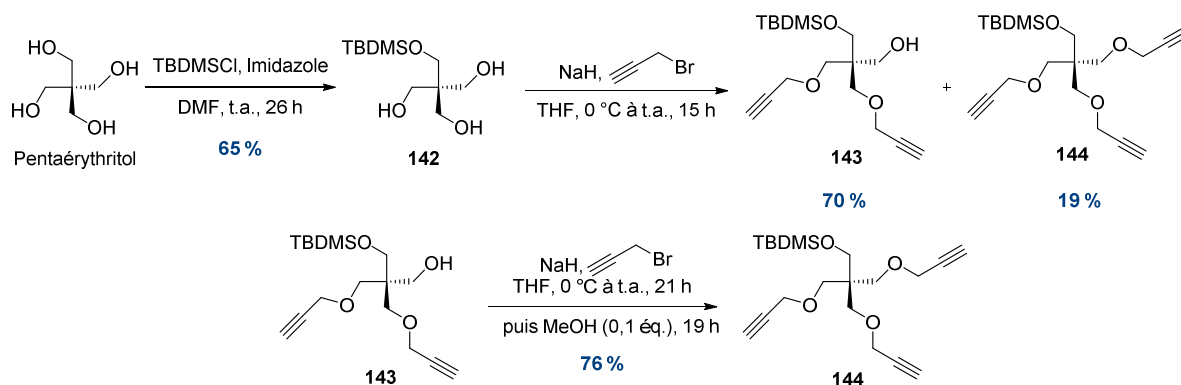


Schéma 40 Synthèse de la plateforme tétravalente à partir du pentaérythritol

La plateforme trivalente a été synthétisée à partir du pentaérythritol préalablement monoprotégé à l'aide de chlorure de *tert*-butyltriméthylsilyle. Les conditions de propargylation sont alors appliquées au substrat **142** menant, de manière surprenante, au mélange des composés di- et tripropargylés, **143** et **144** respectivement (Schéma 41). Le produit **143** partiellement propargylé n'est pas converti en produit tripropargylé **144** même après réengagement dans une nouvelle réaction de propargylation avec un fort excès de base et de bromure de propargyle. L'ajout d'une quantité catalytique de méthanol dans le milieu permet, de façon intéressante, d'obtenir une conversion totale du substrat, comme observé précédemment au laboratoire.^[315] L'ajout de 0,1 équivalent de méthanol lors de la réaction de propargylation du composé **143** mène au produit tripropargylé désiré **144** avec un rendement de 76 % (Schéma 41).

Schéma 41 Synthèse de la plateforme trivalente au laboratoire (thèse de Fabien Stauffert)^[261]

Les composés **142** et **144** étant déjà disponibles au laboratoire, la plateforme divalente a été obtenue en 2 étapes et la plateforme trivalente en une étape, par déprotection du groupement silyle par le fluorure de tétrabutylammonium (Schéma 42).

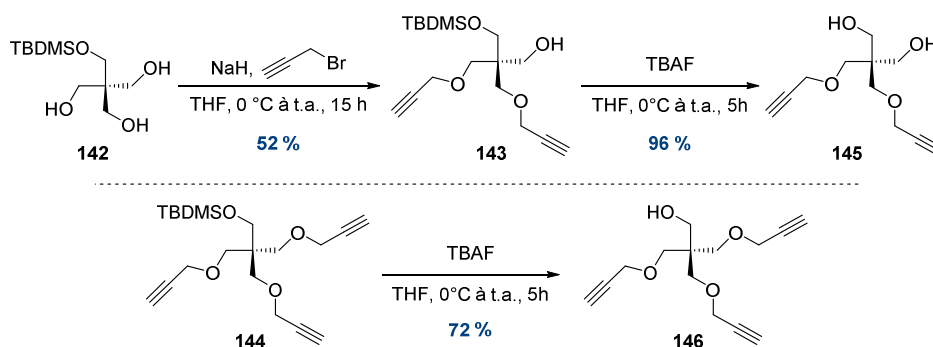


Schéma 42 Synthèse des plateformes di- et trivalentes à partir des substrats disponibles au laboratoire

Une dégradation progressive du composé trivalent déprotégé **146** a été observée, malgré un stockage sous argon et à froid, après seulement deux semaines. La plateforme trivalente a donc été stockée sous forme silylée et a été déprotégée juste avant la réalisation de la réaction de CuAAC.

La plateforme tétradécavalente **147** est basée sur une β -cyclodextrine (β -CD). La propargylation régiosélective, en position C-2 et C-6, a été réalisée en une seule étape par Camille Decroocq, au laboratoire, en suivant le protocole décrit par l'équipe de Vargas-Berenguel (Schéma 43).^[316]

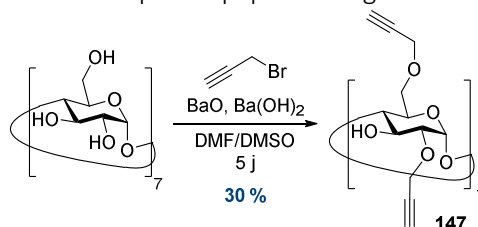


Schéma 43 Formation de la plateforme tétradécavalente^[260]

Lors de la réalisation de cette réaction par C. Decroocq, un mélange de composés comportant 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 et 21 propargyles a été identifié. De multiples purifications très délicates ont permis d'obtenir finalement la plateforme 14-valente désirée avec un rendement de 30 % (37 % litt.).^[316]

e) Synthèse des composés multivalents

i. Conditions expérimentales

Les conditions suivies pour les réactions de CuAAC sont les conditions « classiques » le plus largement utilisées par les chimistes organiciens, optimisées au fil des réactions au laboratoire :

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 0,1 équivalent par fonction alcyne
- Ascorbate de sodium : 0,2 équivalent par fonction alcyne
- Ligand + espaceur : 1,1 équivalent par fonction alcyne
- Température : 80 °C
- Temps : 30 ou 40 minutes par irradiations micro-ondes

Il est nécessaire de travailler avec un léger excès de ligand pour éviter toute réaction de CuAAC incomplète qui pourrait mener à des mélanges complexes de molécules difficilement séparables.

Le cuivre est éliminé par dissolution du brut réactionnel dans un mélange Eau/Ammoniaque/MeCN puis filtration au travers d'une couche de silice. Le cuivre est alors complexé par l'ammoniaque et un dépôt bleu est observé en surface de la silice correspondant au complexe de cuivre(II).

ii. Synthèse des inhibiteurs di-, tri- et tétravalents

Lors de la synthèse de chaque composé multivalent, l'observation par RMN puis la confirmation par ESI-MS d'une déprotection partielle des groupements acétates en position C-2, qui a sans doute eu lieu lors de la filtration à l'ammoniaque explique leur purification difficile. La formation de ce sous-produit n'est en revanche pas un problème puisque que les groupement acétates seront déprotégés lors de l'étape suivante.

Les rendements de CuAAC par fonction alcyne varient entre 80 et 95 %. Cette différence pourrait s'expliquer par la difficulté de purification des inhibiteurs multivalents. De plus, les quantités de plateforme pesée étant très faible, une imprécision lors de cette mesure peut causer une différence de rendement non négligeable.

Dans le cas de la synthèse des composés divalents, les rendements obtenus en diglucoimidazole **148a** et dimannoimidazole **148b** sont de 59 et 64 % respectivement (Schéma 44) ce qui revient à un rendement par CuAAC, rapporté à une seule fonction alcyne d'environ 80%.

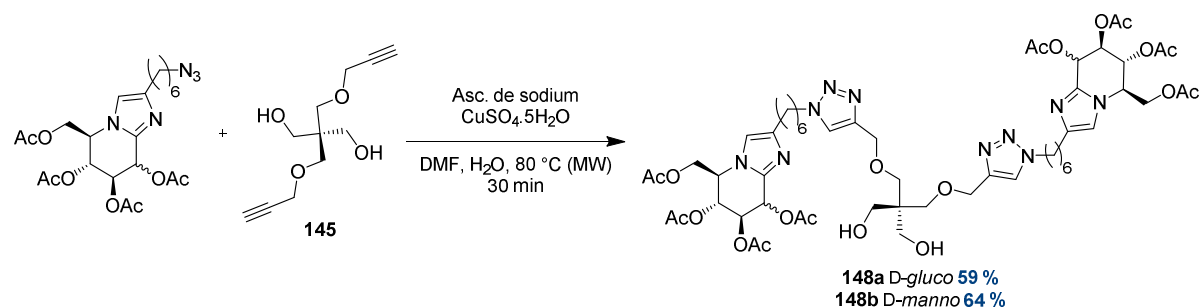


Schéma 44 Synthèse des composés divalents D-gluco- et D-mannoimidazoles *via* CuAAC

Le triglucoimidazole **149a** a été obtenu avec un très bon rendement de 85 %, soit environ 95 % par fonction alcyne. Le rendement en trimannoimidazole **149b** est en revanche plus faible avec une valeur de seulement 47 % (Schéma 45). Le rendement par fonction alcyne est alors similaire à celui obtenu pour les composés divalents.

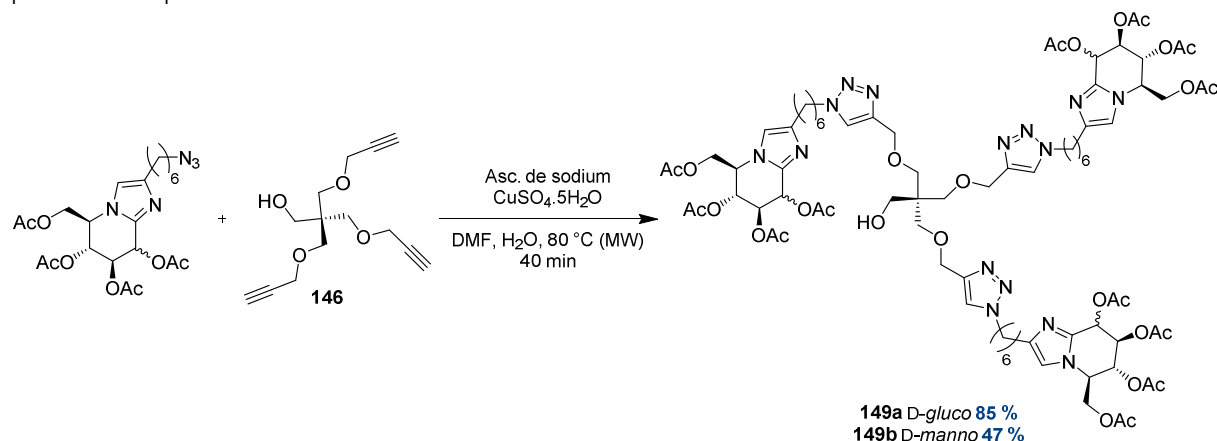


Schéma 45 Synthèse des composés trivalents D-gluco- et D-mannoimidazoles *via* CuAAC

Dans le cas des composés tétravalents D-gluco **150a** et D-manno **150b**, le rendement par fonction alcyne est de 94 %, ce qui équivaut à un rendement global de réaction de 79 et 76 % respectivement (Schéma 46).

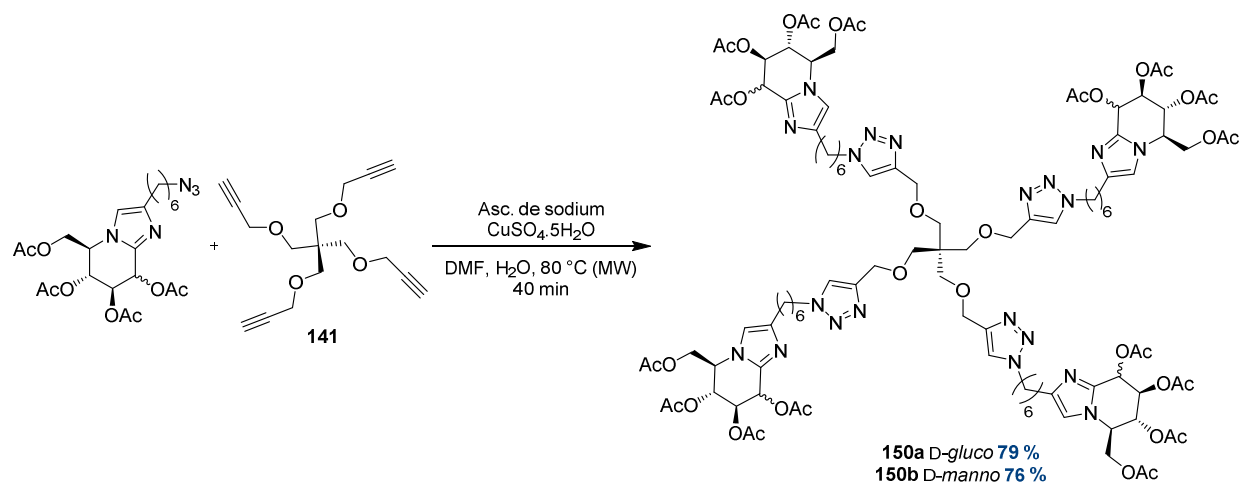


Schéma 46 Synthèse des composés tétravalents D-gluco- et D-mannoimidazoles *via* CuAAC

Le tétradécaaglucoimidazole **151a** a été obtenu avec un rendement de 57 %. Ce rendement est similaire à celui obtenu pour le tétradécamannoimidazole **151b** qui est de 55 % (Schéma 47). A nouveau, le rendement de CuAAC par fonction alcyne est d'environ 94 %, ce qui est très satisfaisant.

Lors de l'analyse RMN des 14-valents, la présence d'une impureté et d'une quantité notable de graisse ont été observés. Deux purifications successives sur gel de silice et lavage du produit par des solutions de pentane pour éliminer la graisse n'ont pas permis leur élimination. Etant donnée la masse molaire élevée de nos composés, 6 223 g/mol, nous avons alors envisagé une purification par chromatographie d'exclusion stérique (GPC Gel Permeation Chromatography). Une fois de plus, l'impureté et la graisse étaient présentes même après la purification par GPC. Cette apparente difficulté à purifier des composés multivalents basés sur une plateforme cyclodextrine peut s'expliquer par un emprisonnement possible de l'impureté et/ou de la graisse dans le cycle de la cyclodextrine, connu pour sa capacité à encapsuler diverses molécules lipophiles.^[317]

Les 14-valents ont été utilisés dans la dernière étape de réaction sans purification supplémentaire.

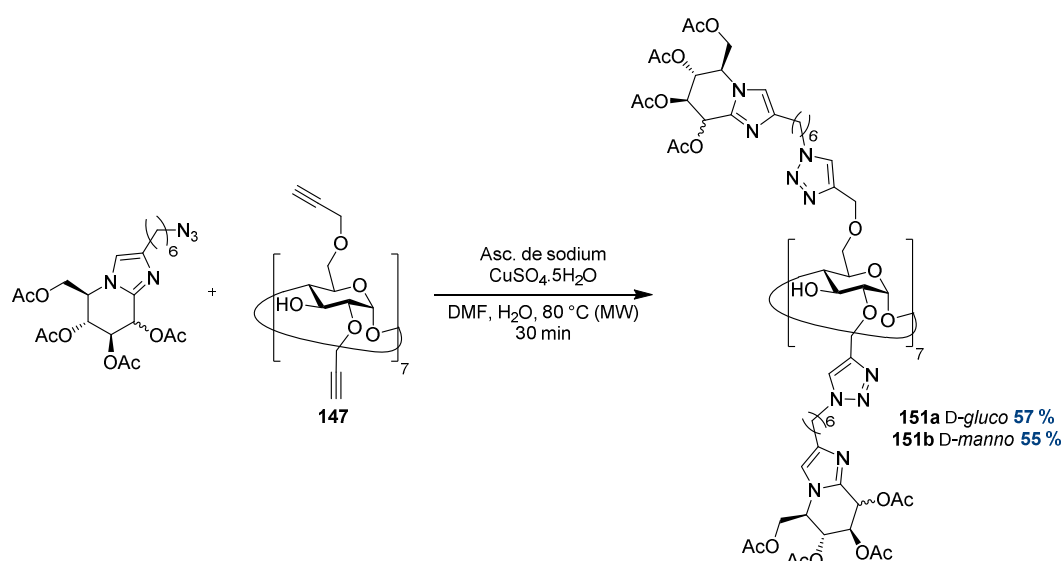


Schéma 47 Synthèse des composés tétradécavalents D-gluco-et D-mannoimidazoles *via* CuAAC

iii. Synthèse des analogues monovalents

Afin de calculer l'effet multivalent des clusters synthétisés, il est nécessaire de comparer leur K_i à celui d'une référence monovalente. Initialement, ces analogues monovalents étaient synthétisés à l'aide de 1-pentyne au laboratoire *via* CuAAC.^[318] Cependant, une réaction d'oxydation a été observée par le Dr. Fabien Stauffert^[261,318] lors de la réaction décrite ci-dessous (Schéma 48).

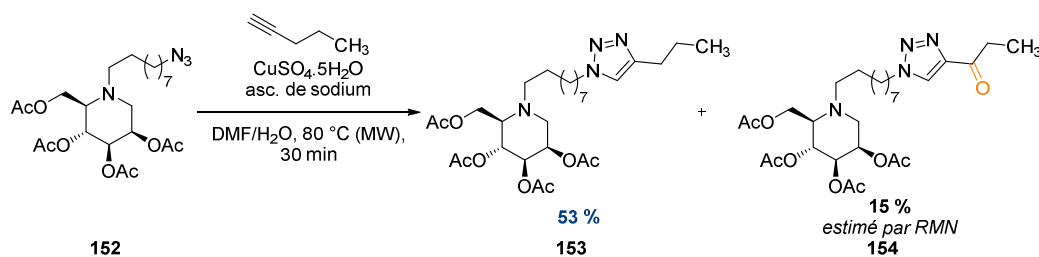


Schéma 48 Formation d'un produit secondaire α -céto-triazole **154**

Des tests réalisés en laboratoire laissent supposer qu'une fraction du 1-pentyne, utilisé en excès, pourrait s'oxyder dans les conditions de la CuAAC et ensuite réagir plus rapidement avec le ligand **152**.

Pour éviter cette réaction d'oxydation observée avec de nombreux ligands, les composés monovalents ont été synthétisés à l'aide de cyclopropylacétylène ne pouvant pas s'oxyder en position α de l'alcyne (Schéma 49).

Dans le cas de la synthèse des composés monovalents, l'alcyne est utilisé en excès, 5 équivalents pour 1 équivalent de ligand.

Le monoglucoimidazole **155a** a été obtenu avec un rendement de 85 % contre un rendement plus faible de 65 % pour le monoamnoimidazole **155b** (Schéma 49).

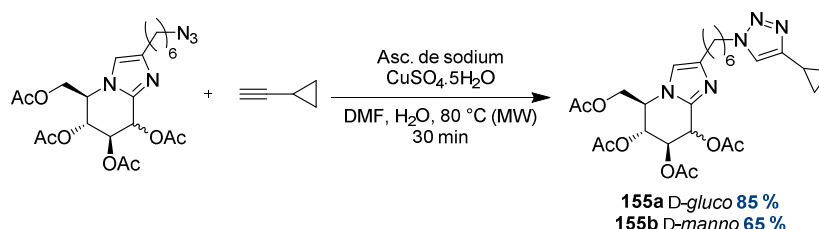


Schéma 49 Synthèse des composés monovalents D-gluco-et D-mannoimidazoles via CuAAC

2) Déprotection des inhibiteurs multivalents acétylés

a) Utilisation d'une résine basique échangeuse d'ions

L'utilisation d'une résine basique échangeuse d'ions permet la saponification simultanée des groupements protecteurs acétates de manière très efficace.^[40,82,319,320] De plus, le produit déprotégé, soluble dans l'eau, ne nécessite pas de purification. Classiquement, une simple filtration puis un rinçage de la résine par un mélange méthanol/eau permet de séparer le composé multivalent de la résine.

Les composés monovalents **155a** et **155b** ont été déprotégés grâce à la résine Amberlite IRA400 OH⁻ préparée fraîchement à partir de la résine Cl⁻. Les rendements obtenus pour les deux séries sont bons malgré une perte de 10 % de rendement pour le monovalent en série D-manno. Ces résultats ont été obtenus sur une échelle de 30 mg de substrat (Schéma 50). La réalisation de la déprotection du monoglucoimidazole **155a** à partir de 85 mg de substrat a mené à une baisse importante du rendement avec une valeur de seulement 65 %.

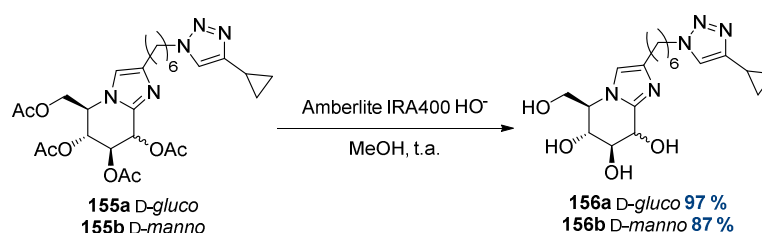
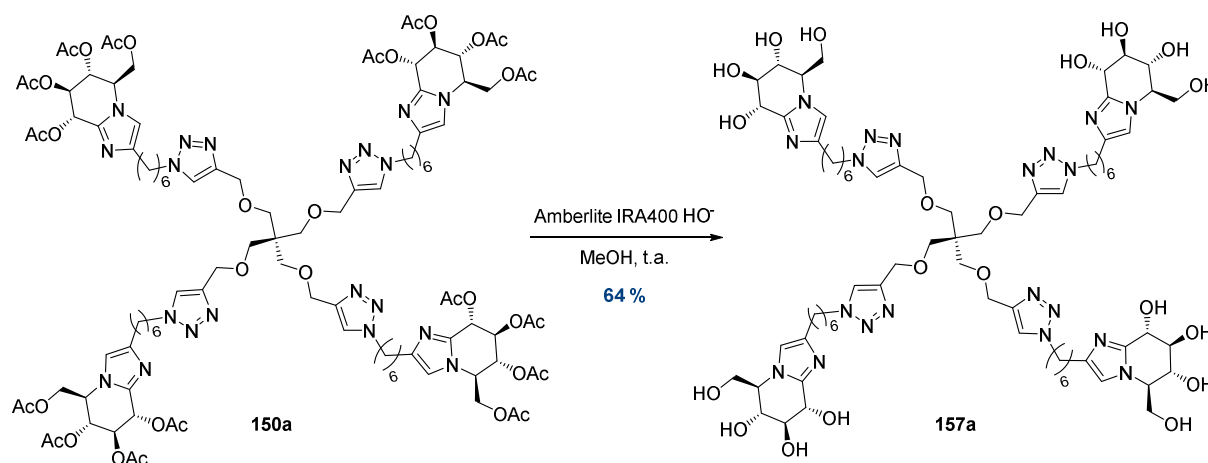


Schéma 50 Déprotection des monogluco et monomannoimidazole **155a** et **155b** par résine basique

Cette méthode utilisée systématiquement sur les composés multivalents précédemment décrits^[40,82,319,320] et menant à des rendements de déprotection *quasi* quantitatifs n'a cependant pas aussi bien fonctionné dans le cas des glycoimidazoles multivalents. Un essai réalisé sur le tétraglucoimidazole **150a** mène au produit déacétylé avec un rendement de 64 %. Ce rendement est anormalement faible et s'accompagne d'une impureté visible par RMN caractérisée par 2 pics : 1 singulet à 1,90 ppm et un singulet à 3,64 ppm.

Schéma 51 Déprotection du tétraglucoimidazole **150a** par résine basique

La déprotection par résine basique des composés triglucoimidazole **149a** et diglucoimidazole **148a** donne des rendements très faibles de 14 et 17 % respectivement. De plus, l'impureté observée précédemment en RMN est également présente. La faible quantité de produit obtenue par rapport à la masse de substrat introduite laisse supposer que le substrat ou le produit pourrait être emprisonné sur la résine. Celle-ci a été rincée successivement avec un mélange MeOH/H₂O, du dichlorométhane, de l'acétate d'éthyle, une solution de HCl à 0,1M et finalement 1M. Pour chaque lavage, quelques milligrammes de résidus ont été isolés mais aucune trace du produit désiré après analyse RMN. Cette incompatibilité entre les glycoimidazoles et la résine basique est encore inexpliquée. L'hypothèse d'une dégradation des iminosucres multivalents sur la résine basique est la plus probable.

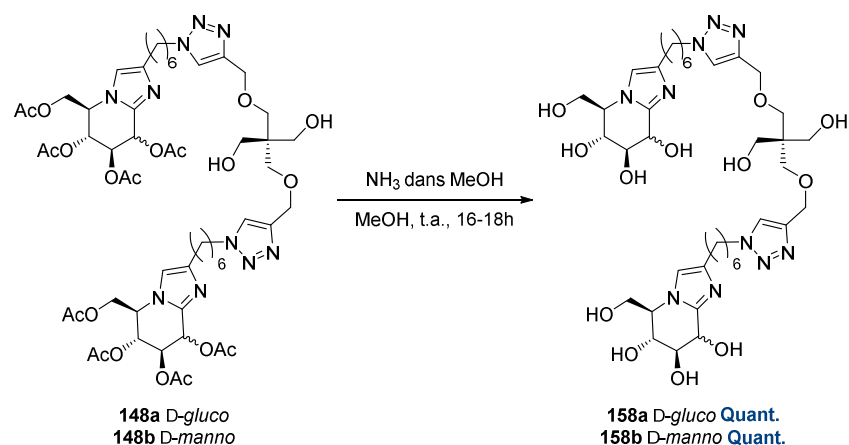
b) Déprotection par une solution d'ammoniaque dans le MeOH

Il était nécessaire de trouver une autre méthode de déprotection ne nécessitant pas de traitement après réaction car les produits obtenus sont solubles dans l'eau. Chaque sous-produit formé lors de la réaction doit pouvoir être éliminé aisément du mélange réactionnel.

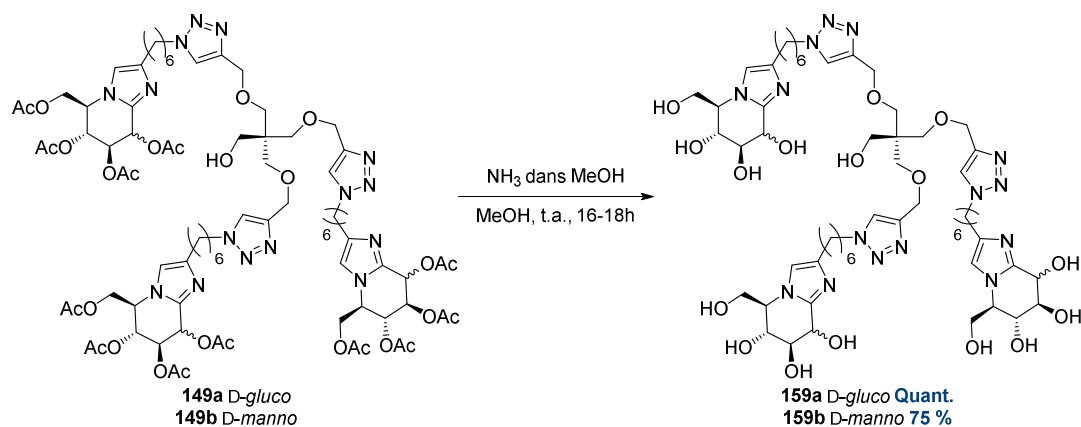
En 1999, Vasella décrit une méthode de déprotection des acétates par action du méthanolate de sodium puis filtration sur une résine H⁺.^[321] Un essai de filtration a été réalisé sur le tétraglucoimidazole **150a** contaminé obtenu après déprotection sur résine basique dans le but de retirer l'impureté présente et de tester la faisabilité de la méthode de Vasella. Malheureusement, après plusieurs lavages de la résine H⁺ avec des solutions d'ammoniaque de 10 à 28 %, le produit initialement déposé n'a pas pu être récupéré. Cette méthode n'est donc pas envisageable pour la déprotection des composés multivalents.

Une autre méthode connue de déacétylation est la méthode utilisant de l'ammoniac dissous dans le MeOH. Celle-ci a par exemple permis à Marra de déprotéger un iminosucre tétravalent acétylé basé sur une plateforme calixarène avec un très bon rendement de 88%.^[322] De plus, l'observation d'une fraction de produit partiellement déacétylé, après rinçage du brut réactionnel avec une solution contenant de l'ammoniaque, lors des réactions de CuAAC, nous a confortés dans le choix de cette méthode pour la déprotection des iminosucres multivalents.

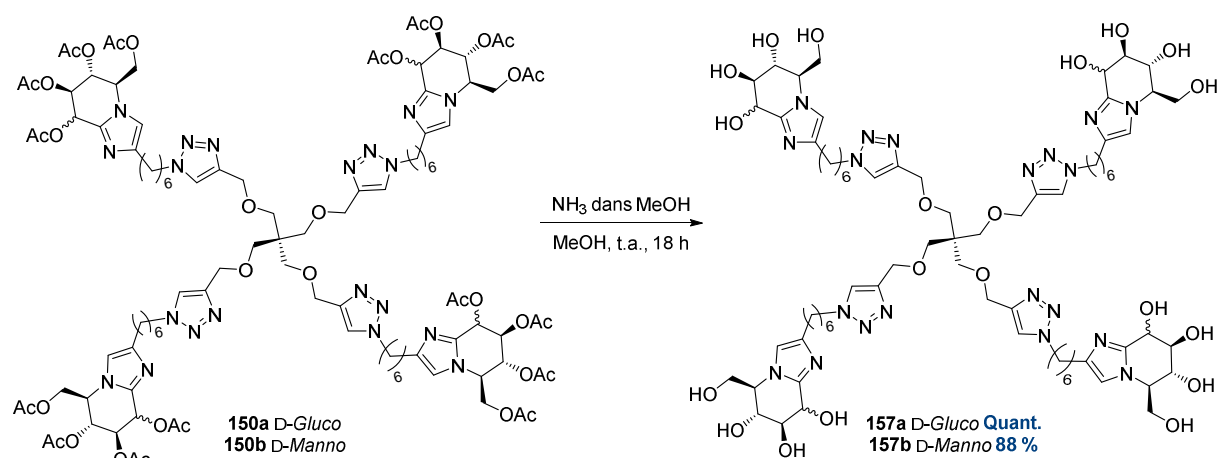
L'utilisation de l'ammoniac dissout dans le méthanol nous a permis de réaliser la déprotection de tous les composés multivalents avec succès. L'acétamide formé lors de la déprotection des acétates a pu être éliminé du brut réactionnel par plusieurs co-évaporations avec du toluène. Le diglucoimidazole **158a** et le dimannoimidazole **158b** hydroxylés ont été obtenus avec des rendements quantitatifs (Schéma 52).

Schéma 52 Déprotection des diglycoimidazoles par NH₃ dans MeOH

Le triglycoimidazole hydroxylé **159a** est obtenu avec un rendement quantitatif tandis que le trimannoimidazole hydroxylé **159b** est obtenu avec un rendement plus faible de 75 % (Schéma 53).

Schéma 53 Déprotection des triglycoimidazoles par NH₃ dans MeOH

Les composés tétravalents ont également été déprotégés avec succès avec, à nouveau, un rendement plus faible pour le composé en série D-manno. Le tétraglycoimidazole hydroxylé **157a** est obtenu de manière quantitative. Le rendement en tétramannoimidazole hydroxylé **157b** est de 88 % (Schéma 54).

Schéma 54 Déprotection des tétraglycoimidazoles par NH₃ dans MeOH

Les rendements de déprotection des composés tétradécavalents sont élevés, avec 98 % pour le 14-glucoimidazole hydroxylé **160a** et 89% pour le 14-mannoimidazole hydroxylé **160b** (Schéma 55).

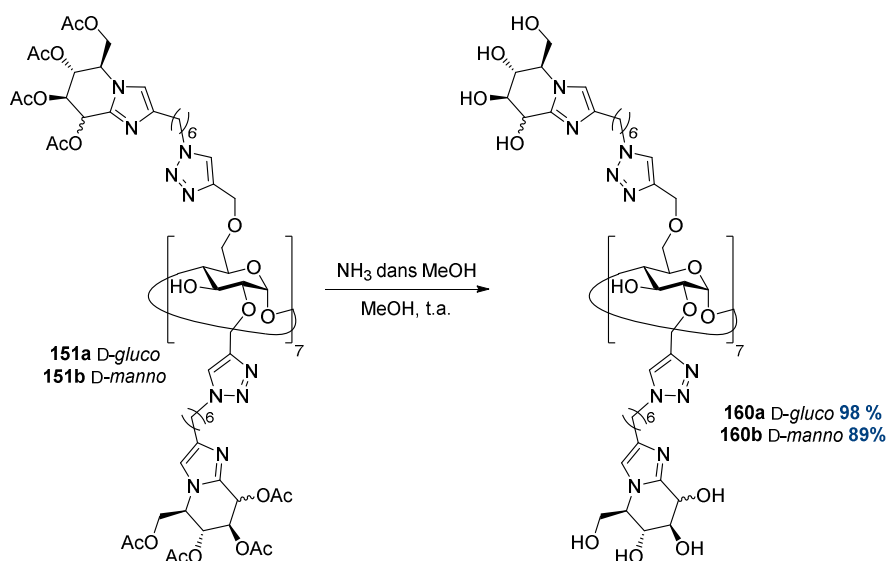


Schéma 55 Déprotection des tétradécaglycoimidazoles par NH_3 dans MeOH

Les molécules cibles ayant été atteintes, des tests d'inhibition sur l' α -mannosidase de Jack-bean ont été réalisés dans le but de déterminer l'impact d'un inhibiteur très affiné pour sa cible sur l'effet multivalent. Ces molécules ont également été testées par le laboratoire du Pr. Beck sur la restauration de l'activité de la protéine CFTR sur des cellules de patients atteints de la mutation $\Delta F508$. Les résultats obtenus sont présentés dans la partie suivante.

III) Evaluations biologiques

1) Introduction à l'enzymologie

a) Equation de Michaelis-Menten

Une réaction enzymatique mono-substrat peut être représentée par le schéma réactionnel suivant (Schéma 56). Une enzyme se lie à un substrat donné pour former un complexe E.S, appelé complexe de Michaelis, selon la constante de vitesse k_1 . La liaison enzyme substrat est réversible, un équilibre rapide existe entre forme liée et forme libre. La constante de vitesse de dissociation entre l'enzyme et le substrat est notée k_{-1} . La formation du produit à partir du complexe de Michaelis est irréversible et sa constante de vitesse est notée k_{cat} . La vitesse globale de réaction, notée V , dépend donc de k_{cat} et de la concentration en complexe E.S.

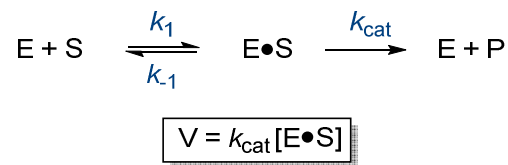


Schéma 56 Modèle cinétique d'une réaction enzymatique. S = substrat, E = enzyme, P = produit

Si l'on fait l'approximation de l'état stationnaire, soit $[E.S]$ est une constante :

on a $\frac{d[E.S]}{dt} = 0$

or $\frac{d[E.S]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[E.S] - k_{cat}[E.S]$

donc $\frac{[E][S]}{[E.S]} = \frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1}$

La constante de Michaelis K_M est définie comme étant (Équation 2):

Équation 2 Constante de Michaelis

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1} \approx \frac{k_{-1}}{k_1}$$

si $k_{-1} \gg k_{cat}$

Elle correspond également à la constante de dissociation du complexe $[E.S]$ si et seulement si la constante de vitesse k_{-1} est très grande par rapport à k_{cat} .

Michaelis et Menten ont démontré que la vitesse de réaction initiale V_0 pouvait s'écrire en fonction de V_{max} et K_M et qu'elle suivait une cinétique de saturation en fonction de $[S]$ (Équation 3). La vitesse maximale est atteinte lorsque $[E.S] = [E]_0$ soit lorsque toutes les enzymes initialement présentes dans le milieu sont liées à un substrat. On dit que l'on est à saturation de l'enzyme.

Équation 3 Equation de Michaelis-Menten

$$V_0 = V_{max} \frac{[S]}{[S] + K_M} \quad \left\{ \begin{array}{l} K_M = \frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1} \\ V_{max} = k_{cat} [E]_0 \end{array} \right.$$

Les hypothèses sous-jacentes sont :

- Un équilibre rapide ($k_1, k_{-1} \gg k_{cat}$)
- L'approximation de l'état stationnaire
- Une faible conversion (moins de 10 voire 20 %) pour travailler avec des vitesses initiales

b) Les différents types d'inhibition

La liaison d'un inhibiteur avec une enzyme peut être réversible ou irréversible. Parmi les inhibitions réversibles figurent les inhibitions compétitive, incompétitive et non-compétitive simple ou mixte. Nous nous intéresserons uniquement au cas des inhibitions réversibles.

i. Inhibition compétitive

Dans le cas d'une inhibition compétitive, l'inhibiteur interagit uniquement avec l'enzyme libre (Schéma 57).

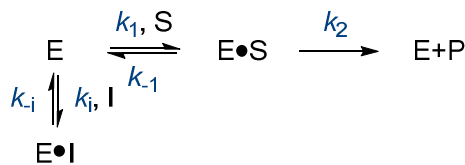


Schéma 57 Schéma de Michaelis-Menten pour une inhibition compétitive

Ce type de cinétique correspond à trois situations : l'inhibiteur est en compétition directe avec le substrat dans le cas d'un site actif unique (Schéma 58 - A), l'inhibiteur peut également, après liaison avec un site près du site actif, bloquer l'accès du substrat par encombrement stérique (Schéma 58 - B) ou la liaison de l'inhibiteur avec l'enzyme peut induire une modification de la structure tridimensionnelle du site actif de l'enzyme empêchant la reconnaissance du substrat (Schéma 58 - C).

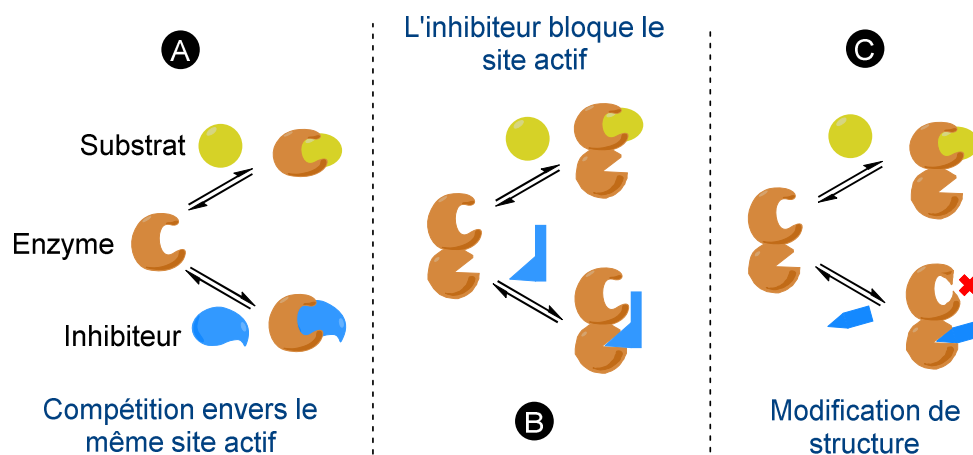


Schéma 58 Mécanismes d'inhibition pour une inhibition compétitive réversible

ii. Inhibition incompétitive

Dans le cas d'une inhibition incompétitive, la liaison du substrat au site actif de l'enzyme se produit normalement. L'inhibiteur ne se lie pas à l'enzyme libre mais au complexe enzyme substrat déjà formé (Schéma 59) et bloque la formation du produit.

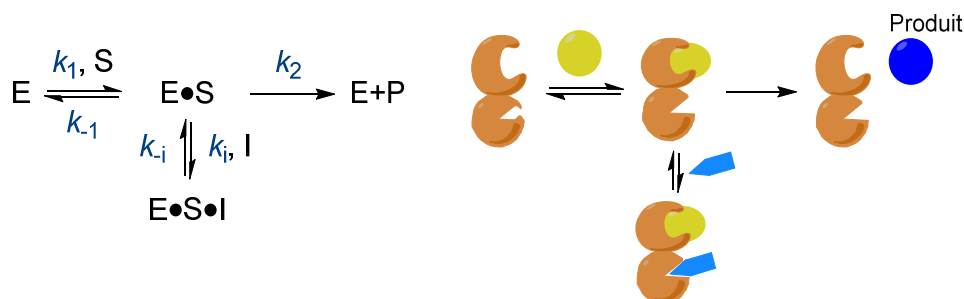


Schéma 59 Schéma et représentation de type Michaelis-Menten pour une inhibition Incompétitive

iii. Inhibition non compétitive

L'inhibition non compétitive diffère des deux cas précédents par le fait que l'inhibiteur puisse se lier à l'enzyme libre et au complexe enzyme substrat (Schéma 60). L'inhibition est non compétitive simple si $K_i = K'_i$, dans le cas contraire, il s'agit d'une inhibition non compétitive mixte.

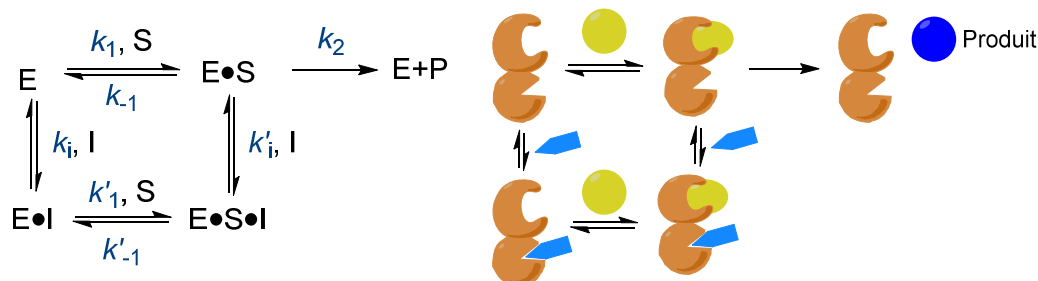


Schéma 60 Schéma et représentation de type Michaelis-Menten pour une inhibition non-compétitive

c) Méthodes de mesure graphique d'une constante d'inhibition

Le pouvoir d'inhibition d'un inhibiteur est défini par sa constante d'inhibition K_i ou sa CI_{50} . La constante d'inhibition désigne la constante de dissociation du complexe enzyme-inhibiteur. La CI_{50} est la concentration d'inhibiteur nécessaire pour réduire de moitié la vitesse de réaction entre enzyme et substrat. La constante d'inhibition est une constante thermodynamique qui est mesurée en faisant varier à la fois $[S]$ et $[I]$. La CI_{50} est déterminée à une seule concentration de substrat pour une gamme de concentrations d'inhibiteurs.^[323] Les CI_{50} varient en fonction de $[S]$, sauf dans le cas d'une inhibition non compétitive simple, elles sont donc difficilement comparables entre elles à moins de connaître la concentration en substrat utilisée, le K_M de l'enzyme inhibée et le mode d'inhibition.

Différentes méthodes graphiques existent pour la détermination de la constante d'inhibition et du mode d'action des inhibiteurs testés.

i. Graphique de Dixon

En 1953, Dixon propose une méthode de tracé pour déterminer la valeur de K_i .^[324] L'abscisse correspond à la concentration en inhibiteur et l'ordonnée correspond à $1/V$. Différentes droites sont tracées, chacune correspondant à une concentration de substrat. Le croisement des droites donne la valeur de $-K_i$ par projection sur l'axe des abscisses. Les courbes de Dixon, pour être exploitables, doivent rester dans le domaine du linéaire.

Dans le cas d'une inhibition compétitive, les droites du graphique de Dixon se coupent toujours dans le cadran supérieur gauche. La projection orthogonale du croisement des droites sur l'axe des abscisses donne la valeur de $-K_i$. Si au contraire les droites obtenues sont parallèles, on est alors face à une inhibition incompétitive. Il est alors impossible de déterminer le K_i . Enfin si les droites se croisent sur l'axe des abscisses du cadran de gauche, l'inhibition mise en jeu est non compétitive simple, et la lecture de $-K_i$ est directe (Figure 51). Le K_i peut donc être déterminé par le graphique de Dixon uniquement dans le cas d'inhibition compétitive et non compétitive simple. Cependant, dans le cas d'une inhibition non-compétitive mixte, le croisement des courbes se fait dans le cadran supérieur gauche ou inférieur gauche, ce qui ne permet pas de distinguer ce mode de l'inhibition compétitive. Le mode d'inhibition doit ensuite être vérifié par un second tracé des pentes obtenues pour les droites de Dixon en fonction de $1/[S]$. Ce second tracé est une droite passant par l'ordonnée à l'origine dans le cas d'une inhibition compétitive ou coupant l'axe des ordonnées à des valeurs positives pour le cas d'une inhibition non compétitive mixte.

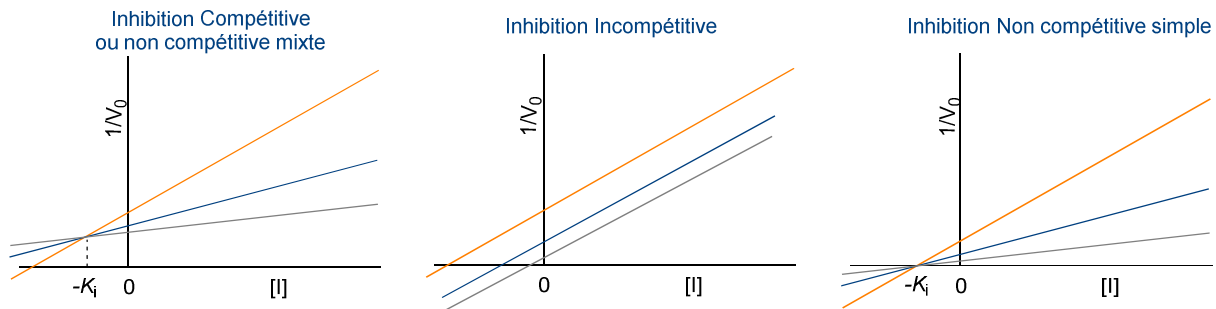


Figure 51 Allure du graphique de Dixon en fonction du type d'inhibition

L'utilisation du graphique de Dixon conjointement au tracé de Lineweaver-Burk permet la détermination sans équivoque du type d'inhibition ayant lieu.^[325]

ii. Graphique de Lineweaver-Burk

La détermination de la constante d'inhibition par tracé de Lineweaver-Burk (LB) a été publié en 1934 par Lineweaver et Burk.^[326] Ce graphique est obtenu en traçant 1/V en fonction de 1/[S].

Dans le cas d'une inhibition compétitive, les droites vont se croiser sur l'axe des ordonnées. Ce croisement indique alors la valeur de 1/V_{Max}. Lors d'une inhibition incompétitive, les droites sont parallèles et la pente correspond à la valeur de K_M/V_{Max}. Si le croisement s'effectue sur l'axe des abscisses, on parle d'une inhibition non compétitive simple, si le croisement est situé dans le cadran gauche du graphique, on parle d'inhibition non compétitive mixte (Figure 52).

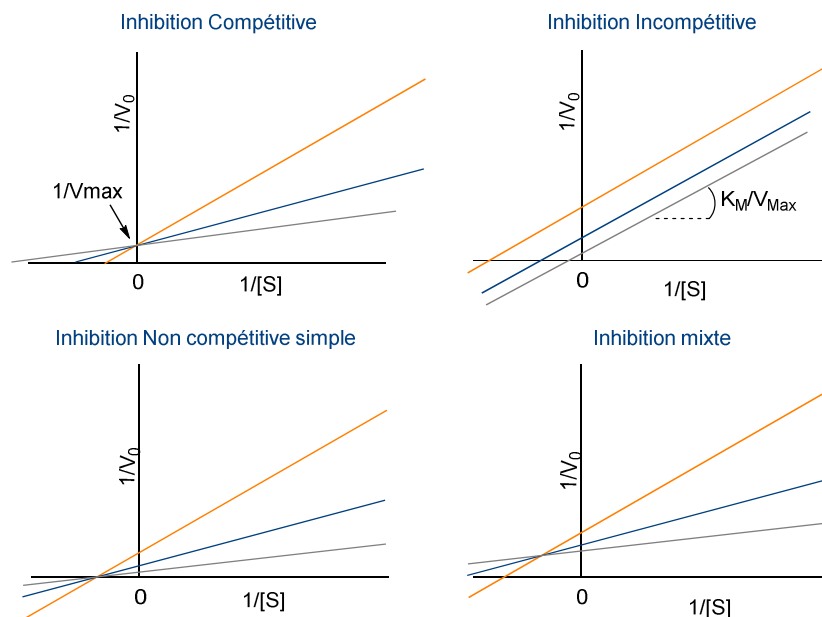


Figure 52 Tracés des Lineweaver-Burk pour chaque type d'inhibition

L'équation des droites pour les inhibitions compétitives et mixtes sont décrites ci-dessous (Équation 4).

Équation 4 1/V en fonction de 1/[S] pour les inhibitions compétitives et mixtes

Inhibition compétitive	Inhibition mixte
$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)}{V_{Max}} \times \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{Max}}$	$\frac{1}{V_0} = \frac{K_S \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)}{V_{Max}} \times \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{Max}} \times \left(1 + \frac{I}{K'_i}\right)$
$y = \quad a \quad x \quad b$	$y = \quad a \quad x \quad b$

Dans le cas des inhibitions compétitives, l'équation de la pente des droites est donnée par l'Équation 5.

Équation 5 Valeur de la pente des droites du graphique LB pour une inhibition compétitive ou non compétitive

$$\text{Pente} = \frac{K_M(1+\frac{[I]}{K_i})}{V_{Max}} = \frac{K_M}{V_{Max}} + \frac{K_M}{V_{Max}K_i} [I]$$

Si l'on trace la valeur des pentes obtenues pour le graphique LB en fonction de la concentration en inhibiteur, on obtient une droite d'équation $y = ax + b$ où :

- $a = K_M/(V_{Max} * K_i)$
- $b = K_M/V_{Max}$

Le rapport b/a de cette droite mène alors à la valeur de K_i .

2) Inhibition de l'α-mannosidase de Jack-bean

a) Conditions et matériel des tests

Les tests ont été réalisés grâce à des plaques 96 puits. Au minimum une gamme est réalisée avant la mesure de la constante d'inhibition d'un composé, pour déterminer les concentrations d'inhibiteurs idéales pour la mesure du K_i . Les constantes d'inhibition sont mesurées pour 5 valeurs de concentration de substrat (0,25 mM, 0,5 mM, 1 mM, 2 mM et 4 mM) et 8 concentrations différentes d'inhibiteurs dont $[I]=0$.

Le substrat utilisé lors des tests d'inhibition de l'α-mannosidase de Jack-bean est le 4-nitrophényl-α-D-mannopyrannose. L'hydrolyse enzymatique de ce substrat libère alors un mannose et un 4-nitrophénol (Schéma 61). Ce phénol est faiblement coloré à un pH inférieur à 5,4 mais prend une couleur jaune intense à un pH supérieur à 7,5, avec une absorption mesurée dans le spectre visible à 405 nm. Un quench des puits par une solution de Na_2CO_3 1M permet la formation du 4-nitrophénolate (Schéma 61) et donc une différence de coloration des puits en fonction de la quantité de produit formé.

Cette méthode s'inspire du travail réalisé par les groupes de Pocker et Meany en 1994.^[327]

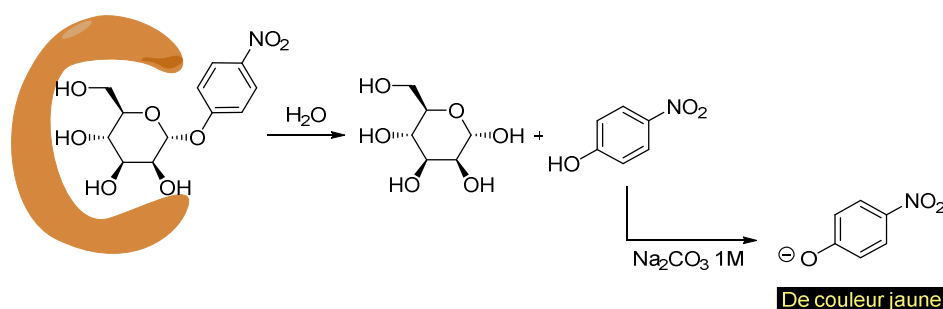


Schéma 61 Formation du 4-nitrophénolate par coupure enzymatique du substrat puis traitement basique

Dans un puits contenant l'inhibiteur, le substrat, l'enzyme et du tampon, plus la densité optique (DO) mesurée est faible, plus la quantité de substrat consommée est moindre, ce qui signifie que l'enzyme a été inhibée.

La valeur de densité optique mesurée pour un puits à laquelle est retranchée la valeur de DO du blanc correspondant puis divisée par le temps de réaction donne accès à la valeur V_0 . Le calcul de $1/V_0$ permet alors de tracer les courbes de Dixon et de Lineweaver-Burk car $[S]$, K_M et $[I]$ sont des valeurs connues. La valeur de la constante de Michaelis de l'α-mannosidase de Jack-bean, réévaluée au laboratoire est de 1,67 mM pour le substrat 4-nitrophényl-α-D-mannopyrannose.

b) Résultats des inhibiteurs « classiques »

i. Composés monovalents

Les graphiques de Dixon et de Lineweaver-Burk indiquent que les composés monovalents en série D-*gluco* et D-*manno* sont tous deux des inhibiteurs compétitifs (Figure 53). La constante d'inhibition calculée pour le monoglucoimidazole **156a** est de $2,23 \pm 0,13 \mu\text{M}$. Celle du monomannimidazole **156b** est de $0,11 \pm 0,02 \mu\text{M}$, soit 5 500 fois meilleur inhibiteur que la DMJ.

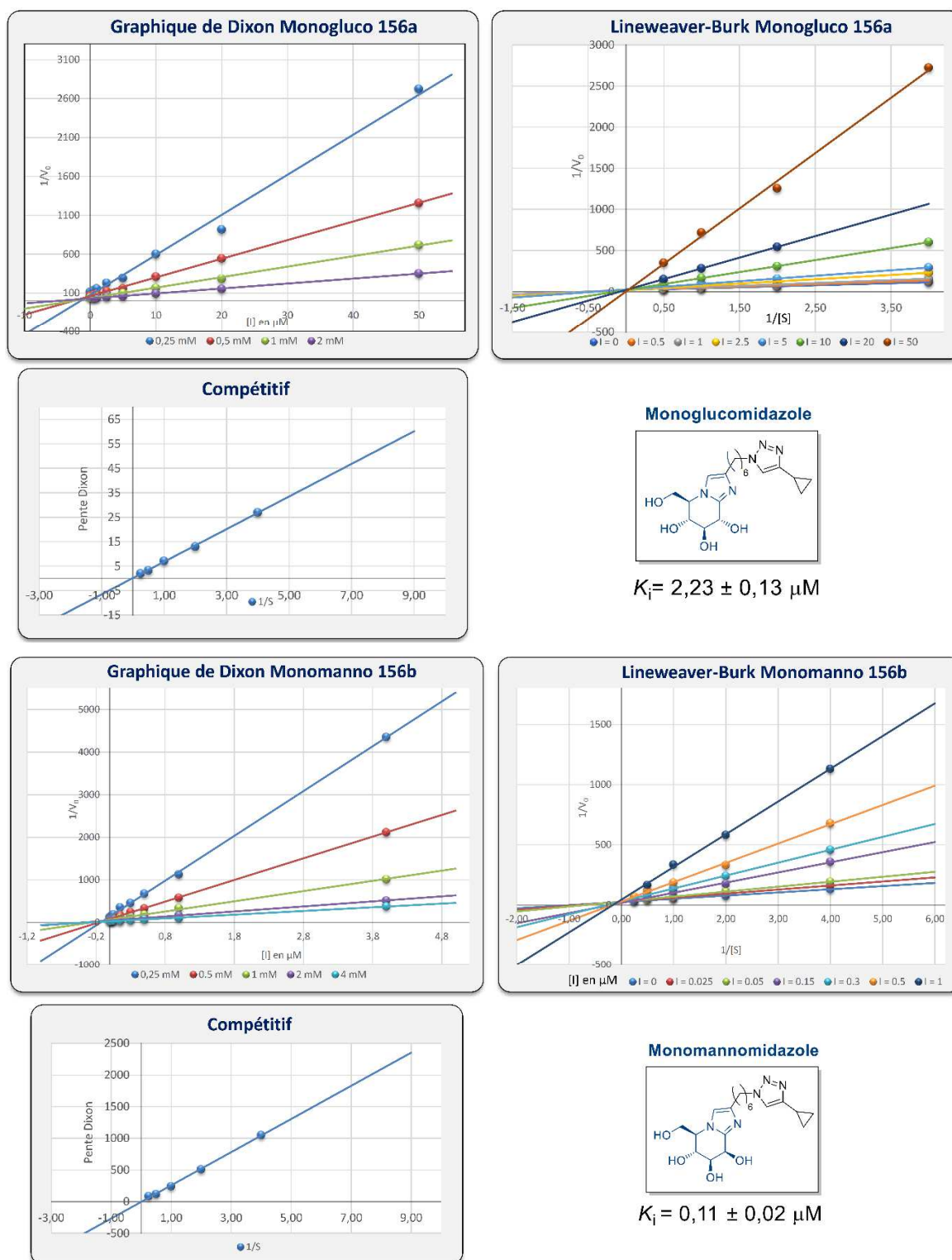
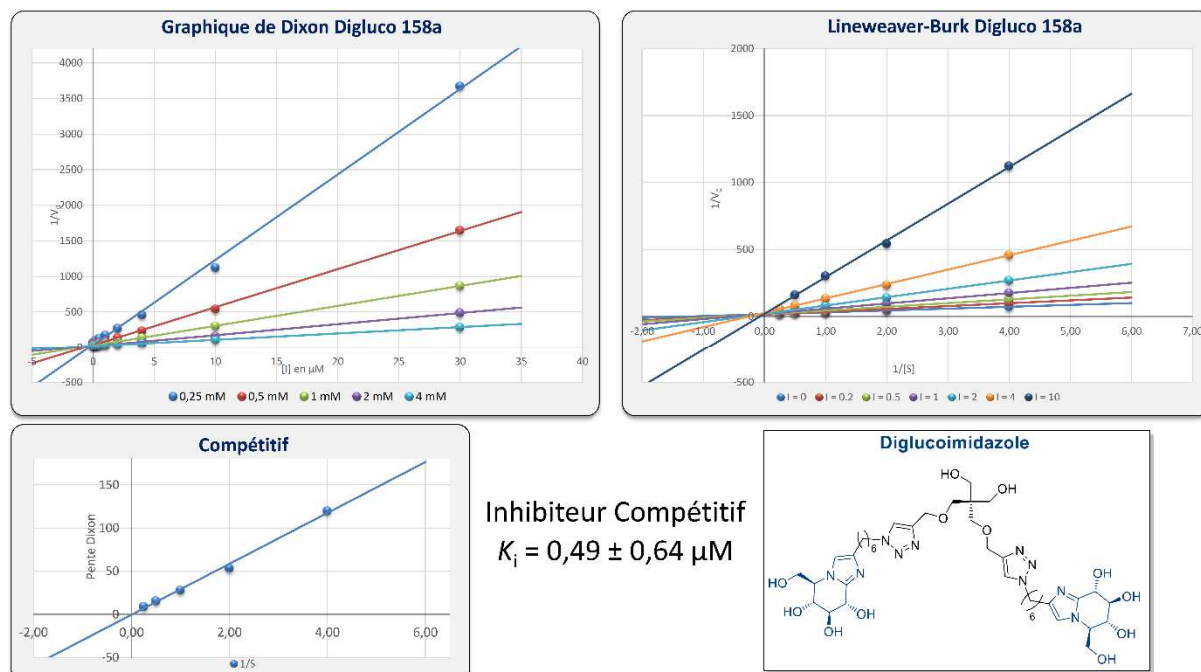


Figure 53 Graphiques de Dixon et de Lineweaver-Burk pour les iminosucres monovalents

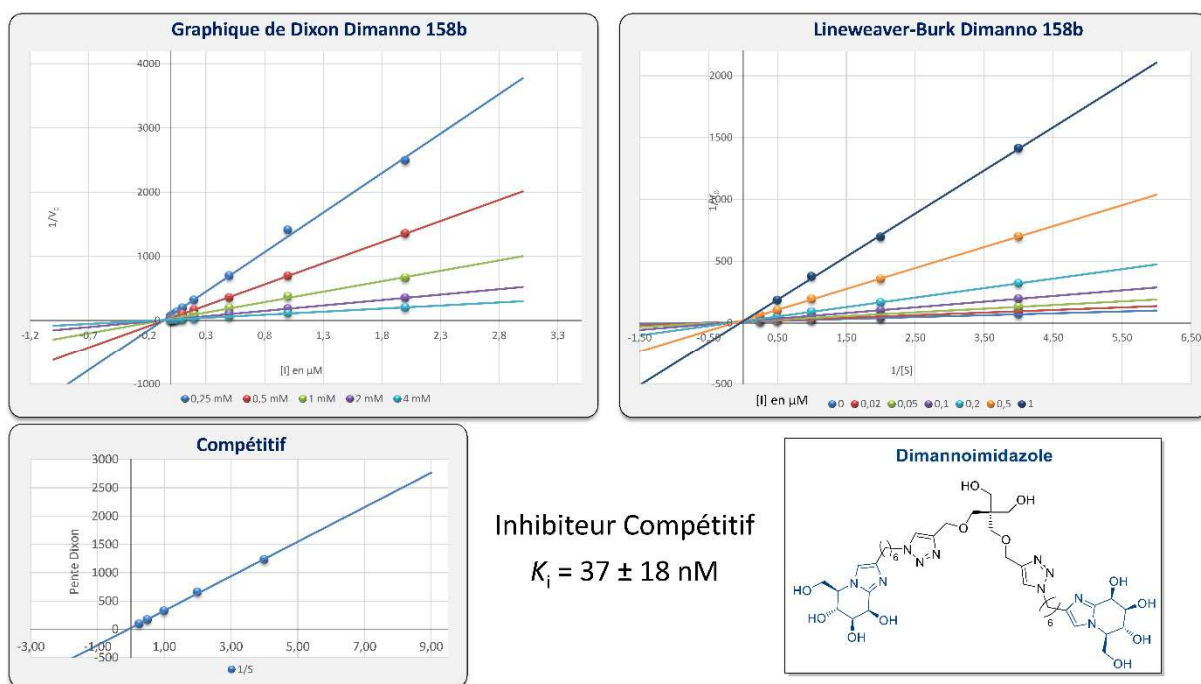
ii. Di-, tri- et tétravalents

Les iminosucres divalents et trivalents sont également des inhibiteurs compétitifs réversibles. En revanche le tétraglucoimidazole **157a** est un inhibiteur non compétitif mixte.

La constante d'inhibition du diglucoimidazole **158a** est de $0,49 \pm 0,64 \mu\text{M}$ (Figure 54). Il est donc 4,6 fois meilleur inhibiteur que le composé monovalent correspondant. Le Rp/n est donc d'environ 2.

Figure 54 Graphiques de Dixon et Lineweaver-Burk pour le diglucoimidazole **158a**

Le K_i du dimannoimidazole **158b** est de $37 \pm 18 \text{ nM}$ (Figure 55). L'inhibition relative par rapport au composé multivalent correspondant est 2,9 fois meilleure. L'inhibition relative par iminosucre est donc de 1,5, ce qui est proche d'un effet statistique.

Figure 55 Graphiques de Dixon et Lineweaver-Burk pour le dimannoimidazole **158b**

La constante d'inhibition du triglucoimidazole **159a** est de $0,25 \pm 0,03 \mu\text{M}$ (Figure 56). L'inhibition relative par iminosucre calculée est de 3.

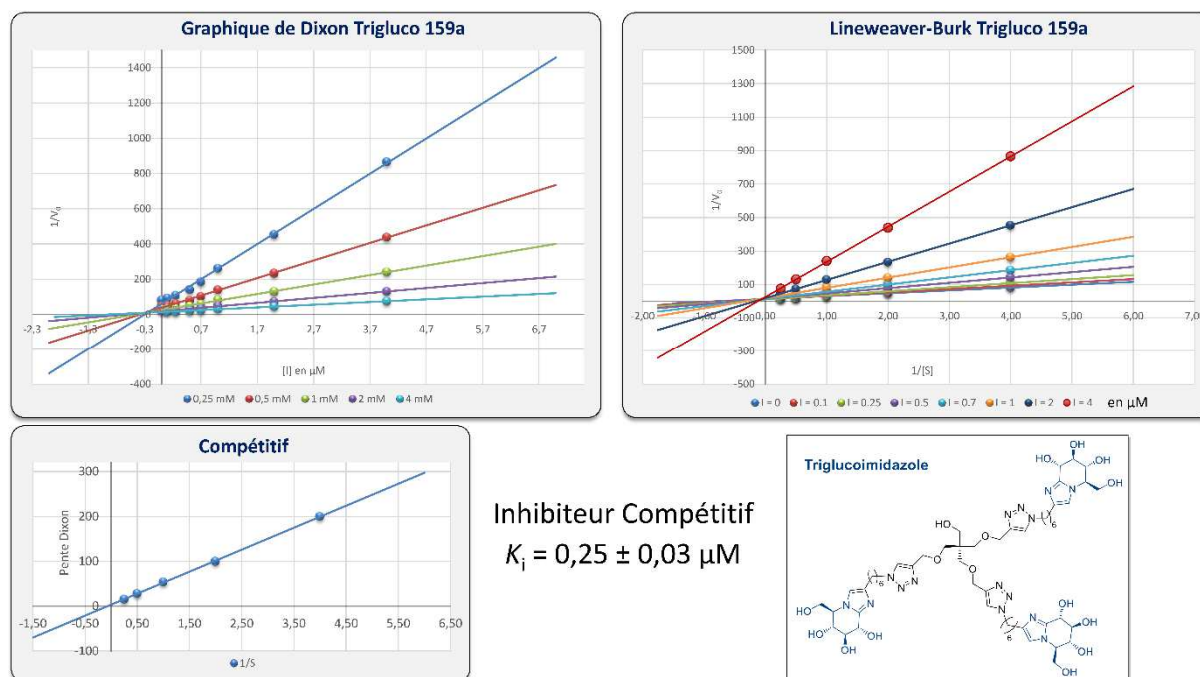


Figure 56 Graphiques de Dixon et Lineweaver-Burk pour le triglucoimidazole **159a**

Le trimannoimidazole **159b** a une constante d'inhibition de $17 \pm 7 \text{ nM}$ envers l' α -mannosidase de Jack-bean (Figure 57). Sa valeur de R_p est de 6,4, ce qui correspond à un R_p/n de 2.

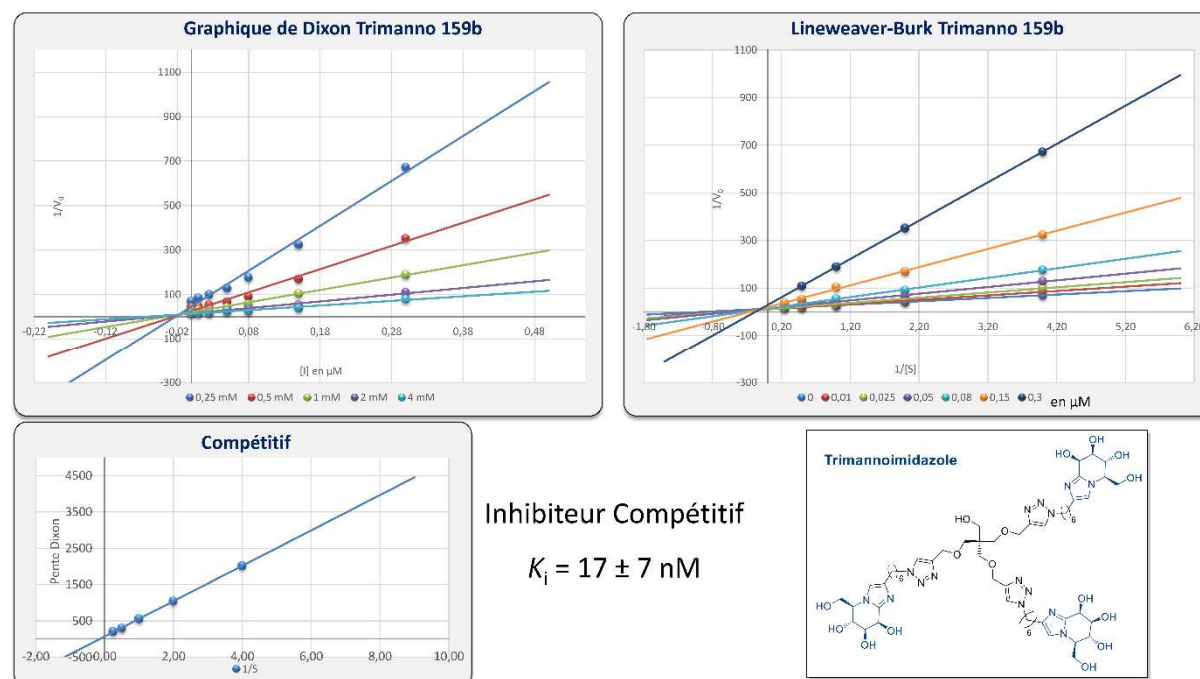


Figure 57 Graphiques de Dixon et Lineweaver-Burk pour le trimannoimidazole **159b**

Le mécanisme d'inhibition du tétraglucoimidazole **157a** est une inhibition non compétitive mixte indiqué par le graphique de Lineweaver-Burk (Figure 58). Son K_i est de $0,21 \pm 0,05 \mu\text{M}$, ce qui mène à un R_p/n de 2,5. Sa valeur de K_i' est de $1,0 \pm 0,1 \mu\text{M}$.

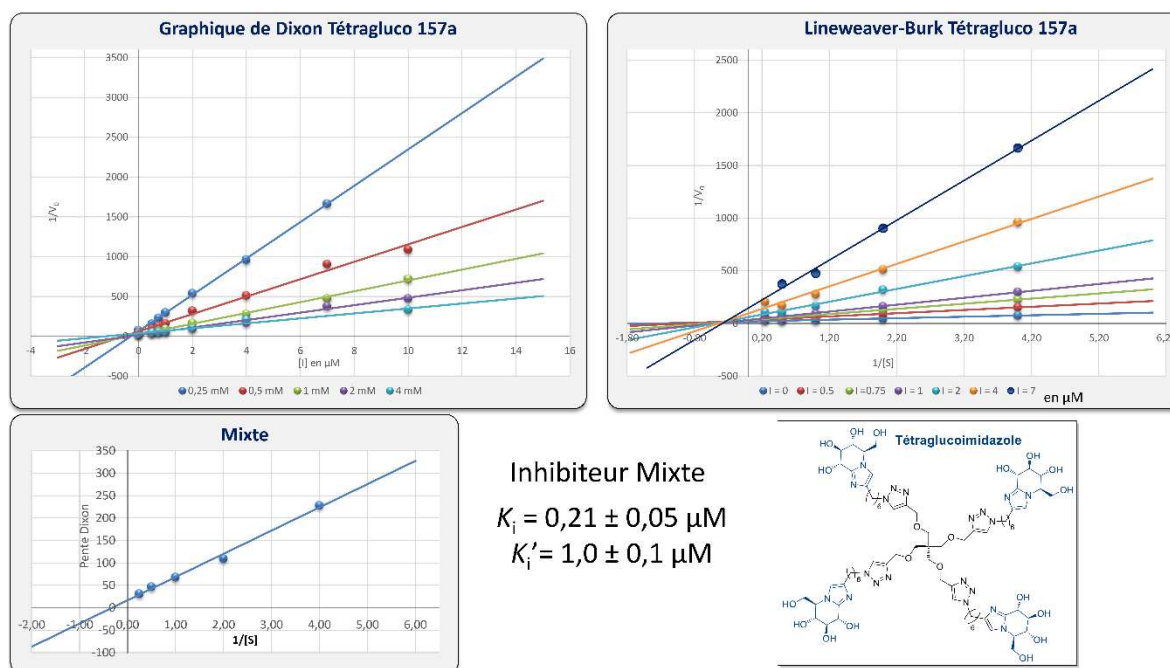


Figure 58 Graphiques de Dixon et Lineweaver-Burk pour le tétraglucoimidazole 157a

c) Résultats des inhibiteurs de type « tight-binding »

i. Qu'est-ce que le « tight binding » ?

Lors des mesures précédentes, la concentration en enzyme totale était très inférieure à la valeur de K_i , on avait donc $[E.I]$ très inférieure par rapport à $[I]$. La concentration en I libre est proche de $[I]$ totale. Or, cette hypothèse n'est plus valide pour les inhibiteurs ayant des K_i très faibles. Certains inhibiteurs se lient à leur enzyme cible avec une telle affinité que la quantité d'inhibiteur est abaissée par la formation du complexe enzyme-inhibiteur. Les simplifications mathématiques appliquées lors du traitement classique ne peuvent plus être utilisées. Ces inhibiteurs sont nommés « tight binding inhibitors » en anglais.^[328] Pour ces inhibiteurs, l'approximation de l'état quasi stationnaire est alors incorrecte. L'équation de Michaelis-Menten (Équation 3) est considérée comme invalide à partir du moment où la valeur de K_i est inférieure à 1000 fois la concentration totale en enzyme.^[328–330] Ces inhibiteurs représentent un véritable défi pour les enzymologistes car ils ne peuvent pas être analysés par les méthodes classiques.

Quand une inhibition non compétitive est établie par le biais des méthodes classiques de détermination, les données doivent être réévaluées pour s'assurer que le mécanisme réel de l'inhibiteur n'est pas une inhibition compétitive de type « tight binding ». Un exemple de mauvaise interprétation existe pour le cas des inhibiteurs naturels de la ribonucléase. Initialement décrits comme étant des inhibiteurs non compétitifs, ils se sont révélés être des inhibiteurs compétitifs de type « slow tight binding » grâce au travail minutieux de Turner.^[331]

ii. Traitement classique du tétramannoimidazole

Lors de la mesure du K_i du tétramannoimidazole 157b, sans préincubation de l'enzyme avec l'inhibiteur, une courbure des « droites » de Dixon a été observée (Figure 59 – Graphique de gauche). Pour corriger cette courbure, une solution diluée de $[E]$ (0,6 nM) a été utilisée pour pouvoir appliquer le traitement classique lorsque $[E] \ll K_i$, et l'enzyme et l'inhibiteur ont été pré-incubés pendant 10 minutes avant l'ajout du substrat. Cette expérience de 5h n'a pas permis d'obtenir des droites (Figure 59 – Graphique de droite).

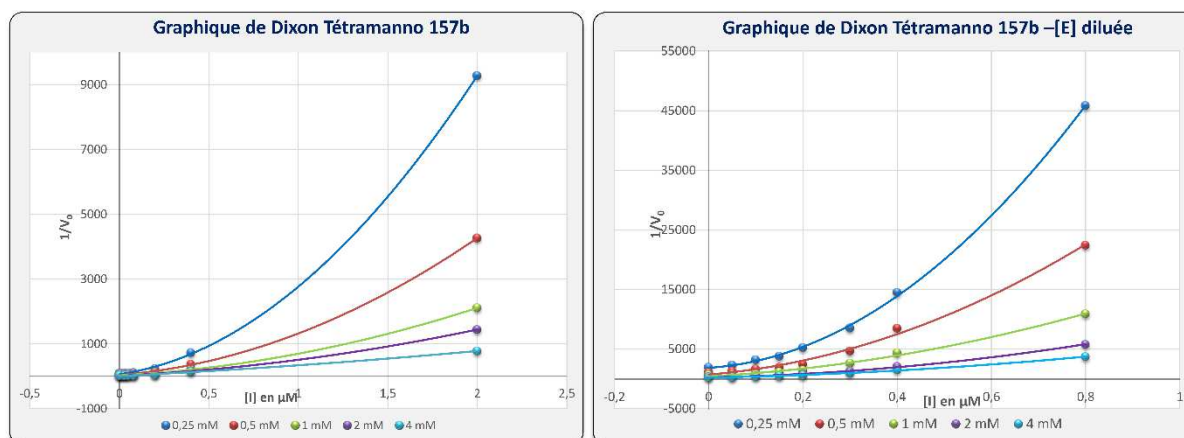


Figure 59 Graphiques de Dixon obtenu pour le tétramannoimidazole **157b** avec ou sans pré-incubation et avec des concentrations en enzyme différentes

Le tracé de Lineweaver-Burk semble indiquer un inhibiteur non compétitif simple (Figure 60) mais le graphique secondaire traçant la valeur des pentes des courbes LB en fonction de $[I]$ est courbé alors que nous devrions obtenir une droite (Figure 60). Il était impossible de parvenir au calcul d'une constante d'inhibition puisque le modèle n'était pas valide. Nous n'étions pas dans le cas d'un inhibiteur « classique ». Un autre modèle mathématique était alors nécessaire pour analyser les inhibiteurs testés. Nous sommes vraisemblablement dans le cas d'un inhibiteur de type « tight binding ».

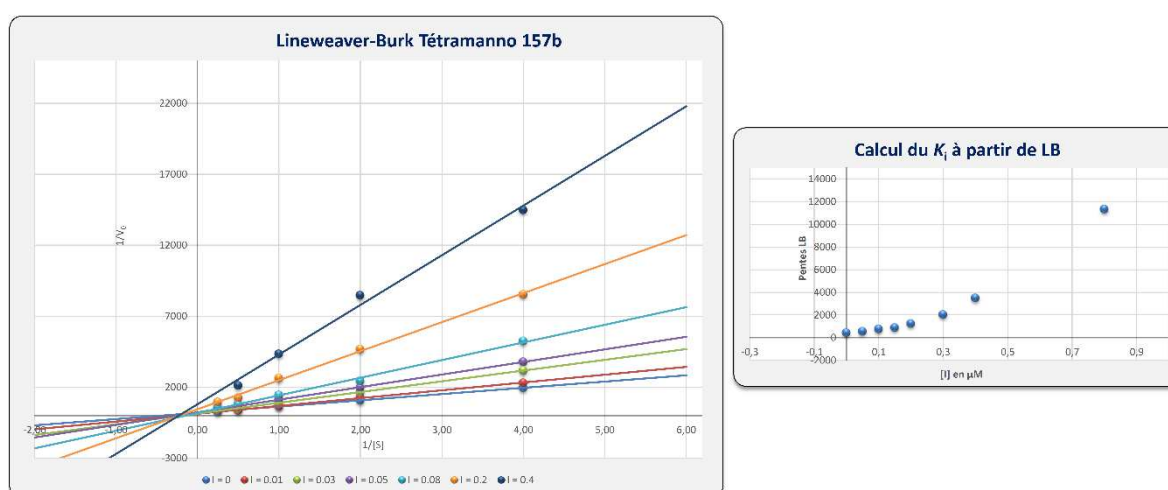
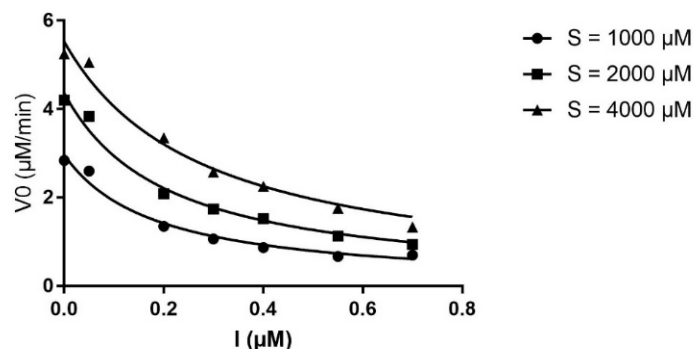


Figure 60 Graphique de Lineweaver-Burk et sa réciproque pour le calcul du K_i du tétramannoimidazole **157b**

iii. Traitement selon l'équation de Morrison du tétramannoimidazole

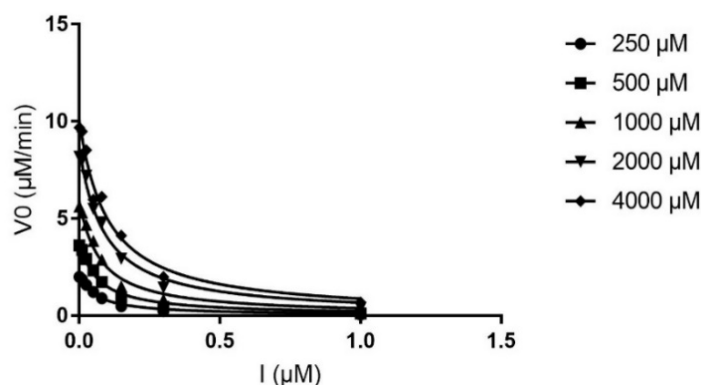
Plusieurs modèles existent pour la détermination de la valeur du K_i dans le cas d'inhibiteurs de type « tight binding ». Une méthode graphique, décrite par Dixon en 1972, permet de déterminer le type d'inhibition et la constante K_i simultanément.^[332] En 1969, Morrison décrit une méthode mathématique permettant le traitement de valeurs obtenues pour des inhibiteurs de type « tight binding ».^[333] Cette méthode mathématique a été, au moment de sa publication, mise de côté à cause de la trop grande difficulté à extraire les constantes désirées des données expérimentales sans ordinateur. Henderson proposa alors une version simplifiée de l'équation de Morrison.^[334] Cependant, le traitement des données selon l'équation de Henderson induit des erreurs systématiques.^[328,335] De nos jours, avec les moyens informatiques, l'utilisation de l'équation de Morrison est fortement recommandée.^[328] Le traitement du tétramannoimidazole **157b** grâce à l'équation de Morrison donne accès aux simulations suivantes.

Figure 61 Courbes de Morrison pour le tétramannoimidazole **157b**

La simulation effectuée à l'aide du logiciel GraphPad Prism permet de valider le modèle de « tight-binding » et de déterminer le K_i correspondant. La simulation est effectuée grâce aux moyennes de triplicats mesurés lors des tests. Chaque courbe est simulée de manière indépendante et donne accès à une valeur de K_i ainsi qu'à son écart-type. La valeur du K_i et de son écart-type ont ensuite été calculés en faisant la moyenne des 3 valeurs obtenues, une pour chaque concentration de S. Il est possible lors de la simulation de simuler également la valeur de [E], mais des résultats aberrants, avec une différence pouvant aller jusqu'à un facteur 100 par rapport à la valeur réelle de [E], nous ont contraint à fixer sa valeur, qui est connue puisque expérimentale. De plus, fixer la valeur de [E] permet une meilleure homogénéité entre tous les composés traités selon l'équation de Morrison. Deux modèles ont été testés : le modèle d'inhibiteur compétitif et le modèle d'inhibiteur non compétitif mixte, mais ce dernier modèle a été rejeté. La valeur du K_i obtenue pour le tétramannoimidazole **157b** est de 91 ± 17 nM pour un modèle d'inhibiteur compétitif.

iv. Constante d'inhibition révisée du trimannoimidazole

L'observation d'un début de courbure sur le graphique de Dixon ainsi que sur la réciproque du graphique de Lineweaver-Burk commençait à être visible sur le composé trimannoimidazole **159b**. Cette courbure est particulièrement visible pour $[S] = K_M/8$ (Figure 57). Une préincubation entre l'enzyme et l'inhibiteur a été réalisée pour le trimannoimidazole **159b** mais il n'y a eu aucun effet sur la courbure des droites de Dixon. Les données ont donc été traitées selon l'équation de Morrison. Pour ce composé, la simulation a été effectuée grâce à la moyenne de duplicats et le K_i mesuré résulte de la moyenne de 5 valeurs de K_i différentes calculées pour chaque [S]. Le graphique obtenu est le suivant (Figure 62) :

Figure 62 Courbes de Morrison pour le trimannoimidazole **159b**

La valeur de K_i obtenue par ce traitement est de 37 ± 10 nM, deux fois plus élevée que la valeur obtenue par le traitement « classique » (17 ± 7 nM). Ces valeurs sont néanmoins du même ordre de grandeur.

v. Constantes d'inhibition des inhibiteurs tétradécavalents

Les inhibiteurs tétradécavalents ont été traités également selon l'équation de Morrison. Ils sont tous deux des inhibiteurs compétitifs de type « tight binding ». La simulation a été effectuée grâce à la moyenne de triplicats.

Le graphique obtenu pour le 14-valent glucoimidazole **160a** est le suivant (Figure 63) :

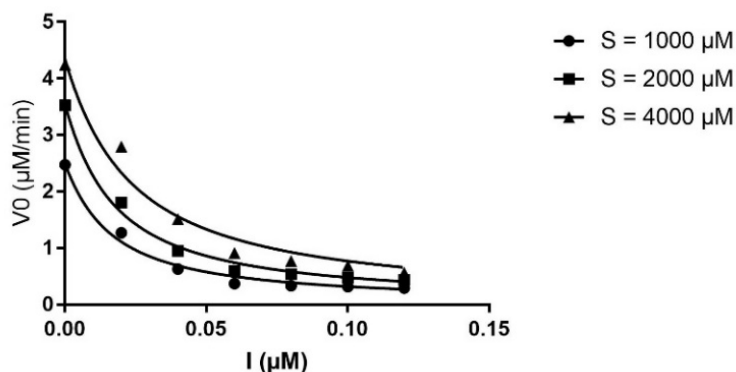


Figure 63 Courbes de Morrison pour le 14-cycloglucoimidazole **160a**

Après simulation grâce au logiciel GraphPad Prism, la valeur de K_i obtenue est de $6,0 \pm 1,5$ nM. Le R_p de l'inhibiteur multivalent **160a** est donc de 372, ce qui donne un R_p/n de 26.

Le graphique obtenu pour le 14-valent mannoimidazole **160b** est le suivant (Figure 64) :

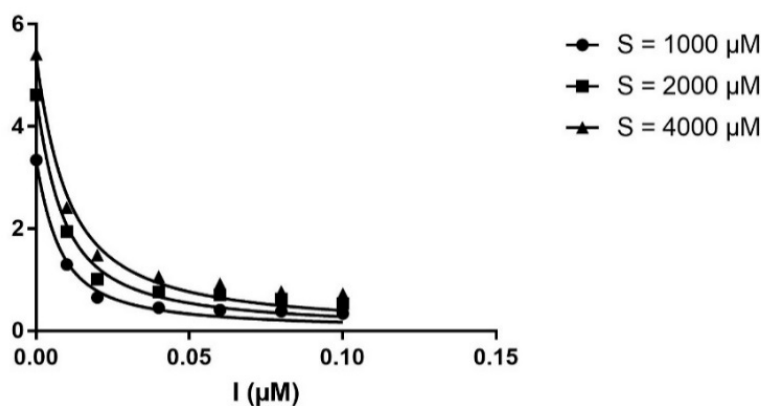


Figure 64 Courbes de Morrison pour le 14-cyclomannoimidazole **160b**

La valeur de K_i obtenue grâce à la simulation est de $2,0 \pm 0,5$ nM. Le R_p de l'inhibiteur est de 54,5, correspondant à un R_p/n de 4.

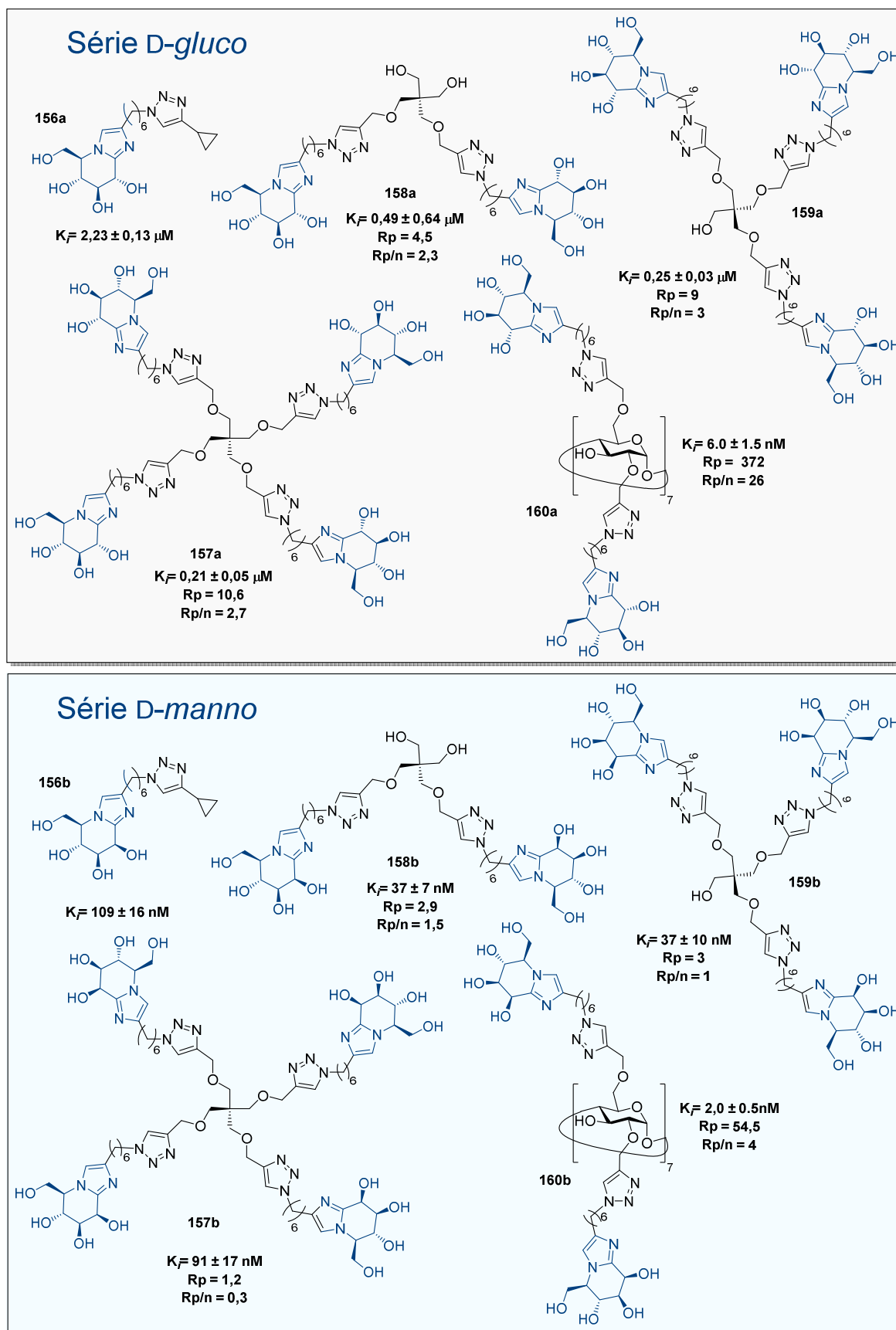
A titre de comparaison, le composé 14-valent basé sur la même plateforme β -cyclodextrine avec des ligands DNJ et une longueur de chaîne de 9 carbones avait un R_p/n de 610 et une valeur de constante d'inhibition de 22 nM.^[82] Le système multivalent équivalent, en série *D-manno* avec des motifs DMJ, avait une constante d'inhibition de 70 nM et un R_p/n de 113.^[318] Pour la série *D-gluco*, l'inhibiteur 14-valent à motif glucoimidazole **160a** est environ 4 fois meilleur inhibiteur que le composé multivalent à motif DNJ **15**. Pour la série *D-manno*, l'inhibiteur 14-valent à motif mannoimidazole **160b** est environ 35 fois meilleur inhibiteur que le composé multivalent à motif DMJ **15b**.

Si l'on compare maintenant les R_p/n , pour les deux séries, leur valeur est environ 25 fois moins importante pour les inhibiteurs multivalents à motif glycoimidazole. L'effet multivalent calculé pour ces

composés multivalents affins est donc beaucoup plus faible. Les composés 14-valents à motif glycoimidazole ont des K_i intéressants de seulement quelques nanomolaires mais les références monovalentes étant déjà bonnes, les Rp/n obtenus sont plus faibles que ceux publiés précédemment pour des composés multivalents analogues à motif DNJ ou DMJ. L'affinité accrue du ligand envers les mannosidases n'améliore pas l'effet multivalent obtenu, pour cet exemple. Néanmoins un Rp/n de 26 est observé pour le 14-valent glucoimidazole **160**.

d) Bilan des K_i obtenus

N° molécule	Série	Inhitope	Valence	K_i (μ M)	Rp	Rp/n	Type d'inhibition
	D-manno	DMJ	1	111	-	-	Compétitif
156b		Mannoimidazole	1	$0,11 \pm 0,02$	-	-	Compétitif
158b		Mannoimidazole	2	$0,037 \pm 0,007$	2,9	1,5	Compétitif
159b		Mannoimidazole	3	$0,037 \pm 0,010$	3	1	Compétitif tight-binding
157b		Mannoimidazole	4	$0,091 \pm 0,017$	1,2	0,3	Compétitif tight-binding
160b		Mannoimidazole	14	$0,002 \pm 0,0005$	54,5	4	Compétitif tight-binding
15b		DMJ	14	0,070	1586	113	Compétitif
	D-gluco	DNJ	1	188	-	-	Compétitif
156a		Glucoimidazole	1	$2,23 \pm 0,13$	-	-	Compétitif
158a		Glucoimidazole	2	$0,49 \pm 0,64$	4,5	2,5	Compétitif
159a		Glucoimidazole	3	$0,25 \pm 0,03$	9	3	Compétitif
157a		Glucoimidazole	4	$0,21 \pm ,05$	10,6	3	Mixte
160a		Glucoimidazole	14	$0,0060 \pm 0,0015$	372	26	Compétitif tight binding
15		DNJ	14	0,022	8550	610	Compétitif

Figure 65 Bilan des K_i , R_p et Rp/n des iminosucres multivalents

3) Tests biologiques sur la restauration de l'activité de la protéine CFTR

a) Conditions des tests

La technique utilisée par l'équipe du Pr. Becq pour les tests de correction et de potentiation est la technique de la chambre de Ussing (Figure 66). Cette technique permet d'étudier le transport des électrolytes au travers des membranes de cellules épithéliales. Un déplacement d'ions au travers de la membrane donne à la cellule une polarité inhérente qui se traduit par une différence de potentiel (ddp). Le mouvement d'ions au travers de l'épithélium étudié est traduit par la valeur du courant qui permet d'annuler cette ddp, appelée courant de court-circuit I_{sc} (Short circuit current).

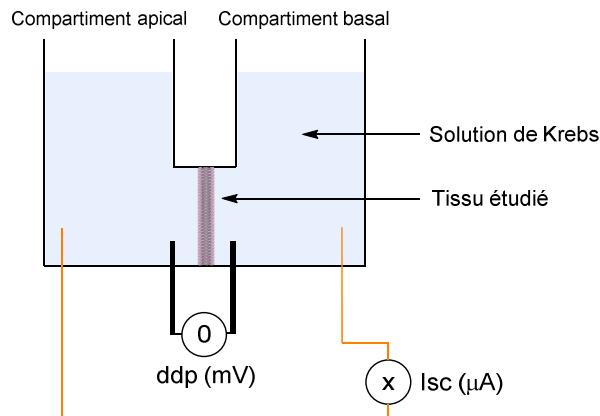


Figure 66 Principe de la technique de chambre de Ussing

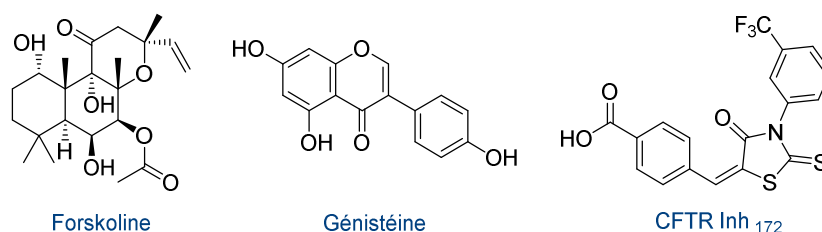
La solution de Krebs est un tampon physiologique composé de NaCl (107 mM), de KCl (5 mM), de CaCl_2 (1,2 mM), de MgSO_4 (1,2 mM), de NaH_2PO_4 (0,2 mM), de Na_2HPO_4 (1,8 mM), de NaHCO_3 (25 mM) et de glucose (12 mM). Le pH de la solution doit être de 7,2.

Les tests ont été réalisés par Khadidja Sidelarbi dans le laboratoire du Pr. Becq.

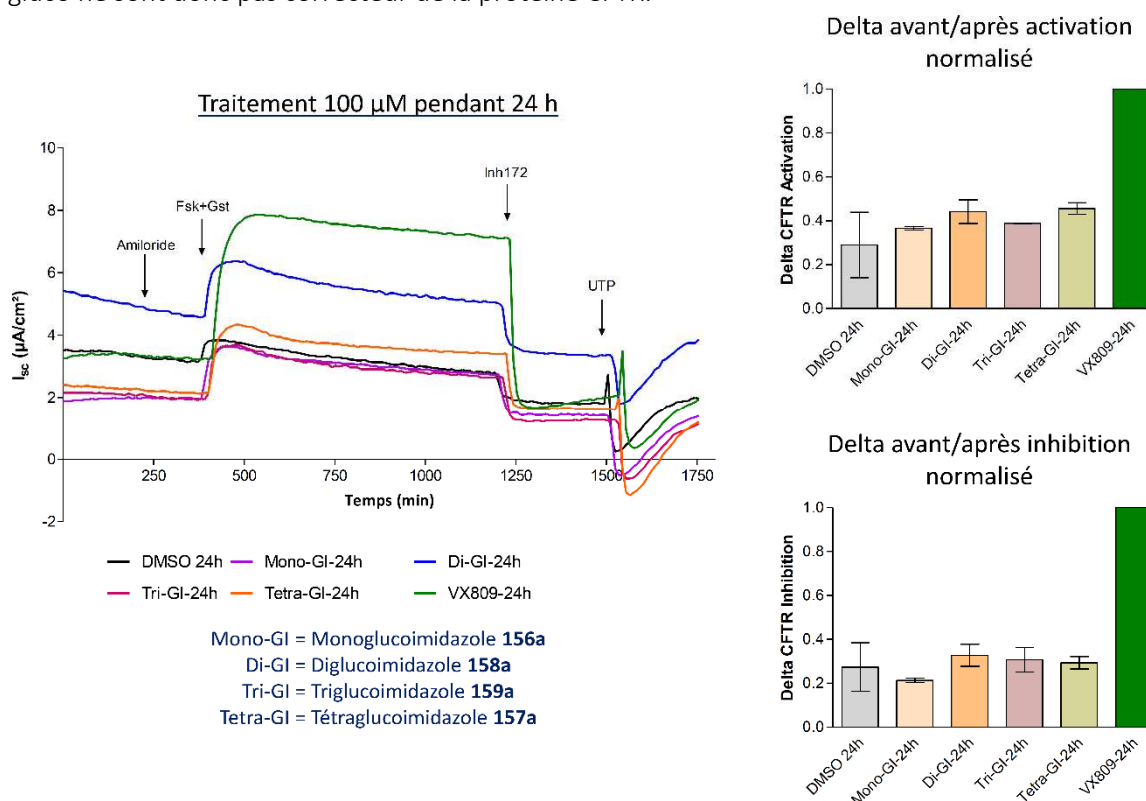
b) Résultats

Les cellules CFBE-F508del-CFTR, sur lesquelles ont été réalisés les essais, sont des cellules de patients atteints de la mutation ΔF508 et sont donc déficientes en protéine CFTR. Avant la mesure dans la chambre de Ussing, les inserts de cellules CFBE-F508del-CFTR ont été traités pendant 4 ou 24 h avec une solution à 100 μM d'inhibiteur. Seuls les résultats obtenus avec le traitement de 24 h sont présentés ci-après (Figure 68 et Figure 69).

L'injection d'un cocktail activateur forskoline et génistéine (Fsk + Gst) (Figure 67) provoque une nette augmentation du courant de court-circuit (Figure 68 et Figure 69). A l'inverse, l'ajout de Inh_{172} , un inhibiteur spécifique de la protéine CFTR (Figure 67), induit une baisse rapide du courant de court-circuit. Cette inhibition sélective de la protéine CFTR montre que le courant de court-circuit mesuré est CFTR dépendant. Le VX 809, ou Lumacaftor®, est un correcteur connu de la protéine CFTR qui permet son adressage à la membrane. Les différents inhibiteurs ont été comparés à ce composé qui a été utilisé comme contrôle positif.

Figure 67 Structures de la forskoline, de la génistéine et de Inh₁₇₂

Dans le cas des composés en série D-*gluco* (Figure 68), on voit que les meilleurs deltas d'inhibition et d'activation sont obtenus pour le VX 809 modèle. Le delta d'activation correspond au courant de court-circuit atteint après activation avec Fsk + Gst auquel est soustrait le courant de court-circuit basal. Le delta d'inhibition est calculé en faisant la différence entre la valeur du courant de court-circuit avant l'injection de Inh₁₇₂ et sa valeur après inhibition. Les valeurs de delta obtenues pour les composés multivalents sont comparables aux valeurs obtenues pour le DMSO. Les composés multivalents en série D-*gluco* ne sont donc pas correcteur de la protéine CFTR.

Figure 68 Effet de la série d'inhibiteurs D-glucoimidazole sur la fonction de la protéine Δ F508 avec un traitement de 24 h

Les composés mono- et trivalent mannoimidazole (MMI **156b** et TMI **159b**) ne montrent pas d'effet correcteur envers la protéine CFTR (Figure 69 – Graphique de gauche et histogrammes). En revanche, un effet de potentiation est observé lorsque les composés MMI ou TMI sont introduits en mélange avec le VX 809 lors du traitement des cellules (Figure 69 – Graphique de droite et histogrammes). Le delta d'activation, comme le delta d'inhibition, sont supérieurs aux valeurs de delta du VX 809 seul. Ces résultats laissent supposer un effet potentiateur du monomannoimidazole **156b** et du trimannoimidazole **159b** sur la protéine CFTR d'un patient atteint de la mutation Δ F508.

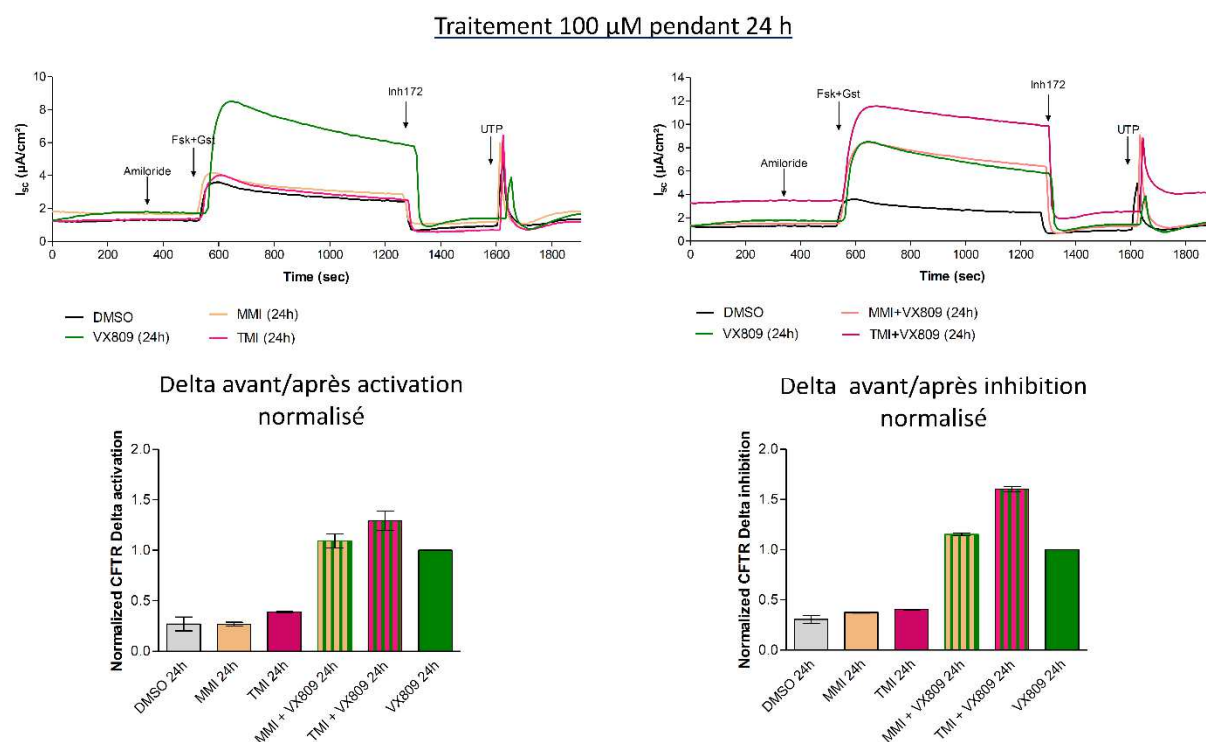


Figure 69 Effet de la série d'inhibiteurs D-mannoimidazole sur la fonction de la protéine Δ F508 avec un traitement de 24 h

Un test de potentiation a alors été réalisé pour confirmer ou rejeter cette hypothèse (Figure 70). Les cellules testées ont été préalablement traitées avec le VX 809. Au même titre que la forskoline et que l'inhibiteur 172, les inhibiteurs en série D-manno ont été injectés à des moments précis lors de la mesure. Le VX 770, connu sous le nom d'Ivacaftor®, est un potentiateur connu de la protéine CFTR. Il a donc servi de contrôle positif lors des mesures.

On observe que l'ajout de 5, 10 ou 100 μ M d'imosucre aux cellules n'induit aucune variation du courant de court-circuit, ce qui signifie qu'il n'y aucune variation dans l'efflux d'ions chlorure (Figure 70) alors que le VX 770 provoque une augmentation du courant de court-circuit.

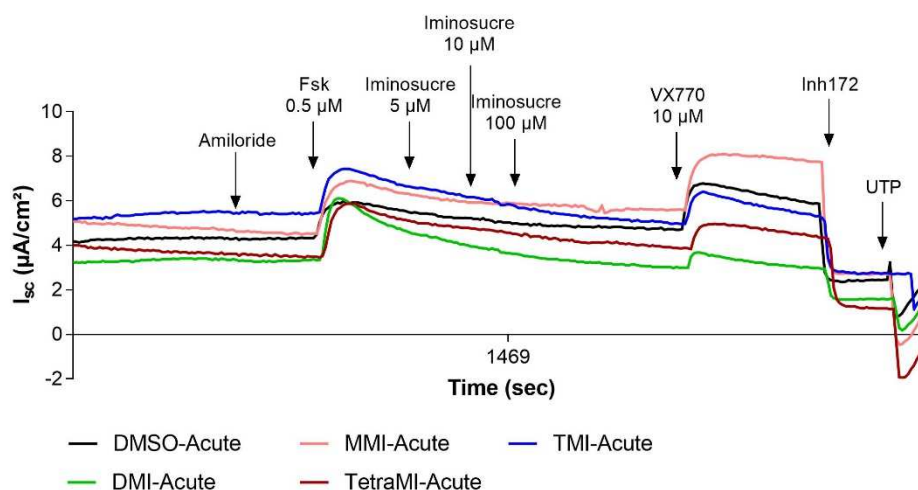


Figure 70 Effet potentiateur des mannoimidazoles sur la protéine CFTR- Δ F508 (DMI=DIMannoimidazole)

L'hypothèse d'un effet potentiateur des composés multivalents en série D-manno est donc invalidée par ce second test.

IV) Conclusion de chapitre

Les glycoimidazoles clickables **140a** et **140b** ont été obtenus avec un rendement global de réaction sur 9 étapes de 32 % en série D-*gluco* et de 26 % en série D-*manno*, à partir du D-glucono- δ -lactame **70**. Ce rendement élevé a été obtenu grâce à une optimisation de chaque étape de synthèse. Le chemin synthétique suivi ([Schéma 34](#)) est applicable à des quantités de substrat de l'ordre de la millimole. Cette méthode de synthèse stéréodivergente est donc robuste et efficace.

Les rendements obtenus lors des CuAAC sont compris entre 55 et 85 %, avec des rendements rapportés au nombre de fonctions alcyne compris entre 80 et 95 %. Seul le monomannoimidazole **156b** a été obtenu avec un rendement non satisfaisant de 65 %.

Les problèmes de dégradation rencontrés lors de la déprotection des composés multivalents sur résine basique nous ont poussés à utiliser une autre méthode de déacétylation. La méthode de déprotection par une solution méthanolique d'ammoniac a fourni des rendements en composés multivalents déprotégés d'au minimum 75 % et allant jusqu'à des rendements quantitatifs.

Les tests d'inhibition sur l' α -mannosidase de Jack-bean montrent que tous les composés multivalents testés sont des inhibiteurs compétitifs excepté le tétraglucoimidazole identifié comme un inhibiteur mixte. Parmi les inhibiteurs compétitifs, un phénomène de tight-binding a été observé sur le trimanno-**159b**, tétramanno **157b** et tétradécamannoimidazole **160b** ainsi que sur le tétradécatglucoimidazole **160a**, ce qui nous a poussés à utiliser une nouvelle méthode de traitement pour la détermination des constantes d'inhibition. C'est l'équation décrite par Morrison qui a été employée.

Les inhibitions relatives par iminosucres de tous les inhibiteurs à motif glycoimidazoles, excepté le tétradécatglucoimidazole **160a**, sont faibles car compris entre 0,3 et 4. La présentation de multiples copies de glycoimidazoles peut avoir un effet négatif sur l'inhibition (cas du tétramannoimidazole **157b**, Rp/n = 0,3), un simple effet statistique (cas du trimannoimidazole **159b** Rp/n = 1) ou un effet positif faible (cas du 14-cyclomannoimidazole **160b**, Rp/n = 4). Le 14-cycloglucoimidazole **160a** a lui un Rp/n de 26 nettement supérieur à ceux des autres composés testés. Cependant, ce Rp/n est quasiment 25 fois plus faible que celui calculé pour le 14-cycloDNJ **15**.^[82]

Ces résultats apportent une première réponse aux questions initialement posées ; à savoir : qu'advierait-il de l'effet multivalent si les composés multivalents étaient construits à partir de ligands très affins de la cible visée ? L'effet multivalent serait-il conservé, amélioré ou au contraire réduit ?

Des composés multivalents affins de la mannosidase de Jack-bean ne bénéficient pas d'un effet multivalent fort lorsque la valence est augmentée jusqu'à 14 ligands. L'effet multivalent est conservé mais les valeurs de Rp/n sont faibles. Pour les composés de petite valence, on peut penser que leur taille est insuffisante pour se lier avec 2 ou 4 sites actifs différents, ce qui ne permet pas l'observation d'un effet chélate. En revanche les composés 14-valent basés sur une plateforme cyclodextrine peuvent se lier aux deux sites actifs d'une même enzyme simultanément. Des études *in silico* pourraient permettre de prédire la formation possible ou non d'un complexe sandwich avec ces composés 14-valents. Dans la négative, une optimisation de la longueur de l'espaceur ou la synthèse d'un composé 36-valent à motif glycoimidazole, de structure analogue au composé ayant permis d'atteindre le record de Rp/n, serait intéressante. La mesure de l'effet multivalent d'un tel inhibiteur multivalent permettrait de confirmer ou d'infirmer la conclusion sur l'effet multivalent obtenu pour le composé 14-valent glucoimidazole.

Les valeurs d'inhibition obtenues envers l' α -mannosidase de Jack-bean vont de 2 μ M, pour le monoglucoimidazole **156a**, jusqu'à 2 nM pour le 14-cyclomannoimidazole **160b**. Les constantes d'inhibition des deux composés 14-valents sont semblables (2 et 6 nM), ce qui laisse supposer que l'effet multivalent permet de passer outre la mauvaise configuration de l'iminosucre envers une même cible.

Les glycoimidazoles mono-, di-, tri- et tétravalents ont été testés sur des cellules de patients atteints de la mucoviscidose par le groupe du Pr. Becq à Poitiers. Malheureusement, aucun de ces 8 composés multivalents testés sur la restauration de l'activité de la protéine CFTR ne montre une activité correctrice ou potentiatrice.

CHAPITRE 3

-

METHODE DE DESHYDROXYLATION EN POSITION α DE GROUPEMENTS ELECTRO- ATTRACTEURS

I) Méthodes de déshydroxylation

Depuis l'année 1859, où Edwin L. Drake extrait pour la première fois du pétrole en Pennsylvanie, 150 ans de recherche continue ont permis le développement d'une science à part entière, la pétrochimie. La fonctionnalisation des molécules issues de ce mélange d'hydrocarbures constitue une source abondante de produits chimiques utilisés dans l'industrie et les laboratoires. La découverte de nouvelles méthodes de fonctionnalisation et le design de catalyseurs toujours plus efficaces sont de grands défis en chimie organique.

La raréfaction du pétrole et la nécessité grandissante de protéger l'environnement pousse de plus en plus les chimistes à trouver d'autres sources de matière première. La tendance va vers l'utilisation de molécules issues de la biomasse. Celle-ci regroupe l'ensemble des matières organiques d'origine végétale ou animale et est constituée à 75% d'hydrates de carbones, à 20% de lignine et de 5% de triglycériles, protéines et terpènes. Elle se compose par exemple de sucres, très abondants sous forme de cellulose et d'hemicellulose, d'acides gras et d'acides aminés. Ces différents composés sont souvent hautement fonctionnalisés. L'utilisation de la biomasse comme source de « building blocks » en synthèse organique soulève donc un défi exactement inverse à celui de la pétrochimie : la défonctionnalisation (Figure 71).^[336]

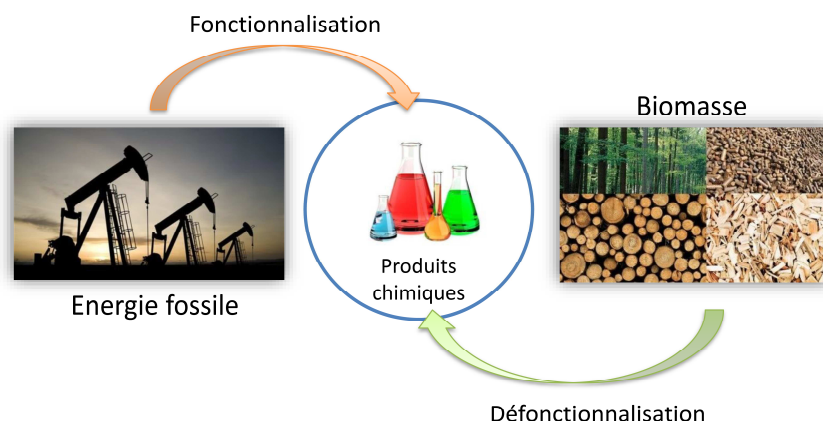


Figure 71 Biomasse versus pétrole

L'utilisation de sucres comme synthons organiques implique la mise au point de nouvelles méthodes de déshydroxylation. Les sucres possédant de nombreux groupements hydroxyles, des méthodes de déshydroxylation sélectives sont nécessaires. Certaines s'appuient sur la réactivité différente des alcools primaires, secondaires ou tertiaires et d'autres sur l'environnement adjacent à l'alcool. Le travail réalisé au laboratoire sur la compréhension et l'élargissement du champ d'applications d'une de ces méthodes, redécouverte par sérendipité, permettant la déshydroxylation d'alcool en position α de groupements électro-attracteurs, sera décrit. En guise d'introduction les méthodes de déshydroxylation d'alcool en position α de groupement électro-attracteur n'utilisant pas de métaux de transition seront repertoriées.

1) Méthodes de déshydroxylation sélectives connues

La réduction directe d'alcool est difficile et une activation est souvent nécessaire dans le cadre de réactions non métalliques. Cette activation peut se traduire par la conversion du groupement -OH en ester sulfonique par exemple, qui sera ensuite déplacé par ajout d'hydrure.^[337] Le groupement hydroxyle peut aussi être dérivatisé en ester carboxylique pour être ensuite réduit par photolyse ou par réaction de transfert d'électrons.^[338] On peut également citer la transformation de l'hydroxyle en dérivé

thiocarbonylé qui sera réduit par l'hydruure de tributylétain *via* un procédé radicalaire. Cette méthode emblématique de déshydroxylation est connue sous le nom de réaction de Barton-McCombie.^[339]

Un grand nombre d'articles décrivent la réduction d'un groupement –OH en position α de groupements électro-attracteurs. L'utilisation de diiodure de samarium ou encore d'étain est très répandue. Leur efficacité est indéniable mais leur utilisation lors d'étapes finales de synthèse sur des molécules à visée thérapeutique ou industrielle peut être compromise soit à cause de la toxicité des dérivés de l'étain soit par le coût des réactifs utilisés.

Dans une première partie seront présentées deux méthodes emblématiques de déshydroxylation, la réaction de Barton-McCombie et la méthode à l'iodure de samarium, applicables à la déshydroxylation en position α de groupements électro-attracteurs variés. Seront ensuite développées les méthodes n'employant pas de réactif ou catalyseur métallique et où l'alcool est remplacé par un halogène au cours du mécanisme réactionnel avant réduction. Cet état de l'art s'achèvera avec des méthodes de type radicalaire, enzymatiques ou encore électrochimiques et celles impliquant une espèce cationique comme intermédiaire réactionnel.

a) Deux méthodes emblématiques utilisant un métal en quantité stœchiométrique

i. Réaction utilisant l'iodure de samarium

L'importance et l'attrait général pour l'iodure de samarium débute lorsque Kagan et son équipe développent une méthode de synthèse du SmI_2 pratique et soulignent la réactivité de ce composé envers les fonctions clés de la chimie organique dans les années 1980.^[340,341] L'iodure de samarium est un réducteur mono électronique fort et un acide de Lewis. Sa réactivité peut être modulée par ajout d'additifs ou modification du solvant qui vont avoir une influence directe sur son potentiel de réduction. Par exemple, le potentiel de réduction du samarium mesuré dans l'eau est de $-1,55 \text{ V}$ ^[342] et peut s'élever jusqu'à $-2,05 \text{ V}$ ^[343] en présence de 4 équivalents d'héxaméthylphosphoramide (HMPA). L'utilisation du HMPA tend à être interdite dans les laboratoires. Des chercheurs se sont donc intéressés à remplacer ce réactif^[344] ou encore à travailler avec un mélange $\text{SmI}_2/\text{H}_2\text{O}$.^[345]

L'iodure de samarium est disponible commercialement et facilement préparable en laboratoire. Ces arguments font du SmI_2 un agent réducteur de choix en synthèse organique en tant que réducteur de groupement fonctionnel ou initiateur de radicaux permettant des réactions en cascades.^[346]

On peut par exemple citer l'utilisation de l'iodure de samarium dans de nombreuses synthèses de composés naturels tels que le taxol, la kendomycine ou la diazonamide A et plus récemment dans la synthèse de la strychnine et de l'englerine A.^[346]

Le SmI_2 , dans les réactions de réduction, est souvent utilisé pour éliminer des substituants vicinaux de carbonyles.^[347] Le mécanisme proposé est le suivant (Schéma 62).

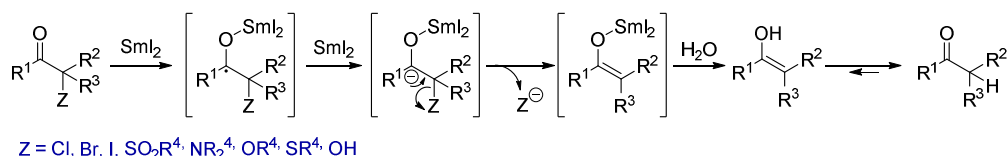


Schéma 62 Mécanisme de réduction d' α -hétérosubstituant de composés carbonylés

Le radical cétyle est formé après transfert monoélectronique d'un premier équivalent de SmI_2 coordonné au carbonyle. Celui-ci peut être réduit en carbanion par un second équivalent d'iodure de samarium. L' α -hétérosubstituant est ensuite éliminé pour former l'énolate de samarium. Après hydrolyse, un équilibre céto-énolique permet d'obtenir le produit réduit en position α .

Parmi ces hétérosubstituants figure le groupement hydroxy. L'élimination d'hydroxyde est possible en position α de divers groupements électro-attracteurs. Ci-après une sélection d'exemples représentatifs illustrant le champ d'applications de cette méthode est présentée (Schéma 63).

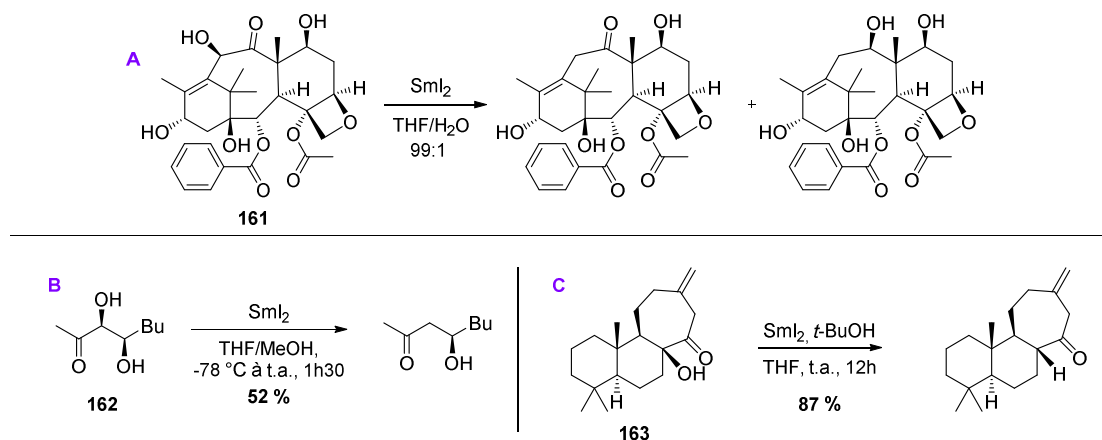


Schéma 63 Déshydroxylation en position α de cétones à l'aide d'iodure de samarium

En ce qui concerne les cétones, la réaction de déshydroxylation en position α est possible, comme en attestent les exemples réalisés sur la 10-désacétylbaccatine III (**161**) sur le diol **162**, et sur l'hydroxy cétone **163** (Schéma 63). La réduction d'un alcool tertiaire en position α de cétone est fructueuse avec un rendement de 87 % (Schéma 63 - C).^[348] La déshydroxylation sélective de la position 10 de la 10-désacétylbaccatine III (**161**) est réalisée avec 8 équivalents d'iodure de samarium dans un mélange THF/H₂O (Schéma 63 - A).^[349] Cette dernière peut être améliorée en protégeant le groupement hydroxy par un acétate avant réduction. Cette méthode de protection puis réduction en un pot a récemment été utilisée par le groupe de Scott J. Miller sur un dérivé de la résorcylide possédant un alcool en position benzylique (Schéma 64).^[350]

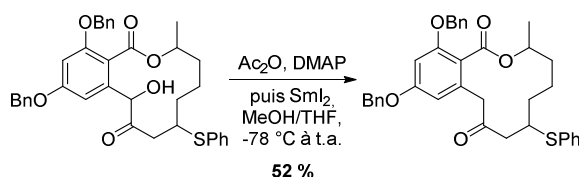


Schéma 64 Acétalisation puis élimination un groupement hydroxyle à l'aide de SmI₂

Concernant d'autres types de groupements électro-attracteurs, la réduction d'un alcool adjacent à un aldéhyde (Schéma 65 - D)^[351], un ester acyclique (Schéma 65 - E),^[348] ou cyclique (Schéma 65 - F)^[352] est également possible avec des rendements allant de 63 à 82 % (Schéma 65).

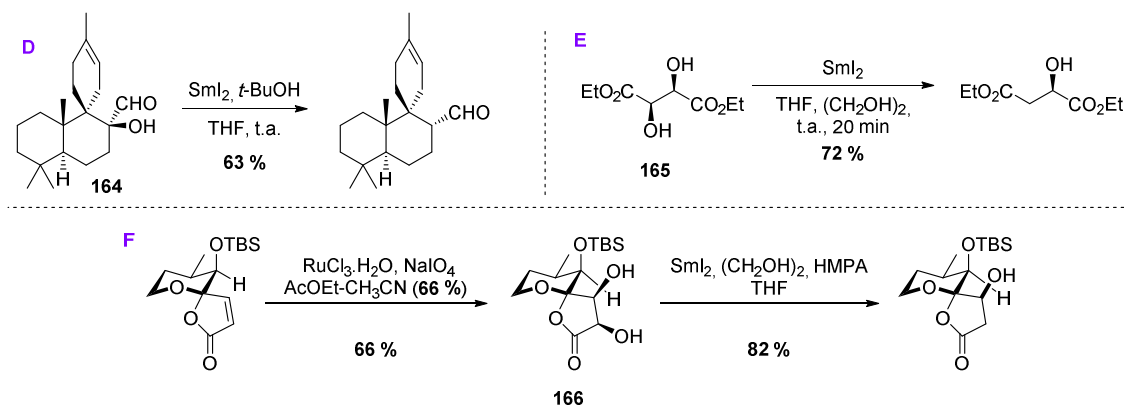


Schéma 65 Déshydroxylation en position α d'aldéhyde et d'esters à l'aide d'iodure de samarium

La déshydroxylation du diol **162** permet de mettre en évidence la régiosélectivité de cette méthode entre deux alcools, l'un activé et l'autre non (Schéma 63 - D).^[353] Seul l'alcool en position α du groupement électro-attracteur est réduit. Cette même régiosélectivité est observée sur le diol **166** en position α d'ester cyclique avec un très bon rendement de 82 % (Schéma 63 - F). Pour le diol **165**, les deux alcools sont activés. Seul un des deux alcools est réduit grâce à un contrôle précis de la stœchiométrie en SmI_2 utilisé (Schéma 63 - E).

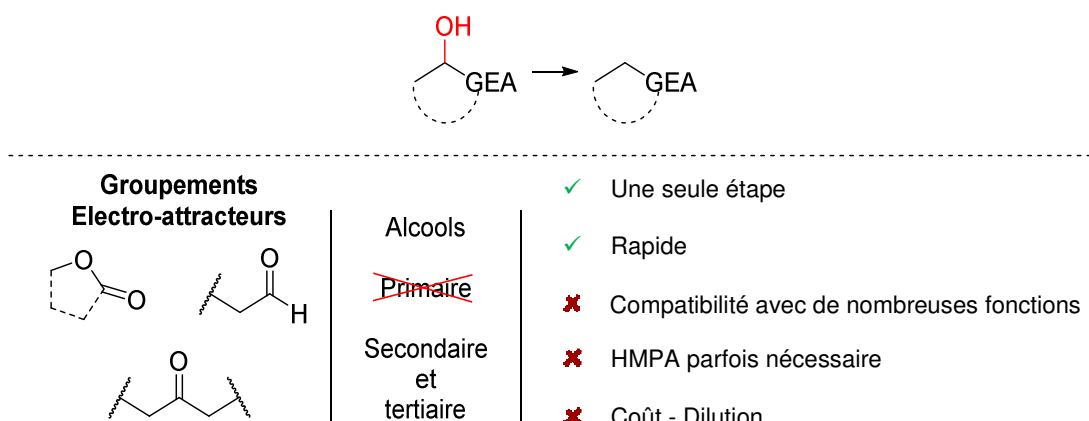
La réaction de déshydroxylation a lieu sur des alcools secondaires et tertiaires mais aucun exemple sur un alcool primaire, n'a été publié à notre connaissance. L'absence de réactivité des alcools primaires laisse anticiper la possibilité d'effectuer une mono-déshydroxylation sélective entre alcool tertiaire ou secondaire et primaire placés en position α de carbonyle. Aucun exemple n'existe dans la littérature, il serait intéressant de tester la méthode de déshydroxylation au samarium sur des stéroïdes ou encore la doxorubicine possédant un motif α, α' -dihydroxylé. La présence d'alcools tertiaires et secondaires non activés est tolérée (Schéma 63 – A et Schéma 65 - D, E et F) ainsi que la présence d'alcools primaires non activés.^[354] La réaction peut également s'effectuer en présence de groupements silylés (Schéma 65 - F), d'ester et d'oxétane (Schéma 63 - A). La désoxygénation directe d'alcool non activé n'est pas possible en utilisant l'iodure de samarium. En lien avec le mécanisme (Schéma 62), la déshydroxylation n'est possible que quand l'alcool se trouve en position α de carbonyle.

Le champ d'application de ces réductions au diiodure de samarium est donc très large. Il faut cependant faire attention à la présence d'halogènes,^[340] d'époxydes,^[340] de sulfones,^[355] de sulfoxydes,^[340] d'acide carboxyliques,^[356] d'aldéhydes,^[357] d'amides^[358] de chlorures d'acide,^[359] de lactones,^[360] de nitriles^[359] ou encore de cétones pouvant être réduits, directement ou indirectement, par action de l'iodure de samarium.^[361] La formation de diol par couplage pinacolique est également possible dans le cas d'aldéhydes ou de cétones peu encombrés.^[362]

La présence d'alcènes ou d'alcynes peut également engendrer des réactions secondaires par réaction de cyclisation intramoléculaire.^[348,361,363] Dans les exemples cités précédemment (Schéma 63 – A et C), la rigidité imposée par les cycles permet d'éviter des réactions parasites avec la fonction alcène présente. Les esters et cétones α, β -insaturés sont réduits respectivement en esters et en cétones.^[364]

L'utilisation de l'iodure de samarium a également des inconvénients techniques. Il est nécessaire de travailler dans des conditions diluées, son utilisation à échelle industrielle est donc difficilement envisageable. L'iodure de samarium doit être manipulé dans des conditions strictement anaérobiques rendant sa manipulation plus délicate. De plus ce composé est cher (138 € le gramme chez Merck) et doit être utilisé, au minimum, avec 2 équivalents.

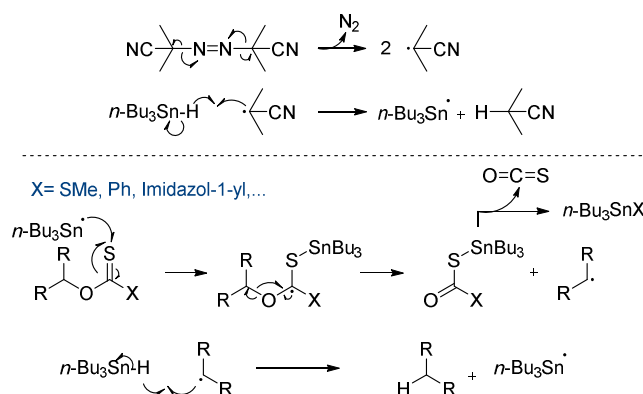
La capacité du réactif de Kagan à réduire les alcools vicinaux de groupements électro-attracteurs permet de modifier finement la structure et les propriétés de composés complexes. Sa grande réactivité est un atout mais une attention particulière doit être portée sur la présence de fonctions pouvant induire des réactions secondaires non désirées (Figure 72).

Figure 72 Bilan de la déshydroxylation en position α de groupements électro-attracteurs (GEA) avec Sml_2 

ii. Réaction de Barton-McCombie

Publiée pour la première fois en 1975 par Derek H. R. Barton et Stuart W. McCombie,^[339] cette réaction de désoxygénation d'alcool est largement utilisée en chimie organique de nos jours. Cette réaction, initialement destinée à une application sur des aminoglycosides,^[365] est dorénavant utilisée sur la plupart des familles de composés. Cette méthode en deux temps débute par la dérivatisation d'un alcool en dérivé thiocarbonylé par utilisation de disulfure de carbone ou *O*-phényl chlorothioformate par exemple. Cet intermédiaire est ensuite réduit selon un mécanisme radicalaire en présence de l'hydruide de tributylétain et d'azobisisobutyronitrile (AIBN).

Le mécanisme général de la réaction de Barton-McCombie est décrit ci-dessous (Schéma 66).

Schéma 66 Mécanisme de la réaction de désoxygénation de Barton McCombie^[366]

La réaction est initiée par la décomposition, par voie thermique ou photochimique, de l'AIBN pour générer 2 équivalents de radicaux cyanoisopropyles. Ce dernier réalise l'abstraction de l'hydrogène de l'hydruide de tributylétain pour former le radical tributylstannyle. La propagation est initiée par addition du radical tributylstannyle sur le soufre du dérivé thiocarbonylé pour former une liaison S-Sn particulièrement stable. Cet intermédiaire se fragmente ensuite vers la formation d'un radical alkyle. Ce dernier est ensuite réduit par un second équivalent de Bu_3SnH menant au composé déshydroxylé visé. La force de cette méthode est qu'elle ne se limite pas aux alcools en position α de groupements électro-attracteurs. Nous ne nous intéresserons cependant qu'à ces derniers cas. Le mécanisme est similaire lorsque l'alcool est adjacent à un groupement électro-attracteur, mais le radical alkyle est alors stabilisé.

Le champ d'application de cette méthode en position α de groupements électro-attracteurs est résumé dans les schémas suivants (Schéma 67 & Schéma 68).

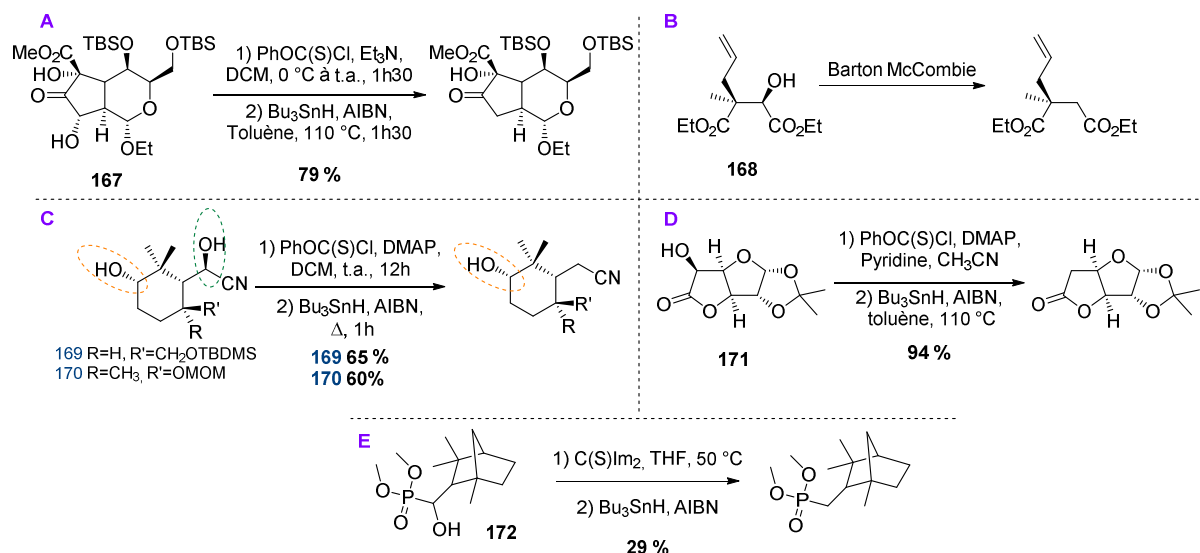


Schéma 67 Exemples de déshydroxylation en position α de cétones, esters, nitriles, lactones et phosphonates avec la méthode de Barton-McCombie

Un bel exemple de déshydroxylation régiosélective sur un alcool secondaire adjacent à une cétone a été publié en 2012. Ce composé **167** est un intermédiaire réactionnel vers la synthèse de l'(-)-Echinospirine (Schéma 67 - A).^[367] La déshydroxylation en position α d'ester cyclique^[368] ou acyclique^[369] est également réalisable (Schéma 67 - B et D). Par opposition avec l'utilisation de l'iodure de samarium, la réduction d'alcool en position α de groupement cyano est possible et fonctionne avec de bons rendements (Schéma 67 - C).^[370,371] Un exemple de déshydroxylation en position α de phosphonate est également décrit (Schéma 67 - E).^[372]

La réaction fonctionne également sur des β -, γ - et δ -lactames (Schéma 68). Sa réalisation sur le composé **173** constitue le seul exemple de déshydroxylation sur un β -lactame.^[373,374] La désoxygénation de γ -lactames peut être réalisée *via* la méthode de Barton-McCombie sur les composés **174** et **175** (Schéma 68 - B^[375] et C^[376]) ainsi que les δ -lactames (Schéma 68 - D).^[377] Le lactame **176** est un intermédiaire clef dans la synthèse de la lycopodine. Aucune information sur les conditions utilisées lors de la réaction de Barton-McCombie sur ce dernier exemple n'ont été communiquées.

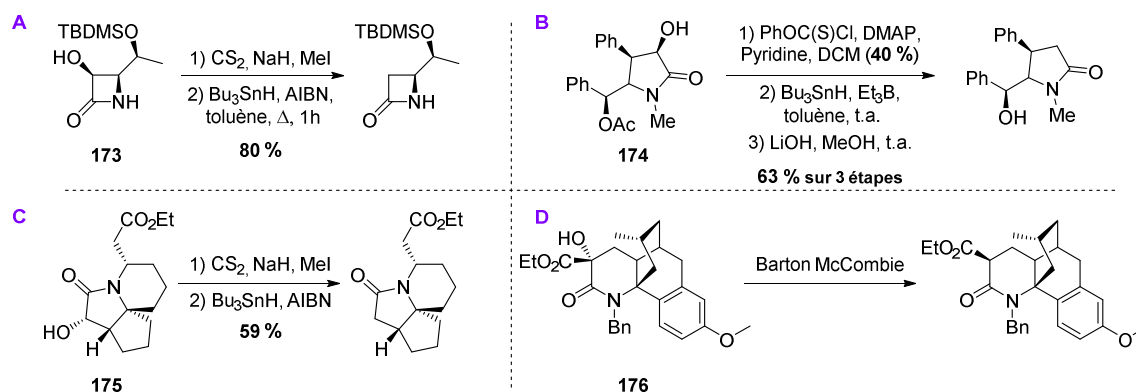


Schéma 68 Réaction de Barton-McCombie sur des lactames hydroxylés

La réaction de déshydroxylation est possible sur des alcools secondaires et tertiaires (Schéma 67 & Schéma 68). Une sélectivité entre alcool tertiaire et secondaire est observée lors de la déshydroxylation de l' α,α -dihydroxy cétone **167** (Schéma 67). La sélectivité ne vient pas d'une absence de réactivité des alcools tertiaires face à une réaction de type Barton McCombie puisque des exemples existent (Schéma 68 - D), notamment sur une molécule de type flavanone.^[378]

La réaction peut être effectuée sur des alcool secondaires (Schéma 67 - C) ou tertiaires^[379] non activés. Dans le cas des alcools tertiaires, la présence d'un groupement électro-attracteur en position α permet d'éviter la réaction de Chugaev menant à la formation d'un alcène *via* élimination.^[380] Aucun exemple de déshydroxylation sur un substrat possédant un alcool vicinal à un groupement électro-attracteur en présence d'un alcool primaire n'a été trouvé. Cependant, ce type de réaction devrait théoriquement être réalisable puisque la désoxygénation d'alcool primaire non activé procède via un radical primaire peu stable et est donc difficile, nécessitant un chauffage à haute température.^[381] La différence de stabilité des radicaux primaires ou tertiaires est illustrée par la déshydroxylation régiosélective de diols, après passage par un intermédiaire cyclique carbonothioate (Schéma 69).^[382]

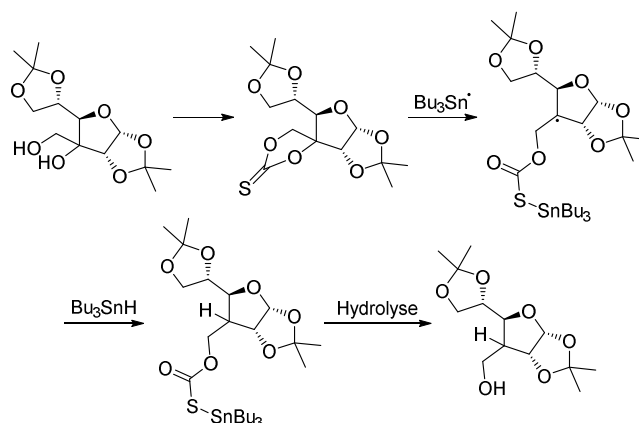


Schéma 69 Déshydroxylation sélective de diol avec la méthode de Barton McCombie

Les esters, les groupements silylés, les amides ou encore les acétals cycliques ne sont pas impactés lors de la réaction (Schéma 67, Schéma 68 & Schéma 69). La présence d'alcools libres est tolérée si la thiocarbonylation est sélective (Schéma 67). En revanche, la présence d'halogènes et d'insaturation peut causer des réactions ou des réarrangements parasites.^[383]

Les deux inconvénients majeurs de cette méthode sont la nécessité d'effectuer 2 étapes de réaction et la toxicité de l'hydruire de tributylétain (Figure 73). En effet, le Bu_3SnH est toxique et nocif pour l'environnement. Ce composé est un perturbateur endocrinien capable de faire, par exemple, apparaître des caractéristiques masculines sur des espèces marines femelles même à faible dose.^[384]

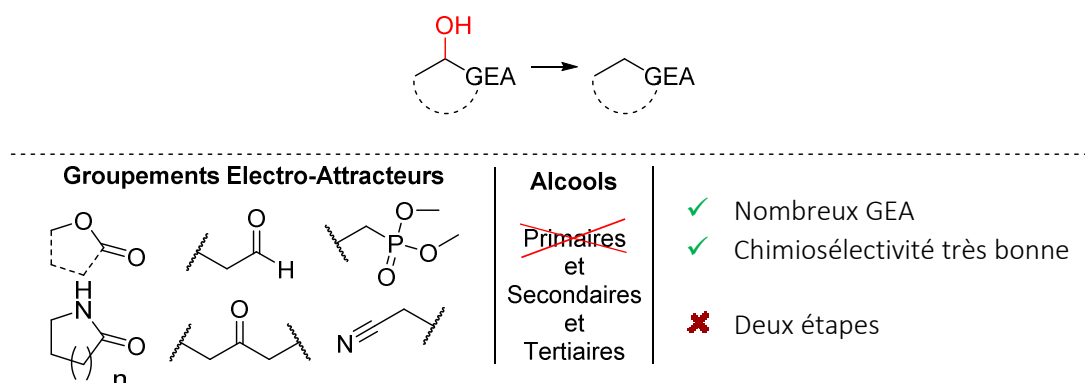


Figure 73 Bilan sur la déshydroxylation en position α de groupements électro-attracteurs *via* la méthode de Barton Mc-Combie

Ces deux méthodes ne constituent bien sûr pas les uniques cas de déshydroxylation utilisant un métal mais elles sont utilisées dans la majorité des cas. En position α de groupements électro-attracteurs, on peut également citer la réduction de Clemmensen^[385] utilisant du zinc, des réductions au nickel,^[386] ou encore une réaction de désoxygénation pallado-catalysée en position α d'esters.^[387]

Dans la partie suivante sont développées les méthodes de désoxygénation d'alcool, sans métal, en position α de groupements électro-attracteurs dont l'intermédiaire réactionnel est une espèce α -iodocarbonyle.

b) Via un intermédiaire α -iodo carbonyle

i. Esters sulfoniques puis iodure de sodium

L'exemple le plus ancien de déhydroxylation d'alcool en position α de groupement électro-attracteur sans utilisation de métal *via* un ester sulfonique remonte à l'année 1958.^[388] Cette déshydroxylation s'effectue en deux temps avec tout d'abord une tosylation de l'alcool, puis un déplacement de ce groupement tosyloxy par un ion iodure (NaI), pour former l'intermédiaire iodé. La déhalogénéation s'effectue ensuite en présence d'acide acétique. La réaction est réalisée sur l'alcool primaire de la cortisone. Pour une meilleure clarté et une description plus aisée, la règle de numérotation des stéroïdes est rappelée sur la cortisone (Schéma 70).

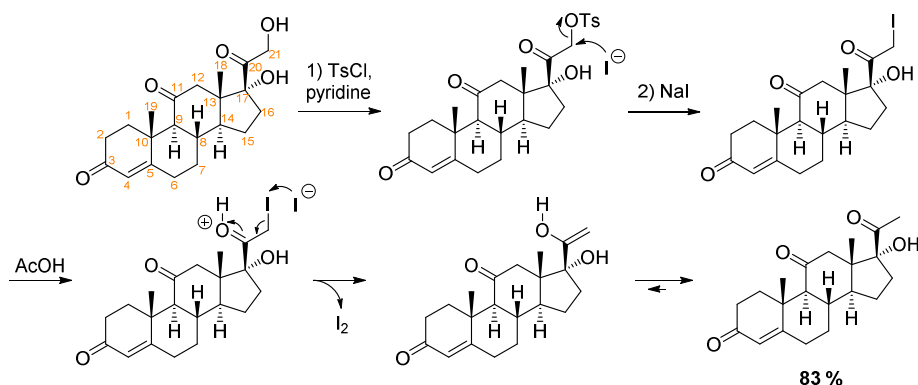


Schéma 70 Déshydroxylation sélective de la cortisone

Dans ce cas précis, l'intermédiaire tosylé n'est pas isolé mais une purification peut être nécessaire si la réaction ne conduit pas à une sélectivité ou conversion totale. Ici, la différence de réactivité entre les alcools primaires et tertiaires permet une différenciation aisée.

Cette méthode en deux temps a également été appliquée en 1985,^[389] 1999 puis en 2006, toujours sur des stéroïdes (Schéma 71).

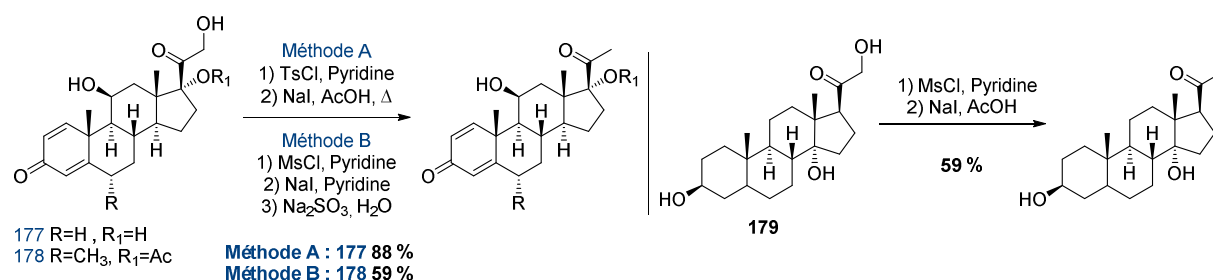


Schéma 71 Désoxygénation de stéroïdes en deux étapes

La désoxygénation de la prednisolone (**177**) par tosylation, iodation puis proto-déhalogénéation amène au produit désiré avec un très bon rendement de 88 %.^[390] Le 6α -méthyl 17α -O-acétate (**178**) est mésylé puis réduit pour obtenir le composé désoxygéné avec un rendement plus faible de 59 %.^[391] Le stéroïde **179** est d'abord mésylé, le groupement mésyle est ensuite déplacé par un iodure puis l'iode est éliminé en milieu acide.^[389]

Pour que la réaction de déhalogénéation ait lieu, il faut que la fonction adjacente à l'alcool puisse être protonée. Cette méthode est peu utilisée et les exemples décrits à ce jour dans la littérature se limitent à la désoxygénation d'alcools primaires en position α de cétones.

Un seul exemple de désoxygénation d'alcool secondaire existe à partir d'un dérivé d'ester trifluorométhane sulfonique. L'intermédiaire triflate est obtenu à l'aide de l'anhydride trifluoroacétique et de pyridine à partir de l'alcool correspondant.^[392] Le triflate est éliminé par action du tétraméthylpipéridure de lithium et donne le produit réduit avec un rendement de 81 % (Schéma 72).^[393]

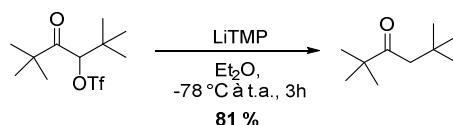


Schéma 72 Réduction d'un groupement triflate par LiTMP

Si du chlorure de triméthylsilyle est ajouté, la formation de l'éther d'énol silylé a lieu, menant au produit désoxygéné après hydrolyse. Si la réaction est effectuée à partir d'un substrat OM_s, le produit de réaction est le produit d'élimination et non de réduction. Enfin, le produit de réduction peut également être obtenu à partir de composé α -bromo dans les mêmes conditions.^[393]

ii. L'acide iodhydrique

La formation d'un intermédiaire iodé adjacent au carbonyle en milieu acide est la clef permettant la réaction de déhalogénéation menant au produit déshydroxylé. C'est donc dans une logique d'économie d'atomes que les chimistes se sont tournés vers un système simple utilisant le HI en présence d'acide acétique.

L'acide iodhydrique est l'acide le plus fort des acides halohydriques. Le pK_a du couple HI/I⁻ est de -10. Il est utilisé par les chimistes organiciens pour effectuer des réactions d'hydroiodation sur des alcènes ou des alcyne. Il permet également d'ouvrir des époxydes pour former des iodohydrines, de couper les liaisons C-O des éthers et des acétals pour former des alcools. L'acide iodhydrique permet de convertir les alcools et chlorures en iodures, de réduire les quinones et phénols en arènes entièrement hydrogénés. La réduction des cétones aromatiques en alcanes, des sulfoxides en sulfures et des vinylsilanes en alcènes est également réalisée par utilisation de HI.^[394] Ce réactif est également utilisé pour la réduction de cétones α -hydroxylées.

Le premier exemple d'utilisation de HI dans de l'acide acétique pour désoxygéner un alcool a été publié en 1979.^[395] Cet exemple s'applique sur un composé basé sur un squelette type phenanthraquinone (Schéma 73).

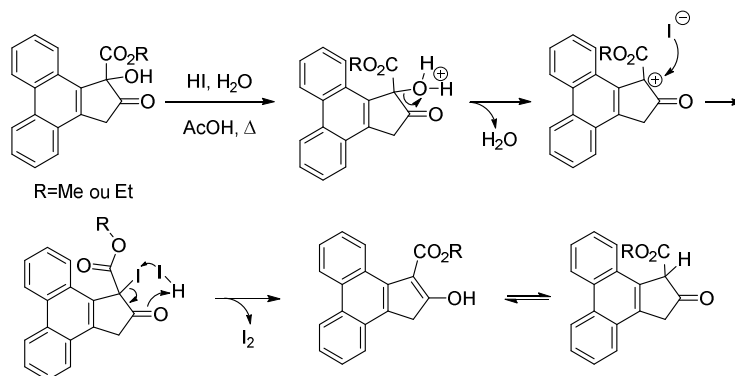


Schéma 73 Premier exemple de désoxygénation en présence de HI^[396]

La réaction s'effectue sur un alcool tertiaire en position α d'ester et de cétone et montre la faisabilité de cette méthode sur des alcools relativement encombrés. Cependant, aucun rendement n'étant communiqué dans l'article, nous ne pouvons donc pas juger de son efficacité.

Le mécanisme proposé est inspiré de l'article de Gilkey publié en 2017.^[396]

Quelques années plus tard, d'autres exemples d'utilisation de HI pour désoxygéner un alcool en position α de cétone émergent dans la littérature (Schéma 74).

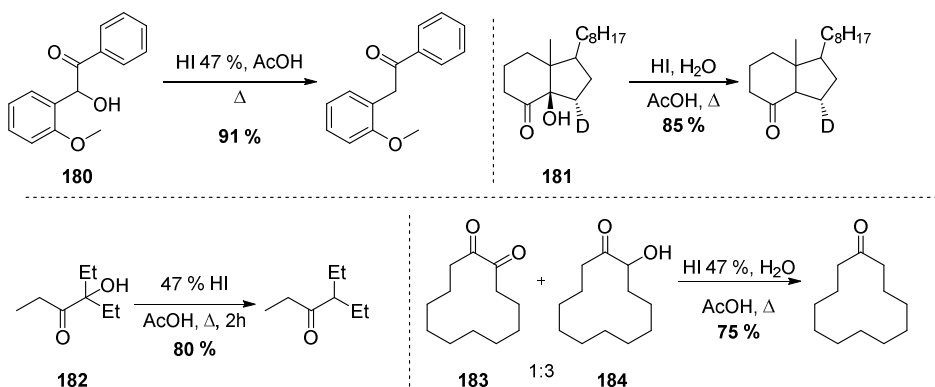


Schéma 74 Déshydroxylation en position α de cétone à l'aide de HI

Le premier exemple concerne un dérivé de la benzoïne **180** qui, après traitement par HI, AcOH, permet d'obtenir le composé déshydroxylé correspondant avec un excellent rendement de 91 %.^[397] Le second exemple a pour substrat **181**, un précurseur de la vitamine D3. La désoxygénation de l'alcool tertiaire est réalisée avec un bon rendement de 85 %.^[398] L'exemple décrit sur la cétone **182** fonctionne avec un rendement de 80 %.^[394] Il est à noter qu'avec l'utilisation de HI, les substrats α -bromo, α -chloro ou α -diazio mèneront également à l'intermédiaire α -iodo qui conduit alors au produit réduit.^[394] A partir du mélange (1 : 3) cyclododéca-1,2-dione (**183**)/2-hydroxycyclododécanone (**184**), est obtenue la cyclododécanone avec un rendement de 75 % (Schéma 74).^[399] La dione est également réduite en cétone en présence de HI dans un reflux d'acide acétique comme le décrivent William Reusch et Ronald LeMahieu en 1964 sur la 9,10-phenanthrenequinone^[400] ou encore Reynold C. Fuson et Paul E. Hoch en 1949.^[401] Le mécanisme supposé est le suivant (Schéma 75).

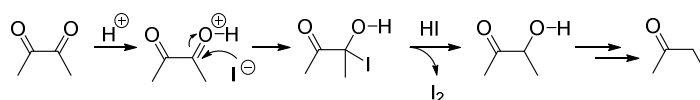


Schéma 75 Mécanisme supposé de réduction des dicétones en cétones

Toutes les réactions précédentes ont été réalisées au reflux de l'acide acétique. Ces conditions dures expliquent la simplicité structurale des substrats utilisés avec peu de groupements fonctionnels. Il est attendu en effet que cette méthode présente une faible chimiosélectivité.

Il est également possible de générer le HI *in situ* à l'aide de NaI et d'acide phosphoreux. C'est ce que le groupe de Jacqueline E. Milne a décrit dans un article publié en 2011 à partir de 8 exemples d'alcools benzyliques et en position α d'acides carboxyliques (Schéma 76).^[402]

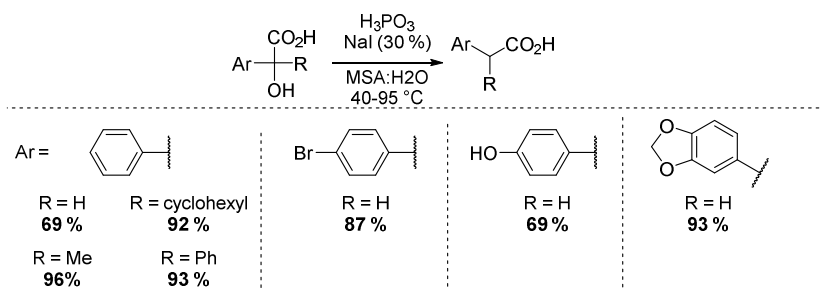


Schéma 76 Génération *in situ* de HI pour déshydroxyler des alcools benzyliques

Les rendements sont excellents et la réaction est réalisée avec une quantité sub-stœchiométrique de NaI contrairement aux méthodes nécessitant des excès de HI. Cette méthode fonctionne uniquement sur des alcools benzyliques. Elle peut être réalisée en présence de groupement méthoxy, elle peut aussi réduire les cétones benzyliques en alcanes correspondants et les sulfones en thioéthers. Les halogénures aromatiques ne sont pas réduits dans ces conditions.

La procédure originale suivie ayant inspiré le groupe de Milne est la procédure décrite en 1909 par Czaplicki et Kostanecki (Schéma 77, méthode A).^[403] Appliquée au composé **185**, le produit de déshydroxylation et d'hydrolyse du groupement nitrile en acide est obtenu avec un rendement de 79 %. L'objectif du groupe de Milne était de réaliser la réaction de déshydroxylation sur le composé **186** à l'échelle du kilogramme dans un but commercial. La réaction a fonctionné avec un rendement de 82 % (Schéma 77, méthode B). Le produit est obtenu par simple recristallisation.

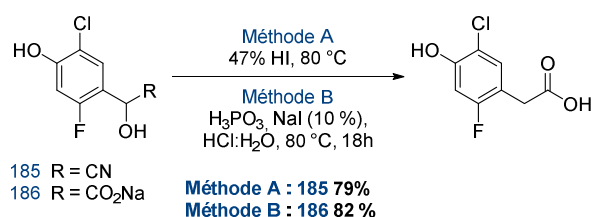


Schéma 77 Procédure ayant inspirée l'article de Milne et conditions améliorées

Récemment, une méthode de déshydroxylation sous pression de H₂ ou N₂ avec HI, menant à des rendements de déshydroxylation d'environ 50 %, a été publiée (Schéma 78).^[396]

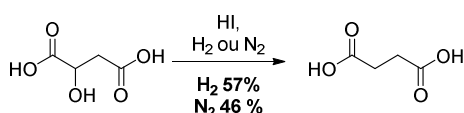


Schéma 78 Déshydroxylation de l'acide malique

Les réactions sont effectuées sur l'acide malique. La concentration en HI dans le milieu est de 0,3M et la pression en H₂ ou N₂ est de 500 psi. En l'absence de HI, aucun produit de déshydroxylation n'est isolé, en revanche le produit d'élimination menant à l'acide fumarique est isolé à hauteur de 21 %. En présence de HI, le mécanisme proposé pour cette réaction est le suivant (Schéma 79).

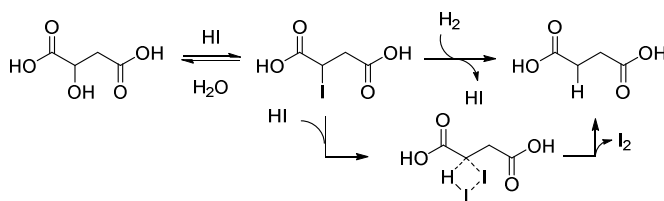


Schéma 79 Mécanisme de déshydroxylation de l'acide malique en présence de HI et H₂

Cette réaction est également appliquée sur l'acide tétrahydrofuran-2,5-dicarboxylique qui après ouverture du cycle permet d'atteindre l'acide adipique.

La méthode de déshydroxylation utilisant l'acide iodhydrique a donc une application limitée. Seuls des exemples en position α de cétones, esters et acides ont été trouvés. De plus les conditions dures de réaction réduisent l'utilisation de ces conditions à des substrats très simples possédant peu de fonctions chimiques.

iii. L'iodure de triméthylsilyle

L'iodure de triméthylsilyle, pour la première fois utilisé pour déshydroxyler des α -hydroxy cétones en 1979,^[404] a des rôles variés en chimie organique. C'est un réactif polyvalent pouvant avoir

un rôle de nucléophile permettant de déprotéger un grand nombre de fonctions comme les éthers, les esters, les carbamates, ou encore les phosphonates.^[405] Le TMSI s'utilise également dans des réactions d'addition nucléophile, en tant qu'agent silylant ou encore comme acide de Lewis.^[405]

Le mécanisme proposé par Ho,^[404] débute par la protection de l'alcool par un groupement silyle. L'éther silylé peut être déplacé par un ion iodure, libéré par un second équivalent de TMSI, aboutissant à l'intermédiaire iodé.^[406] Cet intermédiaire est alors réduit par l'acide iodhydrique formé préalablement (Schéma 80).

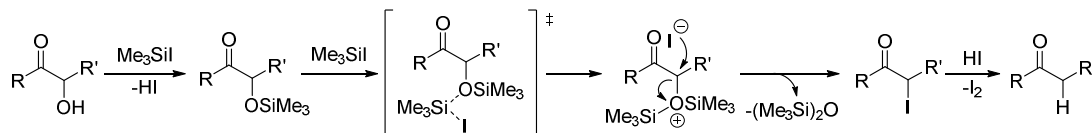


Schéma 80 Mécanisme proposé par Ho pour la déshydroxylation par le TMSI

La réaction est réalisée sur la benzoïne (**187**), la toluoïne (**188**), la para-anisoïne (**189**), la piperoïne (**190**), la butyroïne (**191**) et l'isobutyroïne (**192**) (Schéma 81). Les rendements sont excellents mais le champ d'application décrit dans l'article reste limité aux α-hydroxy cétones. Cet article étant une preuve de concept, les substrats ne possèdent pas d'autres fonctions que celle concernée par la réaction.

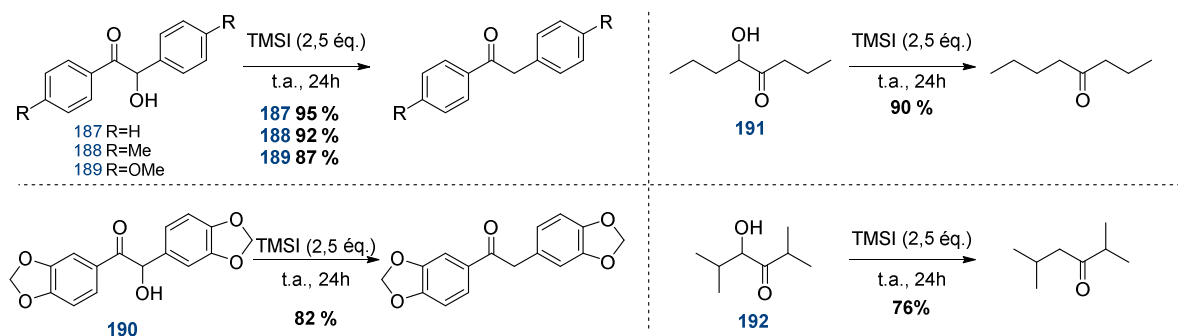


Schéma 81 Réduction d'α-hydroxy cétones à l'aide de TMSI d'après la publication de Ho T.-L.

Sept ans plus tard, un article publié dans *Synthetic Communications*, reprend les travaux de Ho et indique la présence significative d'un sous-produit qui n'avait pas été identifié.^[407] Ce produit est un tétra arylfurane. Il provient de la condensation de deux molécules d'α-hydroxy cétone rappelant une réaction de Feist-Benary.^[408,409] Ci-après, la liste des groupements aromatiques testés et les rendements associés (Schéma 82).

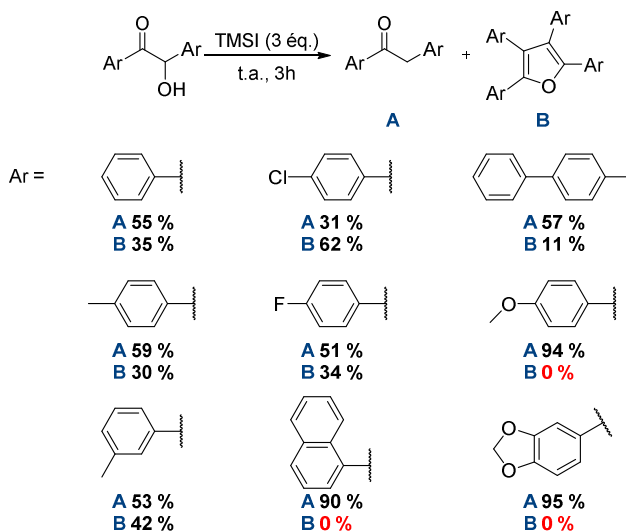
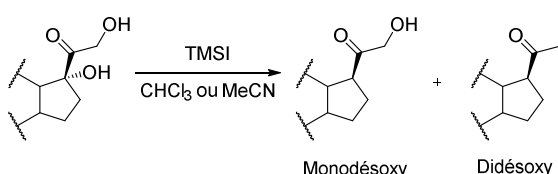


Schéma 82 Déshydroxylation en présence de TMSI et observation d'un sous-produit

Le champ d'applications est une fois de plus très limité et peu de fonctions chimiques sont présentes. Cette même méthode sera appliquée en 1990 par Wenkert *et al.* sur un autre exemple : la furoïne, avec un rendement de 90 %.^[410]

La désoxygénation sélective de différents glucocorticoïdes par TMSI a été largement étudiée par l'équipe de Numazawa (Tableau 21).^{[411][412]} Les réactions listées dans le tableau suivant représentent une sélection des exemples décrits dans les deux articles cités. Toutes les réactions ont été réalisées à température ambiante.

Tableau 21 Déshydroxylation sur des stéroïdes à l'aide de TMSI



Entrée	Substrat	Equivalents TMSI	Solvant	Temps	Monodésoxygéné	Didésoxygéné
1	11-désoxycortisole	20	MeCN	3h	52 %	24 %
2	11-désoxycortisole	20	CHCl ₃	3h	10 %	53 %
3	Cortisone	8	MeCN	3h	46 %	27 %
4	Cortisone	10	CHCl ₃	2h	10 %	84 %
5	Cortisole	6	MeCN	3h	71 %	-
6	Prednisolone	4	MeCN	1h	80 %	-

La réalisation de la réaction de déshydroxylation en présence de TMSI dans l'acétonitrile sur la 11-désoxycortisole ou la cortisone mène majoritairement au produit de monodésoxygénation (Tableau 21 – Entrées 1 et 3). A l'inverse, la même réaction, réalisée cette fois-ci dans du chloroforme mène, de manière préférentielle, au produit de didésoxygénation (Tableau 21 – Entrée 2 et 4). Un effet de solvant semble se dessiner sur la régiosélectivité de la déshydroxylation de motif cétones α,α' -dihydroxylées. En effet, l'utilisation d'acétonitrile semble limiter la désoxygénation de l'alcool primaire tandis que le chloroforme favorise la double déshydroxylation. La déshydroxylation sélective de l'alcool tertiaire par rapport à l'alcool primaire, grâce à l'utilisation d'acétonitrile comme solvant, est illustrée par les réactions réalisées sur la cortisole et la prednisolone (Tableau 21 – Entrées 5 et 6).

La découverte de cet effet de solvant sur la régiosélectivité de la déshydroxylation en utilisant le TMSI est particulièrement intéressante. Ces conditions optimisées ont été appliquées récemment dans la synthèse à l'échelle du gramme de la cortisone et du cortisol marqués au deutérium et au carbone 13.^[413] Cette publication pointe du doigt la racémisation du stéroïde en position 17 lors de l'utilisation du TMSI donnant lieu à un mélange de diastéréoisomères. Cette racémisation laisse présager la formation d'un intermédiaire énolate lors de la réaction.

Un autre exemple d'utilisation de TMSI dans du chloroforme mène quantitativement au produit déshydroxylé (Schéma 83).^[414] Cet exemple constitue le dernier exemple à ce jour d'utilisation de ce réactif pour effectuer une réaction de déshydroxylation.

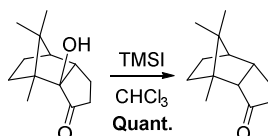


Schéma 83 Déshydroxylation d'une α -hydroxy cétone

Il est également possible d'utiliser un substitut à l'iodure de triméthylsilyle qui est le mélange chlorure de triméthylsilyle et iodure de sodium.^[415] Ce couple aurait une meilleure réactivité comparé au TMSI seul puisque capable de transformer un alcool en iodure plus rapidement.^[416]

La déshydroxylation d'alcool en position α de lactame^[417] et d'ester^[418] est possible avec cette méthode et les rendements sont *quasi* quantitatifs (Schéma 84). Cette méthode permettra un an plus tard au groupe de Yamagami d'effectuer la réaction sur le même ester à une échelle de plusieurs kilogrammes.^[419]

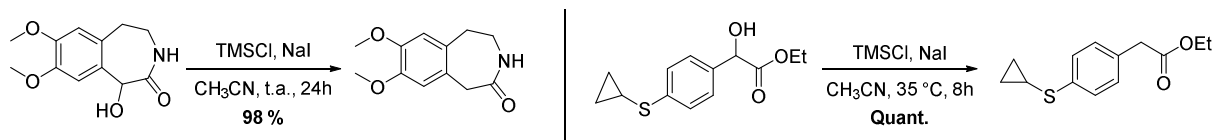


Schéma 84 Déshydroxylation à l'aide de TMSCl/Nal

Le couple de réactifs TMSCl/Nal a également été utilisé sur des dicétones aromatiques non symétriques.^[420] L'intermédiaire benzoïne a pu être isolé en arrêtant la réaction prématurément, au bout de 15 minutes, et en effectuant la réaction à basse température, à -40 °C. A partir des intermédiaires benzoïnes, les composés déshydroxylés ont pu être isolés avec de très bons rendements (Schéma 85).

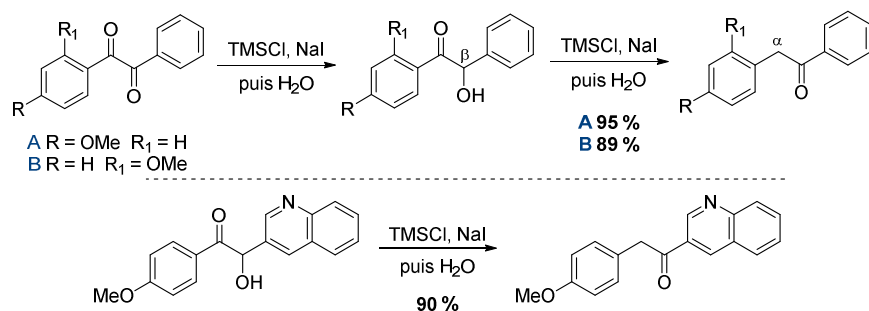
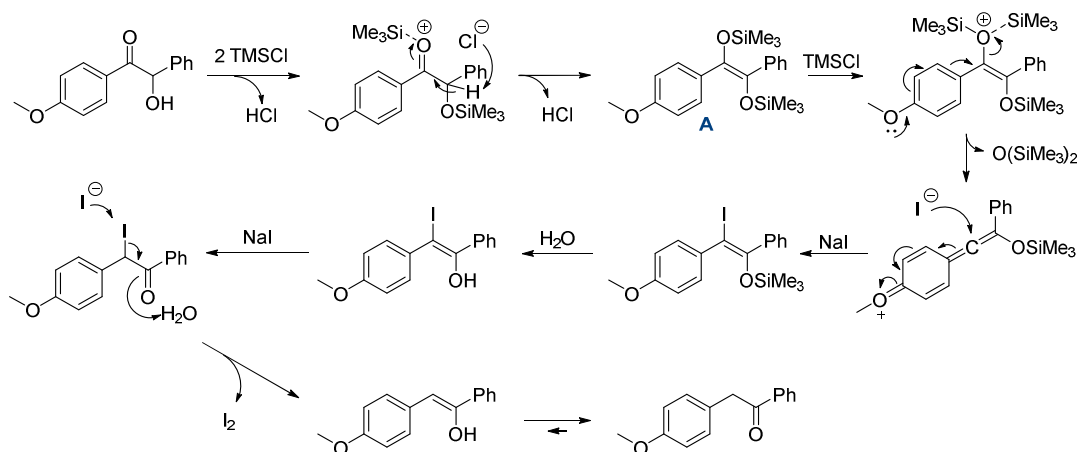


Schéma 85 Couple TMSCl/Nal sur des dicétones aromatiques

Le groupe de Alami met en évidence une sélectivité en position α du groupement aromatique le plus enrichi en électrons bien que l'intermédiaire benzoïne soit sélectivement réduit en position β . Le mécanisme proposé est le suivant (Schéma 86).

Schéma 86 Mécanisme proposé expliquant la sélectivité α de la réduction^[420]

A partir de l'intermédiaire **A**, un double éther d'énol silylé, l'approche d'un silyle supplémentaire se fera sur l'oxygène adjacent au cycle aromatique le plus riche en électrons car ce dernier assiste l'élimination de TMS₂O. L'intermédiaire cétène formé est attaqué par un ion iodure. L'éther d'énol silylé est ensuite

hydrolysé. Du diiode est formé grâce à un nouvel équivalent de NaI, ce qui permet d'atteindre le composé déshydroxylé en position α de l'aromatique le plus riche en électron.

Les principaux exemples décrits dans la littérature d'utilisation de TMSI ou de TMSCl/NaI pour désoxygéner un alcool activé par un carbonyle s'effectue en position α de cétone. Un seul exemple existe pour le cas d'un lactame ou d'un ester.^[417,418] Ce réactif réagit sur les alcools primaires, secondaires et tertiaires. Il est possible de différencier un alcool primaire d'un tertiaire par simple modification de solvant. Ces exemples n'ont cependant été appliqués qu'au cas de stéroïdes dans lesquels le motif cétone α,α' -dihydroxylée est souvent présent.

iv. Phosphore-iode

Le couple de réactif phosphore et diiode a pour la première fois été utilisé pour la déshydroxylation d' α -hydroxy acides par F. F. Blicke et N. Grier en 1943 (Schéma 87).^[421]

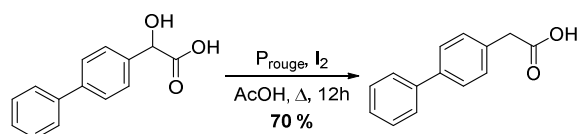


Schéma 87 Premier exemple de déshydroxylation à l'aide de phosphore et de diiode

T.-L. Ho et C. M. Wong publient en 1975 un article utilisant les mêmes réactifs mais appliqués à 4 substrats différents (Schéma 88).^[422] Cette étude a été publiée 4 ans avant l'article de la même équipe sur la conversion d' α -hydroxy cétones en cétones à l'aide de TMSI (Chap 3. I) 1) b) iii).^[404]

L'espèce P_2I_4 , active dans cette réaction, est générée par agitation du phosphore rouge et de 3 équivalents de diiode dans du disulfure de carbone. Le substrat solubilisé dans du benzène est ensuite ajouté sur l'espèce réactive et la pyridine est ensuite introduite. Les rendements sont excellents mais le champ d'application reste très limité (Schéma 88).

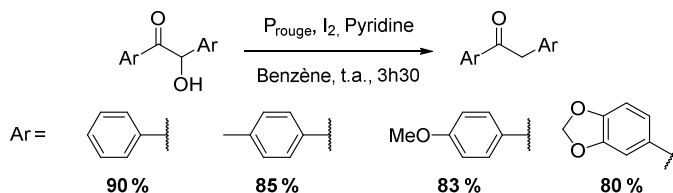


Schéma 88 Déshydroxylation à l'aide de phosphore rouge et de diiode

Les auteurs proposent un mécanisme réactionnel passant par les intermédiaires suivants : un intermédiaire α -iodo cétone formé par conversion de l'alcool en iodure, puis une réduction *in situ* de l'ion iodure présent dans le milieu, menant à la cétone. Le groupement carbonyle sert à activer l'iodure adjacent face à une attaque électrophile et stabiliser la charge négative formée lors de ce mécanisme.

Il est possible d'acheter le P_2I_4 directement. En 1999, le groupe de Bourguignon *et al.* réalise la réduction d'un alcool adjacent à un ester par ajout direct de P_2I_4 (Schéma 89).^[423]

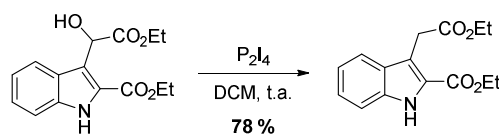


Schéma 89 Déshydroxylation par ajout de P_2I_4

Récemment, le phosphore rouge a été utilisé avec l'acide iodhydrique pour effectuer des réactions de déshydroxylation sur des alcools benzyliques et des α -hydroxy carbonyles (Schéma 90).^[424] Ce couple

HI et phosphore rouge avait été pour la première fois utilisé par Kiliani *et al.* il y a 140 ans dans le cadre de la désoxygénation d'alcools non activés en alcanes. ^[425]

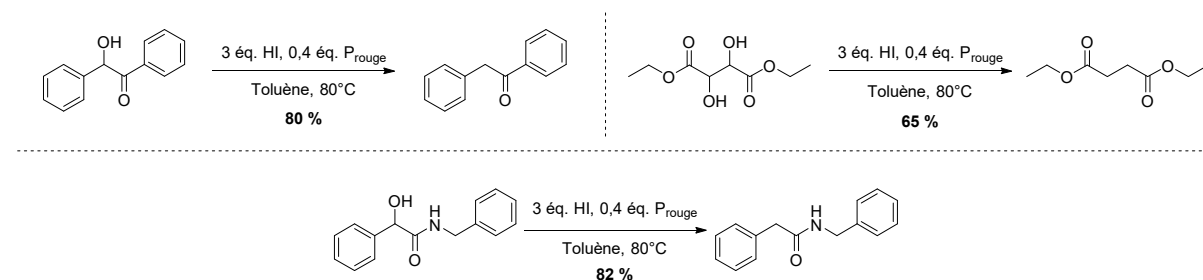


Schéma 90 Déshydroxylation à l'aide de HI et de phosphore rouge

Cette méthode réduit les alcools en position α de cétones, amides et esters. Les alcools qui ne sont ni en position benzylique ni adjacents à un groupement carbonyle ne sont pas réduits en alcane mais convertis en iodoalcane. Les rendements sont bons mais légèrement plus faibles pour le cas du diester (Schéma 90).

Le mécanisme supposé de réaction est le suivant (Schéma 91).

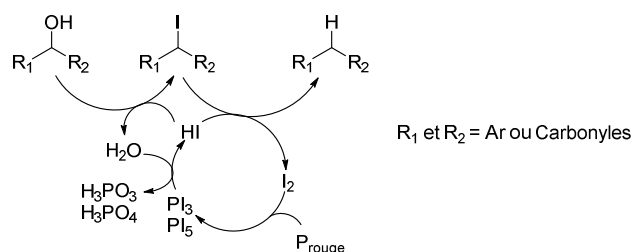


Schéma 91 Mécanisme postulé par König^[424]

L'acide iodhydrique intervient deux fois dans le mécanisme pour premièrement déplacer l'alcool par un iodure puis ensuite pour reformer du diiode par attaque nucléophile sur l'intermédiaire iodé. Ce diiode réagit avec le phosphore rouge pour former les espèces PI_3 et PI_5 qui pourront être hydrolysées pour reformer du HI.

v. I_2 et PPh_3

En 1984, un groupe de chercheurs japonais publie une méthode de déshydroxylation d'alcools benzyliques, en position α de groupements électro-attracteurs, à l'aide de triphénylphosphine et de diiode (Schéma 92).^[426]

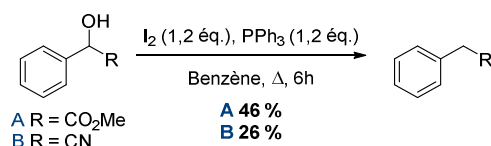


Schéma 92 Déshydroxylation à l'aide de diiode et de triphénylphosphine

Le champ d'applications restreint et l'absence de traduction de l'article pourrait expliquer la *quasi* absence de citations, seulement trois en 34 ans.

En 1998, l'équipe du professeur Rauter publie une méthode similaire de déshydroxylation en position α de groupements électroattracteurs avec un système triphénylphosphine, diiode et imidazole.^[427] Le groupe n'ayant apparemment pas eu connaissance de l'article précédent.^[426] Cette méthode est testée sur 6 substrats différents en position α d'esters, d'amides, de lactones et de cétones. L'hypothèse du passage par un intermédiaire iodé lors de ce mécanisme est confortée par la réaction

de Garegg-Samuelson qui utilise le même système de réactifs pour remplacer un alcool par un iodure.^[428]

La réaction de déshydroxylation en position α d'un ester se déroule sur 3 jours à 90 °C dans du toluène. Les deux groupements acétals sont résistants, dans ces conditions, et le produit déshydroxylé est obtenu avec un rendement de 55 %. En position α d'une cétone, la réaction fonctionne également et les groupements pivaloyl présents ne sont pas touchés (Schéma 93).

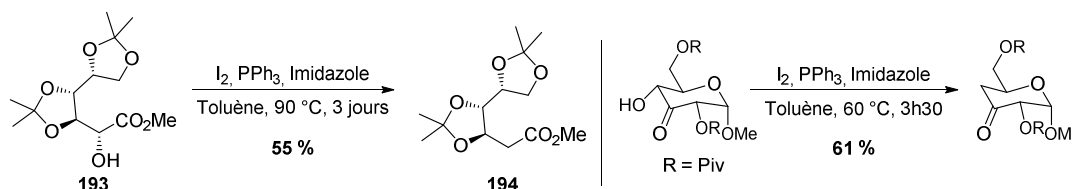


Schéma 93 Déshydroxylation dans les conditions de Rauter en α -d'esters et de cétones

Lors d'un essai de désoxygénation d'alcool adjacent à une fonction amide, la fonction amide est convertie en nitrile. Le composé cyano et déshydroxylé est obtenu avec un rendement de 74 %. Un rendement similaire est obtenu lorsque la réaction est réalisée en position α d'ester cyclique (Schéma 94).

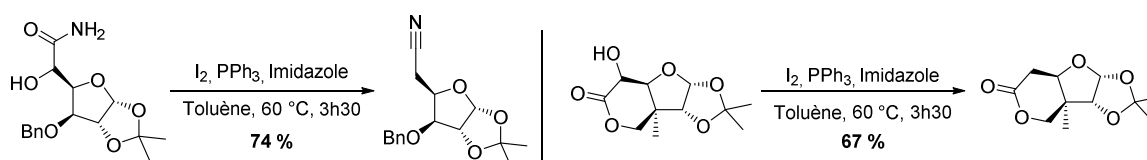


Schéma 94 Déshydroxylation en position α d'amide et de lactone

Dans le cas de diols, le produit de la réaction est un alcène correspondant au produit de déshydroxylation sélective suivie d'une déshydratation. A partir du sucre *L-gulo* ou *D-gulo*, les alcènes correspondants sont obtenus avec des rendements respectifs de 51 et 59 % (Schéma 95).

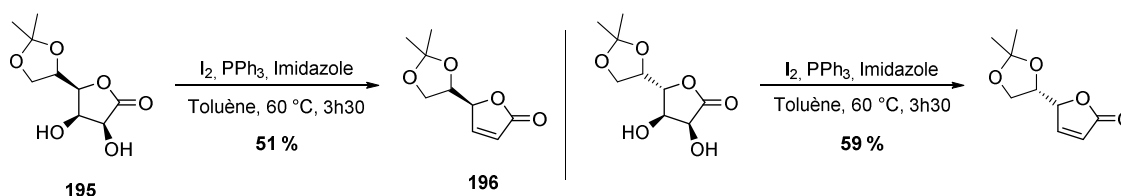


Schéma 95 Déshydroxylation sur des diols

Cette méthode efficace, chimiosélective et facile à mettre en œuvre n'est malheureusement appliquée qu'à la seule famille des sucres. De plus, une grande quantité de réactifs sont utilisés puisque 3 équivalents de diiode, 4 équivalents de triphénylphosphine et 4 équivalents d'imidazole sont nécessaires.

Depuis la sortie de cet article,^[427] seulement 4 groupes ont utilisé cette méthode pour désoxygéner un alcool activé dont 2 réalisant l'expérience sur un substrat strictement identique à celui décrit par Amélia Rauter.^[427,429–432] La déshydroxylation en position α de l'ester est répétée avec un rendement amélioré à 69 %^[429] au lieu de 55 %. Le rendement est également amélioré à 76 %, contre 67 %, dans le cas de la déshydroxylation en position α de l'ester cyclique.^[430]

La méthode a été appliquée sur deux nouveaux substrats : un précurseur vers la synthèse de la stemofoline^[432] et un analogue de la salvinorine A^[431] (Schéma 96).

La déshydroxylation sur l'intermédiaire de la stemofoline s'effectue en position α d'amide cyclique. L'imidazole est remplacé par la 2,6-lutidine et l'intermédiaire iodé est réduit par un ajout supplémentaire de triphénylphosphine. La réaction s'effectue avec un excellent rendement de 91 %.

Pour le substrat dérivé de la Salvinorine A, la réaction initiale souhaitée était une réaction d'iodation. Celle-ci s'est produite mais une fraction de 5 % de produit déshydroxylé a été observée.

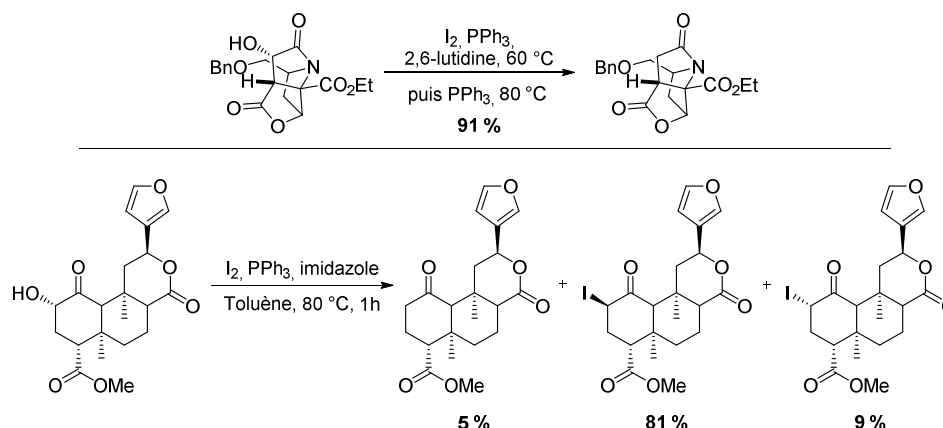


Schéma 96 Exemples de déshydroxylation sur un intermédiaire de la stemofoline (schéma supérieur) et un dérivé de la salvinorine A (schéma inférieur)

Le couple PPh_3 /diode est intéressant pour la désoxygénation d'alcool en position α de groupements électroattracteurs car il s'applique sur une grande diversité de fonctions chimiques avec de bons rendements.

vi. Intermédiaire α -chloro

L'utilisation de conditions provoquant le passage par un intermédiaire α -iodo en vue d'effectuer une réaction de déshydroxylation est justifiée. En effet, l'iodure est meilleur groupement partant et meilleur nucléophile devant le bromure et le chlorure, facilitant ainsi la plupart des mécanismes mis en jeu. Cependant, un exemple de désoxygénation d'alcool existe avec passage par un intermédiaire α -chloro.

Dans l'exemple ci-dessous, l'hydroxy cétone est convertie en intermédiaire chloré à l'aide de chlorure de thionyle. Cet intermédiaire est ensuite réduit avec le tétraborohydride de sodium donnant le produit de déshydroxylation avec un rendement de 75 % (Schéma 97).^[433]

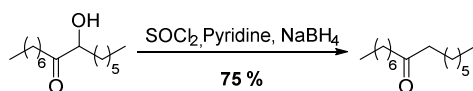


Schéma 97 Déshydroxylation à l'aide de $SOCl_2$ et $NaBH_4$

vii. Bilan

Les différentes méthodes de déshydroxylation discutées dans cette partie sont résumées dans la figure suivante (Figure 74).

Groupements électro-attracteurs (GEA)									
Cétone	Ester	Acide	Amide	Lactame	Lactone	Nitrile	Alcools		
HI + Acide ou H ₂				-	-	-	1^R , 2 ^R , 3 ^R	✓ Peu cher ✗ Conditions dures ✗ Champ d'applications faible	
TMSI ou TMSCl/NaI			-	-		-	1 ^R , 2 ^R , 3 ^R	✓ Régiosélectivité ✓ Tous types d'alcools ✗ Champ d'applications faible	
Phosphore, Iode					-	-	1^R , 2 ^R , 3^R	✓ Variété des GEA ✓ Conditions douces ✗ Exemples seulement alcool 2^R	
I ₂ PPh ₃ base			-	-				1^R , 2 ^R , 3^R	✓ Variété des GEA ✓ Conditions douces ✗ Exemples seulement alcool 2^R

Figure 74 Bilan des méthodes passant par un intermédiaire α -iodé

c) Via un intermédiaire radicalaire ou carbocation

i. Réactions radicalaires

Dans une logique d'économie d'atome, les réactions par photo-catalyse se sont beaucoup développées ces dernières années. Le premier exemple d'utilisation de radiation lumineuse pour effectuer une déshydroxylation est effectué en 1995 en position α d'amide cyclique (Schéma 98).^[434]

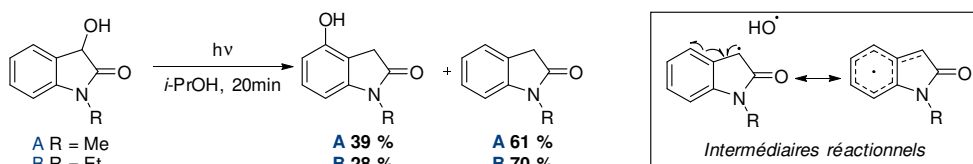


Schéma 98 Déshydroxylation par photolyse

L'irradiation des 3-hydroxyoxindoles **A** et **B**, pendant 20 minutes dans de l'isopropanol, fournissent le produit de désoxygénation avec des rendements respectifs de 61 et 70 %. Ce produit de désoxygénation s'accompagne d'un produit de migration de l'alcool ([Schéma 98](#)). Après coupure homolytique de la liaison C-O un radical est généré sur le carbone. Celui-ci peut effectuer une abstraction d'hydrogène provenant du solvant pour atteindre le composé désoxygéné. Le radical est stabilisé de par sa position benzylique, une migration 1,3 du radical hydroxyle peut alors avoir lieu, donnant après réaromatisation le composé de migration. Cette publication est le premier exemple de migration 1,3 d'un groupement hydroxyle.

La désoxygénation d'un alcool secondaire en position α d'ester a également été réalisée en deux étapes en utilisant une étape de transfert électronique photoinduit.^[338,435]

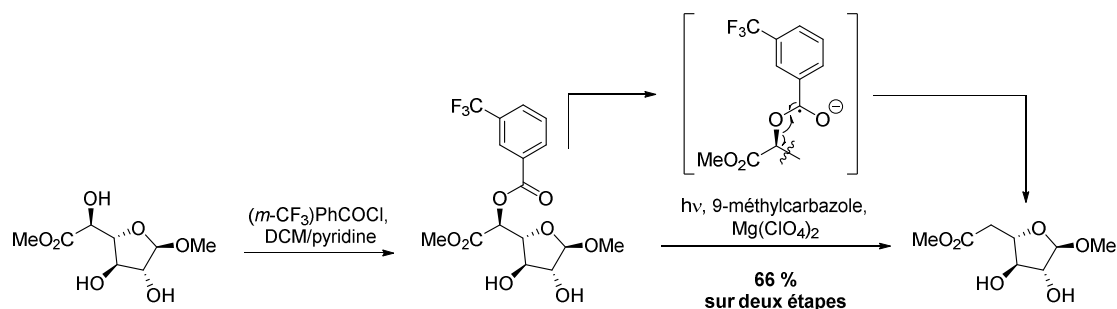


Schéma 99 Déshydroxylation par estérification puis réduction par photo-catalyse

L'alcool est d'abord estérifié à l'aide du chlorure de (3-trifluorométhyl)benzoyle. Ce groupement est décrit comme un groupement sensible à la photocatalyse par Saito.^[436] La seconde étape correspond à une réaction de Markó-Lam avec formation d'un radical cétyle, facilitée par la présence du perchlorate de magnésium qui a un rôle d'acide de Lewis. Le radical cétyle se décompose ensuite en carboxylate et radical sur la partie alkyle par coupure homolytique de la liaison C-O. L'ester en position adjacente permet la stabilisation du radical formé. Le composé déshydroxylé est obtenu avec un bon rendement de 66 % (Schéma 99).

Plus récemment, une méthode photochimique efficace pour réduire les alcools primaires, secondaires et tertiaires en position α de cétones a été développée par le groupe d'Ana. N. Santiago en 2013, en présence de PPh_2^- ou $(\text{EtO})_2\text{PO}^-$, dans du DMSO.^[437]

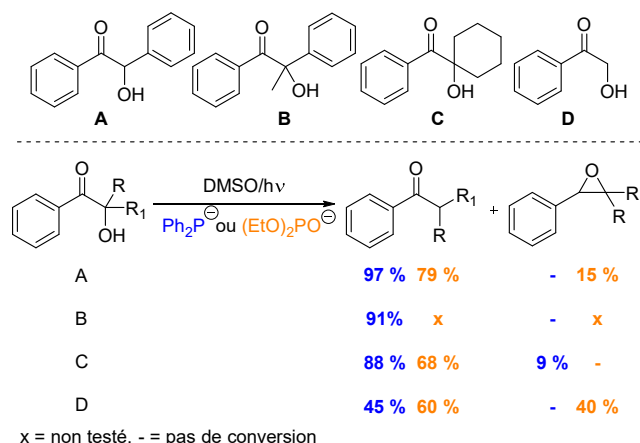
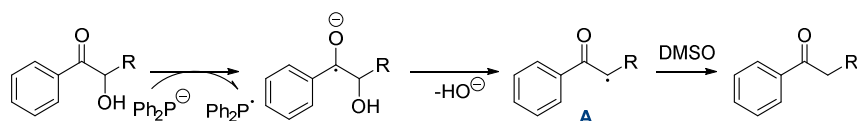


Schéma 100 Déshydroxylation d'alcools par transfert électronique

Les rendements en produits déshydroxylés sont très bons mais fortement réduits dans le cas de l'alcool primaire **D** lorsque Ph_2P^- est utilisé. La formation d'un époxyde est quelques fois observée. Lorsque du méta-dinitrobenzène, connu pour être un inhibiteur de réaction à transfert d'électron,^[438] est ajouté lors de la réaction, celle-ci est totalement inhibée pour chaque substrat. La réaction est également effectuée dans le noir et si l'on observe une baisse drastique des rendements pour les substrats **A**, **B** et **C**, ce n'est pas le cas pour le substrat **D** dont le rendement en produit désoxygéné reste à 51 %. Ce résultat semble indiquer que le mécanisme réactionnel du composé **D** n'est pas radicalaire. Le mécanisme pour les substrats **A**, **B** et **C** est décrit comme suit (Schéma 101).

Schéma 101 Mécanisme de déshydroxylation par une méthode radicalaire^[437]

Les différentes formes de résonance du radical **A** permettent d'expliquer la formation de l'époxyde. Aucune réaction de type nucléophile ou oxophile, typique du phosphore, n'a été observée.

Un seul exemple de désoxygénation d'alcool en position α de groupements électroattracteurs par méthode électrochimique a été publié à ce jour. Cette réaction est réalisée sur le 7-désoxy docétaxel (Schéma 102).^[439]

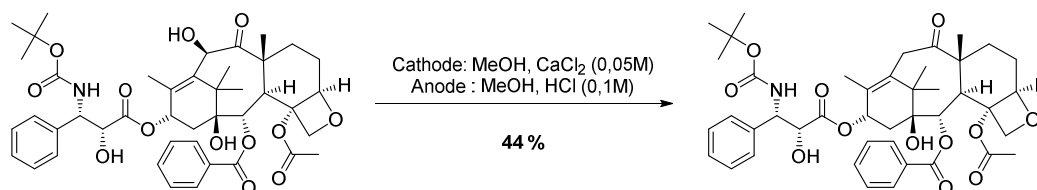


Schéma 102 Electro-réduction du 7-désoxy docétaxel

La réduction de l'alcool en position 10 s'effectue sélectivement avec un rendement de 44 % (Schéma 102).

ii. Via un carbocation

Un autre moyen de déshydroxyler une molécule est de protoner l'alcool pour provoquer un départ de molécule d'eau. Un carbocation est alors formé qui pourra réagir avec un nucléophile. En 2005, la conversion d' α -hydroxy cétones en cétones est décrite par Krayushin *et al* (Schéma 103).^[440]

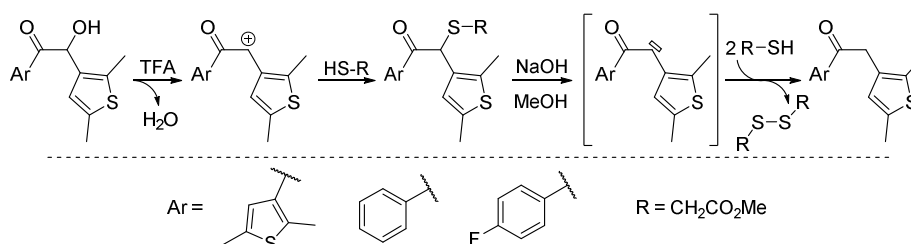
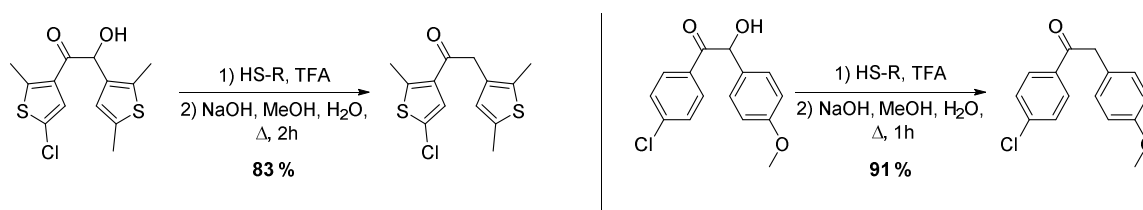


Schéma 103 Mécanisme proposé et substrats testés dans l'article de Krayushin

L'alcool est d'abord protoné par l'acide trifluoroacétique provoquant le départ d'une molécule d'eau. Le carbocation réagit ensuite avec un thiol donnant lieu à la formation d'un thioéther. Celui-ci est ensuite réduit par chauffage à reflux dans une solution de NaOH à 15% dans un mélange 1 : 1 eau et méthanol. L'étape d'isolement du thioéther peut être exclue donnant alors lieu à une nouvelle méthode de déshydroxylation en un pot. Ci-après d'autres exemples d'application de cette méthode (Schéma 104).

Schéma 104 Exemples d'application de la méthode sur d'autres substrats^[441]

L'abstraction d'un alcool peut également se faire à l'aide d'un acide de Lewis. En 1995 est décrite une méthode de déshydroxylation en position α de cétones α,β -insaturées en présence de triéthylsilane et d'éthérate de trifluorure de bore.^[442] Le trifluorure de bore a le rôle d'acide de Lewis et le triéthylsilane de donneur d'hydrure (Schéma 105).

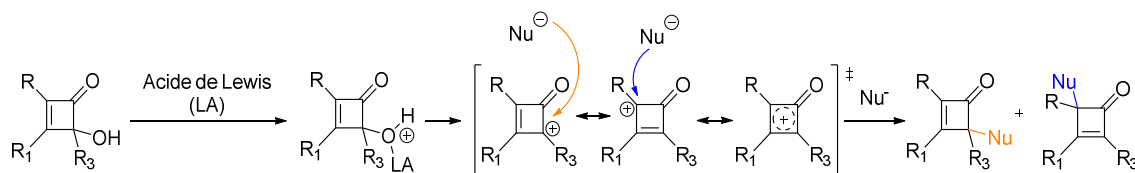


Schéma 105 Intermédiaire réactionnel mis en jeu

La régiosélectivité de l'attaque nucléophile est dictée par des facteurs stériques et électroniques. Dans l'exemple ci-dessous, l'approche de l'hydrure se fait préférentiellement sur le carbone le moins encombré (Schéma 106).

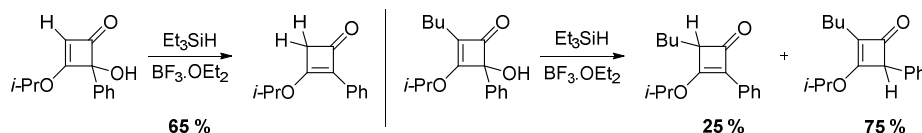


Schéma 106 Etude de l'effet stérique du substrat

Cette tendance se confirme avec un essai sur un carbone plus encombré avec un groupement *sec*-butyl. Plus le silane utilisé est encombré, plus la régiosélectivité vers le carbone le moins encombré est grande, allant jusqu'à une sélectivité totale pour le cas de l'utilisation de *i*-Pr₃SiH (Schéma 107).

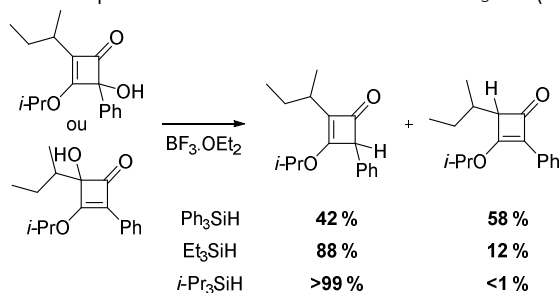


Schéma 107 Etude de l'effet stérique du substrat et du silane

Un facteur électronique est également mis en jeu, illustré par les exemples suivants (Schéma 108).

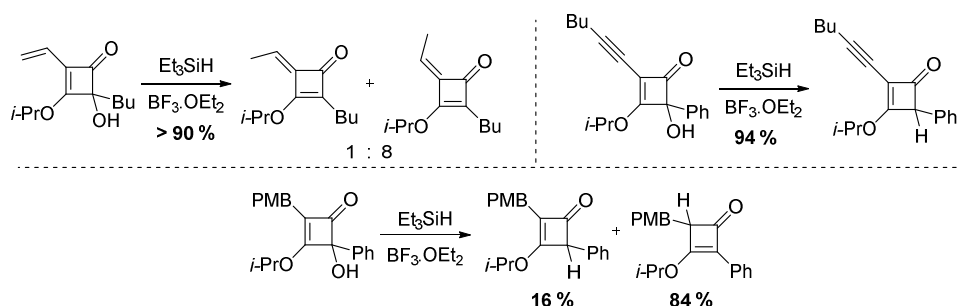


Schéma 108 Etude de l'effet électronique

Le cation allylique est exclusivement piégé à la position terminale du groupement vinyle, donnant lieu à un mélange 8 : 1 d'alcène Z/E. Dans le cas de l'alcyne, l'intermédiaire allène mis en jeu pour stabiliser le carbocation intermédiaire est rééquilibré en alcyne par attaque de l'hydrure sur le carbone portant le groupement phényle. Enfin, dans le troisième exemple, la présence d'un groupement PMB permet de stabiliser le carbocation par effet mésomère donneur. L'attaque de l'hydrure se produit donc préférentiellement sur le carbocation étant le plus stabilisé, soit au pied du groupement PMB (Schéma 108).

Six ans plus tard, cette méthode est mentionnée dans l'ouvrage *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* pour la synthèse de cyclobutenones.^[443]

En 2009, le groupe de Richmond Sarpong observe une réaction inattendue lors d'une synthèse multi-étapes de la Pauciflorol F (Schéma 109).^[444] En effet, en présence de BBr_3 , une réaction de déshydroxylation se produit en même temps que la déprotection des phénols alors qu'aucun agent réducteur n'est présent dans le milieu.

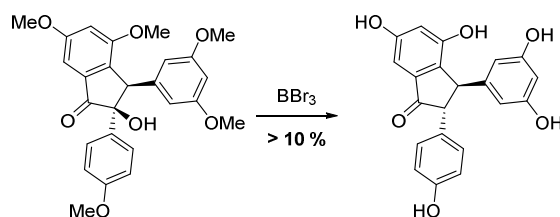


Schéma 109 Observation d'un produit de déshydroxylation en présence de BBr_3

Pour mieux comprendre la réaction observée et améliorer le rendement, le groupe a décidé d'ajouter du triéthylsilane comme réducteur et d'étudier différentes α -hydroxy cétones.

L'ajout de triéthylsilane augmente grandement le rendement de la réaction de déshydroxylation atteignant alors 98 % (Schéma 110). Les groupements méthoxyles ne sont pas déprotégés dans ces conditions.

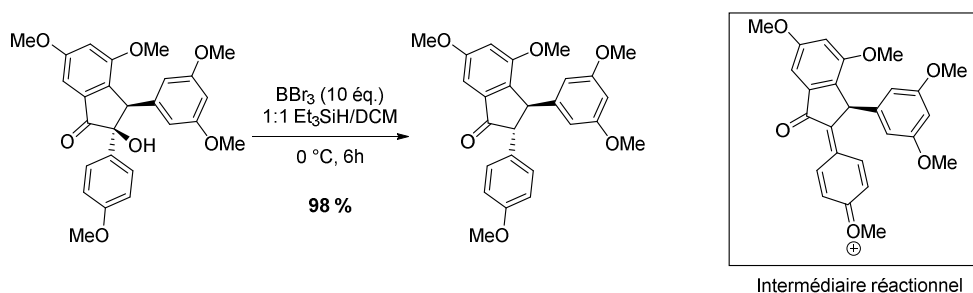


Schéma 110 Déshydroxylation en présence de BBr_3 et Et_3SiH

D'autres analogues d' α -hydroxy cétones ont été testés (Figure 75). La présence d'un groupement *para*-méthoxy sur l'aromatique en position α de l'alcool à désoxygéner semble indispensable puisque les produits **C** et **D** ne sont pas observés dans les conditions. Ce groupement donneur par effet mésomère permet la stabilisation du carbocation formé après départ de l'alcool facilité par la présence de l'acide de Lewis BBr_3 .

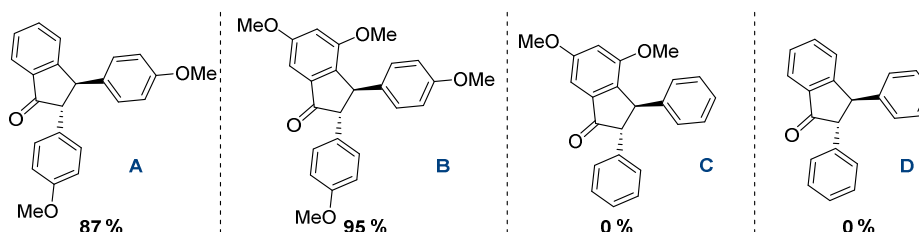


Figure 75 Produits obtenus à partir des α -hydroxy cétones modèles

Des conditions similaires sont utilisées en 2014 sur un alcool benzylique possédant à nouveau un groupement électrodonneur en *para* sur le noyau aromatique (Schéma 111).^[419]

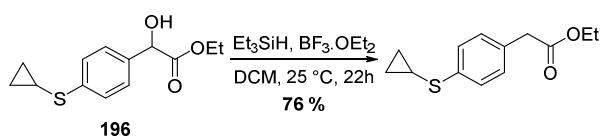


Schéma 111 Autre exemple de déshydroxylation à l'aide d'hydruide de triéthylsilane

Cependant, la transformation de **196** à l'échelle du kilogramme n'a été possible qu'en utilisant les conditions TMSCl-NaI-CH₃CN décrites dans la partie précédente (Chap 3. I) 1) b) iii).

La même année, le groupe de Ben W. Greatrex décrit une méthode de piégeage de nucléophiles à l'aide d'intermédiaire de type oxyallyle formé à partir d' α -hydroxy cétones (Schéma 112).^[445]

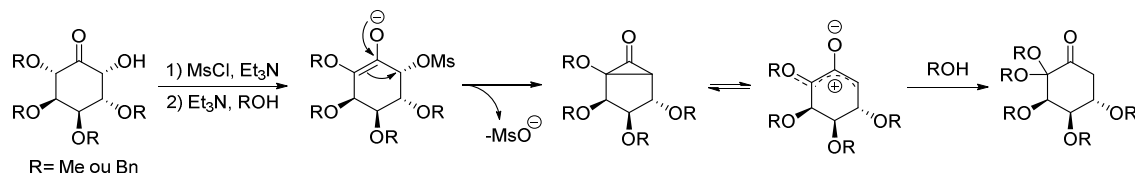


Schéma 112 Mécanisme possible proposé par les auteurs de l'article

La réaction débute par une mésylation de l'alcool adjacent à la cétone. La triéthylamine permet ensuite la formation de l'énoxy par réaction acide-base avec l'hydrogène axial plus acide que l'hydrogène équatorial. Le groupement mésylate est éliminé par cyclisation intramoléculaire comme pour le mécanisme de la réaction de Favorskii. Le cyclopropane formé est en équilibre avec la forme oxyallyle. L'attaque du nucléophile a lieu préférentiellement sur le carbone C-6 ayant un caractère cationique plus fort (Schéma 112).

Cette méthode est appliquée sur les substrats suivants (Schéma 113). Cette réaction de déshydroxylation s'accompagne d'une modification structurale importante.

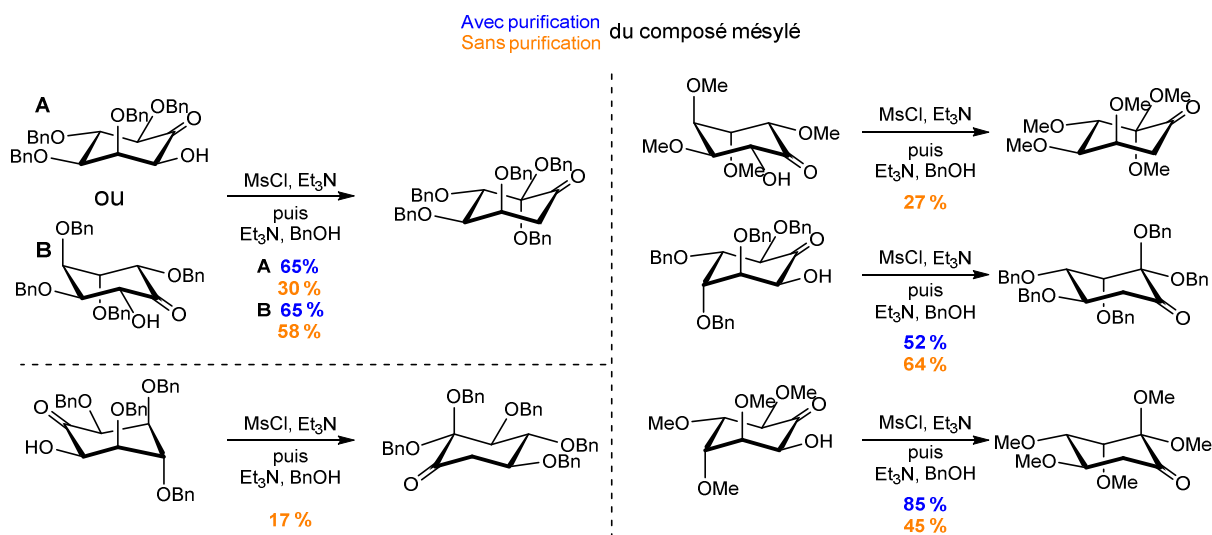


Schéma 113 Champ d'applications de la méthode

iii. Utilisation de phosphites

Deux exemples, tous deux publiés en 1966, décrivent la déshydroxylation d' α -hydroxy cétones par utilisation de phosphites avec ou sans sodium (Schéma 114).^[446,447]

Henning suppose une attaque initiale de l'alcool sur le phosphore avec départ d'éthanol, Mukaiyama fait plutôt l'hypothèse d'un passage par un intermédiaire phosphorane.

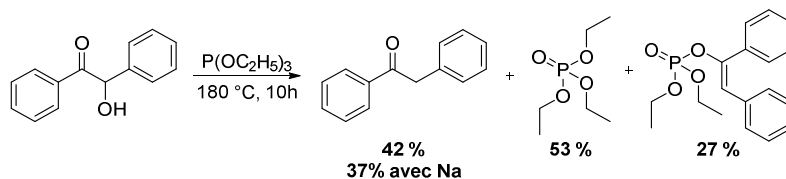


Schéma 114 Déshydroxylation à l'aide de phosphite

Si le groupement phényl est fonctionnalisé par un groupement méthyl en position para, le rendement de désoxygénation est de 34 %. La méthode fonctionne également sur le furoïne avec un rendement de 35 %.^[447] Henning effectue la réaction uniquement sur la benzoïne en présence de sodium. Le rendement de la désoxygénation est de 37 %.

d) Méthodes enzymatiques

En plus de toutes les méthodes chimiques de désoxygénation d'alcool décrites auparavant, il est également possible d'utiliser des méthodes enzymatiques.

De 1978 à 1979, J. Winter et V. D. Bokkenheuser publient trois articles portant sur la déshydroxylation de stéroïdes en position C-21.^[448-450]

L'exemple ci-dessous indique la conversion totale de la corticostérone en 21-désoxycorticostérone. La réaction est réalisée par incubation du substrat dans un mélange *Culture 116* ou *E. lentum*. La réduction est également quantitative pour le cas de la cortisone (C-17 hydroxy et C-11 cétone) et de la cortisone (C-17 hydroxycorticostérone) (Schéma 115).

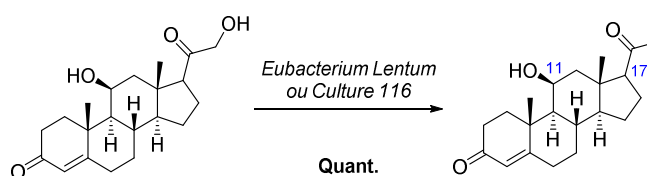


Schéma 115 Déshydroxylation par *Eubacterium lentum*

En 1984, le chimiste H. L. Holland se penche également sur la déshydroxylation en position 21 de stéroïdes à l'aide de la bactérie *Eubacterium Lentum* dans des conditions similaires.^[451]

L'article porte principalement sur le mécanisme mis en jeu lors de cette réduction. Le substrat est marqué par du deutérium en position C-17 et C-21 avant d'être incubé entre 4 et 7 jours dans un mélange *E. lentum* et *E. coli*. Après ces plusieurs jours de réaction, le deutérium en position C-17 est toujours présent tandis qu'une perte d'un des deux deutériums de la position C-21 est observée. De ces observations, Holland *et al.* proposent le mécanisme suivant (Schéma 116).

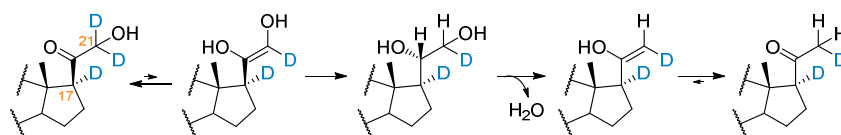


Schéma 116 Mécanisme proposé pour la bactérie *E. lentum*

Le substrat deutérié est en équilibre avec sa forme énol. L'espèce ènediol est réduite par une enzyme certainement à l'aide d'un ion métallique encore non identifié. La réduction est suivie d'une déshydratation qui après équilibre céto-énolique donne lieu au produit désoxygéné (Schéma 116). Cinq ans plus tard, Herbert L. Holland ajoute que la réduction par la bactérie *E. lentum* est sélective pour la position *pro-S*.^[452] Pour ces deux articles, aucun rendement n'est communiqué.

En 1989, la formation d'acide acrylique est détectée à partir de l'acide lactique par réaction avec la bactérie *Megasphaera elsdenii* et en présence d'un inhibiteur : l'acide but-3-ynoïque (Schéma 117).^[453]

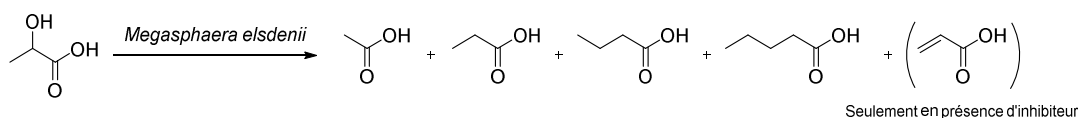


Schéma 117 Produits de fermentation de *Megasphaera elsdenii* et de l'acide lactique

La fermentation d'acide D-lactique par *M. elsdenii* pendant quelques heures, en absence d'inhibiteur, mène à la formation des acides acétique, propionique, butyrique et valérique. Le ratio d'acide propionique par rapport à l'acide acétique est approximativement de 2 : 1 (Schéma 117). Une fois de plus, aucun rendement n'est donné. Il serait possible d'optimiser le rendement en produit déshydroxylé en testant un panel de bactéries.

i. Méthodes non sélectives à faible rendement

L'utilisation d'hémipentoxyde de phosphore comme agent déshydratant est connue puisque utilisé dans les dessiccateurs de laboratoire. Il est également possible de réaliser des réactions de déshydratation avec le P_2O_5 en tant que réactif.

Le groupe de Aida *et al.* décrit en 2009 la conversion de l'acide lactique en acide acrylique à haute température dans l'eau. L'obtention de l'acide propionique, le produit de désoxygénation, n'est obtenu qu'avec des rendements inférieurs à 1 %.^[454]

Récemment, le groupe de Ayumu Onda a effectué cette réaction à l'aide d'un réacteur à flux continu, sans grande amélioration : le produit de désoxygénation a été obtenu avec un rendement très faible d'à peine 1,6% (Schéma 118).^[121]

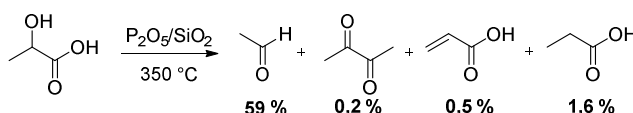


Schéma 118 Réaction de l'acide lactique avec le P_2O_5

Le P_2O_5 est également utilisé dans la synthèse de l'ambroxide pour désoxygéner un alcool en position α de groupements nitriles.^[456]

Cette méthode montre à nouveau sa faible efficacité puisque le rendement de la réaction est seulement de 4 %. De plus, la réaction de déshydroxylation ne se produit pas seule puisqu'un alcène est également formé (Schéma 119).

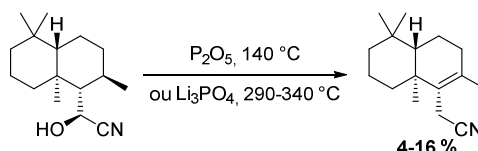


Schéma 119 Déshydroxylation d'un intermédiaire de l'ambroxide

e) Conclusion

De nombreuses méthodes de déshydroxylation en position α de groupements électroattracteurs n'utilisant aucun métal de transition existent. La *quasi*-totalité des réactions précédentes citées s'effectuent en un pot. La variété des méthodes disponibles permet de trouver les conditions idéales à utiliser en fonction du substrat ciblé. Certaines ont des champs d'applications très limités tandis que d'autres sont utilisables sur de nombreux substrats possédant des fonctions variées. Parmi les méthodes les plus générales figurent celles utilisant le TMSI ou le $TMSCl/NaI$ et celle utilisant le phosphore et l'iode et plus particulièrement la méthode décrite par Amélia Rauter.^[427] Cet article regroupe peu d'exemples, avec un champ d'applications restreint aux glycosides, mais la méthode est appliquée en position α de 3 fonctions différentes : cétone, ester et amide. Ces méthodes restent en revanche plus restreintes face à des réactions telles que la réaction de Barton-McCombie et la réaction au samarium.

2) (Re) découverte au laboratoire

La découverte au laboratoire d'une réaction de déshydroxylation sélective a été faite par Fabien Stauffert lors de sa thèse^[261] en effectuant une réaction d'iodation sur l'alcool primaire de la lactone **197**. Les conditions utilisées ont été inspirées de la réaction de Garegg-Samuelson, en présence de diiode, de triphénylphosphine et avec la pyridine en tant que solvant. Le produit d'iodation désiré **198** a été obtenu avec 42 % de rendement mais, une fraction conséquente d'un second produit a pu être isolée après purification sur gel de silice. Après analyses RMN et HRMS, ce produit **199** s'est révélé être le produit d'iodation ayant également subi une réaction de déshydroxylation ([Schéma 120](#)).

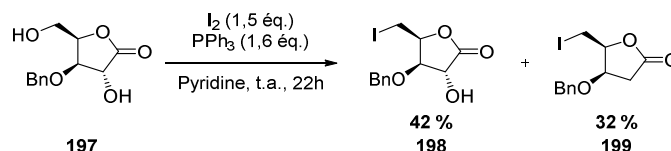


Schéma 120 Iodation et déshydroxylation sur une lactone

Après recherche bibliographique, seul un article rédigé en anglais décrivait ce type de désoxygénation d'alcool en position α de groupements électroattracteurs avec un système I_2 - PPh_3 -Imidazole.^[427] Cette méthode est la méthode décrite par Amélia Rauter.

L'engouement récent pour l'utilisation de réactifs non métalliques et non toxiques pour l'environnement a motivé le laboratoire à débiter une optimisation de cette méthode. L'objectif était de diminuer les quantités de réactifs utilisés, notamment en diiode, dont une quantité sub-stœchiométrique devrait être suffisante, d'après des considérations mécanistiques. Nous souhaitons aussi élargir le champ d'application de la méthode à des substrats n'appartenant pas à la famille des sucres et en position α de groupements électroattracteurs variés.

3) Mécanisme proposé

Les premières étapes du mécanisme supposé sont similaires au mécanisme de la réaction de Garegg-Samuelsson utilisant un système I_2 - PPh_3 -Imidazole permettant de convertir un groupement hydroxyle en groupement iodé avec inversion de configuration ([Schéma 121](#)).^[428] L'initiation de la réaction se produit *via* une attaque nucléophile de l'alcool sur le sel d'iodotriphénylphosphonium formé par ajout de la triphénylphosphine sur du diiode. La liaison oxygène phosphore se forme, un ion iodure est libéré puis le proton de l'oxonium est arraché par la pyridine. L'iodure présent en solution va alors pouvoir réaliser une substitution nucléophile de type 2 sur le carbone portant l'espèce phosphonium. Cette substitution conduit à la formation de l'oxyde de triphénylphosphine très stable et à l'intermédiaire iodé en α du groupement électroattracteur. Le deuxième iodure encore présent en solution va pouvoir effectuer une attaque sur l'iode de l'intermédiaire et ainsi reformer du diiode. Le carbanion formé est stabilisé par mésomérie avec sa forme énolate et sera protoné par l'ion pyridinium pour obtenir le composé désoxygéné ([Schéma 121](#)).

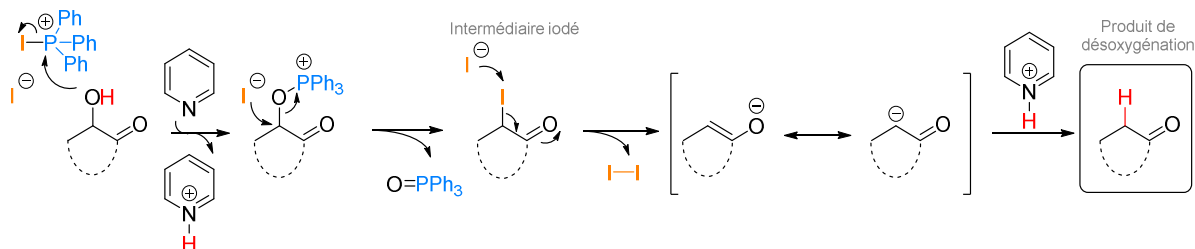
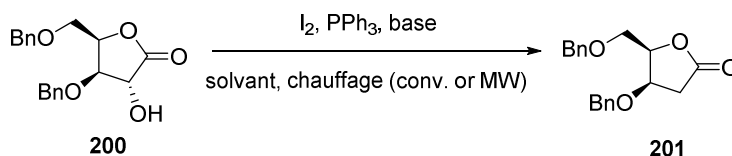


Schéma 121 Mécanisme supposé de déshydroxylation

4) Optimisation

Un travail d'optimisation des conditions de cette réaction a été effectué par Luis Guillermo Addante Moya au laboratoire (Tableau 22). Le substrat modèle choisi était la 3,5-dibenzyl-D-xylono-1,4-lactone **200**, présentant le même squelette que la lactone **197**, ayant initié ce projet. La protection de la position C-5 par un groupement benzyle permet d'éviter la réaction d'iodation non désirée.

Tableau 22 Optimisation de la méthode de désoxygénation d'alcool



Entrée	PPh ₃ (éq.)	I ₂ (éq.)	Temp (°C)	Base (éq.)	Solvant	Temps (h)	Rendement ^[a] (%)
1	1,5	1,0	60	-	Pyridine	7	80
2	1,5	0,5	60	-	Pyridine	20	70
3	1,5	0,5	60 ^[b]	-	Pyridine	3	91
4	1,25	0,25	90	-	Pyridine	20	FC
5	1,25	0,4	90	-	Pyridine	20	FC
6	1,5	0,4	60	-	Pyridine	20	FC
7	1,7	1,5	25	-	Pyridine	20	FC
8	1,5	0,5	100 ^[b]	Pyr. (5)	Toluène	3	97
9	1,5	0,5	100 ^[b]	Pyr. (1,1)	Toluène	3	95
10	1,5	0,5	Δ	Pyr. (1,1)	Toluène	4,5	93
11	1,5	0,5	60 ^[b]	Pyr. (10)	Toluène	3	80
12	1,5	0,5	60 ^[b]	Pyr. (10)	CHCl ₃	3	PR
13	1,5	0,5	60 ^[b]	Pyr. (10)	DMF	3	PR
14	1,5	0,5	Δ	Pyr. (5)	THF	6	76
15	1,5	0,5	60 ^[b]	Et ₃ N (10)	Toluène	3	PR
16	1,5	0,5	60 ^[b]	K ₂ CO ₃ (10)	Toluène	3	PR
17	1,5	0,5	60 ^[b]	Imidazole (10)	Toluène	3	PR
18	1,5	0,5	60 ^[b]	-	Toluène	3	PR
19 ^[c]	1,5	-	60 ^[b]	Pyr. (5)	Toluène	3	PR
20	-	0,5	Δ	Pyr. (1,1)	Toluène	5	PR

[a] Rendement isolé ; [b] Réaction effectuée sous irradiations micro-ondes ; [c] Ajout de 0,5 éq. de TBAI ;
Conv.=conventionnel ; FC = faible conversion (plus de 70% du substrat isolé) ; PR = pas de réaction

Les premières expériences réalisées ont eu pour but de définir la quantité de diiode nécessaire à une conversion totale du substrat modèle **200** (Tableau 22 - Entrées 1 à 7). Le premier essai avec 1 équivalent de diiode a permis d'obtenir le produit déshydroxylé **201** avec un bon rendement de 80% (Tableau 22 - Entrée 1). Diviser par deux la quantité de diiode diminue légèrement le rendement de 10% et le temps de réaction nécessaire est allongé (Tableau 22 - Entrée 2). L'utilisation d'un chauffage par micro-ondes dans ces conditions permet d'atteindre le composé voulu en seulement 3h avec un rendement de 91% (Tableau 22 - Entrée 3). L'utilisation d'une quantité inférieure à 0,5 équivalent de diiode ne permet pas à la réaction d'avoir lieu puisque 70% du substrat de départ est récupéré après réaction (Tableau 22 - Entrées 4 à 6). La réalisation de cette réaction à température ambiante ne permet pas non plus la conversion du substrat (Tableau 22 - Entrée 7).

Le solvant est ensuite changé pour du toluène avec un ajout d'une quantité stœchiométrique de pyridine. D'excellents rendements sont obtenus ([Tableau 22 - Entrées 8 à 10](#)) allant de 93 à 97%. La diminution de la quantité de pyridine de 5 à 1,1 équivalents n'a pas d'influence sur le rendement ([Tableau 22 - Entrées 8 et 9](#)). L'utilisation d'un chauffage conventionnel avec reflux de toluène ou un chauffage par micro-ondes à 100 °C aboutit à des rendements similaires dans des temps de réaction comparables ([Tableau 22 - Entrées 9 et 10](#)). Augmenter la quantité de pyridine à 10 équivalents ne compense pas une diminution de la température de réaction ([Tableau 22 - Entrée 11](#)). Différents solvants tels que le chloroforme ([Tableau 22 - Entrée 12](#)), le DMF ([Tableau 22 - Entrée 13](#)), ou encore le THF ([Tableau 22 - Entrée 14](#)) ont été testés, mais aucun n'a donné de meilleurs résultats. La réaction de déshydroxylation n'a pas lieu en absence de triphénylphosphine ([Tableau 22 - Entrée 20](#)), de base ([Tableau 22 - Entrée 18](#)) ou si la pyridine est changée pour de la triéthylamine ([Tableau 22 - Entrée 15](#)), du carbonate de potassium ([Tableau 22 - Entrée 16](#)) ou de l'imidazole ([Tableau 22 - Entrée 17](#)). Pour finir, l'utilisation d'une autre source d'iode telle que l'iodure de tétrabutylammonium ne permet pas la réaction ([Tableau 22 - Entrée 19](#)).

II) Champ d'application de la méthode

1) Résultats^[457]

Dans l'objectif de rendre accessible cette méthode au plus grand nombre de chimistes, la méthode par chauffage conventionnel a été retenue et ces conditions sont celles appliquées pour la détermination du champ d'application :

- 0,5 équivalent de diiode
- 1,5 équivalent de triphénylphosphine
- 1,1 équivalent de pyridine
- Le toluène en solvant $c = 0.25 \text{ mol/L}$
- A reflux

Le rendement obtenu après réaction de déshydroxylation sur le substrat modèle est de 93 %. Si l'on effectue la réaction en présence d'un alcool primaire non protégé, la réaction de Garegg-Samuelson se produit mais la formation du produit iodé déshydroxylé n'est pas observée puisque seulement 0,5 équivalent de diiode est disponible dans le mélange. Le produit **198** est isolé avec un rendement de 50 % par rapport au substrat de départ, soit 100 % par rapport au réactif limitant, le diiode (Schéma 122).

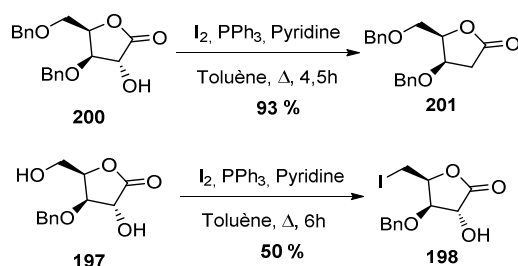


Schéma 122 Déshydroxylation sur le substrat modèle **200** et la lactone **197**

Plusieurs exemples de déshydroxylation ont été réalisés sur des stéroïdes (Schéma 123).

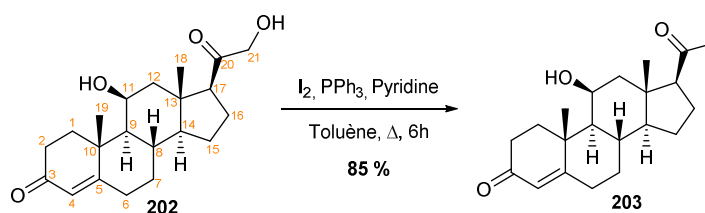


Schéma 123 Déshydroxylation sur la corticostérone

Cet exemple de déshydroxylation sur la corticostérone montre la compatibilité de notre méthode avec la présence d'un alcool secondaire non protégé et non activé et d'une cétone α,β -insaturée. La 21-désoxycortisone (**203**) est obtenue avec un très bon rendement de 85 % (Schéma 123).

La sélectivité de la méthode envers les alcools primaires et tertiaires activés a ensuite été testée sur deux exemples différents, l'hydrocortisone (**204**) et la prednisone (**205**). Dans les deux cas, une régiosélectivité totale est observée en faveur de la déshydroxylation de l'alcool primaire en position 21. Les produits 21-désoxyhydrocortisone (**206**) et 21-désoxyprednisone (**207**) sont obtenus respectivement avec des rendements de 79 et 76 %. La présence d'une cétone ou encore d'un accepteur de Michael sur la prednisone n'interfère pas avec la réaction (Schéma 124).

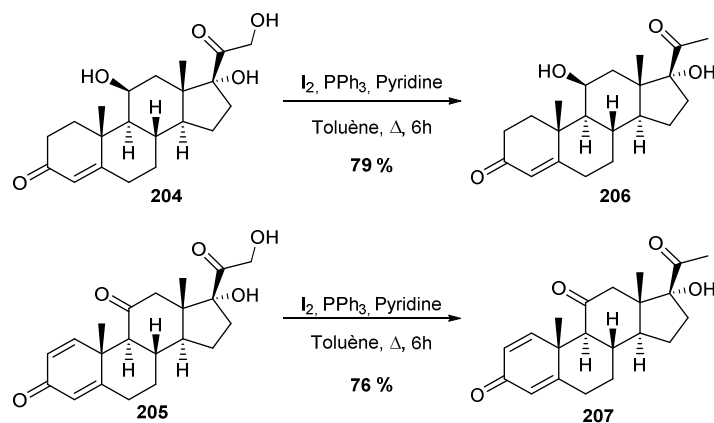


Schéma 124 Déshydroxylation sur l'hydrocortisone et la prednisone

Deux tests ont ensuite été réalisés sur des alcools tertiaires pour vérifier si l'observation faite dans le cas de l'hydrocortisone et de la prednisone était due à une cinétique beaucoup plus lente de réaction, par rapport à l'alcool primaire, ou une absence de réactivité. La 21-désoxyhydrocortisone **206** a été mise dans les conditions de déshydroxylation (Schéma 125). A l'issue de cette réaction, un mélange complexe de produits a été obtenu. Seul le produit de déshydratation avec perte du groupement –OH en position 11 a pu être isolé et identifié. Le rendement faible de 11 % et l'aspect du brut réactionnel laisse envisager une dégradation du substrat.

L'absence de réactivité des alcools tertiaires dans les conditions réactionnelles choisies est confirmée par l'essai sur la 2-hydroxy-2-méthylpropiophénone (**208**) où aucune ou peu de conversion n'est observée (Schéma 125).

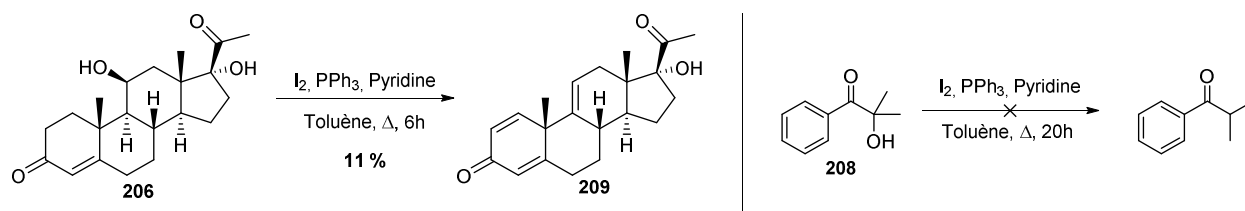


Schéma 125 Tests réactivité alcool tertiaire

La méthode de désoxygénation d'alcool a ensuite été testée sur un alcool en position benzylique. Plusieurs réactions ont été réalisées sur la benzoïne (**210**) mais des problèmes de purification ont empêché l'isolement de la 2-phénylacétophénone (**211**) (Schéma 126). En effet, l'oxyde de triphénylphosphine formé lors de la réaction n'est pas entièrement séparable du produit par chromatographies même répétées. Il semble former des interactions π avec les cycles aromatiques de la benzoïne. Pour s'affranchir de cette étape de purification, de la triphénylphosphine supportée sur polymère a été utilisée. En fin de réaction, il suffit de faire gonfler le polymère en ajoutant un solvant tel que le dichlorométhane, puis de filtrer le milieu réactionnel. L'oxyde de triphénylphosphine formé reste greffé au polymère et est ainsi aisément séparé du milieu réactionnel. Le groupe de Daniel J. Weix a publié l'année dernière une nouvelle méthode pour retirer l'oxyde de triphénylphosphine par précipitation avec du chlorure de zinc.^[458] Cette méthode n'a malheureusement pas encore été testée expérimentalement au laboratoire. L'essai de déshydroxylation sur la benzoïne en présence de PPh₃ supportée a très bien fonctionné, aboutissant au produit désiré de manière quantitative (Schéma 126). Utiliser de la triphénylphosphine supportée pour chaque réaction serait envisageable mais le prix élevé de ce réactif, plus de 200 fois plus cher que la triphénylphosphine classique par mole de produit nous en a dissuadés. De plus, cette méthodologie étant dédiée au plus grand nombre de chimistes organiciens, le reste des expériences sera réalisé avec de la triphénylphosphine « classique ».

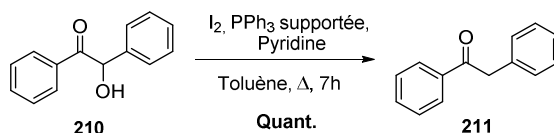
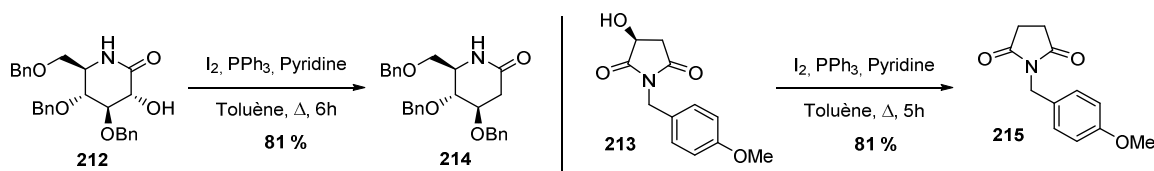
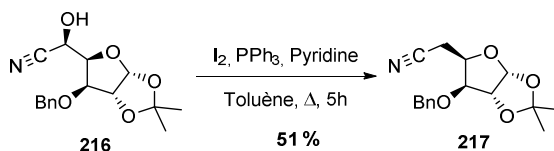


Schéma 126 Déshydroxylation de la benzoïne

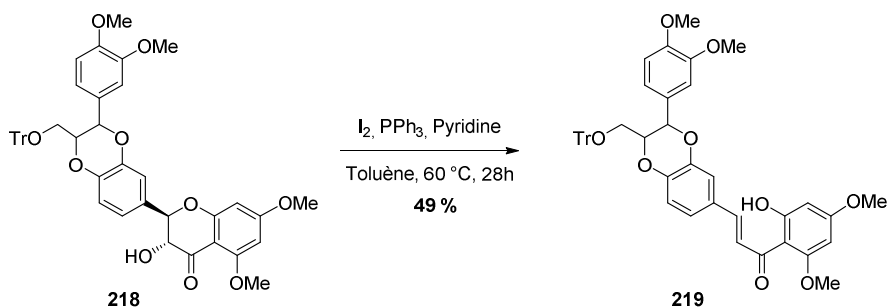
La méthode de déshydroxylation a ensuite été testée sur un iminosucre de type lactame **212**, intermédiaire clef dans la synthèse de la DMJ,^[459] et un imide cyclique **213**. La réaction fonctionne dans les deux cas avec un bon rendement de 81 %. Le groupement paraméthoxybenzyle résiste aux conditions réactionnelles (Schéma 127).

Schéma 127 Déshydroxylation en position α de lactame

La méthode de déshydroxylation fonctionne également en position α de groupement nitrile mais avec un rendement plus faible de 51 %. Il est également à noter que l'acétal cyclique présent n'est pas dégradé au cours de la réaction (Schéma 128).

Schéma 128 Déshydroxylation en position α de groupement cyano

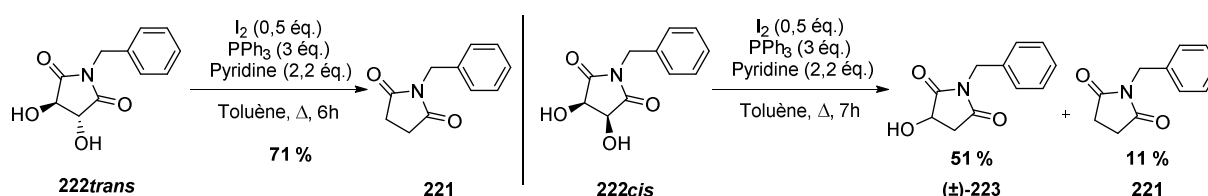
Le dérivé tritylé et méthylé **218** de la molécule naturelle, la silibinine, a pu être déshydroxylé dans nos conditions (Schéma 129). Cette déshydroxylation s'accompagne également d'une ouverture de cycle donnant des informations sur le mécanisme réactionnel, qui seront développées dans les parties suivantes (voir Chap. 3. III)4b)).

Schéma 129 Déshydroxylation sur un dérivé de la Silibinine **218**

Notre méthode de déshydroxylation fonctionne donc en position α de groupements électroattracteurs variés tels que les cétones, les lactones, les nitriles, les imides ou encore les lactames avec des rendements allant de 50 à 99 %. D'autres fonctions comme les diols et les esters ont des réactivités particulières qui seront développées dans les paragraphes suivants. Les limites d'application de notre méthode seront également définies et discutées.

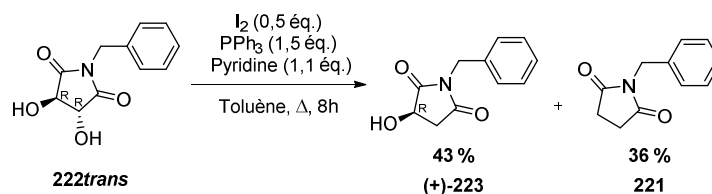
2) Cas particulier : les diols

Le laboratoire a ensuite voulu étudier la réactivité de diols en comparant notamment les isomères *cis* et *trans*. Le diol **222trans** mène au produit de didéshydroxylation **221** avec un bon rendement de 71 %. En revanche, si l'on effectue la réaction sur le diol **222cis**, le produit obtenu majoritairement est un produit racémique de mono déshydroxylation ($\pm$)-**223** avec 51 % de rendement accompagné du produit de didéshydroxylation isolé avec un rendement faible de 11% (Schéma 130). Il est à noter que, conformément au mécanisme supposé (Schéma 121), seules les quantités de PPh₃ et de pyridine avaient été doublées pour réaliser ces deux réactions. La quantité initiale d'I₂ ajoutée de seulement 0,5 éq. est en faveur de la reformation du diiode au cours de la réaction (Schéma 121).

Schéma 130 Déshydroxylation sur des diols *cis* et *trans*

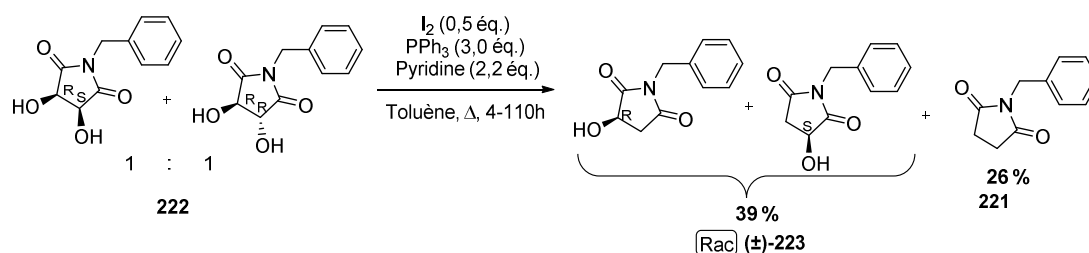
A durée de réaction égale, si l'on augmente les quantités de réactifs à 4,5 équivalents de PPh₃ et 3,3 équivalents de pyridine sur le substrat diol *cis*, on obtient 42 % de produit ($\pm$)-**223** et 4 % de produit **221**. L'arrêt de la réaction au composé mono désoxygéné ne vient donc pas d'un manque d'un de ces deux réactifs.

Si l'on utilise les conditions standards de déshydroxylation sur le diol *trans*, le produit mono désoxygéné (+)-**223** est obtenu avec un rendement de 43 % et le composé didéshydroxylé avec un rendement de 36 % (Schéma 131).

Schéma 131 Déshydroxylation conditions standards sur diol *trans*

Le composé (+)-**223** obtenu a un pouvoir rotatoire spécifique de +65° dans le chloroforme à une concentration de c = 0.75 g/mL. Cette valeur est en accord avec la formation d'un composé (*R*), par comparaison avec un composé similaire possédant un groupement para méthoxy benzène au lieu de benzyle.^[460] Une diminution de la quantité de PPh₃ à 1,0 équivalent ne permet pas l'obtention de (+)-**223** en tant que produit unique, le composé **221** alors isolé avec un rendement de 15 %. On peut donc en conclure que l'intermédiaire mono désoxygéné réagit dès sa formation dans le milieu.

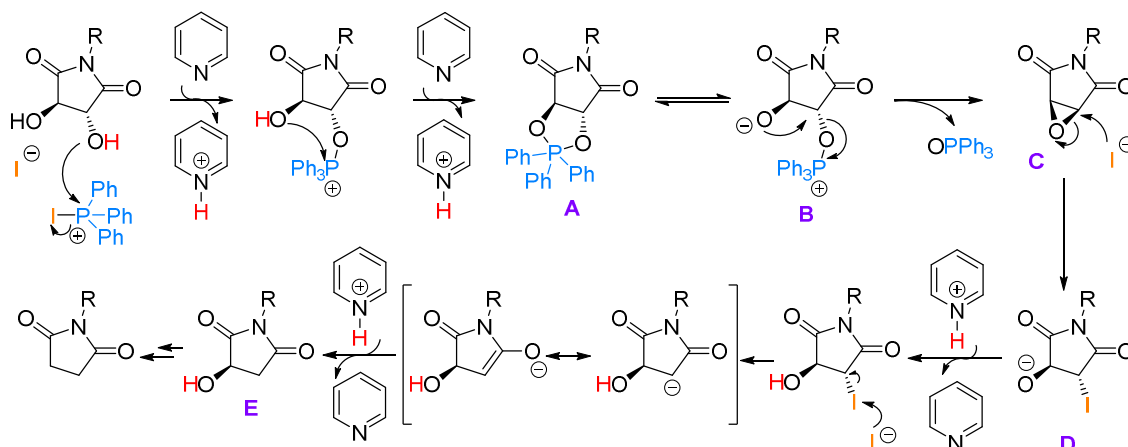
La réalisation de la réaction de déshydroxylation sur un mélange 50:50 des diols *cis* et *trans* aboutit au bout de 4, 10 ou 110 heures de réaction au même résultat : environ 39 % de composé mono désoxygéné racémique et 26 % de didéshydroxylé (Schéma 132). Le temps de réaction ne semble donc pas être la raison de l'arrêt au composé mono déshydroxylé ($\pm$)-**223**. De plus, l'alcool obtenu n'ayant pas réagi est racémique, il provient donc du diol *cis*.

Schéma 132 Déshydroxylation sur un mélange 1 :1 des diols *cis* et *trans*

La différence de réactivité entre les diols *cis* et *trans* doit donc être due à une différence de mécanisme. Celle-ci reste inexpliquée mais différents arguments et observations pourraient aider à son élucidation.

Tout d'abord, le sel de iodotriphénylphosphonium est formé, puis un des doublets d'un oxygène attaque le phosphore, libérant ainsi un ion iodure (Schéma 133). L'ion oxonium est ensuite déprotoné à l'aide de la pyridine. Une seconde attaque nucléophile a lieu sur le phosphore par le second alcool formant ainsi une espèce phosphorane (**A**). Cet intermédiaire réactionnel est connu pour se former en présence d'un diol, de triphénylphosphine, d'un dihalogène et d'une base.^[461,462] Sa formation est également supposée lors de la réaction de Mitsunobu appliquée à des diols en présence de diéthyl ou diisopropyl azocarboxylate.^[463,464] Ce phosphorane est en équilibre avec sa forme bétaine (**B**).^[464] La cyclisation intramoléculaire de la bétaine conduit à la formation d'un époxyde (**C**) qui pourra être ouvert par attaque nucléophile de l'ion iodure présent en solution.

D'après la publication de Philip E. Sonnet^[465], l'espèce ouverte **D** est à ce moment reprotonée et ne réagit pas avec le second équivalent de PPh₃ encore disponible. Si cette réaction avait lieu, il y aurait eu formation de l'alcène résultant de la décomposition du pont iodonium formé par l'attaque de l'iode sur le carbone adjacent portant l'espèce phosphonium. Une fois le composé **E** formé, on retourne au mécanisme supposé de mono déshydroxylation puisqu'il reste assez de réactifs dans le milieu pour que celle-ci s'effectue (Schéma 133).

Schéma 133 Mécanisme supposé pour le cas du diol *trans*

La différence d'isomérisie des deux diols induirait une modification du mécanisme à partir des intermédiaires **A** et **B**. La forme bétaine **B'** pour le diol *cis* ne pourrait pas éliminer l'oxyde de triphénylphosphine puisque mal orienté pour effectuer une élimination. D'après les travaux de Evans, la réaction de diols *cis* avec du P(OEt)₅ aboutit à la formation d'une cétone **F** via une migration d'hydrogène (Schéma 134).^[466] Cette espèce n'a jamais été isolée au laboratoire.

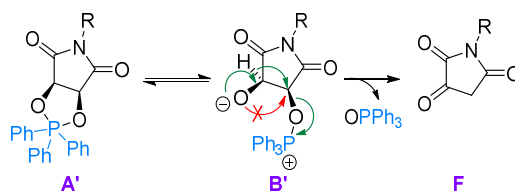
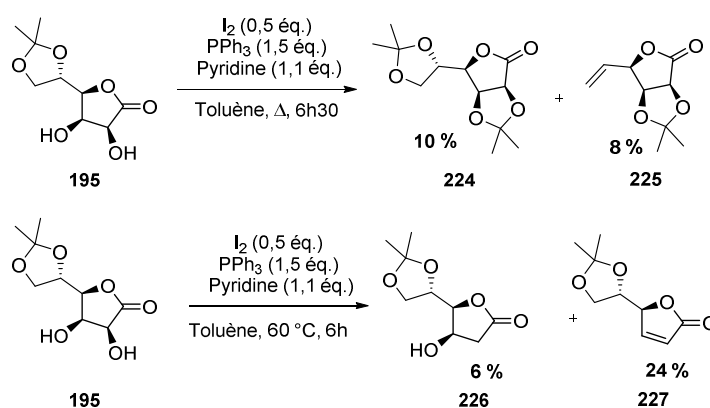


Schéma 134 Phosphorane et bétaine

La formation du composé mono déshydroxylé est encore inexpliquée mais nous faisons l'hypothèse de sa formation au moment du traitement de la réaction car si l'espèce **E** était présente dans le milieu, elle devrait réagir à nouveau.

La rationalisation de l'observation de cette différence de réactivité est encore difficile. Les indices donnés par la littérature laissent supposer que l'explication réside dans la différence de stabilité des deux phosphoranes formés.^[467]

Des essais de déshydroxylation ont également été effectués sur le 5,6-*O*-isopropylidène-*L*-*gulo*-1,4-lactone (**195**), un des substrats testés dans la publication qui présente les conditions les plus proches des nôtres (Schéma 135).^[427]

Schéma 135 Déshydroxylation sur un substrat diol de la publication de référence^[427]

Tout d'abord, dans nos conditions avec un reflux de toluène, le groupement acétal cyclique ne résiste pas et l'on observe une migration de celui-ci. Le diol ainsi déprotégé subit une réaction d'élimination menant à la formation d'un alcène.^[468] Le composé protégé par deux groupements acétals **224** est isolé avec un rendement de 10 %, le produit dont le groupement acétal a migré et où l'on observe la formation de l'alcène **225** est isolé avec un faible rendement de 8 %. Ces rendements faibles peuvent s'expliquer par la présence potentielle d'un intermédiaire tétra hydroxylé pouvant passer en phase aqueuse et pouvant donner lieu à de nombreux sous-produits (iodation, déshydroxylation, etc...).

Les conditions de réaction ont été adoucies et la température de réaction a été limitée à 60 °C, comme dans la publication d'origine.^[427] Seul l'alcool en position α de la lactone **195** est activé et peut subir la réaction de déshydroxylation selon le mécanisme proposé. Le produit de déshydroxylation puis déshydratation est isolé avec un rendement de 24 % contre 51 % dans l'article d'Amélia Rauter. Le produit de déshydroxylation, non observé dans la publication d'origine, est isolé avec un rendement très faible de 6 %.

Pour conclure, dans le cas de diols, si les deux alcools sont activés par un groupement électroattracteur, la réaction de déshydroxylation aboutira au composé didéshydroxylé ou mono déshydroxylé à partir du diol *trans* ou *cis* respectivement (Schéma 130). Seules les quantités de triphénylphosphine et de pyridine ont besoin d'être doublées pour effectuer une double déshydroxylation. Pour le cas de diol dont seulement un des deux alcools est activé, on observe une faible quantité de produit sélectivement déshydroxylé, le produit majoritaire formé étant le produit de

déshydratation (Schéma 135). Pour un diol dont aucun alcool n'est activé, on aboutit à l'alcène correspondant (composé **225**) par une réaction de type Garreg mais avec un rendement limité par la quantité de diiode présent.

3) Cas particulier : les esters

La méthode de déshydroxylation a également été testée en position α d'esters acycliques. Les résultats sont contrastés puisque certains substrats donnent des rendements faibles et d'autres ne réagissent pas.

Plusieurs essais ont été réalisés sur le mandélate de méthyle **228**. Deux problèmes majeurs se sont posés pour cette réaction. Tout d'abord, la purification du produit, qui comme la benzoïne, a des interactions π avec l'oxyde de triphénylphosphine formée. Ensuite la volatilité du produit malgré une température d'ébullition annoncée à 220-250 °C par la littérature (Schéma 136).^[469]

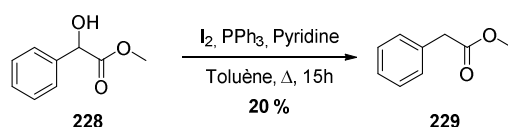


Schéma 136 Déshydroxylation sur le mandélate de méthyle

Pour pallier les problèmes de purification, nous avons essayé d'effectuer la réaction avec la triphénylphosphine supportée sur polymère. Étonnamment, la réaction ne semble pas du tout fonctionner en présence de ce réactif. Le phénylacétate de méthyle (**229**) dégage une très forte odeur de miel, il est d'ailleurs utilisé en tant qu'arôme en parfumerie ou en agroalimentaire. Son absence dans le brut réactionnel est donc aisément détectable.

Il est également possible de faire précipiter l'oxyde de triphénylphosphine dans un mélange 2:1 d'éther de pétrole et de diéthyl éther. Malheureusement, cette méthode ne peut être utilisée ici car le produit est dissous même dans les solvants apolaires. Plusieurs purifications par chromatographie sur gel de silice ont été effectuées. Une évaporation sous vide menant à une perte quasi-totale du produit, les tubes collectés après purification ont finalement été distillés pour obtenir le produit désiré avec un rendement de 20 % (Schéma 136). Aucune conclusion n'a pu être tirée de ce faible rendement à cause des pertes potentielles de produit par évaporation. La conversion du substrat était cependant totale.

Pour « alourdir » le produit formé, la méthode de déshydroxylation a été testée sur le benzyl 2-hydroxy-2-phénylacétate **230**. Même après 46h de réaction, la conversion n'est pas totale et seulement 32 % de benzyle 2-phénylacétate **231** ont pu être isolés (Schéma 137).

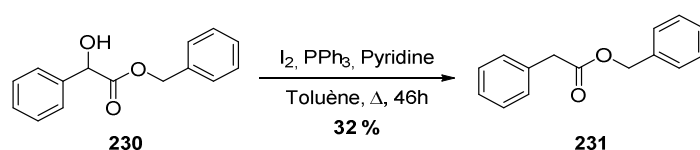
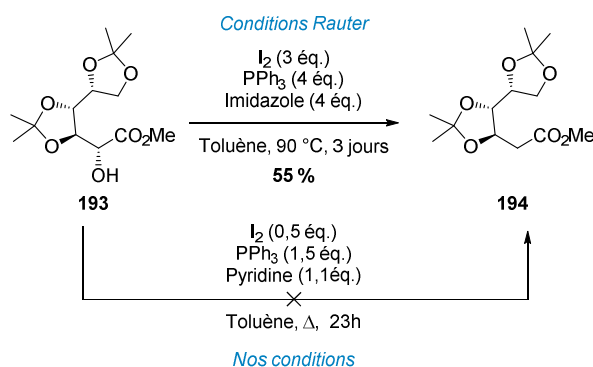


Schéma 137 Déshydroxylation sur le benzyle 2-phénylacétate

La déshydroxylation en position α d'esters est décrite dans la publication de Rauter sur le composé **193** synthétisé en une étape à partir de la γ -glurolactone (Schéma 138).^[470] Le rendement obtenu dans leur groupe est de 55 % après 3 jours de réaction à 90 °C. Dans notre cas, après 23h de réaction à reflux, aucune conversion n'est observée (Schéma 138).

Schéma 138 Déshydroxylation en position α d'esters

A ce jour, nous n'avons encore trouvé aucune explication rationalisant cette différence décisive malgré des conditions réactionnelles très proches. Faut-il tout simplement allonger le temps de réaction ou l'imidazole est-il le réactif de choix pour la déshydroxylation en position α d'ester ? La réaction fonctionne pourtant bien avec les lactones.

Le bilan sur la déshydroxylation en position α d'esters acycliques est donc mitigé. La réactivité des substrats semble être limitée donnant lieu à des rendements faibles de l'ordre de 30 %. De plus, les temps de réaction sont fortement allongés et notre méthode ne semble pas être la meilleure pour effectuer ce genre de modification structurale.

4) Essais infructueux et limite d'application

La méthode de déshydroxylation a des limites d'application comme notamment pour le cas de la déshydroxylation d'alcool tertiaire activé. La 2-hydroxy-2-méthylpropiophénone et la 21-désoxyhydrocortisone (Figure 76) sont inertes dans les conditions de réaction. Ceci a des avantages et permet de réaliser des déshydroxylation régiosélectives entre un alcool tertiaire et un alcool primaire (Schéma 124).

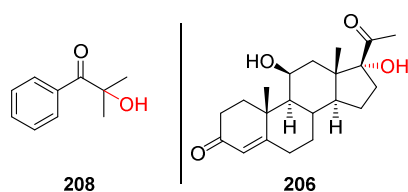
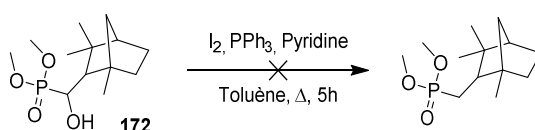


Figure 76 Substrats possédant un alcool tertiaire n'ayant pas réagi dans nos conditions

Le laboratoire a également voulu diversifier la nature des groupements électroattracteurs fonctionnant avec notre méthode. Pour cela, nous nous sommes intéressés à deux groupements différents, le groupement thioamide et le groupement phosphonate.

Dans le premier cas, le thiolactame issu du 3,4,6-tri-*O*-benzyl-D-gluconolactame **212** était envisagé comme substrat test. Malheureusement, des problèmes de synthèse n'ont pas permis de l'obtenir (Chap 3. II) 5) c)).

Dans le second cas, le composé α -hydroxy phosphonate **172** a été obtenu puis testé dans les conditions classiques de déshydroxylation (Schéma 139).

Schéma 139 Déshydroxylation d'un α -hydroxy phosphonate

Après 5h de réaction, celle-ci a été traitée. De l'oxyde de triphénylphosphine a été formé et isolé mais il n'y avait aucune trace du produit désoxygéné désiré, dans le brut réactionnel, visible en RMN ou en ESI-MS. Ce résultat n'est le fruit que d'un seul essai, il serait donc intéressant de le réitérer quitte à augmenter la quantité de diiode et réoptimiser les conditions de réaction pour ce substrat. Ce substrat devait permettre de dresser des comparaisons avec la méthode de Barton-McCombie.^[372]

La sélectivité entre alcool primaire et alcool tertiaire a été prouvée dans le cas de la déshydroxylation de l'hydrocortisone et de la prednisone, certainement explicable par la non réactivité des alcools tertiaires. Le laboratoire a voulu également tester la sélectivité des alcools primaires face à des alcools secondaires tous deux activés. Pour ce faire, la dihydroxyacétone **232** a été synthétisée (Chap3 II) 5) d)) puis testée dans les conditions standards de désoxygénation d'alcools (Schéma 140).

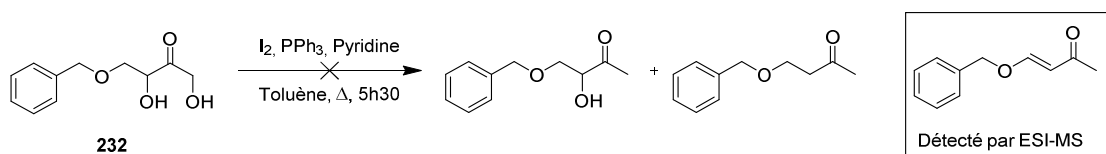


Schéma 140 Déshydroxylation sur la dihydroxyacétone

Après 5h30 de réaction, le brut réactionnel a été traité puis analysé par RMN et ESI-MS. La RMN ¹H du brut est très difficile à interpréter, en effet, de nombreux sous-produits peuvent se former au cours de la réaction (Schéma 140). Le brut réactionnel n'a pas été purifié. L'analyse par spectroscopie de masse montre l'absence de produit mono ou didéshydroxylé. En revanche, le pic de l'adduit correspondant au produit de déshydroxylation de l'alcool primaire et élimination de l'alcool secondaire a pu être observé. Cet essai unique vise à être retenté puisque qu'une réaction de déshydroxylation a effectivement eu lieu.

Le laboratoire, motivé par les essais fructueux de S.Py et F. Khuong-Hu,^[349] a voulu appliquer la méthode de déshydroxylation sur une molécule célèbre et présentant un défi synthétique important : le Docétaxel (Figure 77). Ce composé, commercialisé sous le nom de Taxotère, est un anticancéreux célèbre. Son hémisynthèse a été mise au point par l'équipe du professeur Pierre Potier à partir du 10-désacétylbaccatine III, extrait des aiguilles de l'if européen, dans les années 1980.^[471]

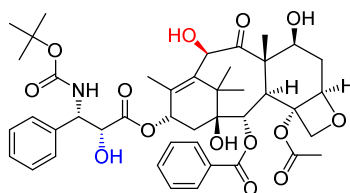


Figure 77 Docétaxel

Ce composé hautement fonctionnalisé est une réelle épreuve de force pour notre méthodologie. En effet, un alcool secondaire, un alcool tertiaire, une fonction amide, un groupement Boc, un α-hydroxy ester, un groupement acétate et un oxétane sont présents.

Malheureusement, même après une semaine complète de réaction à 60 °C dans nos conditions de déshydroxylation aucune conversion n'est observée. Le substrat a pu être réisolé à hauteur de 50 %. L'analyse en masse du brut réactionnel indique l'absence du produit désiré : la déshydroxylation sélective de l'alcool en position α de la cétone (Figure 77).

5) Synthèse des substrats

Tous les stéroïdes utilisés sont commerciaux. La benzoïne, le benzyle 2-phénylacétate, le mandélate de méthyle et le Docétaxel le sont également. Nous décrirons à présent la synthèse des autres substrats.

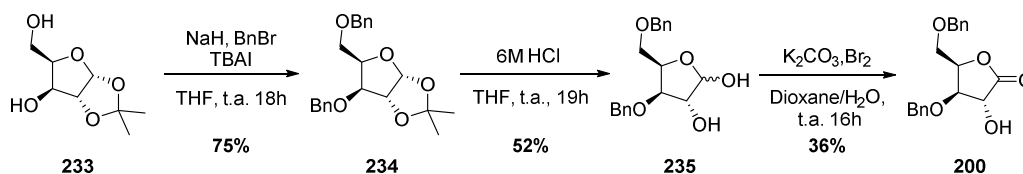
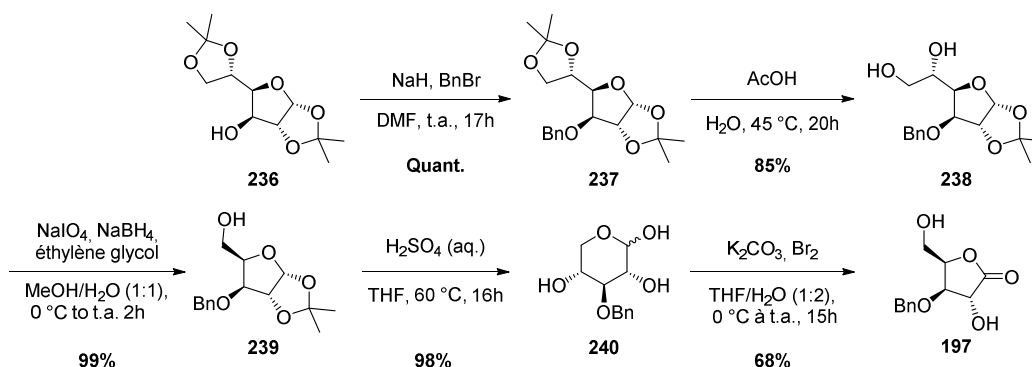
a) γ -Lactones et furanosides

Schéma 141 Synthèse du substrat modèle

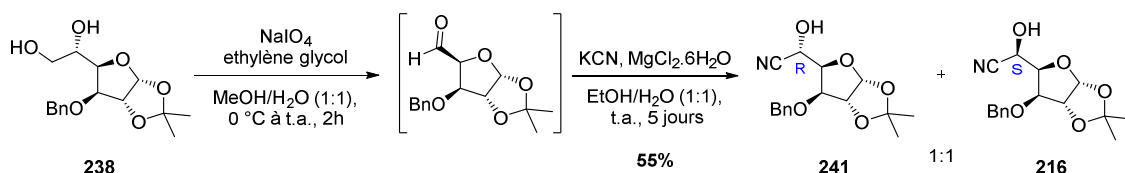
Le substrat modèle a été synthétisé en 3 étapes à partir du 1,2-*O*-isopropylidène- α -D-xylofuranose commercial. Le furanose **233** a d'abord été protégé par deux groupements benzyle.^[472] Le groupement acétal cyclique a ensuite été déprotégé en milieu acide.^[473] Le lactol formé a ensuite été oxydé en lactone à l'aide de dibrome et de carbonate de potassium avec un rendement de 36 % (Schéma 141).^[474] Le substrat modèle a été obtenu en 3 étapes avec un rendement global de 14 %.

La lactone **197** a été synthétisée en 5 étapes à partir du diacétone-D-glucose commercial (**236**) (Schéma 142). L'alcool secondaire libre du diacétone-D-glucose a d'abord été protégé par un groupement benzyle dans des conditions classiques de benzylisation.^[475] L'acétal le moins stable a été déprotégé sélectivement en présence d'acide acétique.^[475]

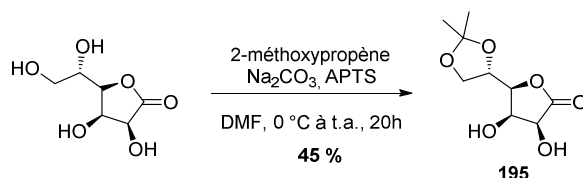
Schéma 142 Synthèse de la lactone **197**

Une oxydation de Malaprade a ensuite été réalisée en présence de NaIO₄ causant la coupure oxydante du diol déprotégé. L'aldéhyde formé a ensuite été réduit à l'aide de borohydrure de sodium pour obtenir le composé **239** avec un rendement de 92 %.^[475] L'hydrolyse de l'isopropylidène en présence d'acide sulfurique a conduit au D-xylose **240**.^[476] Ce dernier a été oxydé en présence de dibrome et de carbonate de potassium pour atteindre la lactone désirée **197** avec 68 % de rendement (Schéma 142).^[477] La lactone **197** a été obtenue en 5 étapes avec un rendement global de 45 %.

Le composé cyanhydrine **216** a été obtenu en 2 étapes à partir de l'intermédiaire **238** en proportion égale avec son épimère **241**. A nouveau une réaction de Malaprade a été réalisée suivie d'un ajout de KCN et de chlorure de magnésium hydraté. Cette dernière étape s'inspire de la procédure décrite par le groupe de G. Jayson (Schéma 143).^[478]



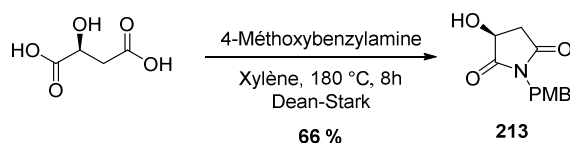
Enfin, le diol **195**, issu de la publication de Rauter,^[427] a été obtenu en 1 étape à partir de la L-gulono-1,4-lactone en présence de 2-méthoxypropène et de carbonate de sodium (Schéma 144). La procédure suivie a été décrite en 2002 par l'équipe de G. W. J. Fleet.^[479]



b) Malimide et tartarimides

Les trois imides **213**, **222** *cis* et *trans* ont été obtenus par réaction de condensation à partir de l'acide L-(-)-malique, de l'acide L-(+)-tartrique et de l'acide *meso*-tartrique respectivement. Les réactions ont été réalisées à l'aide d'un montage de Dean-Stark.

La synthèse du malimide s'effectue par condensation de la 4-méthoxybenzylamine sur l'acide L-(-)-malique (Schéma 145).



L'eau formée est éliminée du milieu réactionnel par un montage de Dean-Stark permettant de pousser l'équilibre de la réaction vers la formation du produit. Pour que la réaction se produise, il faut se placer à 40 °C au-dessus de la température d'ébullition du xylène soit à environ 180 °C. Le produit désiré est obtenu après 8h de réaction avec un rendement de 66 % (Schéma 145).^[460]

Une synthèse similaire a été appliquée pour la formation des deux tartarimides en utilisant comme substrat l'acide L-(+)-tartrique et l'acide *meso*-tartrique. Le diol *trans* a été obtenu par condensation de la benzylamine sur l'acide L-(+)-tartrique avec un rendement de 56 % au bout de 14h de réaction (Schéma 146). Le produit a été obtenu après quatre recristallisations successives sur le brut réactionnel.^[480]

La procédure suivie est décrite uniquement pour la formation du diol *trans*.^[480], mais nous avons tenté d'appliquer ces conditions pour la synthèse du diol *cis*. La réaction a donc été effectuée dans les mêmes conditions mais cette fois-ci en partant de l'acide *meso*-tartrique. Au bout de 17h de réaction, un mélange équimolaire des deux isomères est obtenu avec un rendement de 90 % (Schéma 146).

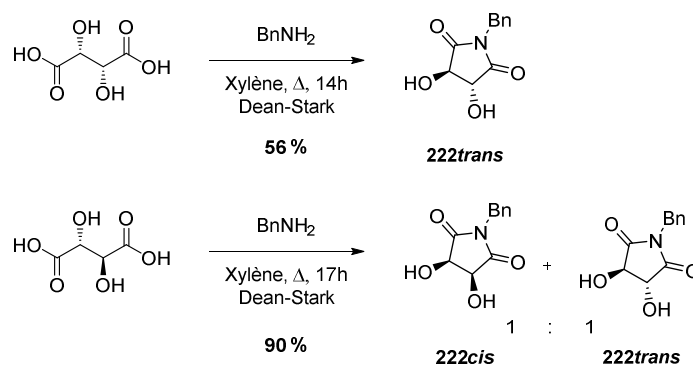
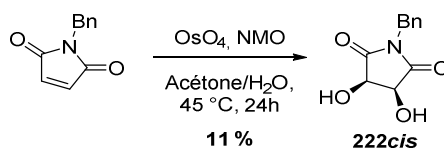


Schéma 146 Synthèse des deux tartarimides par condensation

Ce phénomène d'épimérisation est évoqué dans la littérature.^[479] Malgré plusieurs essais de purification sur colonne chromatographique, il n'a pas été possible de séparer ces deux diastéréoisomères. Il a donc été nécessaire de trouver une autre voie de synthèse permettant d'atteindre le composé **222cis**.

Le diol *cis* est obtenu *via* une dihydroxylation de Upjohn utilisant le tétraoxide d'osmium et la *N*-méthyl morpholine *N*-oxyde. La procédure suivie décrivait une granulation du brut réactionnel après 4h à température ambiante permettant, par lavage au chloroforme, de récupérer le produit désiré.^[481] Dans mon cas, le brut réactionnel n'a jamais « granulé » même après 2 jours complets au réfrigérateur. Le brut réactionnel a donc été purifié par colonne chromatographique sur gel de silice et le diol *cis* a été obtenu avec seulement 11 % de rendement (46 % litt.)^[481] (Schéma 147).

Schéma 147 Synthèse du diol *cis* par dihydroxylation de Upjohn

c) Pipéridines

Le lactame déprotégé en position C-2 **212** est un intermédiaire réactionnel vers la synthèse de la DMJ décrite au laboratoire.^[459]

Ce lactame a été utilisé comme substrat de notre méthode mais également comme précurseur vers la synthèse d'un thiolactame déprotégé en position C-2 (Schéma 148).

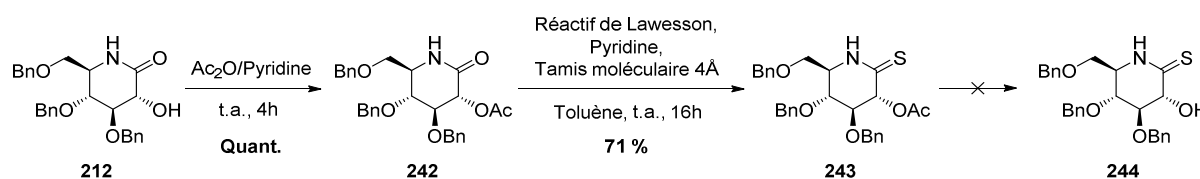


Schéma 148 Synthèse d'un thioamide déprotégé en position 2 à partir du lactame correspondant

Tout d'abord, l'alcool est protégé par un groupement acétate car la réaction de thionation avec le réactif de Lawesson ne peut avoir lieu en présence d'alcool libre.^[482,483] La protection s'effectue de manière quantitative en présence d'anhydride acétique et de pyridine. Si de la DMAP est ajoutée dans le milieu, l'amide est également protégé et on obtient le composé diacétylé. Le lactame mono acétylé **242** subit ensuite une réaction de thionation dont les conditions sont adaptées de la littérature.^[482,484] Le thiolactame **243** a été obtenu avec un rendement de 71 % après 16h de réaction (Schéma 148).

Trois méthodes d'hydrolyse de l'acétate en milieu basique ont d'abord été testées pour obtenir le thiolactame désiré **244**. La première consiste en l'utilisation de la résine basique Amberlite IRA HO⁻

très souvent utilisée dans le laboratoire pour la déprotection de composés multivalents acétylés.^[82] Après réaction avec le thioamide **243** la résine est rincée à l'aide de méthanol et de dichlorométhane mais aucun produit n'a été récupéré. La résine a ensuite été lavée avec une solution de HCl à 10% et le brut obtenu analysé en RMN. Des traces du lactame déprotégé **212** étaient visibles. En revanche, le singulet caractéristique du thioamide à 8,1 ppm dans le CDCl₃ était absent. Il n'y avait donc pas de composé dérivé du thioamide dans le milieu (Schéma 149).

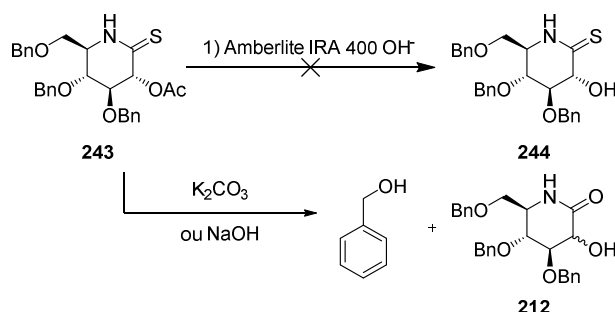
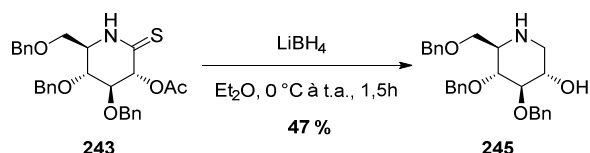


Schéma 149 Déacétylation du thioamide par méthodes basiques

La déprotection du groupement acétate a ensuite été testée en présence de K₂CO₃^[485] ou NaOH^[486]. Dans les deux cas, environ 30 % de lactame déprotégé est récupéré ainsi que des fractions non négligeables d'alcool benzylique. La présence de ce dernier implique la formation de produits possédant une insaturation endocyclique qui n'ont pas été isolés. Une épimérisation a également eu lieu, due à l'acidité du proton en position C-2.

Pour éviter cette épimérisation et l'élimination, une déprotection en milieu acide a été tentée en présence d'acide paratoluène sulfonique.^[487] A nouveau le produit désiré n'était pas formé et la seule espèce isolée était le lactame correspondant.

L'obtention du lactame déprotégé a ensuite été envisagée *via* une réduction par un hydrure. La fonction thioamide devait résister à ces conditions comme décrit dans la littérature.^[488] Or dans notre cas, l'acétate a été réduit mais également la fonction thioamide donnant lieu au produit **245** avec un rendement de 47 % (Schéma 150).

Schéma 150 Réduction du thioamide **243** avec LiBH₄

Une ultime méthode douce par hydrolyse enzymatique a ensuite été envisagée en utilisant une lipase : l'Amano Lipase PS.^[485] Au bout de 17 jours de réaction et plusieurs ajouts de MeOH le substrat semblait être consommé. Cependant, une analyse par spectroscopie de masse du brut réactionnel indiquait l'absence du thiolactame déacétylé voulu.

d) Phosphonates et dihydroxacétones

Toute la séquence synthétique, pour la préparation du phosphonate **172**, suit la procédure décrite par un article publié dans le *Journal of Medicinal Chemistry* en 2013.^[372] La première réaction est une réaction de Wittig-Horner effectuée à partir de la (*S*)-(+)-fenchone. L'isomère majoritairement formé est l'éther d'énol *E*, qui est hydrolysé en aldéhyde à l'aide de l'acide trichloroacétique. L' α -hydroxy phosphonate est obtenu par réaction d'Abramov avec un rendement de 67 % (Schéma 151). Le rendement global de la synthèse est de 40 % sur 3 étapes.

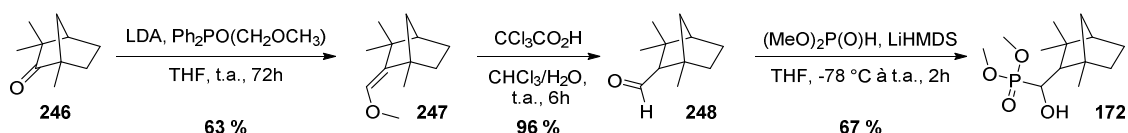


Schéma 151 Synthèse d'α-hydroxy phosphonate

Enfin, la dihydroxyacétone **232** est obtenue en une étape à partir du benzyloxyacétaldéhyde et de l'acide dihydroxyfumérique avec un faible rendement de 16 % (Schéma 152). Ce rendement est comparable à celui de la littérature car annoncé à 21 %.^[489]

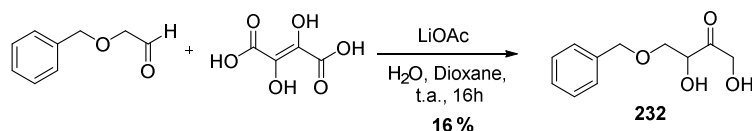


Schéma 152 Synthèse d'une dihydroxyacétone

Le mécanisme réactionnel correspondant est indiqué ci-dessous (Schéma 153). Le produit est obtenu par condensation aldolique de l'acide dihydroxyfumérique, suivie d'une double décarboxylation.

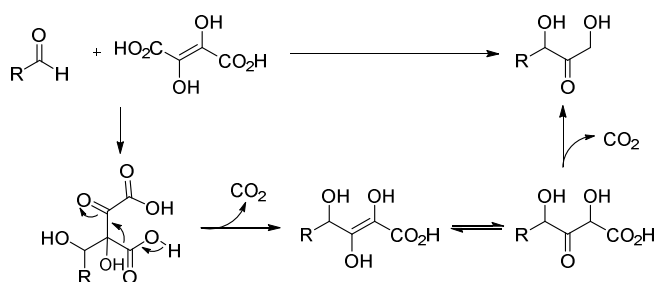


Schéma 153 Mécanisme de formation du substrat dihydroxyacétone

III) Etude mécanistique

Différentes observations expérimentales ont déjà pu confirmer quelques parties du mécanisme proposé (Schéma 121), comme par exemple la formation de l'oxyde de triphénylphosphine et la reformation du diiode au cours de la réaction puisqu'une quantité sub-stœchiométrique est suffisante. Pour valider ce mécanisme supposé, nous avons pensé à plusieurs méthodes. Tout d'abord, déterminer si le proton de l'alcool arraché par la pyridine en début de réaction est bien celui qui sert à reprotoner le carbone en α du groupement électroattracteur. Pour cela, des essais de marquage au deutérium ont été réalisés.

Le passage par un intermédiaire iodé est très largement supporté par le mécanisme de la réaction de Garegg-Samuelson ou encore la réaction d'Appel, convertissant un alcool en halogénure d'alkyle avec inversion de configuration par utilisation de triphénylphosphine et de tétrahalogénures de carbone.^[490] Néanmoins, nous avons cherché à isoler cet intermédiaire iodé en interrompant la réaction avant achèvement. Nous avons également tenté la désoxygénation à partir d'un intermédiaire iodé pour voir si le produit de déshydroxylation serait obtenu, supportant ainsi l'existence de cette espèce transitoire.

Enfin, nous avons tenté de piéger le carbanion formé au pied de l'alcool réduit en le faisant réagir avec le réactif de Mander's ou encore le bromure de benzyle, deux réactifs enclins à subir des attaques nucléophiles.

1) Essais de deutérioration

Différents essais d'incorporation de deutérium ont été effectués sur deux substrats différents : la benzoïne et le maléimide. Ces essais ont pour but de prouver que le proton arraché initialement à l'oxonium par la pyridine est bien celui qui permet de reprotoner l'intermédiaire carbanion supposé (Schéma 154).

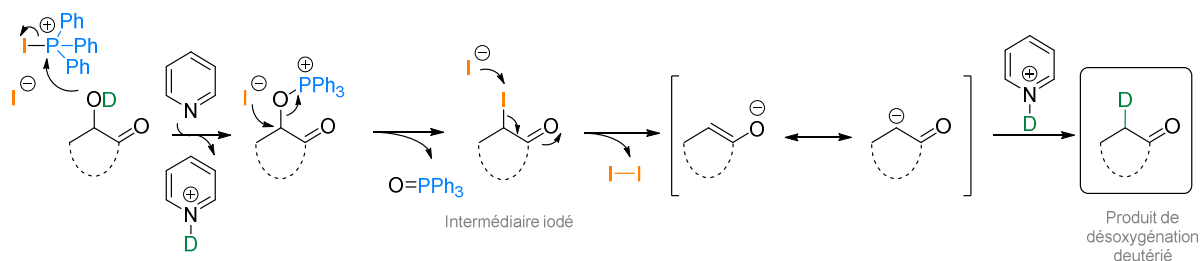


Schéma 154 Mécanisme supposé à partir d'un substrat deutérié

a) Cas de la benzoïne

Le choix du substrat à utiliser pour les essais de deutérioration s'est porté sur la benzoïne car son rendement de déshydroxylation est très élevé, aucune purification n'est nécessaire et la simplicité de son spectre RMN du proton facilite l'étude par marquage.

La benzoïne a été deutériée par trois cycles d'échanges de deutérium avec du CD_3OD et évaporation, permettant d'obtenir **249** avec 75% d'incorporation.

La triphénylphosphine supportée sur polymère a été utilisée. Au bout de 14h la conversion est totale, la triphénylphosphine est filtrée et rincée à l'aide de DCM et de MeOH. L'analyse RMN du ^1H indique une incorporation de deutérium dans le produit désoxygéné de 42 % (Schéma 155).

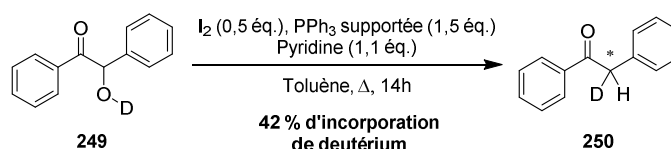
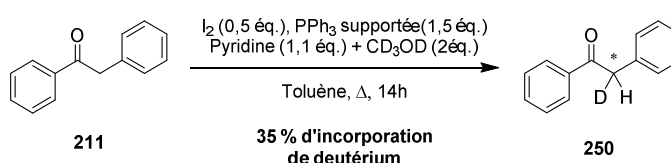


Schéma 155 Déshydroxylation sur la benzoïne deutérée

Ce résultat est en accord avec notre hypothèse mécanistique. Cependant, il a été nécessaire d'effectuer une réaction de contrôle puisque le proton en position α de la cétone et en position benzylique a un pKa d'environ 16. Il a donc fallu vérifier que l'échange proton/deutérium ne s'effectue pas *a posteriori* sur le produit désoxygéné.

L'expérience de contrôle a été réalisée en utilisant la 2-phénylacétophénone comme substrat. Les conditions optimisées de déshydroxylation ont été appliquées avec utilisation de la triphénylphosphine supportée sur polymère et en ajoutant également deux équivalents de CD_3OD . L'analyse de la RMN indique une incorporation de deutérium de 35 % (Schéma 156).

Schéma 156 Déshydroxylation en présence de CD_3OD sur la 2-phénylacétophénone

Ce résultat nous empêche donc de tirer des conclusions de l'expérience précédente.

b) Cas de l'amide

Le pKa du proton en position α d'un imide est d'environ 28. La constante d'acidité de 12 ordres de grandeur plus faible par rapport à celle de la benzoïne devrait éviter le problème d'incorporation du deutérium sur le produit de la réaction de déshydroxylation par échange acido-basique. L'expérience de contrôle est réalisée sur le substrat **215**. Après 12h de réaction, aucune incorporation de deutérium n'est observée (Schéma 157). Celui-ci est donc un bon candidat pour le test de deutérioration.

La deutérioration du maléimide s'est avérée être plus difficile que pour la benzoïne. Les incorporations étaient plus faibles et surtout non reproductibles malgré les précautions prises de travailler sous atmosphère inerte et avec des solvants anhydres. Les incorporations peuvent aller de 20 à 100 % et ce sans aucune modification apparente de procédure de préparation. La réaction de déshydroxylation a été réalisée sur le substrat deutérié obtenu avec 100 % d'incorporation (Schéma 157).

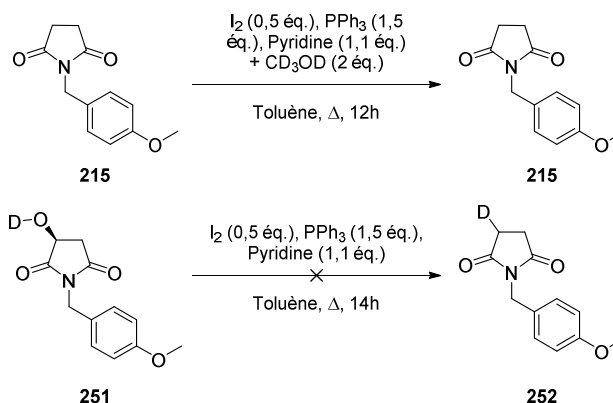


Schéma 157 Essais incorporation de deutérium sur le maléimide

Après 14h de réaction, le milieu réactionnel a été traité, pour éliminer le diiode présent, puis évaporé sous pression réduite. L'analyse du brut réactionnel par RMN indique la présence du composé désoxygéné **215**. Ce produit est en mélange avec un composé qui semble être le substrat. Aucune trace de composé désoxygéné deutérié dans le mélange confirmé par RMN et ESI-MS.

Les essais de deutérioration ont donc été infructueux. Dans le cas où l'incorporation du deutérium sur le produit fonctionne, il est impossible de conclure quant à la provenance de celui-ci. Soit grâce au mécanisme, soit par simple équilibre acido/basique avec le produit. De plus, l'obtention des substrats deutériés lors de journées à fort taux d'humidité a été fastidieuse. Face à ces problèmes, nous avons concentré nos efforts sur les expériences validant le passage par un intermédiaire iodé et par un intermédiaire énolate lors du mécanisme réactionnel.

2) Passage par un intermédiaire iodé

La formation d'un intermédiaire iodé lors du mécanisme réactionnel est largement soutenue et observée par la littérature.^[404,422,428,431] Cependant, pour valider la formation de cet intermédiaire dans nos conditions de façon expérimentale. Deux méthodes parallèles ont été explorées. La première a eu pour but d'isoler l'intermédiaire iodé au cours de la réaction. La seconde a consisté à réaliser la réaction de déshydroxylation à partir de cet intermédiaire. L'observation du produit réduit serait une preuve favorable à la formation transitoire d'un α -iodo carbonyl lors de la réaction.

a) Isolement intermédiaire iodé

Nous avons effectué la réaction de déshydroxylation à basse température pour essayer de diminuer la cinétique de la réaction et parvenir à isoler l'intermédiaire iodé. Cet essai a été réalisé sur l'hydrocortisone pendant 12 heures à 0 °C. Après purification, aucune fraction ne correspondait au produit désiré, seul le composé déshydroxylé a été observé.

Un second essai a été réalisé sur la prednisone également à 0 °C mais cette fois-ci le temps de réaction était limité à 40 minutes. Le toluène a été remplacé par le THF car la solubilité des stéroïdes et des réactifs dans le toluène à froid est moindre. La pyridine a été remplacée par l'imidazole pour se rapprocher des conditions de la réaction de Garegg-Samuelson et ainsi accroître nos chances d'isoler l'intermédiaire iodé.

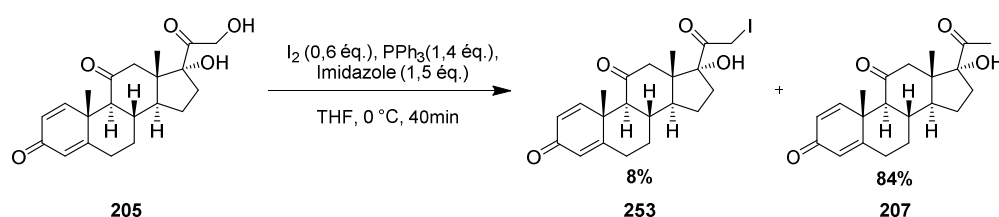


Schéma 158 Essai isolement intermédiaire iodé à partir de la prednisone

Le produit déshydroxylé a été isolé avec un excellent rendement de 84 %. L'intermédiaire iodé a également été obtenu à hauteur de 8 % (Schéma 158). Même si la différence majeure réside ici dans le changement de la pyridine pour l'imidazole, l'isolement de cet intermédiaire confirme le passage par celui-ci lors du mécanisme de déshydroxylation en position α de groupement électroattracteur.

b) Désoxygénation à partir de l'intermédiaire iodé

La désoxygénation à partir de l'intermédiaire iodé n'a pas été effectuée à partir du 21-iodoprednisone **253** car seulement 26 mg avaient été obtenus. Une voie de synthèse différente a été suivie à partir de l'hydrocortisone en suivant la procédure décrite, en 2009, dans un brevet.^[491]

L'alcool primaire a d'abord été tosylé avec un bon rendement de 87 %. Le groupement tosylé a ensuite été déplacé par NaI pour obtenir l'hydrocortisone iodée en position C21 ([Schéma 159](#)).

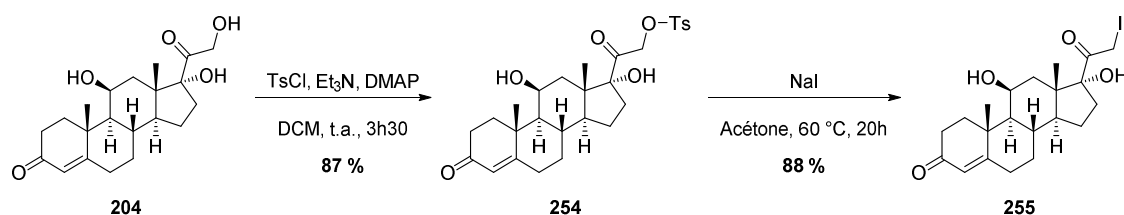


Schéma 159 Voie de synthèse pour la formation de la 21-iodohydrocortisone

Les conditions de déshydroxylation classiques ont été appliquées au substrat iodé. La 21-désoxyhydrocortisone **206** a été obtenue avec un rendement de 20 % après 6h de réaction ([Schéma 160](#)). Ce rendement est faible mais assez significatif. Ce résultat va dans le sens de notre hypothèse mécanistique indiquant que l'intermédiaire iodé est certainement formé lors de la réaction de déshydroxylation et prouve que l'intermédiaire iodé est converti en produit dans les conditions de la réaction.

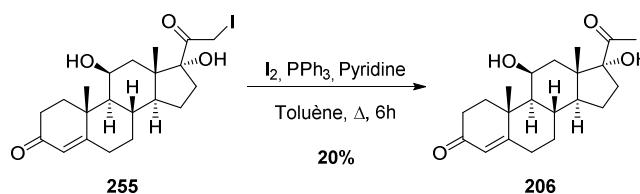


Schéma 160 Déshydroxylation à partir de la 21-iodohydrocortisone

3) Passage par un intermédiaire énolate

a) Réactif de Mander et bromure de benzyle

Dans le but de prouver le passage par un carbanion dans le mécanisme réactionnel, l'idée a été d'introduire un réactif assez électrophile pour venir réagir avec le carbanion formé. Cette réaction est en compétition directe avec la reprotonation du composé menant alors au produit de déshydroxylation.

Le piégeage du carbanion par un électrophile autre que H^+ aboutirait à des produits intéressants à structure et fonctions variées. Ce type de réaction serait alors un complément à la réaction de Mitsunobu, décrite en 1967,^[492] décrivant le déplacement d'un alcool primaire ou secondaire par un nucléophile avec utilisation de triphénylphosphine. Notre méthode pourrait alors être le pendant de la réaction de Mitsunobu utilisant un électrophile et non un nucléophile pour remplacer un alcool.

Un premier essai a été réalisé sur le lactame **219** en présence de réactif de Mander's. Le cyanoformate de méthyle est utilisé dans la synthèse de β -céto esters par réaction de C-acylation sur un énolate de lithium préalablement formé. Son utilisation permet d'éviter la formation de produits provenant d'une réaction de O-acylation, observés dans le cas des chlorures d'acide ou encore des anhydrides.^[493]

La réaction du lactame **219** dans les conditions classiques de désoxygénation en présence de 3 équivalents de réactif de Mander pendant 8h a abouti au produit **256** avec un rendement de 55 % ([Schéma 161](#)). La conversion n'est pas totale et le substrat de départ a pu être isolé à hauteur de 40 %, laissant peu de doute quant à la présence de produits secondaires non isolés. Ce produit provient de l'attaque nucléophile de l'alcool sur le carbonyle du cyanoformate de méthyle. Cette observation semble indiquer que la vitesse de réaction de l'alcool sur le réactif de Mander est bien plus importante que la vitesse de formation de l'espèce phosphonium.

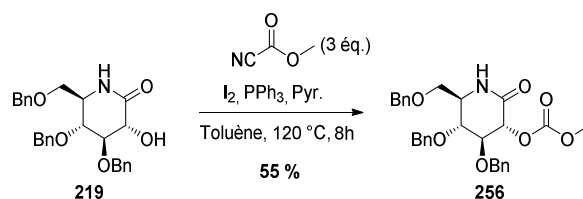


Schéma 161 Désoxygénation en présence de réactif de Mander's

Le laboratoire a également tenté de piéger cet intermédiaire énolate supposé par ajout de bromure de benzyle électrophile lors de la désoxygénation de la prednisone **257**. Deux essais ont été réalisés en ajoutant 2 ou 10 équivalents de bromure de benzyle. Les temps de réaction sont respectivement de 24 et 80h. La réaction a été effectuée à température ambiante pour diminuer la vitesse de reprotonation du possible intermédiaire énolate et rendre plus favorable l'attaque nucléophile sur le bromure de benzyle (Schéma 162).

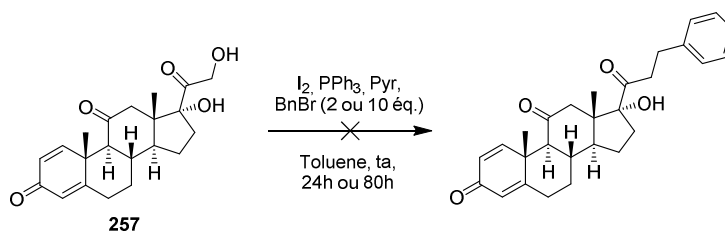


Schéma 162 Désoxygénation de la prednisone en présence de bromure de benzyle

Ces deux essais n'ont mené ni au produit désiré d'alkylation, ni au produit désoxygéné. En effet, des analyses de spectres de masses nous ont montré la présence du produit résultant de l'attaque de la triphénylphosphine sur le bromure de benzyle.

La formation de ce sel de phosphonium inhibe la réaction de désoxygénation en consommant les équivalents de triphénylphosphine nécessaires.

Les deux méthodes utilisées pour piéger l'intermédiaire énolate par un bon électrophile ont été infructueuses. Plusieurs problèmes de réactivité en sont les causes. Deux nucléophiles sont présents dans le milieu : la triphénylphosphine et l'alcool, alors en compétition. Lorsque l'attaque nucléophile de la triphénylphosphine sur l'électrophile n'a pas lieu (réactif de Mander), un problème de cinétique entre réaction de désoxygénation et attaque de l'alcool sur l'électrophile persiste.

L'ajout d'un électrophile externe pour piéger l'énolate intermédiaire semble difficile. Nous nous sommes donc penchés sur une méthode intramoléculaire et avons cherché une famille de composés pouvant, après traitement d'une base et formation d'un carbanion, induire une modification de structure par ouverture de cycle ou cyclisation.

b) Silibinine et rétro addition-Michael

La silymarine est un mélange complexe de flavonolignanes extraits des graines du Chardon-Marie (*Silybum marianum*). Les flavonolignanes sont des composés de type polyphénoliques comportant une partie flavonoïde et une partie lignane.^[494] Dans la silymarine sont présents la silidianine, l'isosilibinine, la silicristine et la silibinine, cette dernière étant son composant majoritaire. La silibinine est un important composé naturel ayant des activités biologiques diverses dues à son activité antioxydante. Elle est commercialisée sous le nom de *Flavobion*TM et *Legalon*TM et est utilisée dans le traitement des maladies chroniques du foie, des cirrhoses ou encore dans le cas d'empoisonnement aux champignons. La silibinine commerciale est constituée d'un mélange de deux diastéréoisomères, la silybine A et la silybine B (Figure 78) dans un ratio 1:1. La séparation de ces deux diastéréoisomères ne sera pas réalisée lors des différents essais de déshydroxylation, bien que cela soit

possible via une HPLC préparative.^[495] La présence de ces deux diastéréoisomères induit un léger dédoublement des pics lors des analyses RMN des spectres ¹³C.

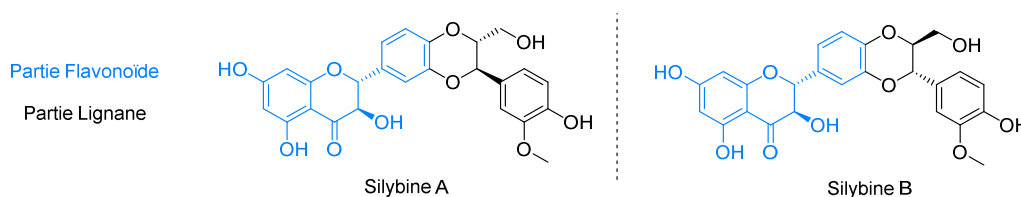


Figure 78 Diastéréoisomères composant la silibinine

La silibinine fait partie de la famille des flavononols dont la structure pourrait être comparée à un composé de type chroman-4-one hydroxylé en position α de la cétone. Les systèmes chroman-4-one, une fois traité par une base, sont capables de subir, après formation d'un énolate, une réaction de type rétro Michael provoquant alors l'ouverture du cycle.^[496–498] Le produit alors obtenu est un composé ouvert appartenant à la famille des chalcones, composés comportant également diverses activités biologiques, notamment anti-inflammatoires.^[499]

Dans le but de prouver la formation d'un intermédiaire énolate lors du mécanisme réactionnel, la silibinine s'est vite présentée comme étant une molécule de choix. La désoxygénation de l'alcool en position α de la cétone de la partie flavonoïde devrait provoquer une ouverture de cycle. On devrait donc obtenir un composé de type chalcone si le mécanisme réactionnel de la déshydroxylation passe effectivement par un intermédiaire énolate. Outre l'intérêt de preuve mécanistique, l'utilisation de la silibinine offre également la possibilité d'apporter des modifications structurales à un composé naturel actif.

Un premier essai de déshydroxylation dans les conditions classiques a été réalisé sur la silibinine commerciale « nue ». Celle-ci n'est pas soluble dans le toluène, à température ambiante ou à un reflux de 120 °C, même après 8h de réaction. Ce problème de solubilité empêche totalement la réaction. Le composé étant trop hydrophile, les alcools phénoliques ont alors été sélectivement méthylés avec un rendement de 88 % par utilisation du sulfate de diméthyle (Schéma 163).^[500]

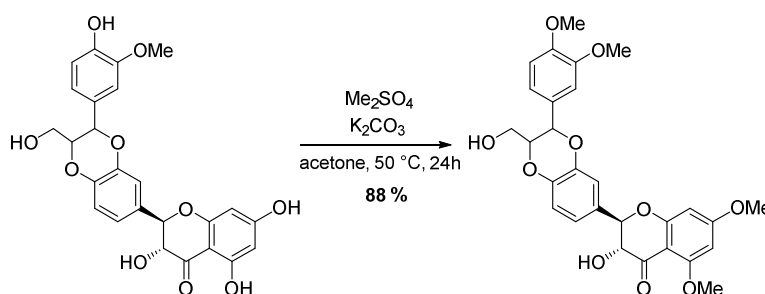


Schéma 163 Protection sélective des alcools phénoliques de la Silibinine

L'alcool primaire libre devant être protégé pour éviter des réactions de substitutions par l'iode, plusieurs groupements protecteurs ont été envisagés. Une benzylation a d'abord été tentée mais elle est trop peu sélective et a mené à un mélange de produits difficile à séparer.

La protection de l'alcool primaire par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyl^[501] a conduit à la formation du produit désiré **258** monoprotégé avec un rendement de 52% et du produit di protégé **259** avec un rendement de 32 %. Le temps de réaction très long de 144h est dû à la nécessité d'ajouts successifs de réactifs pour atteindre une conversion totale. La quantité finale de TBDMSCl ajouté dans le milieu réactionnel est de 5,5 équivalents (Schéma 164).

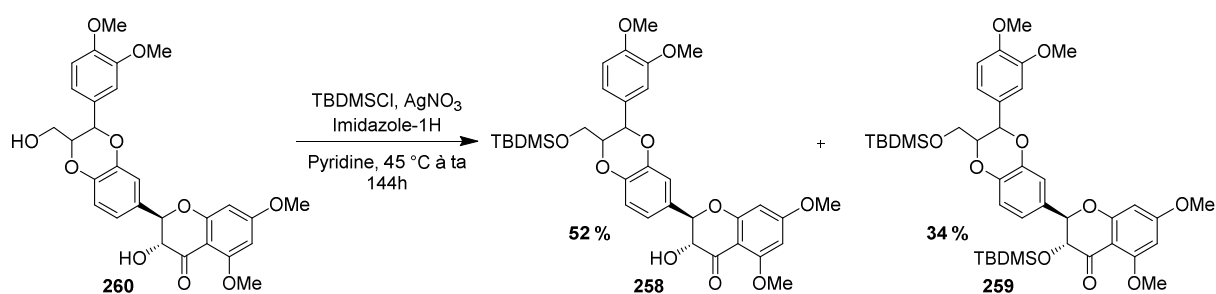


Schéma 164 Protection de l'alcool primaire par un groupement TBDMS

Le composé monoprotégé a été mis à réagir dans les conditions de déshydroxylation, mais malheureusement, le groupement silylé est instable et migre lors de la réaction. L'alcool primaire ainsi déprotégé peut alors réagir menant à un mélange complexe de produits iodé, silylé et/ou déshydroxylé inséparable.

La nécessité d'un groupement protecteur plus volumineux paraissait nécessaire pour mieux différencier les deux alcools en compétition. Il a finalement été décidé de protéger sélectivement l'alcool primaire de la silibinine méthylée par un groupement trityle. Cette réaction, inspirée du protocole décrit par Giovanni Di Fabio en 2015,^[495] a mené au produit désiré **218** avec un rendement de 72 %.

Le premier essai de déshydroxylation réalisé sur ce substrat au reflux du toluène a causé la dégradation du groupement trityle et a donc à nouveau mené à un mélange de produits iodés et/ou déshydroxylés. La réalisation de notre méthode de déshydroxylation à 60 °C pendant 28 heures nous a permis d'obtenir le produit déshydroxylé voulu **219** avec un rendement modeste de 49 % (Schéma 165).

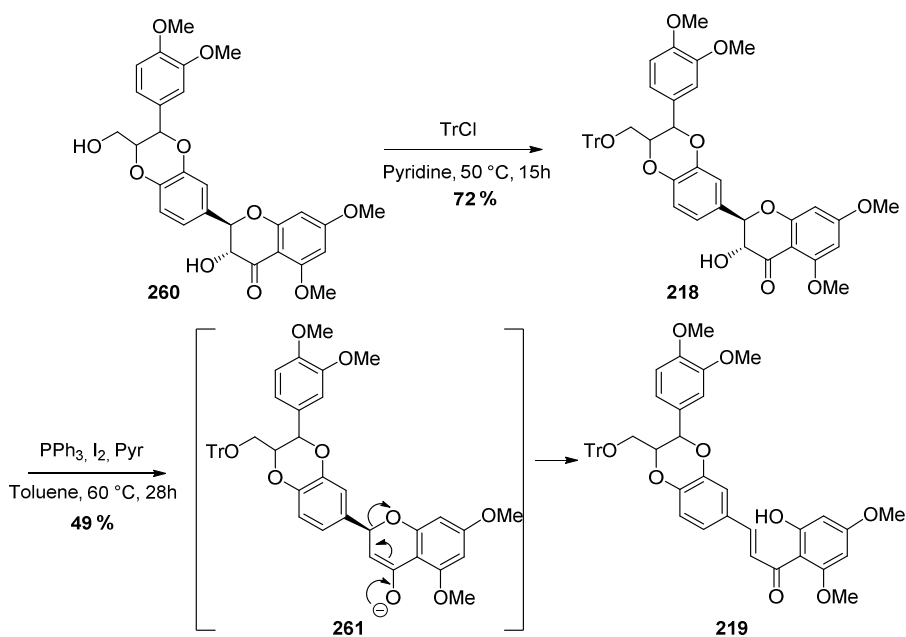


Schéma 165 Schéma synthétique de l'obtention de la silibinine déshydroxylée

La désoxygénation de l'alcool s'accompagne également de l'ouverture de cycle attendue grâce à la formation d'une espèce intermédiaire énolate **261** qui conduit à une réaction de retro-Michael (Schéma 165).

La confirmation de la structure du produit **219** a pu se faire grâce à la présence d'un singulet très caractéristique à un déplacement de 14,4 ppm sur le spectre ^1H , correspondant au signal d'un phénol engagé dans une liaison hydrogène avec la cétone adjacente (Figure 79). La présence de deux doublets de protons d'alcènes à un déplacement chimique d'environ 7,8 ppm confirme également la

structure. La constante de couplage entre ces deux protons est de 15,5 Hz indiquant une stéréochimie E de l'alcène.

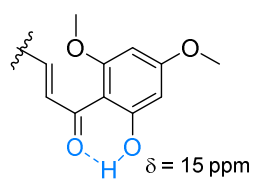


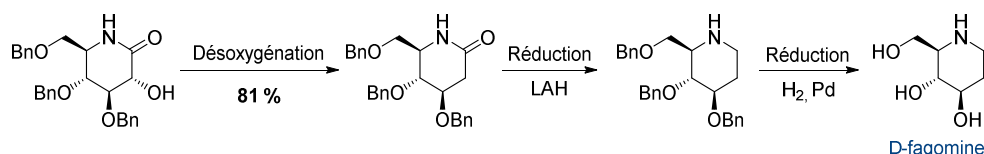
Figure 79 Déblindage du proton de l'alcool phénolique

IV) Conclusion de chapitre

Nous avons optimisé et élargi le champ d'application d'une méthode sélective de déshydroxylation inspirée du travail d'Amélia Rauter. Notre méthode s'applique en position α de 5 groupements électro-attracteurs différents, les cétones, les amides cycliques, les nitriles et les imides.^[457] Les esters acycliques réagissent difficilement dans nos conditions tandis que les esters cycliques fournissent les produits déshydroxylés avec de très bons rendements. Notre méthode fonctionne également sur des diols avec la mise en évidence d'une réactivité différente selon la stéréochimie *cis* ou *trans*. Son application sur un dérivé de la silibine a permis de prouver, de manière indirecte, la formation d'un énolate lors du mécanisme réactionnel.

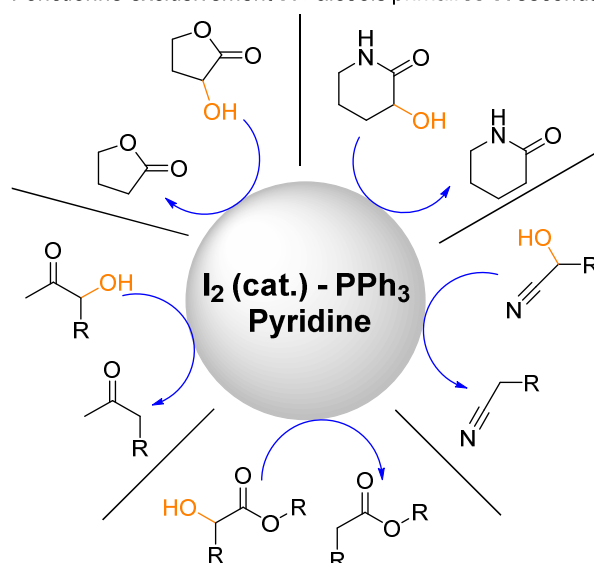
Des tests supplémentaires permettant d'améliorer encore notre méthode pourraient être réalisés. Des essais doivent être réitérés sur l' α -hydroxyphosphonate et la dihydroxyacétone. Il serait également intéressant de se pencher sur les conditions utilisant du THF à 0 °C en présence d'imidazole ayant permis d'isoler l'intermédiaire iodé et le composé déshydroxylé à hauteur de 84 % à partir de la prednisone (Schéma 158). Ce résultat a été obtenu en série stéroïde qui conduit en général à d'excellents résultats. Elargir encore à d'autres substrats permettrait de déterminer si ces conditions sont générales. D'autres groupements électro-attracteurs peuvent être envisagés comme un groupement trifluorométhyle, un groupement nitro, un groupement amidine ou encore un groupement imidazole par exemple.

Il est également possible d'envisager la synthèse de la D-fagomine à l'aide de notre méthode de déshydroxylation. En effet, le lactame déshydroxylé pourrait être réduit à l'aide de tétrahydrualuminate de lithium, puis une hydrogénation catalytique conduirait à la D-fagomine. Cet iminosucre est un inhibiteur d' α -glucosidase et de β -galactosidase ayant des propriétés anti hyperglycémiques.



La popularisation de cette méthode auprès des chimistes serait intéressante car cette approche pourrait résoudre de potentiels problèmes synthétiques. De plus, l'application de cette stratégie par d'autres laboratoires sur des composés variés permettrait d'encore mieux en délimiter les contours d'application.

Fonctionne exclusivement sur alcools primaires et secondaires



CONCLUSION GENERALE

En parallèle du projet principal de cette thèse, au sujet de la multivalence, le développement et l'optimisation d'une méthode de déshydroxylation sélective a pu être réalisée. Ce travail, inspiré d'une méthode décrite auparavant, permet la désoxygénation d'alcool en α -position de cinq groupements électro-attracteurs différents : les cétones, les amides cycliques, les nitriles, les esters cycliques et les imides. L'utilisation d'une quantité *sub*-stœchiométrique de diode est attractive. De plus, les conditions expérimentales sont simples et n'utilisent pas de métaux.

Une étude mécanistique a pu prouver les différents intermédiaires de réaction supposés. La preuve, par une méthode indirecte, de la formation d'un intermédiaire énoate lors du mécanisme réactionnel est particulièrement intéressante.

L'application du concept de multivalence à l'inhibition des glycosidases par des iminosucres multivalents a permis, par le passé, d'obtenir des valeurs de R_p/n allant jusqu'à 4800 sur l'inhibition de l' α -mannosidase de Jack-bean. Un composé multivalent est défini principalement par sa plateforme, son ligand et sa valence. En augmentant la valence par un incrément de 6 dans la même série que le composé ayant permis d'atteindre le record de R_p/n , un pallier a été observé pour la valeur de K_i , ce qui implique nécessairement une baisse du R_p/n .

Les meilleurs effets multivalents ont été obtenus, à ce jour, avec des ligands peu affins envers les mannosidases avec des K_i de l'ordre de la centaine de micromolaires. L'objectif de ma thèse était de synthétiser de nouveaux ligands plus affins envers les mannosidases, avec un K_i de l'ordre de quelques nanomolaires, pour la préparation d'iminosucres multivalents de nouvelle génération pour voir leur impact sur l'effet multivalent. Le choix du nouvel inhibiteur s'est porté sur la famille des glyconoamidines et des glycoimidazoles après un travail de recherche bibliographique.

De nombreux problèmes expérimentaux rencontrés lors de la synthèse des iminosucres glyconoamidines nous ont contraint à abandonner la synthèse de ce ligand. La synthèse d'inhibiteur gluco- et mannoimidazole a quant à elle pu être réalisée avec un rendement global sur 9 étapes de la série *D-gluco* et *D-manno* de respectivement 32 et 26 %. Ces ligands ont pu être clickés sur différentes plateformes *via* réaction de CuAAC avec de bons rendements.

Le pouvoir d'inhibition des composés mono-, di-, tri-, tétra- et tétradécavalents hydroxylés en série *D-gluco* et *D-manno* ont pu être testés sur l' α -mannosidase de Jack-bean. Certains ont montré une inhibition de type « tight binding » mise en évidence pour la première fois envers cette glycosidase, rendant la détermination des constantes d'inhibition plus complexe. Les R_p/n obtenus pour ces composés multivalents sont faibles (de 0,3 à 4), excepté pour le tétradécaglucoimidazole basé sur une plateforme β -cyclodextrine atteignant un K_i de 6 nM et ayant un R_p/n de 26. Cette valeur est néanmoins faible par rapport à la valeur de R_p/n obtenue pour son analogue possédant des ligands DNJ ($R_p/n = 610$). Ce résultat tendrait à montrer que les effets multivalents sont abaissés lorsque les ligands des composés multivalents sont affins envers leur cible. Ce premier exemple reste à confirmer par d'autres inhibiteurs multivalents et d'autres enzymes.

Les iminosucres multivalents peuvent également inhiber des glycosidases d'intérêt thérapeutique. Nous avons voulu nous intéresser à une maladie génétique rare, la mucoviscidose. Cette maladie, causée par le défaut de repliement de la protéine CFTR induisant sa destruction, a déjà été traitée par le miglustat et des effets prometteurs ont été observés. L'application de nos composés, de mono- à tétravalents, à ce cas concret a mis en évidence leur absence de correction et de potentiation de la protéine CFTR. Les mécanismes cellulaires responsables de la destruction de la protéine CFTR ne sont pas sensibles à l'action de nos iminosucres multivalents. Cependant, il est tout à fait envisageable

de tester nos composés sur d'autres maladies impliquant des glycosidases comme le cancer par exemple, en visant l' α -mannosidase II de l'appareil de Golgi.

En termes de perspectives, une étude mécanistique ainsi qu'une évaluation de la taille des composés 14-valents basés sur la plateforme β -cyclodextrine pourrait permettre de mieux comprendre cette baisse de l'effet multivalent en identifiant les mécanismes de la multivalence mis en jeu. Il serait également intéressant de réaliser la synthèse de l'analogue du composé 36-valent, ayant permis d'atteindre le record de R_p/n , avec des ligands à motif glycoimidazole pour vérifier la tendance semblant se dessiner sur l'effet multivalent. De plus, les composés 14-valent à motif glycoimidazole et le composé 36-valent à motif DNJ atteignent une valeur de K_i minimale semblable, de quelques nanomolaires. Cette valeur de K_i pourrait elle encore être abaissée grâce au composé 36-valent à motif glycoimidazole ?

Les glucoimidazoles sont connus pour leur inhibition forte, de l'ordre du faible nanomolaire, envers les β -glucosidases.^[502] Ils sont également capables d'inhiber de manière compétitive et sélective la β -glucocérébrosidase (GCase).^[502] Ces caractéristiques font de ces iminosucres des cibles attractives pour le développement de chaperons pharmacologiques pour le traitement de la maladie de Gaucher. Nous savons que la GCase est sensible à l'effet multivalent, grâce à une étude précédente, il serait donc intéressant de tester l'efficacité de nos composés multivalents de nouvelle génération en tant que chaperons pharmacologiques pour le traitement de la maladie de Gaucher.

Pour finir, les glycosidases sont impliquées dans de nombreux processus biologiques. Même si les résultats obtenus pour le traitement de la mucoviscidose n'ont pas été ceux escomptés, il est possible de tester les inhibiteurs multivalents réalisés lors de cette thèse sur de nombreuses autres cibles.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

GENERAL METHODS

Reaction and purification

Commercially available starting materials were purchased from commercial suppliers as Sigma-Aldrich Co., Merck Co., Alfa Aesar GmbH & Co., Acros Organics, Fluorochem, Carbosynth Limited or VWR and were used without further purification. When specified, anhydrous solvents were required. Tetrahydrofuran (THF) was distilled over sodium/benzophenone under argon. Dichloromethane was distilled over CaH_2 under argon. Dimethylformamide (DMF) was purchased anhydrous over molecular sieves. Toluene was distilled over CaH_2 , pyridine, triethylamine and diisopropylamine were distilled over KOH and all of them were stored over KOH under argon.

All reactions were performed in standard glassware or in vials adapted to a Biotage Initiator[®] microwave reactor. Reaction monitoring was achieved by Thin Layer Chromatography (TLC) on aluminum sheets coated with silica gel 60 F254 purchased from Merck KGaA. Eluted TLC's were revealed under UV (254 nm) and with molybdophosphoric acid or potassium permanganate upon heating. The solution of molybdophosphoric acid was prepared by dissolving $12\text{MoO}_3 \cdot \text{H}_3\text{PO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (9.6 g) in absolute EtOH (200 mL). Potassium permanganate stain was prepared by dissolving KMnO_4 (2 g) and Na_2CO_3 (13.3 g) in water (200 mL) and a 5% NaOH aqueous solution (33 mL). Crude mixtures were purified by flash column chromatography on silica gel 60 (230-400 mesh, 0.040-0.063 mm) purchased from Merck KGaA. The Gel Permeation Chromatography was performed on column prepared with BIOBEADS-SX 1, purchased from Bio-Rad, with molecular weight exclusion limit of 14 000 and operating range from 600 to 14 000. "Brine" means a saturated aqueous solution of sodium chloride.

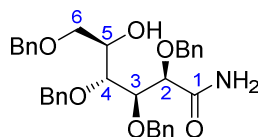
Characterization

Proton (^1H) and carbon (^{13}C) nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectra were recorded at 298K on either Bruker Avance 300 MHz, Bruker Avance III HD 400 MHz with BBFO probe or Bruker 500 MHz Avance III HD with Prodigy BBO probe spectrometers. The chemical shifts are reported as δ values in parts per million (ppm) relative to residual solvent signals used as an internal reference. Data are presented as followed: chemical shift, multiplicity (s = singlet, br s = broad singlet, d = doublet, dd = doublet of doublets, ddd = doublet of doublets of doublets, dt = doublet of triplets, t = triplet, td = triplet of doublets, tdd = triplet of doublets of doublets, q = quadruplet, m = multiplet), coupling constants (J) are expressed in Hz, integration value and assignment. The subscript Ar means aromatic. The superscript III means tertiary carbon and the superscript IV means quaternary carbon. Carbon multiplicities were assigned by Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT) experiments. ^1H and ^{13}C signals were assigned by correlation spectroscopy (COSY), Heteronuclear Single Quantum Correlation (HSQC), Heteronuclear Multiple-Bond Correlation spectroscopy (HMBC) and Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY) when required.

Optical rotations were measured at 589 nm (sodium lamp) and 20 °C on Anton Paar MCP 200 polarimeter with a path length of 1 dm. The concentration (c) is indicated in gram per deciliter. Infrared (IR) spectra were recorded neat or in solution on a Perkin-Elmer Spectrum Two FT-IR spectrometer. ESI-TOF high resolution mass spectra (HRMS) were carried out on a Bruker MicroTOF[®] mass spectrometer.

SYNTHESIS AND ANALYTICAL DATA

2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-D-gluconamide (**S70**)



Chemical Formula: C₃₄H₃₇NO₆
Molecular Weight: 555,67 g/mol

To a solution of 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-D-glucopyranose (1 eq., 10 g, 18.5 mmol) diluted in THF (40.1 mL) under argon atmosphere were successively added 28 % NH₃(aq) (210 mL) and I₂ (1.4 eq., 6.58 g, 25.9 mmol) at room temperature. After approximately 4 hours of stirring, another fraction of I₂ (0.2 eq., 0.944 g, 0.925 mL, 3.71 mmol) was added and the reaction was stirred overnight. The overall time of stirring was 23h. A 5 % aqueous Na₂S₂O₃ was added (30 mL) (pH=10). The resulting mixture was extracted with Et₂O (x4). The combined organic layers were washed with brine (100 mL), dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography on silica gel (1 :1 EtOAc/PE) to afford **S70** (9.32 g, 16.8 mmol, 91 %) as an amorphous white solid. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[170]

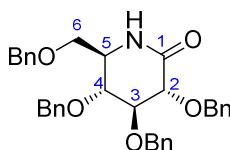
R_f (product) = 0.35 (1:1 EtOAc/PE); 0.4 (7:3 EtOAc/PE)

Mp = 84-85°C

Optical rotation [α]_D²⁰ = +28 (c 0.8, CHCl₃)

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): δ _H 2.81 (d, *J* = 4.2Hz, 1H, OH), 3.59 (dd, *J* = 9.8, 5.2 Hz, 1H, H6a), 3.65 (dd, *J* = 9.7, 3.0 Hz, 1H, H6b), 3.84-3.94 (m, 2H, H4 and H5), 4.07 (dd, *J* = 5.5, 3.4 Hz, 1H, H3), 4.25 (d, *J* = 3.3 HZ, 1H, H2), 4.47-4.67 (m, 6H, OCH₂Ph), 4.71 (dd, *J* = 11.1, 5.0 Hz, 2H, OCH₂Ph), 5.41 (br s, 1H, NH), 6.59 (br s, 1H, NH), 7.20-7.36 (m, 20H, H_{Ar}).

2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-D-glucono- δ -lactam (**70**)



Chemical Formula: C₃₄H₃₅NO₅
Molecular Weight: 537,66 g/mol

To a solution of **S70** (1 eq., 6.97 g, 12.5 mmol) in DMSO (51.5 eq., 45.9 mL, 646 mmol), Ac₂O (22.7 eq., 26.8 mL, 285 mmol) was added. The solution was stirred for 23h at room temperature. After 15h, the mixture was cooled at 0°C and H₂O was added. The solution was then stirred for 15 min. The solution was extracted with Et₂O 4 times. The organic phases were gathered, washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was used in the next step without purification. (2*R*,3*S*,4*S*)-2,3,4,6-tetrakis(benzyloxy)-5-oxohexanamide (1 eq., 6.95 g, 12.6 mmol) was dissolved in CH₃CN (121 mL) and HCOOH (48.3 mL). NaBH₃CN (3.2 eq., 2.53 g, 40.2 mmol) was slowly

added, then the reaction was heated under reflux for 3 h 30. Reaction was cooled at 0°C and HCl (0.1M) was added until the reaction took a persistent white color. A 1:1 mixture of EtOAc/saturated aqueous NaHCO₃ was poured in the reaction mixture. Aqueous layer was extracted with DCM three times. The organic phases were gathered, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was first purified by recrystallisation in Et₂O. The remaining filtrate was concentrated and purified on column chromatography on silica gel (Eluent 1:2 to 1:1 EtOAc/PE). The desired lactam **70** (4.2 g, 7.74 mmol, 62 %) was obtained as a white solid. Analytical data were in accordance with those reported in the literature.^[170]

Rf (product) = 0.6 (1:1 EtOAc/PE)

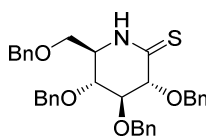
Mp = 104 °C

Optical rotation [α]_D²⁰ = +90 (c 1.0, CHCl₃)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ _H 3.21 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H, H3), 3.37-3.58 (m, 3H, H6 and H5), 3.87 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H, H4), 3.96 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H2), 4.41-4.46 (m, 3H, OCH₂Ph), 4.69 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.73 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.80 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.82 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, OCH₂Ph), 5.14 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, OCH₂Ph), 5.83 (br.s, 1H, NH), 7.13-7.38 (m, 20H, H_{ar}).

¹³C-NMR (100MHz, CDCl₃) δ _c 53.9 (C5), 70.2 (C6), 73.5, 74.8, 74.9 (4 x OCH₂Ph), 77.3 (C4), 78.9 (C2), 82.5 (C3), 128.0-128.7 (20 C^{III}_{Ar}), 137.4, 137.7, 138.0, 138.2 (4 x C^{IV}_{Ar}), 170.6 (C1)

2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-D-glucono- δ -thiolactam (**71**)

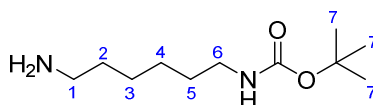


Chemical Formula: C₃₄H₃₅NO₄S
Molecular Weight: 553.72 g/mol

Lawesson's reagent (2.02 eq., 0.789 g, 1.89 mmol) was added to a mixture containing **70** (1 eq., 0.505 g, 0.938 mmol), pyridine (0.0379 mL), freshly activated 4 Å molecular sieves and dry toluene (38.1 mL). The reaction mixture was stirred for 20 h. The mixture was stirred with MeOH (5 ml) for 2 h, filtered and the solvent were removed under reduced pressure. The residue was subjected to flash chromatography (1:6 EtOAc/PE) to afford product **71** (0.408 g, 0.737 mmol, 99 %) as a pale orange solid.^[269]

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 3.37 (dd, *J* = 9.8, 7.6 Hz, 1H), 3.56 (dd, *J* = 9.4, 4.6 Hz, 1H), 3.64 (dd, *J* = 9.8, 3.3 Hz, 1H), 3.85-3.93 (m, 2H), 4.35 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.43-4.49 (m, 4H), 4.59 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.67 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.74 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 5.01 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 7.11-7.44 (m, 20H), 8.05 (s, 1H).

Tert-butyl (6-aminohexyl)carbamate **R108**

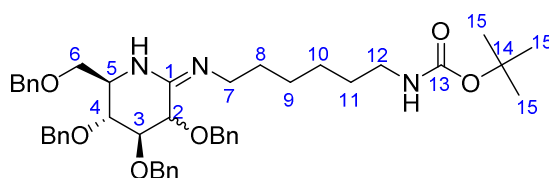


Chemical Formula: C₁₁H₂₄N₂O₂
Molecular Weight: 216.33 g/mol

To a suspension of 1,6-hexanediamine (3 eq., 7 g, 59 mmol) in DCM (53.9 mL) was slowly added a solution of Boc_2O (1.01 eq., 3.81 g, 3.73 mL, 17.4 mmol) in DCM (28.8 mL). A slightly cloudy suspension was formed after the addition was completed. The resulting mixture was stirred at room temperature for 20h. The mixture was filtered over a pad of Celite™, and the solid was thoroughly washed with CH_2Cl_2 . The filtrate was concentrated under reduced pressure to give a yellowish/greenish oil. The crude oil was dissolved in EtOAc and washed with water and brine. The organic phase was dried over Na_2SO_4 , filtered and evaporated to dryness. The crude was purified by column chromatography on silica gel (DCM/MeOH 8:2 + 1% of Et_3N) to afford *tert*-butyl *N*-(6-aminohexyl)carbamate **R108** (1.93 g, 8.93 mmol, 45 %). Analytical data were in accordance with those reported in the literature.^[503]

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1.29-1.36 (m, 4H, H4 and H5), 1.38-1.52 (m, 17H, H7, H2, H3 and NH_2), 2.68 (t, J = 6.8 Hz, 2H, H1), 3.10 (q, J = 6.5 Hz, 2H, H6), 4.51 (s, 1H, NH)

Gluconoamidine **108**, mannoamidine **109** and intermediate **72**

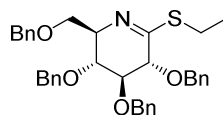


Chemical Formula: $\text{C}_{45}\text{H}_{57}\text{N}_3\text{O}_6$
Molecular Weight: 735,97 g/mol

To a solution of **71** (1 eq., 100 mg, 0.182 mmol) in dry DCM (4.43 mL) at 0°C was added triethyloxonium tetrafluoroborate (1.11 eq., 39.6 mg, 0.202 mmol). After 1 h 40, another amount of triethyloxonium tetrafluoroborate (0.69 eq., 24.6 mg, 0.126 mmol) was added. The conversion was complete after 3h and intermediate **72** was used directly in the next step after evaporation to dryness.

To a stirred solution of freshly prepared **72** (1 eq., 107 mg, 0.185 mmol) in 4 mL of dry DCM at 0°C was added a solution of *tert*-butyl *N*-(6-aminohexyl)carbamate **R108** (1.84 eq., 73.7 mg, 0.341 mmol) in dry DCM (2.17 mL). The reaction mixture was allowed to warm to room temperature and was stirred for 8h. A solution of *tert*-butyl *N*-(6-aminohexyl)carbamate (0.593 eq., 23.7 mg, 0.11 mmol) in DCM (2.2 mL) was added. The reaction was stirred for 24 h. The solution was concentrated under vacuum and purified by flash column chromatography on silica gel (Eluent: 98:2 DCM/MeOH + 1% NH_3 aq.) affording the gluconoamidine **108** (23.2 mg, 0.0315 mmol, 17 %) and the more polar isomer the mannoamidine **109** (58.6 mg, 0.0796 mmol, 43 %).

Compound **72**



Chemical Formula: $\text{C}_{36}\text{H}_{39}\text{NO}_4\text{S}$
Molecular Weight: 581,77 g/mol

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 1.40 (t, J = 7.8 Hz, 3H), 3.16 (q, J = 7.7 Hz, 2H), 3.50 (dd, J = 10.3, 2.3 Hz, 1H), 3.87 (dd, J = 8.6, 7.4 Hz, 1H), 3.95 (dd, J = 10.3, 2.6 Hz, 1H), 4.06 (dd, J = 6.8, 4.3 Hz, 1H), 4.26-4.80 (m, 10H), 7.17-7.39 (m, 20H), 10.11 (s, 1H). In accordance with reported analytical data.^[255]

Glucoamidine **108**

R_f (product) = 0.35 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98:2 + 1% NH_3 aq.)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.26-1.27 (m, 8H, H8, H9, H10, H11), 1.45 (s, 9H, H15), 3.07-3.08 (m, 2H, H7), 3.15-3.20 (m, 2H, H12), 3.62-3.70 (m, 3H, H5 and H6), 3.85 (t, J = 8.1 Hz, 1H, H4), 3.91 (t, J = 9.0 Hz, 1H, H3), 4.11 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H2), 4.48-4.61 (m, 4H, OCH₂Ph), 4.80-4.93 (m, 4H, OCH₂Ph), 7.23-7.27 (m, 20H, H_{Ar})

¹³C-NMR (100MHz, CDCl₃): δ 26.7 (C10), 26.9 (C9), 28.6 (C15), 29.2 (C11), 30.2 (C8), 40.7-40.9 (C7 and C12), 62.7 (C6), 71.8 (C5), 73.4, 74.4, 74.8 (4 x OCH₂Ph), 78.6 (C2), 79.4 (C4), 83.5 (C3), 127.5-128.8 (20 x C^{III}_{Ar}), 137.9, 138.6, 138.7, 139.0 (4 x C^{IV}_{Ar}), 156.1 (C1)

ESI-MS : m/z calcd for [M+H]⁺ C₄₅H₅₈N₃O₆ : 736.43; Found 736.44

Mannoamidine 109

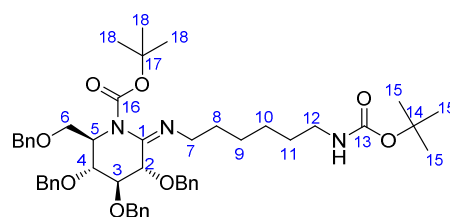
Rf (product) = 0.25 (CH₂Cl₂/MeOH 98:2 + 1% NH₃ aq.)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.29-1.32 (m, 4H, H9 and H10), 1.45 (s, 9H, H15), 1.48-1.54 (m, 4H, H8 and H11), 3.03-3.11 (m, 2H, H12), 3.16-3.27 (m, 2H, H7), 3.54-3.60 (m, 2H, H6), 3.82 (m, 1H, H3), 3.97-3.88 (m, 1H, H4), 4.21 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H2), 4.37-4.64 (m, 9H, OCH₂Ph and H5), 7.17-7.37 (m, 20H, H_{Ar})

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 26.7 (C10), 26.8 (C9), 28.6 (C15), 29.3 (C8), 30.1 (C11), 40.4-40.7 (C7 and C12), 58.8 (C5), 71.7, 72.1, 73.2 (OCH₂Ph), 73.6 (C2), 74.4 (C4), 76.0 (C3), 79.1 (C14), 127.5-128.9 (20 x C^{III}_{Ar}), 137.5, 138.4, 138.4, 139.0 (C^{IV}_{Ar}), 156.1 (C13), 156.8 (C1)

ESI-MS : m/z calcd for [M+H]⁺ C₄₅H₅₈N₃O₆ : 736.43; Found 736.43

Compound 111



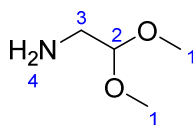
Chemical Formula: C₅₀H₆₅N₃O₈
Molecular Weight: 836.08 g/mol

Et₃N (1.59 eq., 0.01 mL, 0.0719 mmol) was added dropwise to **109** (1 eq., 33.2 mg, 0.0451 mmol) in anhydrous DCM (0.289 mL) at 0°C. Boc₂O (1.2 eq., 11.8 mg, 0.0541 mmol) was added in small portions and the reaction mixture stirred at 0°C for 10 min. The ice bath was removed and the reaction was stirred at 20°C for 18h. Water was added and the organic phase was washed with DCM. The combined organic extracts were washed with saturated aq. NaHCO₃, dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (Eluent: 100:0 to 95:5 Toluene: acetone) affording **111** (26.9 mg, 0.032 mmol, 71%) as an oil.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.21-1.31 (m, 4H, H10 and H9), 1.42 (s, 9H, H15), 1.44 (s, 9H, H18), 1.57 (br s, 2H, H8), 2.98-3.10 (m, 2H, H12), 3.49-3.60 (m, 1H, H6a), 3.64-3.76 (m, 2H, H5 and H6b), 3.77-3.90 (m, 4H, H2, H3 and H4), 4.40-4.46 (m, 1H, NH), 4.47-4.61 (m, 3H, OCH₂Ph), 4.72-4.91 (m, 6H, H2 and OCH₂Ph), 7.15-7.42 (m, 20H, H_{Ar})

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 26.6, 26.7 (C10 and C9), 28.5, 28.6 (C15 and C18), 29.2 (C11), 30.0 (C8), 39.8 (C12), 48.1 (C6), 62.7 (C5), 70.4 (C7), 73.4, 74.1, 74.4, 74.8 (4 x OCH₂Ph), 77.4 (C4), 78.6 (C2), 84.4 (C3), 127.8-128.5 (C^{III}_{Ar}), 138.5, 138.6, 138.7, 138.8 (4 x C^{IV}_{Ar}), 154.2 (C16), 156.1 (C13), 159.4 (C1).

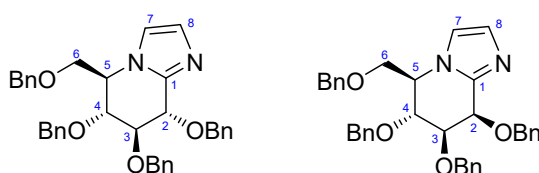
ESI-MS : m/z calcd for [M+H]⁺ C₅₀H₆₆N₃O₈ : 836.49; Found 836.46

Aminoacetaldehyde dimethylacetal **R125**

Chemical Formula: $C_4H_{11}NO_2$
Molecular Weight: 105,14 g/mol

Commercially available

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ_H 0.94 (s, 2H, H4), 2.53 (d, J = 5.3 Hz, 2H, H3), 3.15 (s, 6H, H3), 4.04 (t, J = 5.2 Hz, 1H, H2)

Glucoimidazole **125a**, Mannoimidazole **125b**

Chemical Formula: $C_{36}H_{36}N_2O_4$
Molecular Weight: 560,69 g/mol

Thiolactam **71** (1 eq., 517 mg, 0.935 mmol) was dissolved in $NH_2CH_2CH(OMe)_2$ (15 eq., 1.52 mL, 14 mmol) and stirred under argon atmosphere for 20h. At the beginning, the reaction was green-yellowish and turned progressively to orange and light brown solution. The reaction was diluted with Et_2O . The organic and aqueous phases were separated. Aqueous phase was extracted three times with Et_2O . Combined organic layers were washed with water and then with brine. The organic fraction was dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The crude **72** was used for the next step without purification.

TsOH. H_2O (1.87 eq., 333 mg, 0.312 mL, 1.75 mmol) was added to a solution of **72** (1 eq., 586 mg, 0.939 mmol) in toluene (13.4 mL). The solution was stirred at 60 °C for 63h under air. The cooler system was equipped with a drierite drying tube to avoid water in the medium. The solution was diluted with DCM and sat. $NaHCO_3$. Aqueous and organic phase were separated. Aqueous phase was extracted with DCM. Organic fractions were gathered and washed with water, brine, dried over Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (4:6 EtOAc/PE). Glucoimidazole **125a** (205 mg, 0.367 mmol, 39 %) and mannoimidazole **125b** (291 mg, 0.52 mmol, 55 %) were obtained as oils. Analytical data were in accordance with those reported in the literature.^[269]

Glucoimidazole **125a**

Rf (product **125a**) = 0.35 (1 :1 PE/EtOAc)

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ_H 3.75 (dd, J = 10.4, 5.3 Hz, 1H, H6^a), 3.83-3.90 (m, 2H, H6^b, H3), 4.10 (dd, J = 7.6, 5.7 Hz, 1H, H4), 4.19 (ddd, J = 7.9, 5.7, 3.0 Hz, 1H, H5), 4.46 (dd, J = 16.0, 11.6 Hz, 2H, OCH_2Ph), 4.51 (d, J = 11.2 Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.70 (d, J = 11.2 Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.75 (d, J = 5.7 Hz, 1H, H2), 4.83 (d, J = 10.4 Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.85 (d, J = 11.2 Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.88 (d, J = 11.7 Hz, 1H, OCH_2Ph), 5.18 (d, J = 11.7 Hz, 1H, OCH_2Ph), 7.05 (d, J = 0.9 Hz, 1H, H7), 7.12 (d, J = 1.1 Hz, 1H, H8), 7.17-7.46 (m, 20H, H_{Ar}).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_c 58.2, 68.5, 72.9, 73.4, 74.2, 74.4, 76.2, 82.3, 117.4, 127.7 (C7), 128.0, 128.02, 128.09, 128.1, 128.2, 128.3, 128.5, 128.51, 128.57, 128.60, 128.7 (C_{Ar}), 129.5 (C8), 137.4, 137.7, 138.0, 138.8 (C^{IV}_{Ar}), 144.1 (C1).

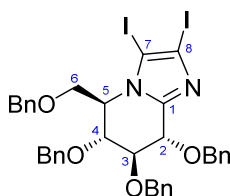
Mannoimidazole 125b

Rf (product 125b) = 0.21 (1 :1 PE/EtOAc)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 3.63 (dd, J = 9.9, 7.1 Hz, 1H, H6^a), 3.77 (dd, J = 10.1, 3.1 Hz, 1H, H6^b), 3.87 (dd, J = 9.4, 3.2 Hz, 1H, H3), 4.14 (td, J = 7.0, 2.9 Hz, 1H, H5), 4.29 (dd, J = 9.6, 7.3 Hz, 1H, H4), 4.41-4.52 (m, 2H, OCH₂Ph), 4.58 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.63 (d, J = 11.2 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.67 (d, J = 12.8 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4.74 (d, J = 12.2 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.82 (d, J = 2.9 Hz, 1H, H2), 5.01 (d, J = 11.1 Hz, 1H, OCH₂Ph), 7.07 (s, 1H, H7), 7.17 (s, 1H, H8), 7.23-7.43 (m, 20H, H^{Ar})

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 56.0 (C5), 68.3 (C2), 70.6 (OCH₂Ph), 71.2 (C6), 71.8, 73.3 (OCH₂Ph), 74.3 (C4), 75.0 (OCH₂Ph), 80.3 (C3), 119.5 (C7), 127.6, 127.8, 127.9, 127.9, 128.0, 128.3, 128.34, 128.4, 128.53, 128.54, 128.56, 128.6 (C^{III}_{Ar}), 129.3 (C8), 137.7, 138.0, 138.2, 138.3 (C^{IV}_{Ar}), 143.0 (C1)

Compound 134a



Chemical Formula: C₃₆H₃₄I₂N₂O₄

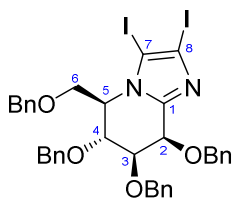
Molecular Weight: 812,49 g/mol

A solution of **125a** (1 eq., 0.479 g, 0.855 mmol) in DMF (9.26 mL) was treated with NIS (10 eq., 2.02 g, 8.55 mmol) and stirred under argon atmosphere at 80°C for 14 h. Solution turned yellow when NIS was added and then to orange immediately after heating and finally to dark brown after 10 min. The brown mixture was cooled, diluted with Et₂O, and washed with a 10 % Na₂S₂O₃ (120mL). The combined H₂O layers were extracted with Et₂O. The combined organic layers were washed with H₂O and brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated. Flash chromatography (PE/EtOAc 7:1) (solid deposition) gave product **134a** (515 mg, 0.634 mmol, 74 %) as an oil. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[282]

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 3.64 (dd, J = 9.5, 4.4 Hz, 1H, H6^a), 3.72 (t, J = 9.2 Hz, 1H, H6^b), 4.08 (t, J = 4.0 Hz, 1H, H3), 4.34 (dd, J = 4.3, 2.1 Hz, 1H, H4), 4.42 (s, 2H, OCH₂Ph), 4.46 (m, 1H, H5), 4.48 (d, J = 11.7 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.57 (dd, J = 11.9, 4.8 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4.65-4.71 (m, 2H, OCH₂Ph and H2), 4.82 (d, J = 11.9 Hz, 1H, OCH₂Ph), 5.1 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCH₂Ph), 7.16-7.45 (m, 20H, H_{Ar})

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_c 60.9 (C5), 69.5 (C6), 72.1 (C2), 72.3, 72.9, 73.1 (3x OCH₂Ph), 73.2 (C4), 73.3 (OCH₂Ph), 78.1 (C3), 81.3 (C7 ou C8), 97.0 (C7 ou C8), 127.7, 127.9, 127.99, 128.05, 128.1, 128.2, 128.3, 128.4, 128.6 (C^{III}_{Ar}), 137.4, 137.5, 137.6, 138.2 (C^{IV}_{Ar}), 149.1 (C1)

ESI-MS : m/z calcd for [M+H]⁺ C₃₆H₃₅I₂N₂O₄ 813.061 found 813.07

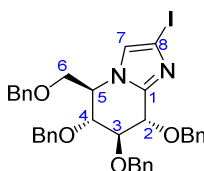
Compound **134b**Chemical Formula: $C_{36}H_{34}I_2N_2O_4$

Molecular Weight: 812,49 g/mol

A solution of **125b** (1 eq., 1.33 g, 2.37 mmol) in DMF (20 mL) was treated with NIS (10 eq., 5.62 g, 23.7 mmol) and stirred under argon atmosphere at 80°C for 20h. Solution was yellow when NIS was added. Solution turns to orange immediately after heating and dark brown after 10 min. The flask was covered with aluminum foil to avoid light and all the medium was placed under a black box, also to avoid light which can induce NIS degradation. The brown mixture was cooled, diluted with Et₂O, and washed with Na₂S₂O₃ sat. three times. The combined H₂O layers were extracted with Et₂O (x3). The combined organic layers were washed with H₂O and brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated. The crude was purified by column chromatography on silica gel (Eluent 7:1 PE/EtOAc) and product **134b** (1.43 g, 1.76 mmol, 74 %) was obtained as an orange oil. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[283]

Rf (product) = 0.2 (7:1 PE/EtOAc)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 3.61 (d, *J* = 9.4, 4.9 Hz, 1H), 3.68-3.76 (m, 2H), 4.35 (ddd, *J* = 8.7, 4.8, 2.4 Hz, 1H), 4.41-4.54 (m, 5H), 4.59 (t, *J* = 12.2 Hz, 3H), 4.73-4.78 (m, 3H), 7.20-7.39 (m, 20H).

ESI-MS: *m/z* calcd for [M+H]⁺ C₃₆H₃₅I₂N₂O₄ 813.07 found 813.07Compound **135a**Chemical Formula: $C_{36}H_{35}IN_2O_4$

Molecular Weight: 686,59 g/mol

Isopropyl magnesium chloride (1.11 eq., 1.99 M, 0.82 mL, 1.63 mmol) in solution in THF was added dropwise for 15 min to a stirred solution of **134a** in freshly distilled THF at -15°C. Reaction was stopped 2h after the beginning of the addition. The mixture was treated with sat. NH₄Cl soln. and diluted with Et₂O. The layers were separated, and the organic layer was washed with sat. NH₄Cl soln. twice. The combined H₂O layers were extracted with Et₂O (3 times). The combined organic layers were washed with H₂O twice and brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and evaporated. The crude was purified by column chromatography on silica gel (Pentane/ EtOAc 9:1 to 8:2). Product **135a** (843 mg, 1.23 mmol, 84 %) was isolated as an oil. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[282]

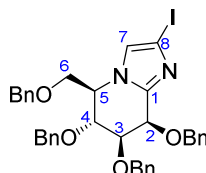
Rf (product) = 0.3 (2:8 EtOAc/PE)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 3.69 (dd, *J* = 10.5, 5.6 Hz, 1H, H6a), 3.78 (dd, *J* = 10.3, 3.0 Hz, 1H, H6b), 3.80 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H4), 4.07 (dd, *J* = 7.1, 5.1 Hz, 1H, H3), 4.17 (ddd, *J* = 8.1, 5.1, 2.9 Hz, 1H, H5), 4.40-4.51

(m, 3H, OCH_2Ph), 4.63 (d, $J = 11.4$ Hz, OCH_2Ph), 4.70 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H, H2), 4.74-4.82 (m, 3H, OCH_2Ph), 5.11 (d, $J = 11.6$ Hz, OCH_2Ph), 7.09 (s, 1H, H7), 7.13-7.43 (m, 20 H, H_{Ar})

ESI-MS m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_4$ 687.16; Found 687.17

Compound 135b



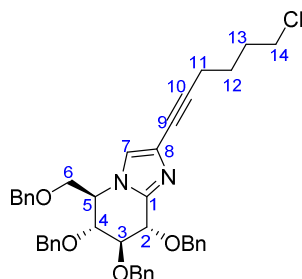
Chemical Formula: $\text{C}_{36}\text{H}_{35}\text{IN}_2\text{O}_4$
Molecular Weight: 686.59 g/mol

Isopropyl magnesium chloride (1.1 eq., 1.9 M, 0.0648 mL, 0.123 mmol) in solution in THF was added dropwise for 10 min to a stirred solution of **134b** (1 eq., 90.9 mg, 0.112 mmol) in freshly distilled THF at -15°C . The mixture was treated with sat. NH_4Cl soln. and diluted with Et_2O . The layers were separated, and the organic layer was washed with sat. NH_4Cl soln. twice. The combined H_2O layers were extracted with Et_2O (3 times). The combined organic layers were washed with H_2O twice and brine, dried over MgSO_4 , filtered, and evaporated. The crude was purified by column chromatography on silica gel (PE/ EtOAc 9:1). Product **135b** (61.2 mg, 0.0892 mmol, 80 %) was obtained as an oil. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[283]

Rf (product) = 0.4 (2:8 EtOAc/PE)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 3.57 (dd, $J = 10.0, 7.2$ Hz, 1H, H6a), 3.71 (dd, $J = 10.1, 2.7$ Hz, 1H, H6b), 3.84 (dd, $J = 9.3, 2.8$ Hz, 1H, H3), 4.11 (td, $J = 7.1, 2.9$ Hz, 1H, H5), 4.26 (dd, $J = 8.9, 7.4$ Hz, 1H, H4), 4.46 (s, 2H, OCH_2Ph), 4.57-4.70 (m, 4H, OCH_2Ph), 4.76 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.78 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H, H2), 4.99 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H, OCH_2Ph), 7.21-7.45 (m, 20H, H_{Ar})

Compound 136a



Chemical Formula: $\text{C}_{42}\text{H}_{43}\text{ClN}_2\text{O}_4$
Molecular Weight: 675.27

A degassed suspension of CuI (0.1 eq., 23.3 mg, 0.122 mmol) in DMF (20.4 mL) was added to **135a** (1 eq., 839 mg, 1.22 mmol) at room temperature. Three cycles of vacuum argon were done. Then 6-chloro-1-hexyne (4 eq., 0.61 mL, 4.93 mmol) was added. $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (5.02 %, 43.5 mg, 0.0614 mmol) was added and three cycles of vacuum-argon were done. DIPEA (5 eq., 0.87 mL, 6.16 mmol) was finally added and the reaction mixture was stirred at 40°C for 17 h. The solution was cooled to room temperature, diluted with Et_2O and washed with NH_4Cl three times. The combined organic layers were

extracted with Et₂O three times. The combined organic layers were washed with H₂O and brine, dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated. The crude was purified by a column chromatography on silica gel (Eluent 15:85 EtOAc/pentane to 2:8 EtOAc/pentane) affording **136a** (0.65 g, 0.97 mmol, 79 %).

Rf (product) = 0.2 (2:8 EtOAc/PE)

Optical rotation [α]_D²⁰ = + 29 (c 1.0, CHCl₃)

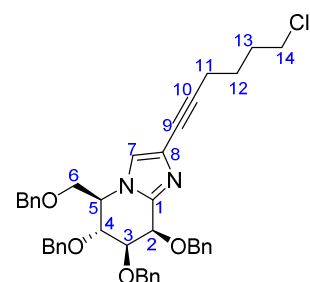
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.76 (m, *J* = 7.4 Hz, 2H, H12), 1.97 (m, *J* = 7.1 Hz, H13), 2.47 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H11), 3.60 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, H14), 3.71 (dd, *J* = 10.3, 5.6 Hz, 1H, H6^a), 3.79-3.84 (m, 2H, H4 and H6^b), 4.08 (dd, *J* = 7.3, 5.3 Hz, 1H, H3), 4.17 (m, *J* = 2.6 Hz, 1H, H5), 4.42-4.51 (m, 3H, OCH₂Ph), 4.64 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.69 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, H2), 4.75-4.84 (m, 3H, OCH₂Ph), 5.15 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H, OCH₂Ph), 7.15 (s, 1H, H7), 7.23-7.44 (m, 20H, H_{Ar}).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 19.0 (C11), 25.9 (C12), 31.8 (C13), 44.8 (C14), 58.3 (C5), 68.5 (C6), 72.8, 73.4 (2x OCH₂Ph), 73.9 (C2), 74.0, 74.2 (OCH₂Ph), 76.1 (C4), 81.8 (C3), 121.0 (C10), 127.7 (C9), 128.0, 128.08, 128.09, 128.2, 128.3, 128.4, 128.57, 128.59 (C^{III}_{Ar}), 137.4, 137.6, 137.9, 138.3 (4xC^{IV}_{Ar}), 143.8 (C1).

IR (CHCl₃) ν_{max} : 3031, 2923, 2867, 1497, 1454, 1362, 1338, 1095, 1067, 1028, 737, 698 cm⁻¹.

HRMS (ESI) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₄₂H₄₄ClN₂O₄ 675.2971; Found 675.2984.

Compound 136b



Chemical Formula: C₄₂H₄₃ClN₂O₄
Molecular Weight: 675.27

At 23°C, degassed DMF (4.3 mL) and CuI (0.0989 eq., 4.8 mg, 0.0252 mmol) were added to **135b** (1 eq., 175 mg, 0.255 mmol) to form a suspension. Three cycles of vacuum argon were done. Then 6-chloro-1-hexyne (4.12 eq., 0.13 mL, 1.05 mmol) was added. Pd(PPh₃)₂Cl₂ (4.98 %, 9 mg, 0.0127 mmol) was added and three cycles of vacuum-argon were done. DIPA (5 eq., 0.18 mL, 1.27 mmol) was finally added and the reaction mixture was stirred at 40°C for 16 h. The solution was cooled to room temperature, diluted with Et₂O and washed with NH₄Cl three times. The combined organic layers were extracted with Et₂O three times. The combined organic layers were washed with H₂O and brine, dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated. The crude was purified by a column chromatography on silica gel (Eluent 2:8 EtOAc/pentane). Product **136b** (131 mg, 0.194 mmol, 76 %) was obtained as an oil.

Rf (product) = 0.3 (2:8 EtOAc/PE)

Optical rotation [α]_D²⁰ = -31 (c 1.0, CHCl₃)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.65 (m, *J* = 7.3 Hz, 2H, H12), 1.86 (m, *J* = 7.2 Hz, 2H, H13), 2.36 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H11), 3.45-3.52 (m, 3H, H14 and H6^a), 3.62 (dd, *J* = 10.2, 3.1 Hz, 1H, H6^b), 3.74 (dd, *J* = 9.3, 3.2 Hz, 1H, H3), 3.99 (td, *J* = 7.1, 3.0 Hz, 1H, H5), 4.16 (dd, *J* = 9.1, 7.4 Hz, 1H, H4), 4.44 (s, 2H, OCH₂Ph),

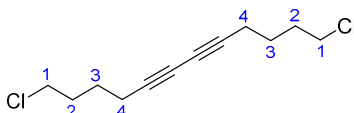
4.55-4.67 (m, 4H, OCH_2Ph), 4.73 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H, H₂), 4.74 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.98 (d, $J = 11.2$ Hz, OCH_2Ph), 7.19-7.43 (m, 20H, H_{Ar})

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 18.8 (C11), 25.8 (C12), 31.6 (C13), 44.7 (C14), 60.1 (C5), 68.4 (C2), 70.7 (OCH_2Ph), 70.9 (C6), 71.8, 73.2 (2 x OCH_2Ph), 73.9 (C4), 74.6 (C9), 75.0 (OCH_2Ph), 80.0 (C3), 89.4 (C10), 122.6 (C8), 127.6-128.5 ($\text{C}^{\text{III}}_{\text{Ar}}$), 137.4, 137.8, 138.0, 138.1, (4 x $\text{C}^{\text{IV}}_{\text{Ar}}$), 142.8 (C1).

IR (CHCl_3) ν_{max} : 3063, 3030, 2925, 2865, 1497, 1454, 1365, 1028, 1114, 1027, 913, 737, 698 cm^{-1} .

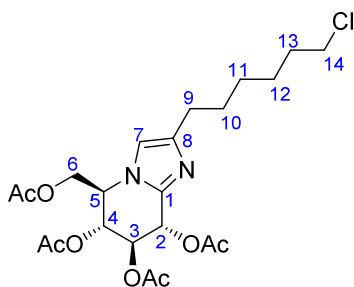
HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{42}\text{H}_{44}\text{ClN}_2\text{O}_4$ 675.2988; Found 675.2984.

1,12-dichlorododeca-5,7-diyne (Glaser coupling product)



^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): 1.64-1.73 (m, 4H, H₃), 1.85-1.94 (m, 4H, H₂), 2.31 (t, $J = 6.9$ Hz, 4H, H₄), 3.56 (t, $J = 6.5$ Hz, 4H, H₁)

Compound 139a



Chemical Formula: $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{ClN}_2\text{O}_8$
Molecular Weight: 486,95 g/mol

$\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (4,55 eq., 620 mg, 4.42 mmol) was placed in a flask. Three cycles vacuum argon were done, followed by a vacuum H_2 cycle. A solution of **136a** (1 eq., 653 mg, 0.968 mmol) in a mixture of EtOAc (17.4 mL), MeOH (5.8 mL) and H_2O (5.8 mL) (EtOAc/MeOH/ H_2O 3:1:1) treated with AcOH (317 eq., 18444 mg, 17.6 mL, 307 mmol) was added on the activated catalyst. Two balloons of H_2 were bubbled inside the reaction. After 3 days, the solution was filtered over a pad of Silica eluting with 85:15 DCM/MeOH (100 mL). The silica was rinsed a second time eluting with 85:15 DCM/MeOH (200 mL). The crude of **138a** was used without further purification for the next step.

To a solution of **138a** (1 eq., 308 mg, 0.968 mmol) in Ac_2O (140 eq., 12.8 mL, 135 mmol) was added distilled pyridine (159 eq., 12250 mg, 12.5 mL, 154 mmol). The solution was stirred for 20 h under argon atmosphere. Water was slowly added at 0 °C. The aqueous phase was extracted with CH_2Cl_2 (3 times). The combined organic layers were then washed with an aqueous solution of HCl (2M, 3 times), saturated NaHCO_3 solution, water (x3) and dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated. Crude residue was purified by column chromatography on silica gel (Eluent 6:4 EtOAc/pentane). Product **139a** (419 mg, 0.862 mmol, 89 %) was obtained as an oil.

R_f (intermediate 138a) = 0.25 (DCM/MeOH 8 : 2)

R_f (product 139a) = 0.2 (1 : 1 EtOAc/PE) ; 0.4 (6 : 4 EtOAc/PE)

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +25$ (c 1,1, CHCl_3)

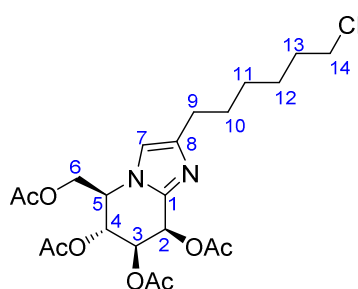
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.35-1.42 (m, 2H, H11), 1.42-1.51 (3, 2H, H12), 1.64 (md, J = 7.5, 2.7 Hz, 2H, H10), 1.77 (m, J = 7.0 Hz, 2H, H13), 2.08 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.09 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.10 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.11 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.57 (t, J = 7.8 Hz, 2H, H9), 3.52 (t, J = 6.7 Hz, 2H, H14), 4.30-4.46 (m, 3H, H6, H5), 5.39 (dd, J = 7.1, 5.3 Hz, 1H, H4), 5.50 (dd, J = 7.2, 5.3 Hz, 1H, H3), 6.0 (d, J = 5.2 Hz, 1H, H2), 6.72 (s, 1H, H7)

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 20.7, 20.8, 20.8, 21.1 (4 C(O)CH₃), 26.8 (C12), 28.5 (C9), 28.7 (C11), 29.2 (C10), 32.6 (C13), 45.2 (C14), 56.3 (C5), 62.2 (C6), 66.3 (C2), 66.5 (C4), 70.3 (C3), 113.5 (C7), 139.2 (C1), 144.9 (C8), 169.2, 169.5, 169.8, 170.4 (4 C(O)CH₃).

IR (CHCl₃) ν_{max} : 2934, 2858, 1749, 1455, 1370, 1219, 1035, 644, 602 cm⁻¹

HRMS (ESI) m/z calcd for [M+H]⁺ C₂₂H₃₂ClN₂O₈ 487.1838; Found 487.1842

Compound 139b



Chemical Formula: C₂₂H₃₁ClN₂O₈

Molecular Weight: 486.95 g/mol

Pd(OH)₂/C (454 %, 667 mg, 4.75 mmol) was placed in a flask. Three cycles vacuum argon were done followed by a vacuum H₂ cycle. A solution of **136b** (1 eq., 706 mg, 1.05 mmol) in a mixture of EtOAc (18.8 mL), MeOH (6.26 mL) and H₂O (6.26 mL) (EtOAc/MeOH/H₂O 3:1:1) treated with AcOH (316 eq., 19896 mg, 19 mL, 331 mmol) was added on the activated catalyst. Three balloons of H₂ were bubbled inside of the reaction. After 3 days, the reaction was filtered over a pad of silica gel eluting with 84:16 DCM/MeOH (250mL). The filtrate was evaporated to dryness and the crude was used for the next step without purification. A slight part of the silica was dissolved during the filtration.

To a solution of **138b** (1 eq., 332 mg, 1.04 mmol) in Ac₂O (140 eq., 14946 mg, 13.8 mL, 146 mmol) was added distilled pyridine (159 eq., 13203 mg, 13.5 mL, 166 mmol). The solution was stirred for 22 h under argon atmosphere. Water was added slowly at 0 °C. The aqueous phase was extracted with DCM (3 times). The combined organic layers were then washed with an aqueous solution of HCl (2M, 2 x 4 mL), saturated NaHCO₃ solution, water and dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated. Crude residue was purified on column chromatography on silica gel (eluent 6:4 EtOAc/pentane). Product **139b** (421 mg, 0.865 mmol, 83 %) was obtained as an oil.

R_f (intermediate 138b) = 0.25 (DCM/MeOH 8 :2)

R_f (product 139b) = 0.2 (1:1 EtOAc/PE), 0.3 (6:4 EtOAc/PE)

Optical rotation [α]_D²⁰ = -39 (c 0.7, CHCl₃)

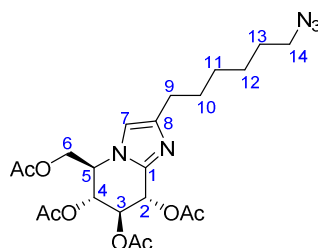
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 1.36 (m, J = 7.4 Hz, 2H, H11), 1.45 (m, J = 7.4 Hz, 2H, H12), 1.59-1.66 (m, 2H, H10), 1.76 (m, J = 7.1 Hz, 2H, H13), 2.03 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.10 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.11 (s, 6H, C(O)CH₃), 2.55 (td, J = 7.8, 2.4 Hz, 2H, H9), 3.51 (t, J = 6.7 Hz, 2H, H14), 4.24-4.33 (m, 2H, H5 and H6a), 4.53 (dd, J = 11.7, 4.0 Hz, 1H, H6b), 5.41 (dd, J = 8.9, 3.8 Hz, 1H, H3), 5.63 (dd, J = 8.9, 6.1 Hz, 1H, H4), 6.33 (d, J = 3.8 Hz, 1H, H2), 6.76 (s, 1H, H7)

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 20.7, 20.78, 20.81, 20.9 (4 x $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 26.7 (C12), 28.4 (C9), 28.7 (C11), 29.2 (C10), 32.6 (C13), 45.2 (C14), 57.3 (C5), 63.4 (C6), 63.6 (C2), 65.8 (C4), 68.9 (C3), 114.4 (C7), 139.1 (C1), 144.9 (C8), 169.6, 169.66, 169.67, 170.3 (4 x $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$)

IR (CHCl_3) ν_{max} : 2932, 2857, 1749, 1455, 1370, 1221, 1054, 950 cm^{-1}

HRMS (ESI) m/z calcd for $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{ClN}_2\text{O}_8$ 487.1845 found 487.1842

Compound 140a



Chemical Formula: $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_8$
Molecular Weight: 493.52 g/mol

Substrate **139a** (1 eq., 276 mg, 0.567 mmol) was dissolved in DMF (3.2 mL). TBAI (0.201 eq., 42.1 mg, 0.114 mmol) and then NaN_3 (6.08 eq., 224 mg, 0.121 mL, 3.45 mmol) were added. Reaction mixture was heated at 60°C for 20 h. The mixture was dissolved with EtOAc and water was added. The aqueous phase was extracted three times with EtOAc. Gathered organic phases were washed five times with water and brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. Compound **140a** (283 mg, 0.575 mmol, 100 %) was obtained as a pure product without purification.

Optical rotation $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +23$ (c 0.7, CHCl_3)

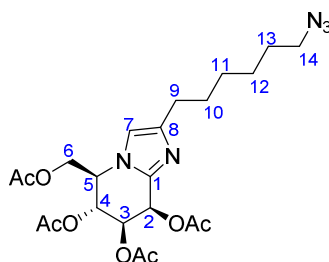
^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 1.34-1.41 (m, 4H, H11 and H12), 1.54-1.65 (m, 4H, H10 and H13), 2.06 (s, 3H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 2.07 (s, 3H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 2.08 (s, 3H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 2.09 (s, 3H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 2.55 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, H9), 3.23 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, H14), 4.31 (dd, $J = 10.9, 4.3$ Hz, 1H, H6^a), 4.35-4.44 (m, 2H, H5 and H6^b), 5.38 (dd, $J = 7.2, 5.4$ Hz, 1H, H4), 5.48 (dd, $J = 7.2, 5.4$ Hz, 1H, H3), 5.98 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, H2), 6.71 (s, 1H, H7).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 20.70, 20.75, 20.8, 21.0 (4x $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 26.6 (C12), 28.5 (C9), 28.8 (C13), 29.0 (C10), 29.2 (C11), 51.5 (C14), 56.3 (C5), 62.2 (C6), 66.2 (C2), 66.4 (C4), 70.3 (C3), 113.7 (C7), 139.2 (C1), 144.9 (C8), 169.2, 169.4, 169.8, 170.4 (4x $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$).

IR (CHCl_3) ν_{max} : 2932, 2858, 2097, 1749, 1455, 1370, 1219, 1035, 945, 602 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_8$ 494.2245; Found 494.2242

Compound 140b



Chemical Formula: $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_8$
Molecular Weight: 493.52 g/mol

Substrate **139b** (1 eq., 421 mg, 0.865 mmol) was dissolved in DMF (5 mL), TBAI (0.198 eq., 63.4 mg, 0.172 mmol) and then NaN₃ (5.88 eq., 334 mg, 0.181 mL, 5.09 mmol) were added. Reaction mixture was heated at 60°C for 18h. Reaction was diluted with EtOAc. Aqueous phase and organic phase were separated. The aqueous phase was extracted three times with EtOAc. The gathered organic phase was washed 5 times with water and then brine. Organic phase was then dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. Compound **140b** (427 mg, 0.865 mmol, 100 %) was obtained as a pure product without purification.

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -41$ (c 1.1, CHCl₃)

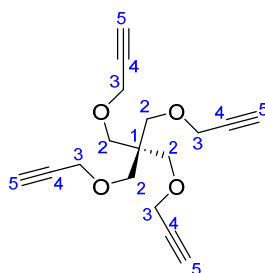
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 1.33-1.43 (m, 4H, H11 and H12), 1.56-1.67 (m, 4H, H10 and H13), 2.04 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.107 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.114 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.116 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.56 (td, *J* = 7.8, 2.6 Hz, 2H, H9), 3.25 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H14), 4.25-4.34 (m, 2H, H5 and H6^a), 4.54 (dd, *J* = 11.8, 4.1 Hz, 1H, H6^b), 5.42 (dd, *J* = 8.9, 3.7 Hz, 1H, H3), 5.64 (dd, *J* = 8.9, 6.1 Hz, 1H, H4), 6.34 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H2), 6.76 (s, 1H, H7).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 20.7, 20.81, 20.85, 21.0 (4x C(O)CH₃), 26.6 (C12), 28.5 (C9), 28.8 (C13), 29.0 (C10), 29.2 (C11), 51.5 (C14), 57.3 (C5), 63.4 (C6), 63.6 (C2), 65.8 (C4), 69.0 (C3), 114.4 (C7), 139.2 (C1), 145.0 (C8), 169.6, 169.7, 170.3 (4x C(O)CH₃)

IR (CHCl₃) ν_{max} : 2935, 2859, 2097, 1749, 1456, 1370, 1221, 1054, 950 cm⁻¹.

HRMS (ESI) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₃₂N₅O₈ 494.2245; Found 494.2250.

Compound 141



Chemical Formula: C₁₇H₂₀O₄
Molecular Weight: 288,34

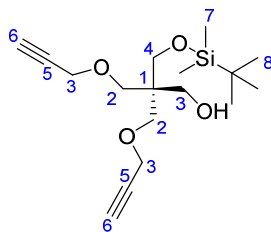
REACTION PERFORMED BY ANTOINE JOOSTEN

To a stirred solution of pentaerythritol (1 eq., 2 g, 14.7 mmol) in anhydrous THF (45 mL), NaH (3.4 eq., 2.0 g, 50 mmol) was added. After stirring for 3 h at 0 °C, and later at room temperature, the mixture was cooled down again to 0 °C and propargyl bromide (6.3 eq., 8,02 mL, 93 mmol) was added slowly over a 20 minutes period. The color of the solution changed to brown and a precipitation was observed. The ice bath was removed and after stirring for 16 hours at room temperature the reaction was quenched with water. Following, extraction with ethyl acetate (3 x 60 ml), the combined organic layers were concentrated under reduced pressure and the crude product was purified by flash column chromatography on silica gel (Eluent : 2:8 EtOAc/hexane), followed by recrystallization in methanol. Product **141** (4,02 g, 14.0 mmol, 95%) was obtained as white needles. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[504]

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 2.40 (t, *J* = 2.4 Hz, 4H, H5), 3.53 (s, 8H, H2), 4.12 (d, *J* = 2.4 Hz, 8H, H3)

¹³C-NMR (1240 MHz, CDCl₃): δ 44,9 (C1), 58.9 (C3), 69.2 (C2), 74.2 (C5), 80.2 (C4).

Compound 143



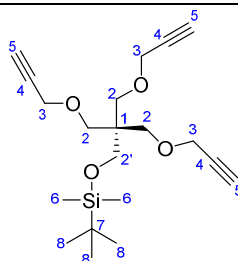
Chemical Formula: $C_{17}H_{30}O_4Si$
Molecular Weight: 326,51

A solution of **142** (1 eq., 0.3 g, 1.2 mmol) in dry THF was cooled to 0 °C under argon atmosphere. NaH (2.94 eq., 0.141 g, 3.53 mmol) was added portion-wise and after stirring for 20 min, propargyl bromide (3.97 eq., 0.53 mL, 4.76 mmol) was added dropwise over 15 min. The reaction was allowed to warm to room temperature and was stirred for 15 h. After quenching the excess of NaH with NH_4Cl , the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was diluted with Et_2O and washed with water. The aqueous phase was extracted with Et_2O (2x). The combined organic layers were washed with water and brine, dried over Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography (1:9 EtOAc/Pentane) to give **143** (201 mg, 0.617 mmol, 52 %). Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[505]

R_f (product) = 0.35 (1:9 MeOH/DCM)

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.05 (s, 6H, H7), 0.89 (s, 9H, H8), 2.41 (t, J = 2.4 Hz, 2H, H6), 2.66 (br s, 1H, OH), 3.52 (d, J = 9.1 Hz, 2H, H2), 3.55 (d, J = 9.1 Hz, 2H, H2), 3.64 (s, 2H, H4), 3.70 (s, 2H, H3), 4.12 (d, J = 2.4 Hz, 4H, H5)

Compound 144



Chemical Formula: $C_{20}H_{32}O_4Si$
Molecular Weight: 364,56

REACTIONS PERFORMED BY FABIEN STAUFFERT

PROCEDURE FROM 142

A solution of **142** (1 eq., 3.2 g, 12.8 mmol) in dry THF was cooled to 0 °C under argon atmosphere. NaH (4.0 eq., 2.05 g, 51.3 mmol) was added portion-wise and after stirring for 30 min, propargyl bromide (6.04 eq., 8.6 mL, 77.2 mmol) was added dropwise over 45 min. The reaction was allowed to warm to room temperature and was stirred for 16 h. After quenching the excess of NaH with NH_4Cl , the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was diluted with Et_2O and washed with water. The aqueous phase was extracted with Et_2O (2x). The combined organic layers were washed with water and brine, dried over Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (100:0 to 8:2 PE:EtOAc) to give **143** (2,92 g, 8.94 mmol, 70%) as a yellow oil and **144** (0.9 g, 2.47 mmol, 19%) as a yellow oil.

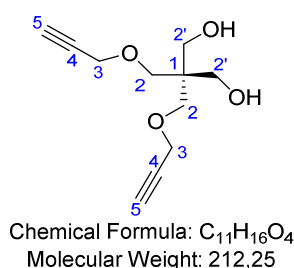
PROCEDURE FROM 143

A solution of **143** (1 eq., 2.92 g, 8.94 mmol) in dry THF was cooled to 0 °C under argon atmosphere. NaH (1.98 eq., 0.71 g, 17.8 mmol) was added portion-wise and after stirring for 45 min, propargyl bromide (3.01 eq., 3 mL, 26.9 mmol) was added dropwise. The reaction was allowed to warm to room temperature and was stirred for 17.5 h. Additionnal NaH (700 mg) and propargyl bromide (3 mL) were added and the reaction mixture was stirred for 3.5 h. A catalytic quantity of MeOH (0.14 eq., 0.05 mL, 1.23 mmol) was added and the reaction mixture was stirred for 18.5 h. After quenching the excess of NaH with MeOH, the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was diluted with Et₂O and washed with water. The aqueous phase was extracted with Et₂O (2x). The combined organic layers were washed with water and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (96:4 PE:EtOAc) to give **144** (2.46 g, 6.76 mmol, 76%) as a yellow oil.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.03 (s, 6H, H₆), 0.88 (s, 9H, H₈), 2.38 (t, *J* = 2.4 Hz, 3H, H₅), 3.49 (s, 6H, H₂), 3.56 (s, 2H, H_{2'}), 4.11 (d, *J* = 2.3 Hz, 6H, H₃).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ -5.5 (C₆), 18.4 (C₇), 26.0 (C₈), 45.7 (C₁), 58.8 (C₃), 61.5 (C_{2'}), 69.0 (C₂), 74.1 (C₅), 80.3 (C₄).

Compound 145

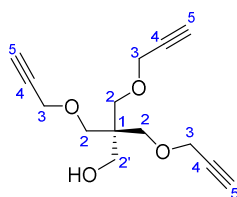


To a solution of **143** (1 eq., 197 mg, 0.603 mmol) in dry THF (10 mL) at 0 °C was added dropwise a solution of TBAF (5 eq., 1 M, 3.02 mL, 3.02 mmol) in THF over a period of 20 min. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for 5 h under argon atmosphere. The solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was diluted with EtOAc and washed with water (2x) then brine. The organic layers were dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (55:45 EtOAc/pentane) to afford **145** (122 mg, 0.579 mmol, 96 %) as a colorless oil. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[506]

R_f (product) = 0.23 (1:1 EtOAc/PE); 0.41 (6:4 EtOAc/PE)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.34 (br s, 2H, OH), 2.45 (t, *J* = 2.4 Hz, 2H, H₅), 3.60 (s, 4H, H_{2'}), 3.68 (s, 4H, H₂), 4.15 (d, *J* = 2.4 Hz, 4H, H₃).

Compound 146

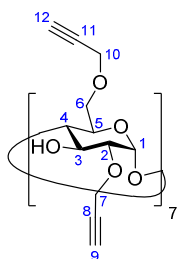


Chemical Formula: $C_{14}H_{18}O_4$
Molecular Weight: 250,29

To a solution of **144** (1 eq., 54.3 mg, 0.149 mmol) in dry THF (2.9 mL) at 0 °C was added dropwise a solution of TBAF (5 eq., 1 M, 0.745 mL, 0.745 mmol) in THF over a period of 30 min. Solution turns orange directly after TBAF addition. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for 5 h under argon atmosphere. The solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was diluted with EtOAc and washed with water (2x) then brine. The organic layers were dried over Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (8:2 to 7:3 PE:EtOAc) to afford **146** (27 mg, 0.11 mmol, 72 %) as a colorless oil. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[507]

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 2.42 (t, J = 2.4 Hz, 3H, H5), 3.56 (s, 6H, H2), 3.69 (s, 2H, H2'), 4.13 (d, J = 2.4 Hz, 6H, H3)

Compound 147



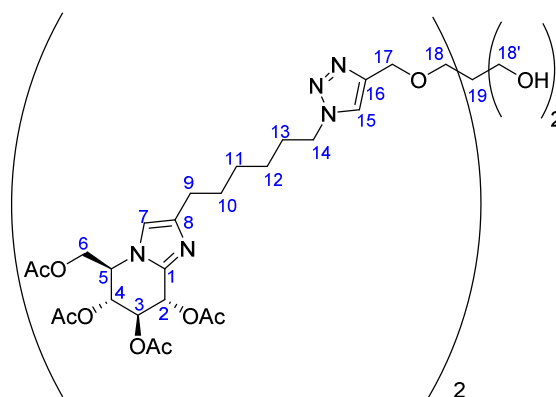
$C_{84}H_{98}O_{35}$
Molecular weight : 1667.66 g/mol

REACTION PERFORMED BY CAMILLE DECROOCQ

To a suspension of β -cyclodextrine (1 eq., 1,0 g, 0.88 mmol) in 1 :1 DMF/DMSO solution (50 mL) was added propargylbromide (6,8 x 14 es., 80 % solution in toluene, 9,05 mL) and BaO (5g) and $Ba(OH)_2$ (5 g). The reaction was stirred at room temperature for 72h. Then MeOH (10 mL) was added. The mixture was extracted with difficulties with EtOAc. The organic phase was washed with water then dried over Na_2SO_4 , filtered and evaporated. Several column chromatography were needed to separate the product from the more substituted by-products (Eluent: 99 :1 to 95 :5 DCM/MeOH). The product **147** was obtained as a yellow solid (439 mg, 30%). Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[508]

Rf (product) = 0.1 (99:1 DCM/MeOH)

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 2.46 (t, J = 2.3 Hz, 7H, H9 or H12), 2.50 (t, J = 2.3 Hz, 7H, H9 or H12), 3.49 (t, J = 9.3 Hz, 7H, H4), 3.66-3.75 (m, 14H, H5 and H2), 3.79 (dd, J = 10.1, 1.4 Hz, 7H, H6a), 3.89-4.02 (m, 14H, H6b and H3), 4.20 (dd, J = 15.8, 2.5 Hz, 7H, H10a), 4.31 (dd, J = 15.8, 2.3 Hz, 7H, H10b), 4.51 (dd, J = 15.9, 2.3 Hz, 7H, H7a), 4.57 (dd, J = 15.9, 2.3 Hz, 7H, H7b), 4.75 (s, 7H, OH), 4.99 (d, J = 3.8 Hz, 7H, H1)

Compound **148a**

Chemical Formula: $C_{55}H_{78}N_{10}O_{20}$
Exact Mass: 1198,54

Compound **140a** (2.33 eq., 111 mg, 0.225 mmol) and **145** were dissolved in DMF (3.79 mL) in a microwave vial. Solution was stirred till the solution was homogeneous. Sodium ascorbate (1.02 eq., 19.6 mg, 0.0989 mmol) and $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0.506 eq., 12.2 mg, 0.0489 mmol) were weighted separately in a vial and H_2O (0.9 mL) was added. Solution was opaque orange. The solution was poured into the mixture. The mixture was stirred and heated under microwave irradiation at $80^\circ C$ for 30 min. Water was added, and the aqueous phase was extracted with EtOAc (3x). The organic phases were combined, washed with water (3x) and brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. Traces of copper salts were removed by filtration through a short pad of silica gel eluting with a 10:1:1 ACN/ H_2O / NH_4OH solution. The crude residue was purified on column chromatography (97:3 to 95:5 DCM/MeOH).

Product **148a** (67.8 mg, 0.0565 mmol, 59 %) was obtained. A second fraction with a mixture of product and partially deacetylated compound was isolated. (12.5 mg)

Rf (product) = 0.04 (97:3 DCM/MeOH), 0.25 (95:5 DCM/MeOH)

Mp = $67-70^\circ C$

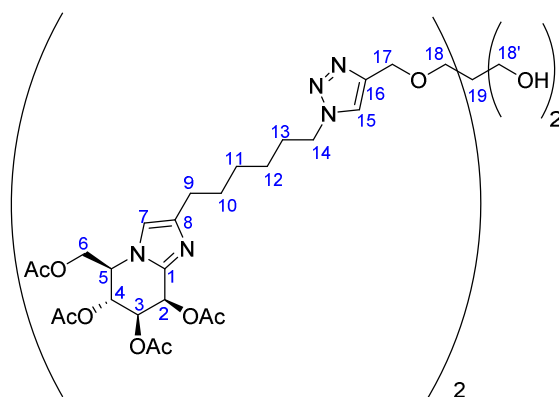
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +19$ (c 0.8, $CHCl_3$)

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1.26-1.42 (m, 8H, H11 and H12), 1.54-1.64 (m, 4H, H10), 1.85-1.94 (m, 4H, H13), 2.02-2.14 (m, 24H, $C(O)CH_3$), 2.51 (t, $J = 7.6$ Hz, 4H, H9), 3.54 (s, 4H, H18), 3.62 (s, 4H, H18'), 4.28-4.35 (m, 6H, H14 and H6^a), 4.60 (s, 4H, H17), 5.35-5.40 (m, 2H, H4), 5.44-5.50 (m, 2H, H3), 5.98 (d, $J = 5.0$ Hz, 2H, H2), 6.71 (s, 2H, H7), 7.52 (s, 2H, H15)

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 20.7, 20.73, 20.8, 21.0 (8x $C(O)CH_3$), 26.2 (C12), 28.3 (C9), 28.7 (C11), 29.0 (C10), 30.2 (C13), 45.2 (C19), 50.3 (C14), 56.3 (C5), 62.1 (C6), 64.4 (C18'), 65.0 (C17), 66.1 (C2), 66.4 (C4), 70.3 (C3), 71.0 (C18), 113.8 (C7), 122.3 (C15), 139.2 (C1), 144.6 (C8), 145.1 (C16), 169.2, 169.4, 169.8, 170.4 (8x $C(O)CH_3$)

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 2932, 2860, 1750, 1462, 1371, 1222, 1048 cm^{-1}

HRMS (ESI) m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{55}H_{79}N_{10}O_{20}$ 1199.5467; Found 1199.5470

Compound **148b**

Chemical Formula: $C_{55}H_{78}N_{10}O_{20}$
Exact Mass: 1198,54 g/mol

Substrate **140b** (2.22 eq., 82.2 mg, 0.167 mmol) and **145** (1 eq., 15.9 mg, 0.0749 mmol) were solubilized in DMF (2.94 mL) in a microwave vial. Solution was stirred till homogeneity. Sodium ascorbate (0.404 eq., 6 mg, 0.0303 mmol) and $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0.209 eq., 3.9 mg, 0.0156 mmol) are weighted separately in a vial and H_2O (0.75 mL) was added. Solution was opaque orange. The solution was poured into the mixture. The mixture was stirred and heated under microwave irradiation at 80°C for 40 min. Water was added, and the aqueous phase was extracted with EtOAc (3x). The organic phases were combined, washed with water (3x) and brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. Traces of copper salts were removed by filtration through a short pad of silica gel with elution with 10:1:1 ACN/ H_2O / NH_4OH solution. The crude residue was purified on column chromatography (97:3 (100 mL), 96:4 (100 mL), 95:5 (200mL) to 9:1 (50mL) DCM/MeOH). Product **148b** (57.1 mg, 0.0476 mmol, 64 %) was obtained as a solid.

Rf (product) = 0.2 (95:5 DCM/MeOH)

Mp = 60°C

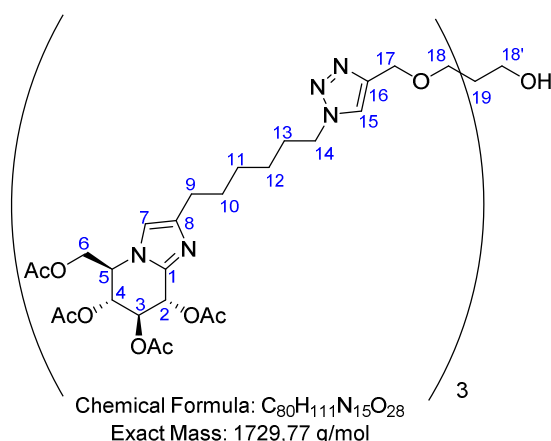
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -35$ (c 0.8, $CHCl_3$)

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1.25-1.40 (m, 8H, H11 and H12), 1.60 (m, $J = 7.3$ Hz, 4H, H10), 1.90 (m, $J = 7.2$ Hz, 4H, H13), 2.01 (s, 6H, $C(O)CH_3$), 2.08 (s, 6H, $C(O)CH_3$), 2.088 (s, 6H, $C(O)CH_3$), 2.09 (s, 6H, $C(O)CH_3$), 2.51 (td, $J = 7.6, 2.6$ Hz, 4H, H9), 3.53 (s, 4H, H18), 3.61 (s, 4H, H18'), 4.25-4.35 (m, 8H, H14, H5 and H6^a), 4.50-4.57 (m, 2H, H6^b), 4.59 (s, 4H, H17), 5.41 (dd, $J = 9.0, 3.7$ Hz, 2H, H3), 5.64 (dd, $J = 9.0, 6.1$ Hz, 2H, H4), 6.33 (d, $J = 3.7$ Hz, 2H, H2), 6.75 (s, 2H, H7), 7.52 (s, 2H, H15).

^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 20.6, 20.7, 20.8, 20.9 (8x $C(O)CH_3$), 26.2 (C12), 28.2 (C9), 28.6 (C11), 29.0 (C10), 30.1 (C13), 45.2 (C19), 50.3 (C14), 57.2 (C5), 63.2 (C6), 63.5 (C2), 64.2 (C18'), 64.9 (C17), 65.7 (C4), 68.9 (C3), 70.9 (C18), 114.4 (C7), 122.2 (C15), 139.1 (C1), 144.6 (C8), 145.0 (C16), 169.5, 169.62, 169.65, 170.3 (8x $C(O)CH_3$).

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 2928, 2860, 1749, 1461, 1370, 1222, 1052, 950 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z $[M+Na]^+$ calcd for $C_{55}H_{78}N_{10}NaO_{20}$ 1221.5286; Found 1221.5290.

Compound **149a**

Substrate **140a** (3.4 eq., 81 mg, 0.164 mmol) was dissolved in half of DMF (2.7 mL). Solution of **146** (1 eq., 12.1 mg, 0.0483 mmol) dissolved in the other half of DMF (2.66 mL) was added to the vial. In a separated vial, copper sulfate pentahydrate (0.3 eq., 3.8 mg, 0.0149 mmol), and sodium ascorbate (0.6 eq., 5.8 mg, 0.029 mmol) were dissolved in H_2O (0.7 mL). This solution was stirred with a pasteur pipette until solution gets clearer (orange/yellow) and poured into the reaction vial. Reaction was performed under microwave irradiation at 80 °C for 30 min. Water was added and the aqueous phase extracted three times with EtOAc. Organic phase was washed three times with water and brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and evaporated to dryness. Traces of copper were removed by filtration over a pad of silica eluting with ACN/ H_2O / NH_4OH 10:1:1. Filtrate was then evaporated. Crude was solid, like expanded foam. Crude residue was purified by chromatography column on silica gel. Column was prepared with 8:2 EtOAc/pentane eluent to isolate remaining substrate. Then 97:3 DCM/MeOH (250 mL), 95:5 DCM/MeOH (250mL) and 9:1 DCM/MeOH were used as eluents.

Product **149a** (71.4 mg, 0.0413 mmol, 85 %) was isolated as sole product on first fraction and in a mixture at the end of the purification.

Mp = 65-67 °C

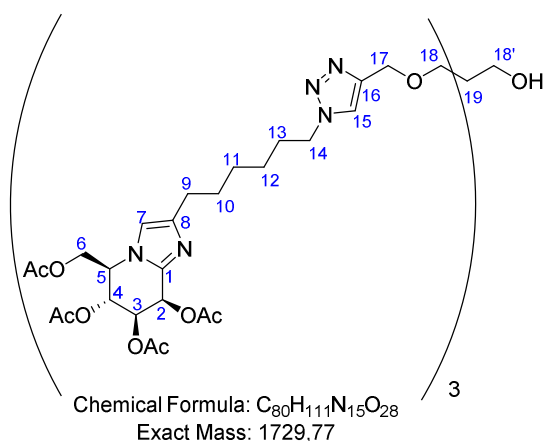
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +21$ (c 0.5, $CHCl_3$)

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1.29-1.43 (m, 12H, H11 and H12), 1.56-1.65 (m, 6H, H10), 1.89 (m, $J = 7.3$ Hz, 6H, H13), 2.06 (s, 9H, $C(O)CH_3$), 2.075 (s, 9H, $C(O)CH_3$), 2.077 (s, 9H, $C(O)CH_3$), 2.10 (s, 9H, $C(O)CH_3$), 2.53 (t, $J = 7.7$ Hz, 6H, H9), 3.50 (s, 6H, H18), 3.61 (s, 2H, H18'), 4.29-4.35 (m, 9H, H14 and H6^a), 4.37-4.45 (m, 6H, H5 and H6^b), 4.56 (s, 6H, H17), 5.38 (dd, $J = 7.2, 5.6$ Hz, 3H, H4), 5.48 (dd, $J = 7.3, 5.3$ Hz, 3H, H3), 5.99 (d, $J = 5.3$ Hz, 3H, H2), 6.77 (s, 3H, H7), 7.53 (s, 3H, H15)

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 20.7, 20.75, 20.8, 21.1 (12x $C(O)CH_3$), 26.3 (C12), 28.4 (C9), 28.8 (C11), 29.1 (C10), 30.3 (C13), 45.3 (C19), 50.4 (C14), 56.3 (C5), 62.2 (C6), 64.5 (C18'), 65.1 (C17), 66.2 (C2), 66.4 (C4), 70.3 (C3), 70.4 (C18), 113.8 (C7), 122.4 (C15), 139.2 (C1), 144.6 (C8), 145.2 (C16), 169.2, 169.4, 169.8, 170.4 (12x $C(O)CH_3$)

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 2930, 2859, 1749, 1461, 1370, 1220, 1049, 756 cm^{-1}

HRMS (ESI) m/z $[M+2H]^{2+}$ calcd for $C_{80}H_{113}N_{15}O_{28}$ 865.8934; Found 865.8943

Compound **149b**

Compound **140b** was dissolved in half of DMF (2.6 mL). Solution of **146** (1 eq., 11.8 mg, 0.0471 mmol) in the other half of DMF (2.6 mL) was added to the vial. In a separated vial, copper sulfate pentahydrate (0.3 eq., 3.6 mg, 0.0141 mmol), and sodium ascorbate (0.6 eq., 5.6 mg, 0.0283 mmol) were dissolved in H_2O (0.65 mL). This solution was stirred with a pasteur pipette until solution gets clearer (orange/yellow) and poured into the reaction vial. Reaction was performed under microwave irradiation at 80 °C for 40 min. Water was added and the aqueous phase extracted with EtOAc. Addition of EtOAc caused the formation of an emulsion which was eliminated with brine. Organic phase and aqueous were separated. Aqueous phase was extracted three times with EtOAc. Organic phase was washed four times with water and brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and evaporated to dryness. Traces of copper were removed by filtration over a pad of silica eluting with ACN/ H_2O / NH_4OH 10:1:1. Filtrate was then evaporated. Crude residue was purified by chromatography column on silica gel (Eluent: 97:3, 96:4, 95:5, 94:6 to 9:1 DCM/MeOH). Product **149b** was isolated as a white solid.

Rf (product) = 0.4 (94:6 DCM/MeOH)

Mp = 83-85 °C

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -39$ (c 1.8, $CHCl_3$)

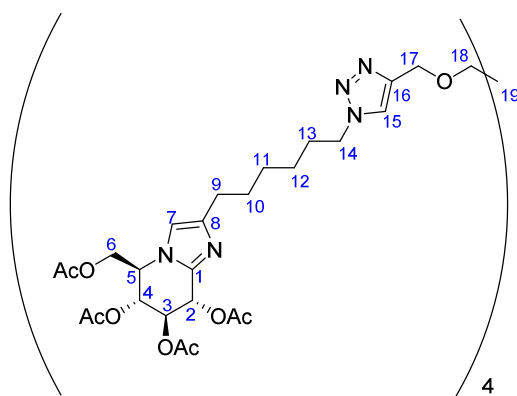
1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1.29-1.41 (m, 12H, H11 and H12), 1.60 (m, $J = 7.2$ Hz, 6H, H10), 1.89 (m, $J = 7.2$ Hz, 6H, H13), 2.02 (s, 9H, $C(O)CH_3$), 2.09 (s, 9H, $C(O)CH_3$), 2.098 (s, 9H, $C(O)CH_3$), 2.10 (s, 9H, $C(O)CH_3$), 2.51 (td, $J = 7.6, 3.1$ Hz, 6H, H9), 3.50 (s, 6H, H18), 3.61 (s, 2H, H18'), 4.25-4.34 (m, 12H, H5, H14 and H6^a), 4.51-4.58 (m, 9H, H17 and H6^b), 5.40 (dd, $J = 9.1, 3.7$ Hz, 3H, H3), 5.64 (dd, $J = 9.1, 6.3$ Hz, 3H, H4), 6.32 (d, $J = 3.7$ Hz, 3H, H2), 6.75 (s, 3H, H7), 7.53 (s, 3H, H15)

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 20.7, 20.8, 21.0 (12x $C(O)CH_3$), 26.3 (C12), 28.4 (C9), 28.8 (C11), 29.1 (C10), 30.3 (C13), 45.2 (C19), 50.3 (C14), 57.2 (C5), 63.3 (C6), 63.6 (C2), 64.5 (C18'), 65.1 (C17), 65.7 (C4), 69.1 (C3), 70.4 (C18), 144.4 (C7), 122.4 (C15), 139.2 (C1), 144.8 (C8), 145.2 (C16), 169.6, 169.7, 170.3 (12x $C(O)CH_3$)

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 2934, 2860, 1747, 1461, 1370, 1220, 1051, 950, 753 cm^{-1}

HRMS (ESI) m/z $[M+2H]^{2+}$ calcd for $C_{80}H_{113}N_{15}O_{28}$ 865.8934; Found 865.8928

Compound 150a



Chemical Formula: $C_{105}H_{144}N_{20}O_{36}$
Exact Mass: 2261,01 g/mol

Substrate **140a** (4.44 eq., 97.2 mg, 0.191 mmol) and **141** (1 eq., 12.4 mg, 0.043 mmol) were solubilized in DMF (3.3 mL) in a microwave vial. Solution was stirred till the solution got homogenous. Copper sulfate pentahydrate (0.402 eq., 4.4 mg, 0.0173 mmol) and sodium ascorbate (0.786 eq., 6.7 mg, 0.034 mmol) were weighted separately and dissolved in H_2O (0.9 mL). This solution was stirred with a pasteur pipette until solution gets clearer (orange/yellow) and poured into the reaction vial. Reaction was performed under microwave irradiation at 80 °C for 40 min. Water was added, and the aqueous phase was extracted three times with EtOAc. The organic phase was combined, washed with water twice and brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduces pressure. Traces of copper salts were removed by filtration over a pad of silica eluting with ACN/ H_2O / NH_4OH (10:1:1). Blue deposition was observed on top of silica pad. Crude residue was purified over a column chromatography on silica gel (Eluent: 97:3 100 mL, 95:5 100 mL and 94:6 100 mL DCM/MeOH). Product **150a** (77.2 mg, 0.0341 mmol, 79 %) was isolated. Another fraction which corresponds to a partially deacetylated compound at position 2 was isolated.

Rf (product) = 0.35 (94:6 DCM/MeOH)

Mp = 82-85 °C

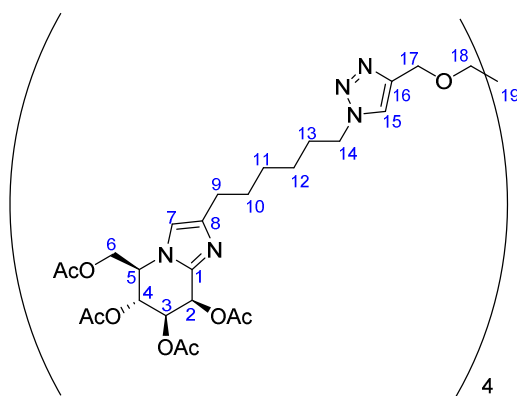
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +20$ (c 1, $CHCl_3$)

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1.30-1.41 (m, 16H, H11 and H12), 1.54-1.63 (m, 8H, H10), 1.88 (m, $J = 7.2$ Hz, H13), 2.05 (s, 12H, $C(O)\underline{CH_3}$), 2.06 (s, 24H, $C(O)\underline{CH_3}$), 2.08 (s, 12H, $C(O)\underline{CH_3}$), 2.52 (t, $J = 7.8$ Hz, 8H, H9), 3.44 (s, 8H, H18), 4.27-4.34 (m, 12H, H14 and H6^a), 4.36-4.44 (m, 8H, H5 and H6^b), 4.52 (s, 8H, H17), 5.37 (dd, $J = 7.2, 5.6$ Hz, 4H, H4), 5.47 (dd, $J = 7.3, 5.3$ Hz, 4H, H3), 5.98 (d, $J = 5.3$ Hz, 4H, H2), 6.72 (s, 4H, H7), 7.54 (s, 4H, H15)

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 20.67, 20.71, 20.8, 21.0 (16x $C(O)\underline{CH_3}$), 26.4 (C12), 28.4 (C9), 28.8 (C11), 29.1 (C10), 30.3 (C13), 45.3 (C19), 50.3 (C14), 56.3 (C5), 62.1 (C6), 65.1 (C17), 66.1 (C2), 66.4 (C4), 69.2 (C18), 70.3 (C3), 113.8 (C7), 122.5 (C15), 139.1 (C1), 144.6 (C8), 145.3 (C16), 169.1, 169.4, 169.7, 170.3 (16x $\underline{C(O)CH_3}$)

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 2933, 2859, 1747, 1461, 1370, 1217, 1048, 750 cm^{-1}

HRMS (ESI) m/z $[M+3H]^{3+}$ calcd for $C_{105}H_{147}N_{20}O_{36}$ 754.6757; Found 754.6768

Compound **150b**

Chemical Formula: $C_{105}H_{144}N_{20}O_{36}$
Exact Mass: 2261,01 g/mol

Substrate **140b** (4.4 eq., 91.1 mg, 0.18 mmol) and **141** (1 eq., 11.8 mg, 0.0409 mmol) were solubilized in DMF (3.1 mL) in a microwave vial. Solution was stirred till solution got homogeneous. Copper sulfate pentahydrate (0.422 eq., 4.4 mg, 0.0173 mmol) and sodium ascorbate (0.814 eq., 6.6 mg, 0.0333 mmol) were weighted separately and dissolved in H_2O (0.85 mL). This solution was stirred with a pasteur pipette until solution gets clearer (orange/yellow) and poured into the reaction vial. Reaction was performed under microwave irradiation at 80 °C for 40 min. Water was added and the aqueous phase was extracted three times with EtOAc. The organic phases were combined, washed with brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduces pressure. Traces of copper salts were removed by filtration over a pad of silica eluting with ACN/ H_2O / NH_4OH (10:1:1). Blue deposition was observed on top of silica pad. Crude residue was purified over a column chromatography on silica gel (Eluent: 97:3 to 9:1 DCM/MeOH). Product **150b** (70 mg, 0.0309 mmol, 76 %) was isolated as a solid. Another fraction which corresponds to a partially deacetylated compound at position 2 was isolated.

Mp = 75 °C

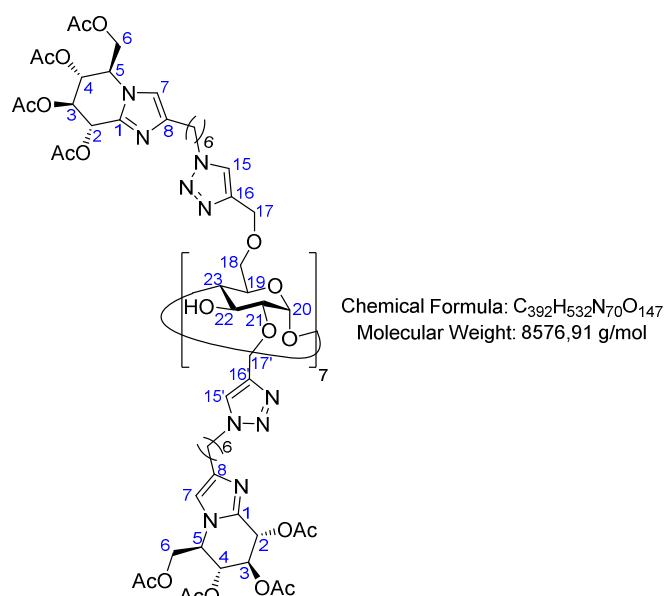
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -31$ (c 0.8, $CHCl_3$)

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1.28-1.42 (m, 16H, H11 and H12), 1.60 (m, $J = 7.2$ Hz, 8H, H10), 1.89 (m, $J = 6.9$ Hz, 8H, H13), 2.02 (s, 12H, $C(O)CH_3$), 2.09 (s, 12H, $C(O)CH_3$), 2.096 (s, 12H, $C(O)CH_3$), 2.10 (s, 12H, $C(O)CH_3$), 2.51 (td, $J = 7.6, 3.2$ Hz, 8H, H9), 3.44 (s, 8H, H18), 4.25-4.34 (m, 16H, H5, H14 and H6^a), 4.51-4.57 (m, 12H, H17 and H6^b), 5.39 (dd, $J = 9.2, 3.7$ Hz, 4H, H3), 5.63 (dd, $J = 9.1, 6.2$ Hz, 4H, H4), 6.32 (s, $J = 3.7$ Hz, 4H, H2), 6.76 (s, 4H, H7), 7.54 (s, 4H, H15).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 20.7, 20.8, 20.9 (16x $C(O)CH_3$), 26.4 (C12), 28.4 (C9), 28.8 (C11), 29.2 (C10), 30.4 (C13), 45.3 (C19), 50.3 (C14), 57.2 (C5), 63.3 (C6), 63.6 (C2), 65.2 (C17), 65.7 (C4), 69.0 (C3), 69.2 (C18), 144.4 (C7), 122.5 (C15), 139.1 (C1), 144.8 (C8), 145.4 (C16), 169.6, 169.7, 170.3 (16x $C(O)CH_3$).

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 2931, 2859, 1748, 1460, 1370, 1221, 1051, 950, 755 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z $[M+3H]^{3+}$ calcd for $C_{105}H_{147}N_{20}O_{36}$ 754.6757; Found 754.6767.

Compound **151a**

To a clear solution of β -cyclodextrine **147** (1 eq., 7.8 mg, 0.00468 mmol) in DMF (0.3 mL), a solution of **140a** (15.8 eq., 36.8 mg, 0.0738 mmol) in DMF (1.0 mL) was added. A solution of $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0.86 eq., 1.0 mg, 0.00400 mmol) and sodium ascorbate (1.62 eq., 1.5 mg, 0.00757 mmol) in H_2O (0.15 mL) was added. The mixture was stirred and heated under microwave irradiations for 30 min at 80 °C (absorption level = normal). Water was added, and reaction mixture was extracted 3 times with EtOAc. Organic phase was washed 4 times with water and then with brine, dried over Na_2SO_4 and evaporated to dryness. Crude was purified by column chromatography on silica gel (Eluent: 95:5 to 9:1 (DCM/MeOH)). An impurity was present on NMR. A second column chromatography was done (Eluent 94:6 DCM/MeOH). Impurity was still present, so a GPC column was performed. Impurity and H Grease were still present. Product was washed with hexane fractions to remove H Grease. Product **151a** (22.9 mg, 0,00267 mmol, 57 %) was isolated as an oil.

Rf (product) = 0.65 (9:1 DCM/MeOH)

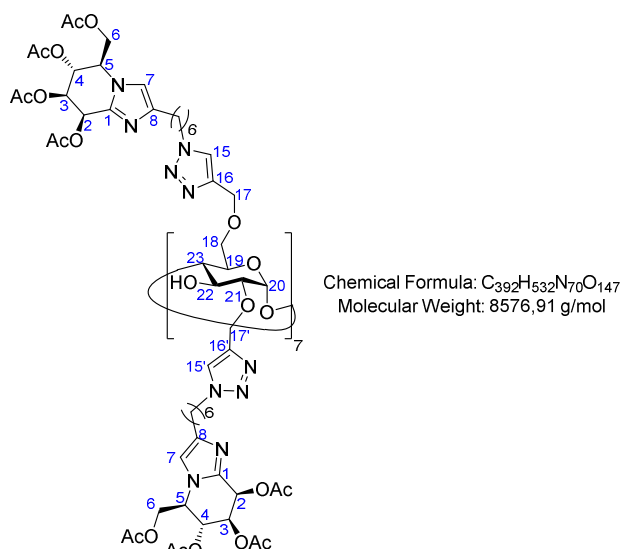
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +27$ (c 1.15, MeOH)

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1.28-1.44 (m, 56H, H11 and H12), 1.53-1.66 (m, 28H, H10), 1.82-1.95 (m, 28H, H13), 2.03-2.12 (m, 168H, $\underline{CH_3(O)C}$), 2.52 (t, $J = 7.0$ Hz, 28H, H9), 3.34-3.44 (m, 7H, H23), 3.44-3.50 (m, 7H, H21), 3.58-3.75 (m, 21H, H19 and H18), 3.92 (t, $J = 8.9$ Hz, 7H, H22), 4.26-4.47 (m, 70H, H5, H6 and H14), 4.53 (q, $J = 11.9$ Hz, 14H, H17), 4.76 (br s, 7H, H20), 4.86-5.03 (m, 14 H, H17'), 5.36-5.42 (m, 14H, H4), 5.45-5.51 (m, 14H, H3), 5.99 (d, $J = 5.4$ Hz, 14H, H2), 6.75 (br s, 14H, H7), 7.66 (s, 7H, H15'), 7.74 (s, 7H, H15).

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 20.7, 20.78, 20.83, 21.1 ($\underline{CH_3(O)C}$), 26.4, 26.5 (C12 and C12'), 28.6 (C9), 28.9, 29.0 (C11 and C11'), 29.2 (C10), 30.5 (C13), 50.3, 50.4 (C14 and C14'), 56.3 (C5), 62.1 (C6), 64.9 (C17), 65.2 (C17'), 66.3 (C2), 66.4 (C4), 68.8 (C18), 70.4 (C3), 70.6 (C19), 73.4 (C22), 79.1 (C21), 83.1 (C23), 101.7 (C20), 113.8 (C7), 123.0 (C15'), 123.7 (C15), 139.2 (C1), 144.1 (C16), 144.7 (C8), 169.2, 169.4, 169.8, 170.4 ($\underline{CH_3(O)C}$)

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 3452, 3139, 2929, 2857, 1750, 1462, 1440, 1371, 1223, 1047, 604 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z $[M+7H]^{7+}$ calcd for $C_{392}H_{540}N_{70}O_{147}$ 1072.4611; Found 1072.4607.

Compound **151b**

To a clear solution of β -cyclodextrine **147** (1 eq., 10.3 mg, 0.00618 mmol) in DMF (0.3 mL), a solution of **140b** (16 eq., 49.2 mg, 0.0987 mmol) in DMF (1.0 mL) was added. A solution of $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (1.17 eq., 1.8 mg, 0.00721 mmol) and sodium ascorbate (2.78 eq., 3.4 mg, 0.0172 mmol) were dissolved in H_2O (0.35 mL) was added. The mixture was stirred and heated under microwave irradiations for 30 min at 80 °C. Water was added, and reaction mixture was extracted 3 times with EtOAc. A few drops of brine were added to facilitate the separation. Organic phase was washed 4 times with water and then with brine, dried over Na_2SO_4 and evaporated to dryness. Crude was purified by column chromatography on silica gel (Eluent: 95:5 DCM/MeOH (100mL), 94:6 (100mL), 93:7 200mL), 9:1 (100mL)) Resolution of NMR was not well defined, another wash with NH_4OH was tried to remove potential traces of metal. A second column chromatography on silica gel was performed (Eluent 95:5 to 93:7 DCM/MeOH). NMR spectrum didn't change. Product **151b** (29 mg, 0.0034 mmol, 55 %) was isolated as an oil.

Rf (product) = 0.35 (93:7 DCM/MeOH); 0.5 (9:1 DCM/MeOH)

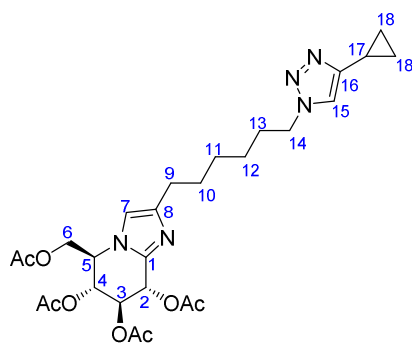
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -169$ (c 0.5, $CHCl_3$)

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1.27-1.43 (m, 56 H, H11 and H12), 1.53-1.66 (m, 28H, H10), 1.80-1.95 (m, 28H, H13), 2.00-2.13 (m 168H, $CH_3(O)C$), 2.45-2.55 (m, 28H, H9), 3.33-3.43 (m, 7H, H21), 3.43-3.57 (m, 14H, H19 and H23), 3.60-3.74 (m, 14H, H18), 3.86-3.96 (m, 7H, H22), 4.23-4.40 (m, 56H, H14, H5 and H6a), 4.46-4.60 (m, 21H, H6b and H17), 4.76 (s, 7H, H20), 4.83-5.05 (m, 14H, H17'), 5.35-5.45 (m, 14H, H3), 5.59-5.68 (m, 14H, H4), 6.32 (s, 14H, H2), 6.80 (s, 14H, H7), 7.67 (s, 7H, H15'), 7.75 (s, 7H, H15)

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 20.7, 20.8, 20.9 ($CH_3(O)C$), 26.4 (C12), 28.3 (C9), 28.9 (C11), 29.2 (C10), 30.4 (C13), 50.3, 50.4 (C14 and C14'), 57.3 (C5), 63.2 (C6), 63.5 (C2), 64.9, 65.2 (C17 and C17'), 65.7 (C4), 68.9 (C3), 70.4, 70.6 (C18 and C18'), 73.0 (C22), 75.5 (C19), 79.1 (C21), 83.0 (C23), 101.7 (C20), 114.6 (C7), 123.1 (C15'), 123.8 (C15), 139.1 (C1), 144.0 (C8), 144.6 (C16), 169.6, 169.7, 170.3 ($CH_3(O)C$)

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 3417, 2930, 2860, 1749, 1457, 1370, 1222, 1051, 949, 755, 600 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z $[M+7H]^{7+}$ calcd for $C_{392}H_{539}N_{70}O_{147}$ 1225.5259; Found 1225.5263.

Compound **155a**

Chemical Formula: $C_{27}H_{37}N_5O_8$
Molecular Weight: 559,62

To a solution of substrate **140a** (1 eq., 91.4 mg, 0.185 mmol) and cyclopropylacetylene (5 eq., 63.1 mg, 0.926 mmol) in DMF (4.92 mL) was added a solution of $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (14.3 %, 6.6 mg, 0.0264 mmol) and sodium ascorbate (28.3 %, 10.4 mg, 0.0525 mmol) in H_2O (1.3 mL). The resulting solution was heated under microwave irradiation conditions at 80 °C for 30 min. Water was added, and the aqueous phase was extracted with EtOAc (3x). The organic phases were combined, washed with water (3x) and brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. Traces of copper salts were removed by filtration through a short pad of silica gel eluting with ACN/ H_2O / NH_4OH (10:1:1). Crude residue was purified on column chromatography over silica gel (Eluent: 100 EtOAc). Product **155a** (88.4 mg, 0.158 mmol, 85 %) was obtained as an oil.

Rf (product) = 0.15 (100 EtOAc), 0.26 (97:3 DCM/MeOH)

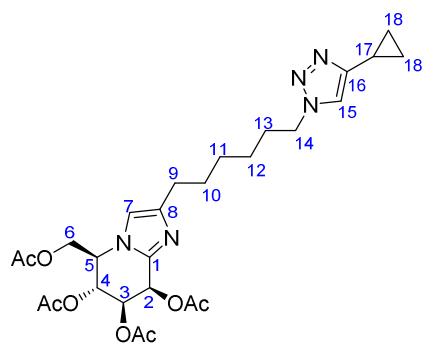
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +19$ (c 0.9, $CHCl_3$)

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 0.83-0.88 (m, 2H, H18), 0.95-1.00 (m, 2H, H18'), 1.35-1.47 (m, 4H, H11 and H12), 1.61-1.69 (m, 2H, H10), 1.91 (m, $J = 7.3$ Hz, 2H, H13), 1.98 (tt, $J = 8.5, 5.1$ Hz, 1H, H17), 2.59 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H, H9), 4.31 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, H14), 4.38 (dd, $J = 11.3, 4.3$ Hz, 1H H6^a), 4.43-4.51 (m, 2H, H5 and H6^b), 5.44 (dd, $J = 7.2, 5.4$ Hz, 1H, H4), 5.54 (dd, $J = 7.3, 5.3$ Hz, 1H, H3), 6.04 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, H2), 6.78 (s, 1H, H7), 7.34 (s, 1H, H15).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 6.7 (C17), 7.7 (C18 and C18'), 20.6, 20.67, 20.73, 21.0 (4x $C(O)CH_3$), 26.3 (C12), 28.3 (C9), 28.7 (C11), 29.0 (C10), 30.2 (C13), 50.1 (C14), 56.3 (C5), 62.1 (C6), 66.1 (C2), 66.3 (C4), 70.2 (C3), 113.8 (C7), 119.5 (C15), 139.1 (C1), 144.5 (C8), 150.2 (C16), 169.1, 169.3, 169.7, 170.3 (4x $C(O)CH_3$).

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 2931, 2857, 1749, 1370, 1219, 1040 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{27}H_{38}N_5O_8$ 560.2715; Found 560.2720.

Compound **155b**Chemical Formula: $C_{27}H_{37}N_5O_8$

Molecular Weight: 559,62 g/mol

To a solution of substrate **140b** (1 eq., 40.7 mg, 0.0825 mmol) and cyclopropylacetylene (5 eq., 0.036 mL, 0.412 mmol) in DMF (2.2 mL) was added a solution of $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (19.4 %, 4 mg, 0.016 mmol) and sodium ascorbate (39.8 %, 6.5 mg, 0.0328 mmol) in H_2O (0.6 mL). The resulting solution was heated under microwave irradiation conditions at 80 °C for 30 min. Water was added, and the aqueous phase was extracted with EtOAc (3x). The organic phases were combined, washed with water (3x) and brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. Traces of copper salts were removed by filtration through a short pad of silica gel eluting with ACN/ H_2O / NH_4OH (10:1:1) solution. Crude residue was purified on column chromatography on silica gel (eluent: 97:3 DCM/MeOH to 9:1). Product **155b** (30 mg, 0.054 mmol, 65 %) was obtained as a beige oil.

R_f (product) = 0.15 (100 EtOAc), 0.26 (97:3 DCM/MeOH)

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -34$ (c 0.7, MeOH)

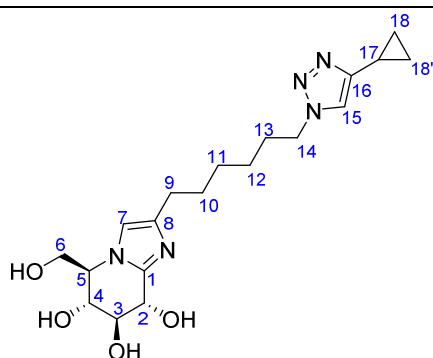
¹H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 0.78-0.83 (m, 2H, H18), 0.89-0.95 (m, 2H, H18'), 1.29-1.41 (m, 4H, H11 and H12), 1.6 (m, $J = 7,2$ Hz, 2H, H10), 1.86 (m, $J = 7,1$ Hz, 2H, H13), 1.90-1.95 (m, 1H, H17), 2.03 (s, 3H, CH_3 gr OAc), 2.10 (s, 3H, CH_3 gr OAc), 2.11 (s, 6H, 2x CH_3 gr OAc), 2.53 (t, $J = 7.7, 3.4$ Hz, 2H, H9), 4.22-4.33 (m, 4H, H14, H5, H6^a), 4.54 (dd, $J = 11.4, 3.6$ Hz, 1H, H6^b), 5.41 (dd, $J = 9.0, 3.6$ Hz, 1H, H3), 5.63 (dd, $J = 9.0, 6.0$ Hz, 1H, H4), 6.33 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, H2), 6.75 (s, 1H, H7), 7.19 (s, 1H, H15)

¹³C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 6.8 (C17), 7.8 (C18, C18'), 20.7, 20.81, 20.82, 21.0 (4x CH_3 gr OAc), 26.4 (C11 ou C12), 28.4 (C9), 28.8 (C11 ou C12), 29.1 (C10), 30.3 (C13), 50.2 (C14), 57.3 (C5), 63.4 (C6), 63.6 (C2), 65.8 (C4), 69.0 (C3), 114.4 (C7), 119.6 (C15), 139.2 (C1), 144.8 (C8), 150.3 (C16), 169.6, 169.7, 170.3 (C^{IV} gr OAc)

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 2934, 2857, 1749, 1460, 1433, 1370, 1221, 1052, 949 cm^{-1}

HRMS (ESI) m/z $[M+2H]^{2+}$ calcd for $C_{27}H_{39}N_5O_8$ 280.6394; Found 280.6399

Compound 156a



Chemical Formula: $C_{19}H_{29}N_5O_4$

Molecular Weight: 391,47 g/mol

Compound **155a** (1 eq., 23 mg, 0.0411 mmol) was dissolved in MeOH (4.6 mL) and freshly prepared Amberlite IRA OH⁻ (1000 mg) was added. The suspension was smoothly stirred on evaporator for 14 h without vacuum. The resin was filtrated and rinsed with MeOH. The filtrate was concentrated under reduced pressure. Product **156a** (15,6 mg, 0.0399 mmol, 97 %) was obtained pure without purification.

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -13$ (c 0.4, MeOH)

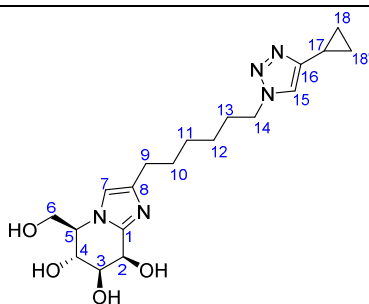
¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 0.72-0.79 (m, 2H, H18), 0.92-0.98 (m, 2H, H18'), 1.26-1.43 (m, 4H, H11 and H12), 1.61 (m, *J* = 7.4 Hz, 2H, H10), 1.87 (m, *J* = 7.3 Hz, 2H, H13), 1.95 (tt, *J* = 8.5, 5.1 Hz, 1H, H17), 2.50 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H9), 3.67 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H, H3), 3.80 (dd, *J* = 17.1, 8.3 Hz, 1H, H4), 3.84 (dd, *J* = 8.4, 2.9 Hz, 1H, H5), 3.93 (dd, *J* = 11.9, 3.9 Hz, 1H, H6^a), 4.16 (dd, *J* = 12.0, 2.2 Hz, 1H, H6^b), 4.31 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, H14), 4.46 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H2), 6.98 (s, 1H, H7), 7.66 (s, 1H, H15).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 7.3 (C17), 8.2 (C18 and C18'), 27.2 (C12), 28.9 (C9), 29.6 (C11), 30.2 (C10), 31.1 (C13), 51.2 (C14), 61.5 (C6), 62.6 (C5), 69.3 (C4), 69.8 (C2), 76.7 (C3), 114.5 (C7), 121.8 (C15), 143.5 (C16), 146.9 (C1), 151.4 (C8).

IR (CHCl₃) ν_{max} : 3338, 3142, 3096, 3004, 2928, 2857, 1563, 1459, 1106, 1023, 666 cm⁻¹.

HRMS (ESI) m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{19}H_{30}N_5O_4$ 392.2292; Found 392.2290.

Compound 156b



Chemical Formula: $C_{19}H_{29}N_5O_4$

Molecular Weight: 391,47 g/mol

Compound **155b** (1 eq., 29.5 mg, 0.0527 mmol) was dissolved in MeOH (5.9 mL) and freshly prepared Amberlite IRA OH⁻ (1000 mg) was added. The suspension was smoothly stirred on evaporator for 18 h without vacuum. The resin was filtrated and rinsed with MeOH and water. The filtrate was concentrated under reduced pressure. Product **156b** (17.9 mg, 0.0457 mmol, 87 %) was obtained pure without purification.

Mp = 93 °C

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -18$ (c 0.3, MeOH).

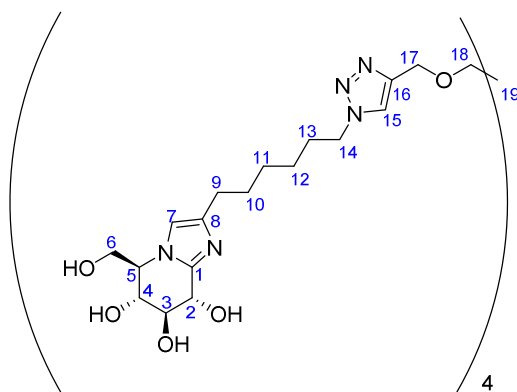
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 0.72-0.79 (m, 2H, H18), 0.92-0.98 (m, 2H, H18'), 1.26-1.44 (m, 4H, H11, H12), 1.61 (m, $J = 7,3$ Hz, 2H, H10), 1.87 (m, $J = 7,3$ Hz, 2H, H13), 1.95 (ddd, $J = 13.6, 8.4, 5.0$ Hz, 1H, H17), 2.5 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, H9), 3.76 (dd, $J = 9.4, 3.7$ Hz, 1H, H3), 3.80 (ddd, $J = 7.9, 5.4, 2.7$ Hz, 1H, H5), 3.89 (dd, $J = 11.9, 5.5$ Hz, 1H, H6^a), 4.09 (dd, $J = 9.4, 7.8$ Hz, 1H, H4), 4.16 (dd, $J = 11.7, 2.8$ Hz, 1H, H6^b), 4.31 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, H14), 4.78 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, H2), 7.04 (s, 1H, H7), 7.66 (s, 1H, H15).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD): δ 7.3 (C17), 8.2 (C18, C18'), 27.2 (C12), 28.8 (C9), 29.6 (C11), 30.3 (C10), 31.1 (C13), 51.2 (C14), 63.0 (C6), 63.5 (C5), 65.7 (C2), 67.1 (C4), 73.2 (C3), 115.5 (C7), 121.8 (C15), 143.5 (C8), 145.9 (C1), 151.4 (C16).

IR (CHCl_3) ν_{max} : 3335, 3142, 3090, 2926, 2855, 1685, 1563, 1465, 1097, 901, 825 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_4$ 392.2292; Found 392.2291.

Compound 157a



Chemical Formula: $\text{C}_{73}\text{H}_{112}\text{N}_{20}\text{O}_{20}$
Molecular Weight: 1589,82 g/mol

To a solution of **150a** (1 eq., 58.4 mg, 0.0258 mmol) in MeOH (1.5 mL) was added Ammonia in MeOH (108 eq., 2 M, 1.4 mL, 2.8 mmol). Reaction was stirred for 19 h under argon atmosphere. Acetamide was removed thanks to coevaporation with toluene and MeOH. Product **157a** (42 mg, 0.0264 mmol, 102 %) was obtained as a white solid.

Mp = 122-125 °C

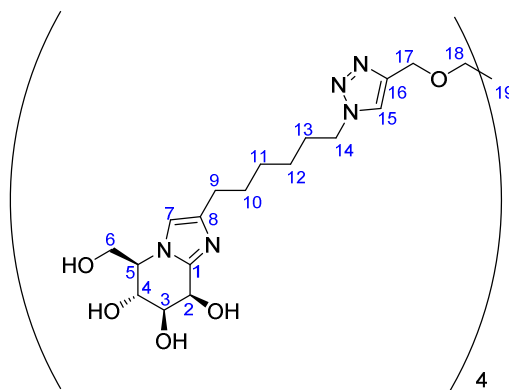
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -32$ (c 0.4, MeOH/ H_2O 2:1)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 1.27-1.41 (m, 16H, H11 and H12), 1.59 (m, $J = 7.6$ Hz, 8H, H10), 1.88 (m, $J = 7.3$ Hz, 8H, H13), 2.48 (t, $J = 7.6$ Hz, 8H, H9), 3.42 (s, 8H, H18), 3.67 (dd, $J = 8.7, 7.9$ Hz, 4H, H3), 3.78 (dd, $J = 8.8, 8.5$ Hz, 4H, H4), 3.82 (td, $J = 8.7, 3.0$ Hz, 4H, H5), 3.92 (dd, $J = 12.1, 3.9$ Hz, 4H, H6^a), 4.15 (dd, $J = 12.0, 2.3$ Hz, 4H, H6^b), 4.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 8H, H14), 4.46 (d, $J = 7.9$ Hz, 4H, H2), 4.48 (s, 8H, H17), 6.97 (s, 4H, H7), 7.90 (s, 4H, H15).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 27.2 (C12), 28.9 (C9), 29.6 (C11), 30.2 (C10), 31.2 (C13), 46.0 (C19), 51.3 (C14), 61.5 (C6), 62.6 (C5), 65.4 (C17), 69.3 (C4), 69.8 (C2), 69.9 (C18), 76.7 (C3), 144.5 (C7), 124.9 (C15), 145.5 (C8), 146.1 (C16), 146.9 (C1).

IR (CHCl_3) ν_{max} : 3307, 2925, 2857, 1565, 1455, 1083, 1021, 775, 638 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+3\text{H}]^{3+}$ calcd for $\text{C}_{73}\text{H}_{115}\text{N}_{20}\text{O}_{20}$ 530.6193; Found 530.6219.

Compound **157b**

Chemical Formula: $C_{73}H_{112}N_{20}O_{20}$
Molecular Weight: 1589,82 g/mol

To a solution of **150b** (1 eq., 24.9 mg, 0.011 mmol) in MeOH (0.624 mL) was added Ammonia in MeOH (110 eq., 2 M, 0.605 mL, 1.21 mmol) at room temperature. The reaction was stirred for 18 h under argon atmosphere. Crude was coevaporated 4 times with toluene, then 3 times with MeOH and finally 2 times with DCM to remove acetamide. Product **157b** (15.4 mg, 0.0097 mmol, 88 %) was obtained as a beige solid.

Mp = 128°C (decomp)

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -19$ (c 0.7, MeOH)

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 1.26-1.41 (m, 16H, H12 and H11), 1.59 (m, $J = 7.2$ Hz, 8H, H10), 1.88 (m, $J = 7.2$ Hz, 8H, H13), 2.49 (t, $J = 7.5$ Hz, 8H, H9), 3.42 (s, 8H, H18), 3.77 (dd, $J = 9.3, 3.7$ Hz, 4H, H3), 3.80 (ddd, $J = 7.8, 5.5, 2.8$ Hz, 4H, H5), 3.89 (dd, $J = 11.8, 5.5$ Hz, 4H, H6^a), 4.09 (dd, $J = 9.2, 7.8$ Hz, 4H, H4), 4.15 (dd, $J = 11.8, 2.8$ Hz, 4H, H6^b), 4.36 (t, $J = 7.0$ Hz, 8H, H14), 4.45 (s, 8H, H17), 4.79 (d, $J = 3.7$ Hz, 4H, H2), 7.04 (s, 4H, H7), 7.90 (s, 4H, H15).

^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 27.2 (C12), 28.8 (C9), 29.6 (C11), 30.2 (C10), 31.2 (C13), 46.4 (C19), 51.3 (C14), 63.0 (C6), 63.5 (C5), 65.4 (C17), 65.7 (C2), 67.2 (C4), 69.9 (C18), 73.1 (C3), 115.6 (C7), 124.9 (C15), 143.3 (C8), 145.9 (C1), 146.1 (C16).

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 3338, 3142, 2926, 2858, 1462, 1087 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z $[M+3H]^{3+}$ calcd for $C_{73}H_{115}N_{20}O_{20}$ 530.6193; Found 530.6181.

coevaporated 4 times with a mixture of toluene and MeOH to remove acetamide. Product **158b** was obtained as a beige solid.

Mp = 63-65 °C

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -16$ (c 1.6, MeOH)

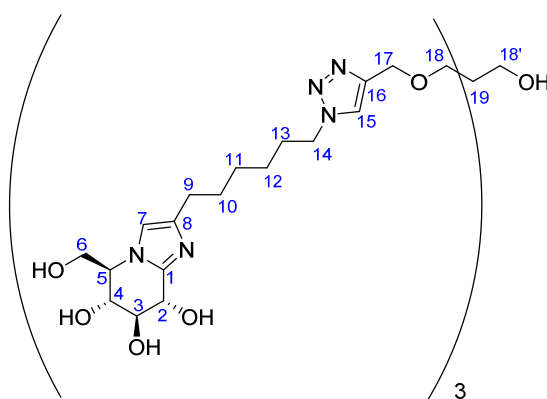
¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 1.27-1.43 (m, 8H, H11 and H12), 1.61 (m, $J = 7.6$ Hz, 4H, H10), 1.90 (m, $J = 7.2$ Hz, 4H, H13), 2.50 (t, $J = 7.6$ Hz, 4H, H9), 3.45 (s, 4H, H18), 3.54 (s, 4H, H18'), 3.77 (dd, $J = 9.3, 3.7$ Hz, 2H, H3), 3.81 (m, $J = 2.6$ Hz, 2H, H5), 3.89 (dd, $J = 11.8, 5.4$ Hz, 2H, H6^a), 4.09 (dd, $J = 9.2, 7.8$ Hz, 2H, H4), 4.16 (dd, $J = 11.9, 2.8$ Hz, 2H, H6^b), 4.38 (t, $J = 7.0$ Hz, 4H, H14), 4.55 (s, 4H, H17), 4.76 (d, $J = 3.7$ Hz, 2H, H2), 7.04 (s, 2H, H7), 7.93 (s, 2H, H15).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 27.2 (C12), 28.7 (C9), 29.6 (C11), 30.2 (C10), 31.1 (C13), 46.9 (C19), 51.3 (C14), 62.6 (C18'), 62.9 (C6), 63.5 (C5), 65.3 (C17), 65.7 (C2), 67.1 (C4), 70.4 (C18), 73.2 (C3), 115.6 (C7), 124.8 (C15), 143.3 (C8), 145.9 (C1), 146.1 (C16).

IR (CHCl₃) ν_{max} : 3308, 3142, 2926, 2858, 1658, 1462, 1090, 1059, 901, 773 cm⁻¹.

HRMS (ESI) m/z [M+H]⁺ calcd for C₃₉H₆₃N₁₀O₁₂ 863.4621; Found 863.4633.

Compound 159a



Chemical Formula: C₅₆H₈₇N₁₅O₁₆
Molecular Weight: 1226,40 g/mol

Triglucoimidazole (OAc) **149a** (1 eq., 19.5 mg, 0.0113 mmol) was dissolved in MeOH (0.662 mL) and Ammonia in MeOH (110 eq., 2 M, 0.62 mL, 1.24 mmol) was added. The reaction was stirred overnight for 16 h under argon atmosphere. Acetamide was removed thanks to coevaporation with toluene and MeOH. The crude was purified by column chromatography on silica gel (Eluent: 7:2:1 AcN/H₂O/NH₄OH) and product **159a** (13.8 mg, 0.0113 mmol, 100 %) was obtained as a white solid.

Mp = 125 °C

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -24$ (c 1.0, MeOH)

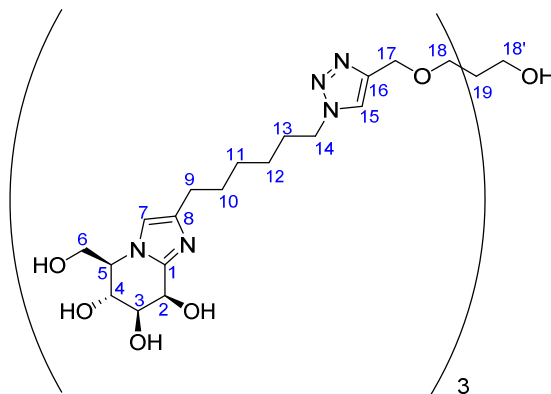
¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 1.27-1.41 (m, 12H, H11 and H12), 1.60 (m, $J = 7.5$ Hz, 6H, H10), 1.89 (m, $J = 7.2$ Hz, 6H, H13), 2.49 (t, $J = 7.7$ Hz, 6H, H9), 3.43 (s, 6H, H18), 3.52 (s, 2H, H18'), 3.67 (dd, $J = 8.7, 8.2$ Hz, 3H, H3), 3.76-3.85 (m, 6H, H4 and H5), 3.92 (dd, $J = 12.0, 3.9$ Hz, 3H, H6^a), 4.15 (dd, $J = 12.1, 2.5$ Hz, 3H, H6^b), 4.37 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H, H14), 4.46 (d, $J = 7.9$ Hz, 3H, H2), 6.97 (s, 3H, H7), 7.92 (s, 3H, H15).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 27.2 (C12), 28.8 (C9), 29.6 (C11), 30.2 (C10), 31.2 (C13), 46.2 (C19), 51.3 (C14), 61.5 (C6), 62.3 (C18'), 62.6 (C5), 65.3 (C17), 69.3 (C4), 69.8 (C2), 70.1 (C18), 76.7 (C3), 114.5 (C7), 124.9 (C15), 143.5 (C8), 146.1 (C16), 146.9 (C1).

IR (CHCl₃) ν_{max} : 3325, 3142, 2926, 2858, 1567, 1461, 1092, 1059, 1024, 778, 649 cm⁻¹.

HRMS (ESI) m/z $[M+3H]^{3+}$ calcd for $C_{56}H_{90}N_{15}O_{16}$ 409.5558; Found 409.5577.

Compound 159b



Chemical Formula: $C_{56}H_{87}N_{15}O_{16}$
Molecular Weight: 1226,40 g/mol

Trimannoimidazole (OAc) **149b** (1 eq., 36.5 mg, 0.0211 mmol) was dissolved in MeOH (1.24 mL). Ammonia in MeOH (110 eq., 2 M, 1.16 mL, 2.32 mmol) was then added. Reaction was stirred 18 h under argon atmosphere. Coevaporation four times with Toluene/ MeOH (10:1), then co evaporation 2 times with MeOH enabled to get rid off acetamide. Product **159b** (19.3 mg, 0.0157 mmol, 75 %) was obtained as a white solid.

Mp = 82-85 °C

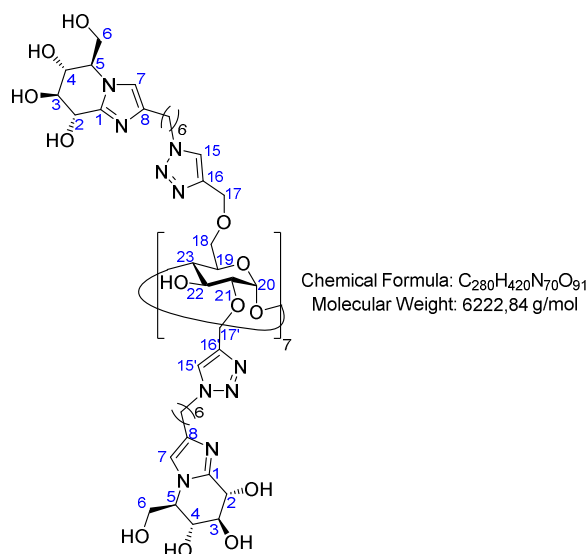
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -18$ (c 1.3, MeOH)

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 1.26-1.43 (m, 12H, H11 and H12), 1.60 (m, $J = 7.4$ Hz, 6H, H10), 1.89 (m, $J = 7.3$ Hz, 6H, H13), 2.49 (t, $J = 7.5$ Hz, 6H, H9), 3.43 (s, 6H, H18), 3.52 (s, 2H, H18'), 3.76 (dd, $J = 9.4, 3.7$ Hz, 3H, H3), 3.79 (ddd, $J = 8.0, 5.1, 2.6$ Hz, 3H, H5), 3.89 (dd, $J = 11.8, 5.4$ Hz, 3H, H6^a), 4.09 (dd, $J = 9.4, 8.0$ Hz, 3H, H4), 4.16 (dd, $J = 11.8, 2.8$ Hz, 3H, H6^b), 4.37 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H, H14), 4.51 (s, 6H, H17), 4.78 (d, $J = 3.8$ Hz, 3H, H2), 7.03 (s, 3H, H7), 7.92 (s, 3H, H15).

^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD): δ 27.2 (C12), 28.8 (C9), 29.6 (C11), 30.3 (C10), 31.2 (C13), 46.7 (C19), 51.3 (C14), 62.3 (C18'), 62.9 (C6), 63.5 (C5), 65.4 (C17), 65.7 (C2), 67.1 (C4), 70.2 (C18), 73.2 (C3), 115.5 (C7), 124.9 (C15), 143.5 (C8), 145.9 (C1), 146.1 (C16).

IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 3325, 3142, 2926, 2857, 1659, 1462, 1088, 1060, 900 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z $[M+3H]^{3+}$ calcd for $C_{56}H_{90}N_{15}O_{16}$ 409.5558; Found 409.5547.

Compound **160a**

Substrate **151a** (1 eq., 7 mg, 0.000816 mmol) was dissolved in MeOH (0.048 mL) and Ammonia in MeOH (110 eq., 2 M, 0.045 mL, 0.09 mmol) was added. Reaction was stirred at room temperature under argon atmosphere. After 11h, reaction was not complete. After co evaporation with toluene and MeOH, the crude was engaged again in the same reaction. Crude was dissolved in MeOH (0.4 mL) and Ammonia in MeOH (110 eq., 2 M, 0.045 mL, 0.09 mmol) was added. After 20 h of stirring, the reaction was complete. Product **160a** (11.4 mg, 0.0018 mmol, 89 %) was obtained as a brown solid.

T (decomposition)= 205 °C

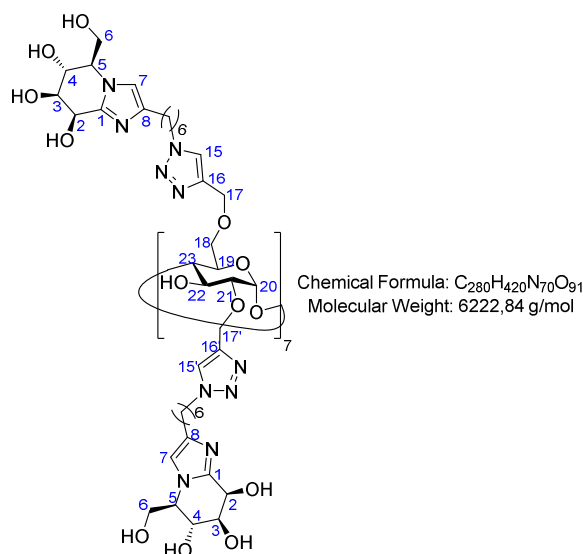
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +7.5$ (c 0.07, DMSO)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.13-1.30 (m, 56H, H11 and H12), 1.41-1.51 (m, 28H, H10), 1.67-1.80 (m, 28H, H13), 2.29-2.39 (m, 28H, H9), 3.45-3.52 (m, 14H, H3), 3.52-3.59 (m, 14H, H4), 3.62-3.73 (m, 28H, H5 and H6a), 3.95-4.03 (m, 14H, H6b), 4.18-4.33 (m, 32H, H14 and H2), 4.33-4.44 (m, 7H, H19), 4.68-4.79 (m, 14H, H23 and H18a), 4.80-4.92 (m, 14H, H22 and H18b), 5.00-5.10 (m, 7H, H21), 5.33-5.45 (m, 28H, H17 and H17'), 5.76-5.88 (m, 7H, H20), 6.91 (s, 14H, H7), 8.02 (s, 7H, H15'), 8.10 (s, 7H, H15)

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ 25.7 (C2), 27.9 (C9), 28.2 (C11), 28.8 (C10), 29.7 (C13), 49.3 (C14), 60.0 (C6), 60.9 (C5), 63.6 (C17), 64.8 (C17'), 67.6 (C4), 68.2 (C2), 69.9 (C22), 73.0 (C19), 75.1 (C3), 79.2 (C21), 82.3 (C23), 100.6 (C20), 112.6 (C7), 123.6 (C15'), 124.1 (C15), 141.3 (C8), 143.4 (C16'), 143.8 (C16), 145.8 (C1) *carbon C18 is not visible*

IR (CHCl₃) ν_{max} : 3343, 2925, 2860, 1733, 1456, 1369, 1227, 1084, 1044, 731 cm⁻¹.

HRMS (ESI) m/z [M+6H]⁶⁺ calcd for C₂₈₀H₄₂₆N₇₀O₉₁ 1037.5138; Found 1037.5147.

Compound **160b**

Substrate **151b** (1 eq., 7 mg, 0.000816 mmol) was dissolved in MeOH (0.05 mL) and Ammonia in MeOH (110 eq., 2 M, 0.045 mL, 0.09 mmol) was added. Reaction was stirred at room temperature under argon atmosphere for 16 h. Co evaporation with toluene and small amount of MeOH 5 times, then 2 times with MeOH pure allowed to remove acetamide. Product **160b** (5 mg, 0.0008 mmol, 98 %) was obtained as an orange solid.

T (decomposition) = 170 °C

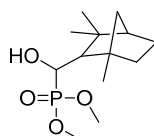
Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = not enough material

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): δ 1.15-1.31 (m, 56H, H11 and H12), 1.43-1.52 (m, 28H, H10), 1.69-1.80 (m, 28H, H13), 2.31-2.41 (m, 28H, H9), 3.26-3.52 (m, 63H, H21, H23, H17, H17', H19 and H18), 3.62-3.71 (m, 42H, H3, H5 and H6a), 3.90-4.00 (m, 28H, H4 and H6b), 4.19-4.26 (m, 14H, H14), 4.27-4.34 (m, 14H, H14'), 4.36-4.43 (m, 7H, H22), 4.63 (s, 14H, H2), 4.83-4.92 (m, 7H, H20), 6.98 (s, 14H H7), 8.02 (s, 7H, H15'), 8.10 (s, 7H, H15).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO-d_6): δ 25.7, 25.8 (C12 and C12'), 27.4, 27.5 (C9 and C9'), 28.1, 28.3 (C11 and C11'), 28.6, 28.7 (C10 and C10'), 29.7 (C13), 49.2, 49.3 (C14 and C14'), 61.6 (C6), 62.3 (C5), 63.6 (C22), 64.0 (C2), 65.7 (C4), 69.8 (C18), 71.3 (C3), 72.3, 72.4 (C17 and C17'), 74.6 (C19), 79.1 (C21), 82.4 (C23), 100.2 (C20), 113.9 (C7), 123.6, 124.0 (C15 and C15'), 140.3 (C8), 143.3, 143.8 (C16 and C16'), 144.7 (C1).

IR (CHCl_3) ν_{max} : 3342, 2927, 2857, 1735, 1460, 1370, 1225, 1085, 1044, 732 cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z $[\text{M}+10\text{H}]^{10+}$ calcd for $C_{280}H_{430}N_{70}O_{91}$ 633.9112; Found 622.9111

Compound **172**

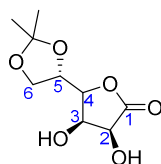
Chemical Formula: $C_{13}H_{25}O_4P$
Molecular Weight: 276,31g/mol

To a stirred solution of dimethyl phosphite (1.2 eq., 0.46 mL, 5 mmol) in anhydrous THF (22 mL), cooled in a dry-ice acetone bath was added LiHMDSi (1.25 eq., 1 M, 5.21 mL, 5.21 mmol) dropwise under nitrogen atmosphere. After 15 min, a solution of **248** (1 eq., 693 mg, 4.17 mmol) in anhydrous THF (36.5 mL) was added and stirring was continued for 2h. Saturated aqueous ammonium chloride and Et₂O were added, and the reaction mixture was stirred with cooling for 15 min and then at room temperature for 15 min. The mixture was extracted with Et₂O. The organic extracts were combined, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give a yellow oil, which was purified by flash chromatography over silica gel (Eluent: 6:4 AE/Pentane). The product was dissolved in DCM, filtered, and concentrated to give **172** (769 mg, 2.79 mmol, 67 %) as a beige solid. Product **172** was obtained in a mixture of 4 diastereomers. Only the major isomer could be analysed on ¹H-NMR due to the high complexity of spectra. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[372]

R_f (product) = 0.35 (7:3 AE/PE), 0.25 (6:4 AE/PE)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H major isomer, 0.97 (s, 3H, CH₃), 1.02 (s, 3H, CH₃), 1.29 (s, 3H, CH₃), 1.32 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H, H₉), 1.38-1.52 (m, 2H, H₄), 1.57-1.77 (m, 5H, H₆, H₅ and H₃), 2.44-2.55 (m, 1H, OH), 3.75-3.83 (2 s, 6H, CH₃OP(O)), 4.14-4.22 (m, 1H, H₁₀)

Compound 195



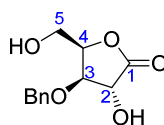
Chemical Formula: C₉H₁₄O₆
Molecular Weight: 218,21 g/mol

APTS (1.02 %, 52 mg, 0.0302 mmol) monohydrate was added to a stirred solution of L-gulono-1,4-lactone (1 eq., 0.56 g, 3.0 mmol) in DMF (1.9 mL) at 0°C, under argon atmosphere. 2-methoxypropene (1.2 eq., 0.34 mL, 3.56 mmol) was added dropwise at 0 °C for 8 min and the stirred solution was allowed to warm to room temperature. After 20h, Na₂CO₃ (0.8 eq., 0.25 g, 2.3 mmol) was added and the reaction mixture stirred for 2h and then filtered through Celite. The solvent was removed under reduced pressure (co-evaporation with toluene). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (Eluent: 4:1 EtOAc/PE) to yield **195** (0.292 g, 1.34 mmol, 45 %) as a white solid. Analytical data of **195** were in accordance with those reported in literature.^[479]

R_f (product) = 0.3 (100 EtOAc)

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ_H 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.42 (s, 3H, CH₃), 3.84 (dd, *J* = 8.7, 6.6 Hz, 1H, H_{6a}), 4.20 (dd, *J* = 8.7, 6.5 Hz, 1H, H_{6b}), 4.31-4.47 (m, 3H, H₅, H₄ and H₃), 4.49 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H, H₂)

Compound 197



Chemical Formula: C₁₂H₁₄O₅
Molecular Weight: 238,24 g/mol

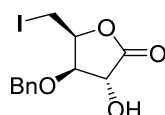
Substrate **240** (1 eq., 0.75 g, 3.1 mmol) was diluted in a mixture of THF (1.6 mL) and water (4.5 mL), and the solution was cooled to 5 °C. K₂CO₃ (1.2 eq., 0.53 g, 3.8 mmol) was added portion wise to the solution maintaining the temperature below 10 °C, and the solution was stirred for 30 min. Br₂ (1.15 eq., 0.184 mL, 3.60 mmol) was then added dropwise at 0 °C over a period of 1h30. The reaction mixture was maintained below 10°C for a further 1h and then stirred at room temperature for 16h. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was co-evaporated twice with toluene. The residue was extracted with hot acetone (6x) and the organic extracts were concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by flash column chromatography on silica gel (Eluent: 1:1 to 7:3 EtOAc/PE) to afford **197** (0.465 g, 1.95 mmol, 62 %) as a white solid. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[509]

¹H-NMR (400 MHz, Acetone-d₆): δ_{H} 3.82 (ddd, $J = 12.4, 6.0, 3.1$ Hz, 1H, H5a), 3.93 (ddd, $J = 12.3, 5.5, 3.1$ Hz, 1H, H5b), 4.07 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H, OH), 4.40 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H3), 4.63 (dt, $J = 7.6, 3.1$ Hz, 1H, H4), 4.73 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.75-4.81 (m, 1H, H2), 4.84 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H, OCH₂Ph), 5.23 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, OH), 7.27-7.45 (m, 5H, H_{Ar})

General procedure for dehydroxylation

The substrate (1 eq.) was dissolved in dry toluene (40 eq.). Then, PPh₃ (1.5 eq.), dry pyridine (1 eq.) and iodine (0.5 eq.) were added successively. The mixture was heated under reflux for 5 to 8 h (depending on the substrate) under argon atmosphere. After completion, the reaction was cooled to room temperature and diluted with toluene. The solution was washed with Na₂S₂O₃ sat. solution and the aqueous and the organic phase were separated. Brown residue, if remaining in the flask, was dissolved with DCM and this new organic phase was then washed with Na₂S₂O₃ sat. solution. Aqueous phases were gathered and extracted three times with DCM. Organic phases were gathered and dried with Na₂SO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂) to afford the deoxygenated product.

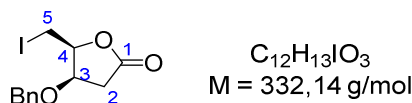
3-*O*-benzyl-5-iodo-5-deoxy-D-xylono-1,4-lactone (**198**)



Chemical Formula: C₁₂H₁₃IO₄
Molecular Weight: 348,14 g/mol

General procedure was followed starting from **197** (1 eq., 61.3 mg, 0.257 mmol) with a reaction time of 6 h. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (PE/ EtOAc 7:3 to 4:6) affording **198** (44.8 mg, 0.129 mmol, 50%). Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[510]

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3.15 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H, OH), 3.31 (dd, $J = 10.7, 6.9$ Hz, 1H, H5a), 3.53 (dd, $J = 10.7, 6.1$ Hz, 1H, H5b), 4.29 (dd, $J = 6.5, 5.4$ Hz, 1H, H3), 4.62 (dd, $J = 5.4, 2.8$ Hz, 1H, H2), 4.65 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.78 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.83 (ddd, $J = 6.9, 6.6, 6.1$ Hz, 1H, H4), 7.60-7.42 (m, 5H, H_{Ar}).

3-*O*-Benzyl-5-iodo-2,5-dideoxy-D-xylono-1,4-lactone (**199**)

REACTION PERFORMED BY FABIEN STAUFFERT

A solution of PPh_3 (1.6 eq., 1.79 g, 6.83 mmol) and I_2 (1.5 eq., 1.60 g, 6.30 mmol) in pyridine (13 mL) was stirred at room temperature for 1 h, then **197** (1.0 g, 4.20 mmol) was added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 22 h. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was co-evaporated with toluene twice. The crude was purified by flash chromatography (first column: 1 :1 EtOAc/PE; second column: DCM) to afford **198** (623 mg, 43%) and **199** (498 mg, 36%) as a white solid.

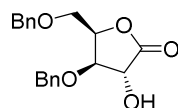
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -87$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 2.67 (dd, $J = 17.7, 5.0$ Hz, 1H, H2a), 2.77 (dd, $J = 17.7, 1.0$ Hz, 1H, H2b), 3.42 (dd, $J = 9.5, 5.4$ Hz, 1H, H5a), 3.51 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, H5b), 4.36 (ddd, $J = 5.0, 4.0, 1.0$ Hz, 1H, H3), 4.50 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.60 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.65 (ddd, $J = 9.5, 5.4, 4.0$ Hz, 1H, H4), 7.30–7.40 (m, 5H, H_{Ar})

^{13}C -NMR (100MHz, $CDCl_3$): δ -1.5 (C5), 36.2 (C2), 72.2 (OCH_2Ph), 74.5 (C3), 83.2 (C4), 128.1, 128.3, 128.7 ($5C_{Ar}^{III}$), 136.8 (C_{Ar}^{IV}), 174.4 (C1)

IR (neat) ν_{max} : 1777, 611 cm^{-1}

HRMS (ESI) m/z $[M+Na]^+$ Calcd for $C_{12}H_{13}IO_3Na$ 354.9802 ; Found 354.9801.

3,5-Di-*O*-benzyl-D-xylono-1,4-lactone (**200**)

Chemical Formula: $C_{19}H_{20}O_5$
Molecular Weight: 328,36 g/mol

Diol **235** (1 eq., 8.20 g, 24.8 mmol) was dissolved in dioxane (74.5 mL). H_2O (40 mL) and K_2CO_3 (3 eq., 10.3 g, 74.5 mmol) were added. The mixture was cooled to 0 $^{\circ}C$ and Br_2 (3 eq., 11.9 g, 3.83 mL, 74.5 mmol) was added dropwise. The reaction was allowed to warm to room temperature and was stirred for 16 h. A saturated solution of $Na_2S_2O_3$ was added and the mixture was extracted with EtOAc (3 x 20 mL). The combined organic extracts were washed with brine (10 mL), dried over $MgSO_4$ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (PE/ EtOAc 8:2 to 6:4) and compound **200** was obtained in 36% yield (3.2 g). Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[511]

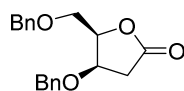
Mp = 70 $^{\circ}C$

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +40$ ($c 1$, $CHCl_3$)

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2.61 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 3.72 (dd, $J = 10.9, 2.9$ Hz, 1H), 3.79 (dd, $J = 11.0, 2.1$ Hz, 1H), 4.38 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.52 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.58 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.58 (dt, $J = 7.9, 2.3$ Hz, 1H), 4.67 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.82 (dd, $J = 8.0, 2.6$ Hz, 1H), 4.84 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H, OCH_2Ph), 7.24–7.39 (m, 10H, H_{Ar})

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 175.4, 137.9, 137.7, 137.4, 128.9, 128.8, 128.4, 128.1, 128.1, 127.9, 80.8, 76.5, 76.4, 74.0, 73.0, 72.7, 67.3, 31.3.

3,5-Di-*O*-benzyl-2-deoxy-D-xylono-1,4-lactone (**201**)



Chemical Formula: $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4$
Molecular Weight: 312.37

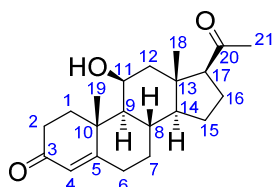
General procedure for dehydroxylation was followed starting from **200** (1.0 eq., 80.4 mg, 0.245 mmol) with a reaction time of 4.5 h. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (PE/ EtOAc 9:1) affording **201** (70.8 mg, 0.227 mmol, 93%) as an oil. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[512]

Optical rotation $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -5$ (c 0.5, MeOH)

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 2.63 (dd, $J = 17.5, 5.9$ Hz, 1H, H2b), 2.73 (dd, $J = 17.4, 2.9$ Hz, 1H, H2a), 3.83–3.91 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H, H5), 4.31–4.37 (m, 1H, H3), 4.38 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.53–4.67 (m, 4H, H4, OCH_2Ph), 7.37–7.22 (m, 10H, H_{Ar})

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 174.1, 137.8, 137.1, 128.6, 128.5, 128.1, 127.9, 127.8, 127.7, 82.0, 74.5, 73.7, 71.8, 67.7, 35.6.

11 β -Hydroxy-4-pregnene-3,20-dione (**203**)



$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_3$
 $M = 330.47$ g/mol

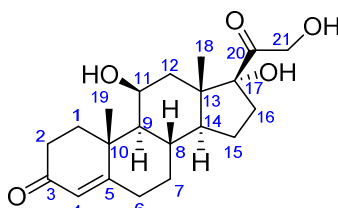
General procedure was followed starting from **202** (1.01 eq., 100 mg, 0.287 mmol) with a reaction time of 6 h. The brown crude residue was purified by column chromatography on silica gel (PE/ EtOAc 4:6) affording **203** (80.4 mg, 0.243 mmol, 85%) as a white solid.

Mp = 180 °C

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 0.85 (s, 3H, H18), 0.96 (dd, $J = 11.0, 2.9$ Hz, 1H, H14), 1.00–1.17 (m, 2H, H9, H6 β), 1.21 (s, 1H, OH), 1.25–1.35 (m, 1H, H15 α), 1.41 (s, 3H, H19), 1.57–1.76 (m, 3H, H12 α , H16 β , H15 β), 1.82 (td, $J = 13.4, 4.5$ Hz, 1H, H1 α), 1.89–2.03 (m, 2H, H8, H6 α), 2.08 (s, 3H, H21), 2.11–2.24 (m, 4H, H16 α , H1 β , H12 β , H7 α), 2.30 (dt, $J = 16.6, 4.2$ Hz, 1H, H2 α), 2.36–2.50 (m, 3H, H17, H7 β , H2 β), 4.38 (s, 1H, H11), 5.63 (s, 1H, H4)

^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 15.9 (C18), 21.0 (C19), 22.6 (C16), 24.4 (C15), 31.3 (C21), 31.4 (C8), 32.1 (C7), 32.6 (C6), 33.9 (C2), 35.0 (C1), 39.3 (C10), 43.1 (C13), 48.1 (C12), 56.4 (C14), 57.5 (C9), 63.9 (C17), 68.0 (C11), 122.3 (C4), 172.4 (C5), 199.7 (C3), 209.2 (C20).

Hydrocortisone (204)



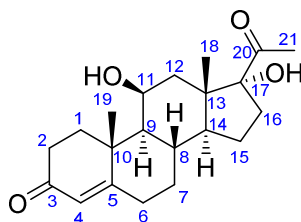
Chemical Formula: $C_{21}H_{30}O_5$
Molecular Weight: 362,47 g/mol

Commercially available

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 0.96 (s, 3H, H18), 1.01 (s, 1H, H9), 1.13 (tdd, $J = 12.8, 12.5, 4.6$ Hz, 1H, H7 α), 1.44 (s, 3H, H19), 1.46–1.51 (m, 1H, H15 α), 1.53 (3,1H, H16 α), 1.55 (s, 1H, OH-C11), 1.57–1.61 (m, 1H, H12 α), 1.66–1.76 (m, 1H, H14), 1.81–1.93 (m, 2H, H15 β , H1 α), 1.98–2.05 (m, 2H, H12 β , H7 β), 2.06–2.11 (m, 1H, H8), 2.12 (s, 1H, OH-C17), 2.18 (dt, $J = 13.2, 4.6$ Hz, 1H, H1 β), 2.25 (ddd, $J = 14.2, 4.5, 2.1$ Hz, 1H, H6 α), 2.36 (dt, $J = 16.6, 4.3$ Hz, 1H, H2 α), 2.43–2.54 (m, 2H, H2 β , H6 β), 2.72 (ddd, $J = 14.1, 11, 3.1$ Hz, 1H, H16 β), 3.07 (t, $J = 4.8$ Hz, 1H, OH-C1), 4.31 (dd, $J = 19.9, 4.8$ Hz, 1H, H21 α), 4.48 (m, 1H, H11), 4.66 (dd, $J = 19.8, 4.8$ Hz, 1H H21 β), 5.69 (s, 1H, H4).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 17.8 (C18), 21.2 (C19), 23.9 (C15), 31.6 (C8), 32.1 (C6), 32.9 (C7), 33.9 (C2), 34.4 (C16), 35.2 (C1), 39.3 (C10), 39.9 (C12), 48.0 (C13), 51.9 (C14), 56.1 (C9), 67.6 (C21), 68.5 (C11), 88.8 (C17), 122.6 (C4), 171.8 (C5), 199.5 (C3), 212.2 (C20).

21-Deoxyhydrocortisone (206)



$C_{21}H_{30}O_4$
 $M = 346,47$ g/mol

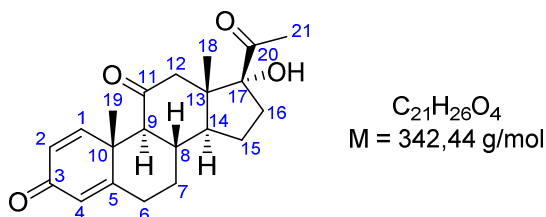
General procedure was followed using commercially available hydrocortisone **204** (1 eq., 198.5 mg, 0.55 mmol). The reaction was heated under reflux for 6 h. The obtained residue was purified by column chromatography on silica gel (PE/EtOAc 4:6) to afford **206** (149 mg, 0.431 mmol, 79 %) as a white solid.

Mp = 226 °C

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +127$ (c 1, CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 1.00 (s, 3H, H18), 1.03 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H, H9), 1.12 (dd, $J = 13.3, 4.4$ Hz, 1H, H7 α), 1.21 (m, 1H, OH-C11), 1.43 (s, 3H, H19), 1.46 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H, H15 α), 1.52 (dd, $J = 14.0, 2.4$ Hz, 1H, H12 α), 1.55–1.63 (m, 1H, H16 α), 1.64–1.75 (m, 1H, H14), 1.79–1.91 (m, 2H, H15 β , H1 α), 1.93–2.06 (m, 3H, H12 β , H8, H7 β), 2.17 (dt, $J = 13.3, 4.6$ Hz, 1H, H1 β), 2.20–2.24 (m, 1H, H6 α), 2.27 (s, 3H, H21), 2.34 (dt, $J = 16.6, 4.2$ Hz, 1H, H2 α), 2.40–2.53 (m, 2H, H2 β , H6 β), 2.64–2.75 (m, 1H, H16 β), 2.94 (s, 1H, OH-C17), 4.43–4.49 (m, 1H, H11), 5.66 (s, 1H, H4)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 18.1 (C18), 21.1 (C19), 24.1 (C15), 28.1 (C21), 31.4 (C8), 32.2 (C6), 32.8 (C7), 33.5 (C16), 33.9 (C2), 35.1 (C1), 39.3 (C10), 39.9 (C12), 47.7 (C13), 51.6 (C14), 56.1 (C9), 68.5 (C11), 89.6 (C17), 122.5 (C4), 172.3 (C5), 199.7 (C3), 211.8 (C20).

21-Deoxyprednisone (**207**)

General procedure was followed using commercially available prednisone **205** (1 eq., 141 mg, 0.387 mmol). The reaction was heated under reflux for 6 h. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (PE/EtOAc 4:6) to afford product **207** (100 mg, 0.294 mmol, 76 %) as a white solid.

Mp = 241–244 °C

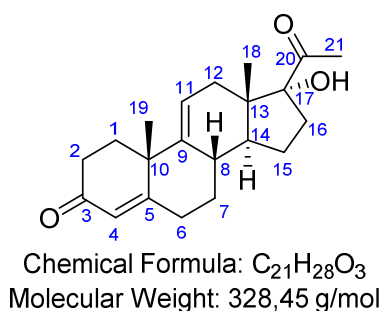
Optical rotation $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +165$ (c 1.2, CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 0.69 (s, 3H, H18), 1.19–1.37 (m, 1H, H7 α), 1.42 (s, 3H, H19), 1.45 (qd, $J = 12.2, 6.1 \text{ Hz}$, 1H, H15 β), 1.73 (ddd, $J = 14.9, 9.6, 6.0 \text{ Hz}$, 1H, H16 α), 1.88–2.04 (m, 3H, H8, H9, H15 α), 2.04–2.17 (m, 2H, H7 β , H12 β), 2.23 (s, 3H, H21), 2.32–2.44 (m, 2H, H6 α , H14), 2.51 (tdd, $J = 13.6, 5.0, 1.5 \text{ Hz}$, 1H, H6 β), 2.76 (ddd, $J = 15.1, 11.7, 3.3 \text{ Hz}$, 1H, H16 β), 2.85 (d, $J = 12.3 \text{ Hz}$, 1H, H12 α), 3.84 (s, 1H, OH), 6.06 (s, 1H, H4), 6.19 (dd, $J = 10.2, 2.0 \text{ Hz}$, 1H, H2), 7.68 (d, $J = 10.2 \text{ Hz}$, 1H, H1)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, CDCl_3): 16.2 (C18), 18.9 (C19), 23.5 (C15), 27.5 (C21), 32.3 (C7), 33.7 (C6), 33.8 (C16), 36.1 (C8), 42.5 (C10), 49.4 (C14), 49.9 (C12), 51.3 (C13), 60.1 (C9), 88.7 (C17), 124.5 (C4), 127.5 (C2), 155.7 (C1), 167.2 (C5), 186.6 (C3), 209.6 (C11), 210.5 (C20)

IR (CHCl_3) ν_{max} : 3411, 2957, 1704, 1657, 1619, 1353, 1241, 897, 754 cm^{-1}

HRMS (ESI) m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_4$ 343.1904; Found 343.1916.

21-Desacetoxy Anecortave (**209**)

General procedure for dehydroxylation was followed starting from **206** (1 eq., 147 mg, 0.425 mmol) with a reaction time of 6 h. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (PE/ EtOAc 7:3) affording **209** (15.7 mg, 0.048 mmol, 11%) as an oil. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[513]

Mp = 209–2011 °C

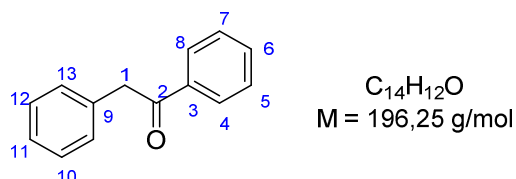
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 0.69 (s, 3H, H18), 1.16 (ddd, $J = 26.5, 12.8 \text{ Hz}, 3.9 \text{ Hz}$, 1H, H7 α), 1.33 (s, 3H, H19), 1.38–1.50 (m, 1H, H15 α), 1.60–1.71 (m, 2H, H16 α , H12 α), 1.81–1.92 (m, 1H, H14), 1.94–2.06 (m,

^1H , H15 β , H7 β), 2.07-2.17 (m, 2H, H1), 2.17-2.25 (m, 1H, H8), 2.27 (s, 3H, H21), 2.35 (dt, $J = 14.3$, 3.4 Hz, 1H, H1 α), 2.44-2.51 (m, 2H, H6), 2.51-2.64 (m, 2H, H2 β , H12 β), 2.68-2.77 (m, 1H, H16 β), 2.80 (br s, 1H, OH-C17), 5.51-5.56 (m, 1H, H11), 5.74 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, H4).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 15.4 (C18), 24.9 (C15), 26.3 (C19), 27.8 (C21), 32.28 (C7), 32.33 (C12), 33.0 (C2), 33.9 (C16), 34.0 (C1), 34.4 (C6), 37.6 (C8), 41.1 (C10), 46.9 (C13), 47.6 (C14), 89.6 (C17), 118.8 (C11), 124.2 (C4), 144.3 (C9), 169.8 (C5), 199.4 (C3), 211.5 (C20)

HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 329.2111; Found 329.2108

2-Phenylacetophenone (211)



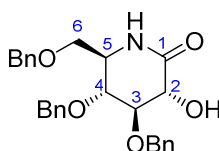
Benzoin **210** (1 eq., 97.1 mg, 0.448 mmol) was dissolved in toluene (1.91 mL) at room temperature. Polymer-bound PPh_3 (CAS Number: 39319-11-4, purchased from Sigma-Aldrich, ~ 3 mmol/g triphenylphosphine loading) (1.5 eq., 0.224 g, 0.673 mmol of PPh_3), pyridine (1 eq., 35.5 mg, 0.036 mL, 0.448 mmol) and then iodine (0.504 eq., 57.4 mg, 0.226 mmol) were added to the mixture. The reaction was then heated under reflux for 7 h. The mixture was diluted with toluene and filtered. The polymer-bound PPh_3 was then swelled and rinsed with CH_2Cl_2 and MeOH, and the filtrate was evaporated to dryness. The residue was then diluted with CH_2Cl_2 and washed with $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. The organic phase was dried with Na_2SO_4 , filtered and evaporated to dryness. Product **211** (88 mg, 0.448 mmol, 100 %) was obtained as a white solid.

$M_p = 55^\circ\text{C}$

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 4.18 (s, 2H, H1), 7.12–7.26 (m, 5H, H10, H11, H12, H13, H14), 7.32–7.38 (m, 2H, H5, H7), 7.45 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, H6), 7.89–7.95 (m, 2H, H4, H8)

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 45.6 (C1), 127.0 (C12), 128.7, 128.7, 128.8, 129.6 (C4, C5, C7, C8, C10, C11, C13, C14), 133.2 (C6), 134.6 ($\text{C}_{\text{Ar}}^{\text{IV}}$), 136.7 ($\text{C}_{\text{Ar}}^{\text{IV}}$), 197.7 (C2).

3,4,6-Tri-*O*-benzyl-D-glucono- δ -lactam (212)



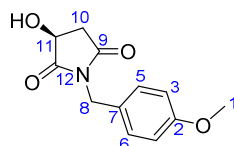
Chemical Formula: $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{NO}_5$
Molecular Weight: 447,53 g/mol

To a solution of **70** (4.99 g, 9.29 mmol) and Bu_4NBr (4.49 g, 13.92 mmol) in dry CH_2Cl_2 (295 mL) was added dropwise at -78°C a 1 M BCl_3 solution in CH_2Cl_2 (20.0 mL, 20.0 mmol) for 30 min. The resulting mixture was allowed to reach 0°C within 6 h and then stirred at room temperature for 1 h 40. The reaction mixture was treated with sat. Aq. Na_2CO_3 solution and the organic layer was separated. The aqueous layer was extracted with Et_2O (3 $\times$) and the combined organic layers were dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by flash column

chromatography (40:60 to 60:40 EtOAc/PE,) to afford **212** (3.82 g, 92%) as a white solid. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[459]

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 3.24 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H, H_{6a}), 3.51-3.62 (m, 4H, H₄, H₅, H_{6b} and OH), 3.83 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H₃), 4.11 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H, H₂), 4.43 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.47 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.54 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.82 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.93 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H, OCH₂Ph), 5.05 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H, OCH₂Ph), 6.14 (br s, 1H, NH), 7.18-7.44 (m, 15H, H_{Ar})

Compound 213



Chemical Formula: C₁₂H₁₃NO₄
Molecular Weight: 235,24 g/mol

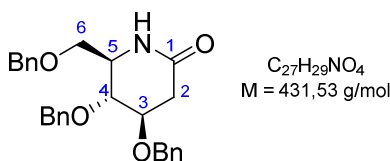
To a one-necked round bottom flask equipped with a Dean-Stark apparatus were added successively L(-)-malic acid (1 eq., 588 mg, 4.26 mmol) , 4-methoxybenzylamine (1.2 eq., 0.68 mL, 5.1 mmol) , and Xylene (30.0 mL) . The mixture was heated to reflux for 8h. The reaction was cooled to ice-bath temperature and the precipitate formed was filtered. The solid was washed three times with PE, rinse with DCM to dilute compound stuck on flask and fritté and subjected to flash chromatography on silica gel (Eluent: 1:1 to 2:1 AE/PE) to give **213** (0.656 g, 2.79 mmol, 66 %) as a white solid. Analytical data of **213** were in accordance with those reported in literature.^[460]

R_f (product) = 0.3 (1:1 AE/PE); 0.6 (2:1 AE/PE)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 2.66 (dd, *J* = 18.1, 4.7 Hz, 1H, H_{10a}), 2.86 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, OH), 3.78 (s, 3H, H₁), 4.56-4.64 (m, 3H, H₈ and H₁₁), 6.81-6.86 (m, 2H, H₃ and H₄), 7.30-7.35 (m, 2H, H₅ and H₆)

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 37.3 (C₁₀), 42.1 (C₈), 55.4 (C₁), 67.2 (C₁₁), 114.2 (C₄ and C₃), 127.6 (C₇), 130.5 (C₅ and C₆), 159.6 (C₂), 173.8 (C₁₂), 177.8 (C₉)

3,4,6-Tri-*O*-benzyl-2-deoxy-D-glucono-1,5-lactam (**214**)



C₂₇H₂₉NO₄
M = 431,53 g/mol

General procedure was followed using **212** (1.0 eq., 60.6 mg, 0.135 mmol) as a substrate. The reaction was heated under reflux for 6 h. The obtained residue was purified by column chromatography on silica gel (PE/EtOAc 4:6) to afford **214** (47.1 mg, 0.1091 mmol, 81 %) as a white solid.

R_f (product) = 0.32 (1:1 EtOAc/PE)

Mp = 73-75 °C

Optical rotation[α]_D²⁰ = +17 (c 1, CHCl₃)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.5 (dd, *J* = 17.4, 8.0 Hz, 1H, H_{2a}), 2.81 (dd, *J* = 17.0, 5.1 Hz, 1H, H_{2b}), 3.4 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H_{6a}), 3.53-3.65 (m, 3H, H₄, H₅, H_{6b}), 3.91 (dd, *J* = 12.6, 6.8 Hz, 1H, H₃), 4.47 (s, 2H,

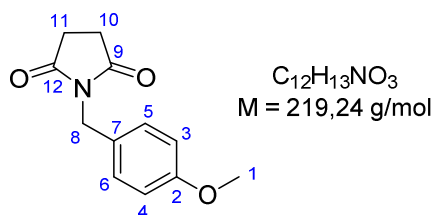
OCH_2Ph), 4.58 (d, $J = 11.1$ Hz, 2H, OCH_2Ph), 4.66 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H, OCH_2Ph), 4.82 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H, OCH_2Ph), 6.19 (br s, 1H, NH), 7.19–7.43 (m, 15H, H_{Ar})

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 35.3 (C2), 54.9 (C5), 71.1 (C6), 71.8, 73.4, 73.8 (3 x OCH_2Ph), 75.7 (C3), 75.9 (C4), 127.7–128.1 (C_{Ar}), 128.6 (C_{Ar}), 137.5, 137.7, 137.8 (3x $\text{C}^{\text{IV}}_{\text{Ar}}$), 169.5 (C1)

IR (CHCl_3) ν_{max} : 3396, 3019, 2868, 1666, 1455, 1215, 1100, 755, 699, 669 cm^{-1}

HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{NO}_4$ 432.2166; Found 432.2169.

1-(4-Methoxybenzyl)pyrrolidine-2,5-dione (215)



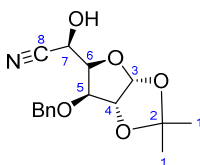
General procedure was followed using **213** (1 eq., 156 mg, 0.647 mmol) as substrate. The reaction was heated under reflux for 5 h. The obtained residue was purified by column chromatography on silica gel (PE/EtOAc 1:1) to afford **215** (114 mg, 0.523 mmol, 81 %) as a white solid. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[514]

$M_p = 129^\circ\text{C}$

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2.68 (s, 4H, H11, H10), 3.78 (s, 3H, H1), 4.60 (s, 2H, H8), 6.83 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, H3, H4), 7.34 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, H5, H6)

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 28.4 (C11, C10), 42.0 (C8), 55.4 (C1), 114.1 (C3, C4), 128.2 (C7), 130.6 (C5, C6), 159.5 (C2), 177.0 (C12, C9).

α -D-xylo-Hexofuranurononitrile, 1,2-O-(1-isopropylidene)-3-O-benzyl (216)



Chemical Formula: $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_5$
Molecular Weight: 305.33 g/mol

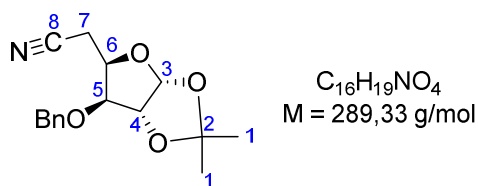
REACTION PERFORMED BY ROBIN WEISS

Diol **238** (1 eq., 0.535 g, 1.72 mmol) was dissolved in a mixture 1:1 MeOH/ H_2O (8.6 mL) and NaIO_4 (1.25 eq., 0.462 g, 2.16 mmol) was added. Vigorous stirring for 3 h was necessary to ensure efficient mixing with the heavy white precipitate observed. Then the solution was quenched with ethylene glycol (1.1 eq., 0.106 mL, 1.9 mmol). The mixture was diluted with MeOH and filtered. The filtrate was concentrated in vacuo, cold MeOH was added and the resulting precipitate was filtered off. The solvent was removed under reduced pressure. The reaction mixture was dissolved in DCM/MeOH. The mixture was extracted with DCM and the organic phase was dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. To the crude aldehyde obtained was added EtOH (3.21 mL) and H_2O (3.21 mL), KCN (1.05 eq., 0.118 g, 1.81 mmol) and $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2.2 eq., 0.364 g, 3.82 mmol). After few minutes a precipitate was observed, and the mixture was stirred for 5 days at room temperature. The mixture was filtrated

through Celite and DCM was added in the filtrate. The organic phase was separated, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. Purification by column chromatography on silica gel (4 :1 PE /EtOAc) afforded the two separable diastereoisomers, **(R)**-**241** (140.5 mg, 0.46 mmol, 27%) and **(S)**-**216** (145.7 mg, 0.48 mmol, 28 %). Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[515]

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ _H 1.34 (s, 3H, 1H^a), 1.50 (s, 3H, 1H^b), 3.74 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, OH), 4.35-4.42 (m, 2H, H5 ,H6), 4.63 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.66 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H4), 4.75 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.79 (dd, *J* = 10.0, 5.0 Hz, 1H, H7), 6.04 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H3), 7.33-7.43 (m, 5H, H_{Arom}).

α -D-xy/o-Hexofuranurononitrile, 5-deoxy-1,2-O-(1-isopropylidene)-3-O-benzyl (**217**)

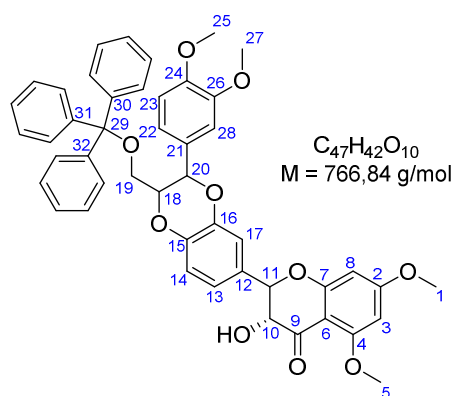


General procedure was followed using **216** (1 eq., 74.6 mg, 0.244 mmol). The reaction was heated under reflux for 5 h. The obtained residue was purified by column chromatography on silica gel (PE/EtOAc 85:15) to afford product **217** (36 mg, 0.124 mmol, 51 %). Analytical data are in accordance with those reported in literature.^[510]

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.32 (s, 3H, H1), 1.50 (s, 3H, H1), 2.74 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H, H7), 4.01 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, H5), 4.48 (td, *J* = 7.1, 3.5 Hz, 1H, H6), 4.57 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.64 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H4), 4.72 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, OCH₂Ph), 5.91 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H3), 7.30–7.41 (m, 5H, H_{Ar})

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 17.5 (C7), 26.4 (C1), 27.0 (C1), 72.6 (OCH₂Ph), 76.0 (C6), 81.6 (C5), 82.0 (C4), 105.4 (C3), 112.4 (C2), 117.1 (C^{IV}_{Ar}), 128.1, 128.4, 128.8 (C_{Ar}), 136.9 (C8).

Compound 218



Substrate **260** (1 eq., 297 mg, 0.567 mmol) was coevaporated three times with anhydrous THF and dissolved in anhydrous pyridine (2.14 mL). Triphenylmethyl chloride (1.68 eq., 270 mg, 0.952 mmol) was added to the solution and the solution was then heated at 50 °C for 15 h. The mixture was then diluted with MeOH and concentrated under reduced pressure. The crude was next purified column

chromatography on a silica gel (Eluent: 6:4 to 8:2 EtOAc/PE + 1% Et₃N) affording **218** (314 mg, 0.41 mmol, 72 %) as a pale amorphous solid.

Mp = 139-142 °C

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -4$ (c 0.9, CHCl₃)

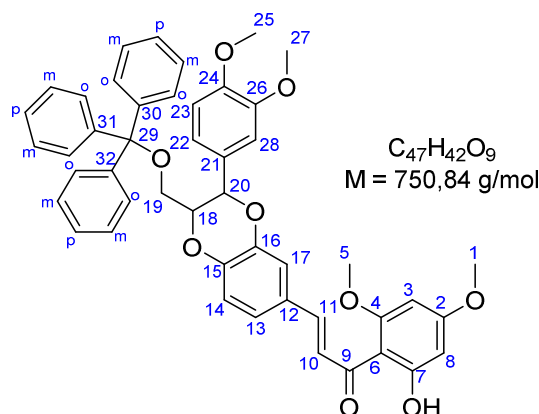
¹H- NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.76 (dd, J = 10.6, 2.9 Hz, 1H, H19a), 3.56 (dd, J = 10.6, 2.1 Hz, 1H, H19b), 3.70 (s, 3H, H27), 3.80 (s, 3H, H1), 3.86 (s, 3H, H25), 3.93 (s, 3H, H5), 4.05–4.13 (m, 2H, H18, OH), 4.47 (ddd, J = 12.2, 5.7, 1.3 Hz, 1H, H10), 4.98 (d, J = 12.2 Hz, 1H, H11), 5.29 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H20), 6.08–6.15 (m, 2H, H8, H3), 6.69 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H_{Ar}), 6.81–6.87 (m, 2H, H_{Ar}), 7.13 (d, J = 3.5 Hz, 2, H_{Ar}), 7.17–7.30 (m, 10H, H_{Ar}), 7.43 (d, J = 8.1 Hz, 6H, H_{Ar})

¹³C- NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 55.9 (C25, C27), 56.1, 56.4 (C1, C5), 63.1 (C19), 72.8 (C10), 76.7 (C20), 77.9 (C18), 83.1 (C11), 86.7 (C29), 93.4, 93.8 (C3, C8), 103.1 (C6), 110.4 (C17), 110.1 (C14), 116.6 (C13), 117.5 (C^{III}_{Ar}), 120.4 (C^{III}_{Ar}), 121.2 (C^{III}_{Ar}), 123.9 (C12), 127.2, 127.9, 128.8 (C^{IV}_{Ar} Trityl), 129.6 (C21), 143.8 (C30, C31, C32), 144.1 (C^{IV}_{Ar}), 144.7 (C^{IV}_A), 149.1 (C26), 149.4 (C24), 162.3 (C^{IV}_{Ar}), 165.1 (C7), 167.1 (C^{IV}_{Ar}), 191.0 (C9)

IR (CHCl₃) ν_{max} : 3439, 2935, 1674, 1608, 1574, 1508, 1449, 1259, 1215, 1158, 1109, 1027, 912, 816, 730, 703, 633 cm⁻¹

HRMS (ESI) m/z [M+H]⁺ calcd for C₄₇H₄₃O₁₀ 767.2851; Found 767.2807.

Compound 219



Compound **218** (1 eq., 95.2 mg, 0.124 mmol) was dissolved in dry toluene (0.53 mL). PPh₃ (1.53 eq., 49.7 mg, 0.189 mmol), pyridine (1 eq., 0.01 mL, 0.124 mmol) and iodine (0.524 eq., 16.5 mg, 0.065 mmol) were successively added. The solution was heated to 60 °C for 28 h. After completion, the reaction was cooled to room temperature and diluted with toluene. The mixture was washed with a Na₂S₂O₃ saturated aqueous solution and aqueous and organic phase were separated. Brown residue was dissolved with CH₂Cl₂ and this new organic phase was then washed with Na₂S₂O₃ sat. solution. Aqueous phases were gathered and extracted three times with CH₂Cl₂. Organic phases were gathered and dried with Na₂SO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (EtOAc/PE 3:7 +1% Et₃N) to afford deoxygenated product **219** (45.5 mg, 0.0606 mmol, 49 %) as a yellow foam.

Mp = 155-160 °C

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -2$ (c 0.8, CHCl₃)

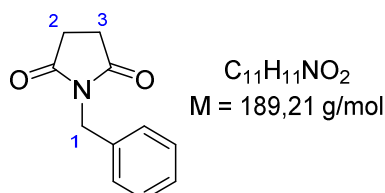
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.80 (dd, *J* = 10.8, 3.2 Hz, 1H, H19a), 3.55 (dd, *J* = 10.8, 2.4 Hz, 1H, H19b), 3.70 (s, 3H, OMe), 3.83 (s, 3H, H1), 3.87 (s, 3H, OMe), 3.90 (s, 3H, H5), 4.17 (dt, *J* = 8.0, 2.6 Hz, 1H, H18), 5.27 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H20), 5.96 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H3), 6.11 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H8), 6.74 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H23), 6.85–6.90 (m, 2H, H28, H22), 7.08 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H14), 7.20–7.24 (m, 4H, H13, H_{para}), 7.25–7.29 (m, 6H, H_{ortho}), 7.30 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H17), 7.40–7.45 (m, 6H, H_{meta}), 7.76 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H, H11 or H10), 7.80 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H, H10 or H11), 14.39 (s, 1H, OH)

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 55.7, 55.9, 56.0, 56.1 (C1, C5, C25, C27), 63.0 (C19), 76.9 (C20), 78.2 (C18), 86.8 (C29), 91.3 (C3), 93.9 (C8), 106.5 (C6), 110.6 (C28), 111.2 (C23), 116.6 (C17), 117.6 (C14), 120.3 (C22), 123.3 (C13), 125.8 (C10), 127.2 (C_{para}), 127.9 (C_{ortho}), 128.4 (C21), 128.7 (C_{meta}), 129.3 (C12), 142.6 (C11), 143.7 (C30, C31, C32), 144.2 (C16), 145.9 (C15), 149.1 (C24), 149.6 (C26), 162.6 (C4), 166.2 (C2), 168.5 (C7), 192.6 (C9)

IR (CHCl₃) $\nu_{\max}$: 2933, 1618, 1581, 1558, 1503, 1263, 1217, 1157, 1114, 1029, 817, 749, 701, 632 cm⁻¹

HRMS (ESI) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₄₇H₄₃O₉ 751.2902; Found 751.2902.

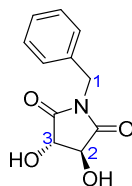
1-Benzylpyrrolidine-2,5-dione (221)



Substrate **220** (1 eq., 115 mg, 0.521 mmol) was dissolved in dry toluene (2.22 mL) at room temperature. Then, PPh₃ (3 eq., 410 mg, 1.56 mmol), dry pyridine (2 eq., 82.4 mg, 0.0842 mL, 1.04 mmol) and iodine (0.512 eq., 67.7 mg, 0.267 mmol) were added. The solution was heated under reflux for 6 h. The mixture was diluted with toluene and Na₂S₂O₃ was added. Organic and aqueous phase were separated. The organic phase was dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated to dryness. The obtained crude was purified by column chromatography on silica gel (EtOAc/PE 4:6). 1-Benzylpyrrolidine-2,5-dione **221** (69.6 mg, 0.368 mmol, 71 %) was obtained as a white solid. Analytical data are in accordance with those reported in literature.^[514]

Mp = 102 °C

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.63 (s, 4H, H2, H3), 4.87 (s, 2H, H1), 7.17–7.27 (m, 3H, H_{Ar}), 7.29–7.35 (m, 2H, H_{Ar}).

Compounds **222trans** and **222cis**Diol **222trans** pure

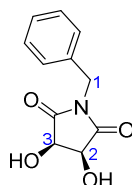
Chemical Formula: $C_{11}H_{11}NO_4$
Molecular Weight: 221,21 g/mol

Benzylamine (1 eq., 0.301 mL, 2.75 mmol) and (2R,3R)-2,3-dihydroxybutanedioic acid (1 eq., 413 mg, 2.75 mmol) were refluxed in xylene (23.3 mL) overnight with a Dean Stark apparatus. The reaction mixture was cooled to ambient temperature and resulting crystalline product was filtered off. After successive washing with portions of hexane, crude was dissolved in acetone and crude product was recrystallized from ethanol to give product **222trans** (0.34 g, 1.55 mmol, 56 %) as pale-yellow solid. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[480]

¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ_H 4.36-4.42 (m, 2H, H2 and H3), 4.53 (d, J = 15.0 Hz, 1H, H1a), 4.59 (d, J = 15.0 Hz, 1H, H1b), 6.27-6.32 (m, 2H, 2 x OH), 7.23-7.37 (m, 5H, H_{Ar})

Mixture of **222trans** and **222cis**

Benzylamine (1 eq., 0.3 mL, 2.74 mmol) and (2R,3S)-2,3-dihydroxybutanedioic acid (1 eq., 411 mg, 2.74 mmol) were refluxed in xylene (23.3 mL) for 17h with a Dean Stark apparatus. The reaction mixture was cooled to ambient temperature and resulting crystalline product was filtered off. After successive washing with portions of hexane **222trans** and **222cis** (0.548 g, 2.48 mmol, 90 %) were obtained as beige powder in an equimolar ratio.

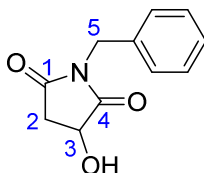
Diol **222cis** pure

Chemical Formula: $C_{11}H_{11}NO_4$
Molecular Weight: 221,21 g/mol

To a stirred solution of N-methylmorpholine n-oxide (1.24 eq., 1.35 g, 11.1 mmol) and OsO₄ (0.682 %, 0.0786 M, 0.78 mL, 0.0613 mmol) in a mixture of acetone (8.5 mL) and deionized water (1.7 mL) was added N-benzylmaleimide (1 eq., 1.7 g, 8.99 mmol). The mixture was stirred at 45°C for 24h. After the reaction mixture was cooled to room temperature, Na₂SO₃ (mass = 1/3 of substrate 3g of Na₂SO₃ for 10g of substrate) was added and stirred for 30 min, filtered through celite and rinsed with EtOAc. The filtrate was concentrated under reduced pressure and extracted with EtOAc (3 times). The combined organic extracts were dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure, affording a deep brown gum that was allowed to granulate for 4h at room temperature. No granulation occurred. Flask was placed in the fridge overnight. No granulation again. The brown oil never formed granulates. Purification on column chromatography (Eluent 6:4 AE/PE) was performed affording **222** (0.21 g, 0.95 mmol, 11%). Analytical data of **222cis** were in accordance with those reported in literature.^[481]

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ_{H} 4.42 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H, H1), 4.55 (s, 2H, H2 and H3), 6.00-6.05 (m, 2H, 2 x OH), 7.21-7.34 (m, 5H, H_{Ar})

N-Benzylmalimide ($\pm$)-223



Chemical Formula: C₁₁H₁₁NO₃

Molecular Weight: 205,21 g/mol

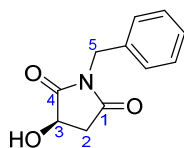
General procedure was followed using **222cis** (1 eq., 94.7 mg, 0.428 mmol). The reaction was heated under reflux for 7 h. The obtained residue was purified by column chromatography on silica gel (PE/EtOAc 6:4 to 5:5) to afford ($\pm$)-**223** (45.2 mg, 0.22 mmol, 51 %). Analytical data are in accordance with those reported in literature.^[516]

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.68 (d, $J = 18.2$, 4.8 Hz, 1H, H2a), 3.05 (dd, $J = 18.2$, 8.5 Hz, 1H, H2b), 3.84 (s, 1H, OH), 4.59 (dd, $J = 8.5$, 4.8 Hz, 1H, H3), 4.65 (s, 2H, H5), 7.25-7.39 (m, 5H, H_{Ar}).

Compounds (+)-223 and 221

Diol **222trans** (1 eq., 153 mg, 0.696 mmol) was solubilised in toluene (3.0 mL) at room temperature. Then, PPh₃ (1.5 eq., 274 mg, 1.05 mmol), pyridine (1 eq., 0.056 mL, 0.70 mmol) and finally iodine (0.504 eq., 89 mg, 0.351 mmol) were added. The solution was heated to reflux for 8 hours. The solution was diluted with toluene and Na₂S₂O₃ was added. Organic and aqueous phase were separated. Organic phase was dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (Eluent 4:6 AE/PE to 6:4 AE/PE) to afford **221** (47.2 mg, 0.249 mmol, 36 %) and (+)-**223** (60.7 mg, 0.296 mmol, 43 %). Analytical data were in accordance with those reported in literature.

Compounds (+)-223



Chemical Formula: C₁₁H₁₁NO₃

Molecular Weight: 205,21 g/mol

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_{H} 2.67 (dd, $J = 18.3$, 4.8 Hz, 1H, H2a), 3.05 (dd, $J = 18.4$, 8.3 Hz, 1H, H2b), 4.09 (br s, 1H, OH), 4.60 (dd, $J = 8.3$, 5.0 Hz, 1H, H3), 4.61-4.70 (m 2H, H5), 7.24-7.39 (m, 5H, H_{Ar})

Compounds ($\pm$)-223 and 221

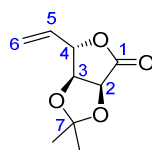
Diol **222cis** (1 eq., 94.7 mg, 0.428 mmol) was dissolved in toluene (1.8 mL). PPh₃ (3 eq., 337 mg, 1.29 mmol), pyridine (2.0 eq., 0.07 mL, 0.865 mmol) and finally I₂ (0.5 eq., 55 mg, 0.22 mmol) were successively added. The reaction was then heated to reflux for 7 hours. The reaction was diluted with

toluene, treated with $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Organic and aqueous phase were separated. Organic phase was dried over Na_2SO_4 , filtered and evaporated under reduced pressure. The crude residue was purified by chromatography column on silica gel (Eluent: 4:6 to 1:1 AE/PE) affording (**$\pm$**)-**223** (45 mg, 0.22 mmol, 51%) and **221** (9 mg, 0.05 mmol, 11%).

Compounds **224** and **225**

Substrate **195** (1 eq., 114 mg, 0.504 mmol) was solubilised in toluene (2.15 mL). PPh_3 (1.51 eq., 199 mg, 0.76 mmol), pyridine (1 eq., 0.041 mL, 0.50 mmol) and at the end iodine (0.505 eq., 64.6 mg, 0.255 mmol) were added. The solution was heated to reflux for 6h40. The solution was diluted with toluene and then washed with $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. The organic phase was then evaporated under reduced pressure. The crude was purified on column chromatography on silica gel (Eluent: 1:1 EtOAc/PE) affording **224** (13.0 mg, 0.050 mmol, 10 %) and **225** (7.1 mg, 0.038 mmol, 8 %).

Compound **225**



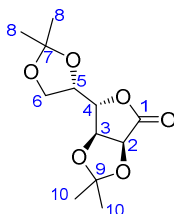
Chemical Formula: $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_4$
Molecular Weight: 184,19 g/mol

Analytical data of **225** were in accordance with those reported in literature.^[517]

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1.40 (s, 3H, CH_3), 1.49 (s, 3H, CH_3), 4.80 (dd, $J = 5.2, 3.6$ Hz, 1H, H3), 4.83 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, H2), 4.89 (ddt, $J = 7.3, 3.6, 0.9$ Hz, 1H, H4), 5.46 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H H6a), 5.53 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H, H6b), 6.00 (ddd, $J = 17.3, 10.5, 7.3$ Hz, 1H, H5)

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 26.1 (CH_3), 26.9 (CH_3), 76.3 (C2), 77.9 (C3), 80.2 (C4), 114.7 (C7), 121.2 (C6), 130.2 (C5)

Compound **224**



Chemical Formula: $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_6$
Molecular Weight: 258,27 g/mol

Analytical data of **224** were in accordance with those reported in literature.^[517]

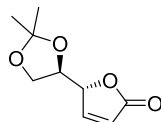
^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1.38 (s, 3H, H8), 1.39 (s, 3H, H8'), 1.467 (s, 3H, H10), 1.472 (s, 3H, H10'), 3.79-3.85 (m, 1H, H6a), 4.19-4.25 (m, 1H, H6b), 4.39-4.48 (m, 2H, H4 and H5), 4.74 (dd, $J = 5.7, 3.4$ Hz, 1H, H3), 4.84 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H, H2)

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 25.3, 26.0 (C8 and C8'), 26.8, 26.9 (C10 and C10'), 65.3 (C6), 75.4 (C5), 75.9 (C3), 76.2 (C2), 81.0 (C4), 110.6 (C7), 114.9 (C9), 173.0 (C1)

Compounds 226 and 227

Substrate **195** (1 eq., 103 mg, 0.456 mmol) was solubilised in toluene (1.9 mL). PPh_3 (1.5 eq., 180 mg, 0.687 mmol), pyridine (1 eq., 0.037 mL, 0.46 mmol) and at the end iodine (0.51 eq., 58.6 mg, 0.231 mmol) were added. The solution was heated to reflux for 7h. The solution was diluted with toluene and then washed with $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. The organic phase was pink. The organic phase was dried over Na_2SO_4 , filtered and then evaporated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (Eluent: 6:3 PE/EtOAc) affording **226** (5.42 mg, 0.027 mmol, 6 %) and **227** (20.1 mg, 0.11 mmol, 24 %).

2,3-Dideoxy-5,6-*O*-(1-isopropylidene)-D-ascorbic acid (**227**)

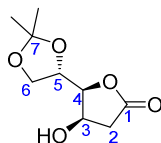


Chemical Formula: $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_4$
Molecular Weight: 184,19 g/mol

Analytical data of **227** were in accordance with those reported in literature.^[518]

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1.34 (s, 3H, CH_3), 1.41 (s, 3H, CH_3), 3.82 (dd, J = 8.9, 5.4 Hz, 1H), 4.08 (dd, J = 8.8, 6.7 Hz, 1H), 4.41 (ddd, J = 6.6, 5.5, 3.7 Hz, 1H), 5.08 (m, J = 1.9 Hz, 1H), 6.22 (dd, J = 5.8, 2.0 Hz, 1H), 7.46 (dd, J = 5.7, 1.5 Hz, 1H)

2-deoxy-5,6-*O*-(1-isopropylidene)-D-ascorbic acid (**226**)



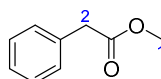
Chemical Formula: $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_5$
Molecular Weight: 202,21 g/mol

Analytical data of **226** were in accordance with those reported in literature.^[519]

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1.33 (s, 3H, CH_3), 1.40 (s, 3H, CH_3), 2.59 (d, J = 5.5 Hz, 2H, H2), 3.81 (dd, J = 8.5, 7.1 Hz, 1H, H6a), 4.11 (dd, J = 8.5, 7.1 Hz, 1, H6b), 4.29 (t, J = 5.6 Hz, 1H, H4), 4.49-4.55 (m, 2H, H3 and H5), 5.82 (d, J = 5.3 Hz, 1H, OH)

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 25.4, 26.4 (2 x CH_3), 38.4 (C2), 65.6 (C6), 67.6 (C3), 74.6 (C5), 83.6 (C4), 110.0 (C7), 175.3 (C1)

Methyl 2-phenylacetate (**229**)

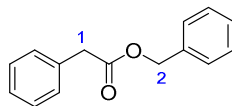


Chemical Formula: $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2$
Molecular Weight: 150,18 g/mol

General procedure for dehydroxylation was followed starting from methyl mandelate **228** (1 eq., 184 mg, 1.11 mmol) with a reaction time of 15 h. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (100 Pentane) affording **229** (34 mg, 0.226 mmol, 20%) as a smelly oil in mixture with triphenylphosphine oxide, after distillation of collected fractions.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 3.65 (s, 2H, H₂), 3.71 (s, 3H, H₁), 7.26-7.36 (m, 5H, H_{Ar})

Benzyl 2-phenylacetate (**231**)



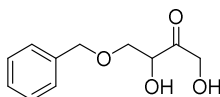
Chemical Formula: $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_2$
Molecular Weight: 226,28 g/mol

General procedure for dehydroxylation was followed starting from Benzyl (R)-(-)-mandelate **230** (1 eq., 153 mg, 0.625 mmol) but using 1 eq. of I_2 (1eq., 159 mg, 0.63 mmol) instead of 0.5, with a reaction time of 46 h. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (Eluent: 95:5 PE/EtOAc) affording **231** (45.8 mg, 0.202 mmol, 32 %) as translucent oil.

R_f (product) = 0.4 (95:5 PE/AE)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 3.67 (s, 2H, H₂), 5.13 (s, 2H, H₁), 7.29-7.32 (m, 10H, H_{Ar})

4-(Benzyloxy)-1,3-dihydroxybutan-2-one (**232**)

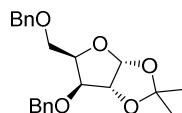


Chemical Formula: $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_4$
Molecular Weight: 210,23

LiOAc (3 eq., 898 mg, 8.72 mmol) was dissolved in H_2O (1.30 mL). (2E)-dihydroxybut-2-enedioic acid (1.5 eq., 892 mg, 4.36 mmol) was added portion wise and the resulting mixture was stirred for 5 minutes. The homogeneous solution was diluted with Dioxane (0.87 mL) and Benzyloxyacetaldehyde (1 eq., 0.42 mL, 2.9 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 16 hours at room temperature at air. After the reaction was complete, the mixture was poured into 50 mL half concentrated NH_4Cl solution and extracted three times with EtOAc. The combined organic phases were dried over MgSO_4 and the volatiles were removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (Eluent: 85:15 PE/iPrOH + 0.1% H_2O) to give **232** (97.5 mg, 0.464 mmol, 16 %). Analytical data of **232** were in accordance with those reported in literature.^[489]

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ_{H} 3.68 (dd, J = 10.2, 3.7 Hz, 1H), 3.76 (dd, J = 10.3, 4.4 Hz, 1H), 4.36 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 4.45-4.51 (m, 2H), 4.51-4.58 (m, 2H), 7.23-7.38 (m, 5H)

3,5-Di-*O*-benzyl-1,2-*O*-isopropylidene - α -D-xylofuranose **234**



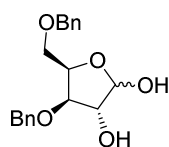
Chemical Formula: $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_5$
Molecular Weight: 370,45 g/mol

To a suspension of NaH (3.4 eq., 1.44 g, 0.0361 mol) and TBAI (0.1 eq., 0.392 g, 0.0011 mol) in anhydrous THF (46 mL) was added 1,2-*O*-isopropylidene- α -D-xylofuranose (**233**) (1 eq., 2.02 g,

0.011 mol) in THF (4 mL) slowly at 0°C, and the mixture was stirred for 20 min at the same temperature and then for 30 min at room temperature. BnBr (2.18 eq., 3.96 g, 2.77 mL, 0.0232 mol) in anhydrous THF (2 mL) was added and the mixture was stirred at room temperature for 18 hours. The reaction mixture was quenched with water and extracted with ethyl acetate (100 mL). The organic layer was washed with brine (100 mL), dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (8:2 PE/EtOAc) affording **234** (2.95 g, 7.8 mmol, 75%). Analytical data of **234** were in accordance with those reported in literature.^[472]

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_{H} 1.38 (s, 3H, CH₃), 1.56 (s, 3H, CH₃), 3.79-3.89 (m, 2H), 4.05 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 4.49 (td, J = 6.1, 3.2 Hz, 1H), 4.53-4.61 (m, 2H), 4.65-4.75 (m, 3H), 6.01 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 7.32-7.43 (m, 10H).

3,5-Di-*O*-benzyl- α,β -D-xylofuranose (**235**)

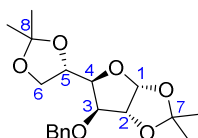


Chemical Formula: C₁₉H₂₂O₅
Molecular Weight: 330,38 g/mol

REACTION PERFORMED BY LUIS GUILLERMO

A solution of **234** (1 eq., 2.88 g, 7.77 mmol) in THF (4 mL) and HCl (11.6 eq., 6 M, 15 mL, 90 mmol) was stirred at room temperature for 19 hours. The mixture was extracted with EtOAc and the organic phase was washed with brine and dried over Na₂SO₄. Evaporation of the solvents followed by column chromatography on silica gel (Eluent 6:4 PE/EtOAc) afforded **235** (1.4 g, 4,06 mmol, 52%) as a mixture of anomers (A:B, 2:1). Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[520]

3-*O*-Benzyl-1,2 :5,6-di-*O*-isopropylidene- α -D-glucofuranose (**237**)



Chemical Formula: C₁₉H₂₆O₆
Molecular Weight: 350,41 g/mol

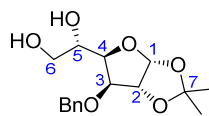
REACTION PERFORMED BY FABIEN STAUFFERT

To a solution of diacetone-D-glucose (20.0 g, 76.84 mmol) in dry DMF (240 mL) at 0 °C was added portionwise NaH (2.5 es., 7.80 g, 195.02 mmol, 60 % on mineral oil) and the reaction mixture was stirred at room temperature for 1 h. BnBr (1.5 eq., 13.8 mL, 115.36 mmol) was added and the mixture was kept stirring at room temperature for 4 h. For quenching, MeOH (30 mL) was slowly added. The solvent was then evaporated under reduced pressure. The residue was diluted with Et₂O and water., the organic layer was separated, and the aqueous phase was extracted with Et₂O twice. The combined organic layers were washed successively with sat. NaHCO₃ and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by flash column chromatography (Eluent: 5:95 to 2:8 AE/PE) to afford **237** (26.55 g, 100%) as a yellow oil. Analytical data of **237** were in accordance with those reported in literature.^[521]

R_f (product) = 0.6 (2:8 EtOAc/PE)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ_{H} 1.31 (s, 3H, CH₃), 1.38 (s, 3H, CH₃), 1.43 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 4.00 (dd, J = 8.7, 5.9 Hz, 1H, H6a), 4.02 (d, J = 2.9 Hz, 1H, H3), 4.12 (dd, J = 8.7, 6.2 Hz, 1H, H6b), 4.15 (dd, J = 7.7, 3.1 Hz, 1H, H4), 4.37 (ddd, J = 7.7, 6.2, 5.9 Hz, 1H, H5), 4.59 (d, J = 3.7 Hz, 1H, H2), 4.63 (d, J = 11.9 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.69 (d, J = 11.9 Hz, 1H, OCH₂Ph), 5.90 (d, J = 3.7 Hz, 1H, H1), 7.27-7.35 (m, 5H, H_{Ar})

3-*O*-Benzyl-1,2-*O*-isopropylidene- α -D-glucofuranose (**238**)



Chemical Formula: C₁₆H₂₂O₆
Molecular Weight: 310,35 g/mol

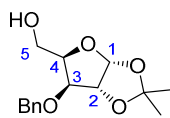
REACTION PERFORMED BY FABIEN STAUFFERT

Compound **237** (13.46 g, 38.41 mmol) was dissolved in a mixture of AcOH and water (1:1, 40 mL) and the solution was heated at 45 °C for 19 h. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was dissolved in EtOAc and washed with sat. NaHCO₃ until neutral. The aqueous layers were extracted with EtOAc and the combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by flash column chromatography (Eluent: 4:6 to 6:4 EtOAc/PE) to afford **238** (10.18 g, 85%) as a colorless oil. Analytical data of **238** were in accordance with those reported in literature.^[522]

R_f (product) = 0.35 (7:3 EtOAc/PE)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ_{H} 1.32 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 2.12 (dd, J = 6.5, 5.7 Hz, 1H, OH), 2.52 (d, J = 6.2 Hz, 1H, OH), 3.69 (ddd, J = 11.5, 5.7, 5.6 Hz, 1H, H6a), 3.81 (ddd, J = 11.5, 6.5, 3.4 Hz, 1H, H6b), 4.03 (dddd, J = 7.4, 6.0, 5.6, 3.4 Hz, 1H, H5), 4.10 (d, J = 3.3 Hz, 1H, H3), 4.13 (dd, J = 7.4, 3.3 Hz, 1H, H4), 4.54 (d, J = 11.9 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.63 (d, J = 3.7 Hz, 1H, H2), 4.74 (d, J = 11.9 Hz, 1H, OCH₂Ph), 5.94 (d, J = 3.7 Hz, 1H, H1), 7.28-7.41 (m, 5H, H_{Ar})

3-*O*-Benzyl-1,2-*O*-isopropylidene- α -D-xylofuranose (**239**)



Chemical Formula: C₁₅H₂₀O₅
Molecular Weight: 280,32 g/mol

REACTION PERFORMED BY FABIEN STAUFFERT

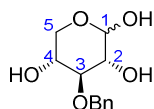
Compound **238** (16.81 g, 54.17 mmol) was dissolved in a mixture of H₂O and MeOH (1:1, 230 mL) then NaIO₄ (1.2 eq., 13.44 g, 62.83 mmol) was added to the solution. The reaction mixture was stirred at room temperature for 1 h 30, and then ethylene glycol (1 eq., 3 mL, 53.80 mmol) was added, followed by additional stirring for 20 min. The mixture was diluted with cold MeOH (300 mL), the resulting white precipitate was filtered off and the filtrate was concentrated under reduced pressure. This was repeated once.

The aldehyde was then dissolved in MeOH (180 mL) and NaBH₄ (1.1 eq., 2.19 g, 57.96 mmol) was added at 0 °C. The reaction mixture was stirred at 0 °C for 40 min, and then quenched by addition of AcOH (3.6 mL). The solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in DCM and washed with sat. NaHCO₃. The aqueous layer was extracted with DCM. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure to afford **239** (15.15 g, 99%). Analytical data of **239** were in accordance with those reported in literature.^[523]

R_f (product) = 0.6 (7:3 EtOAc/PE)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 1.33 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 2.08 (br s, 1H, OH), 3.86 (dd, J = 12.0, 4.7 Hz, 1H, H5a), 3.95 (dd, J = 12.0, 5.2 Hz, 1H, H5b), 4.02 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H3), 4.28 (ddd, J = 5.2, 4.7, 3.5 Hz, 1H, H4), 4.49 (d, J = 11.9 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.64 (d, J = 3.9 Hz, 1H, H2), 5.99 (d, J = 3.8 Hz, 1H, H1), 7.29-7.39 (m, 5H, H_{Ar})

3-*O*-Benzyl- α,β -D-xylopyranose (**240**)

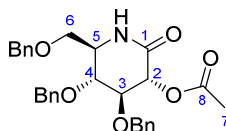


Chemical Formula: C₁₂H₁₆O₅
Molecular Weight: 240,26 g/mol

A solution of **239** (1 eq., 1.1 g, 3.9 mmol) in H₂SO₄ (2.1 eq., 1 M, 8.25 mL, 8.25 mmol) and THF (13.0 mL) was heated to 60 °C for 16.5 h. The reaction mixture was then neutralized with aqueous NH₄OH solution and concentrated under reduced pressure. The resultant precipitate was washed with MeOH (3x) and the combined filtrates were concentrated under reduced pressure to afford **240** (0.76 g, 3.17 mmol, 81%) as a white solid. Analytical data of **240** were in accordance with those reported in literature.^[509]

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD): δ_H 3.19-3.37 (m, 7.5H, H3 β , H4 β and H5 β a), 3.49 (dd, J = 8.6, 3.4 Hz, 1H, H2 α), 3.52-3.77 (m, 6.5H, H3 α , H4 α and H5 α), 3.84 (dd, J = 11.4, 5.5 Hz, 2.5H, H5 β b), 4.44 (d, J = 7.1 Hz, 2.5H, H1 β), 4.88-4.91 (m, 7H, OCH₂Ph), 5.03 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H1 α), 7.22-7.48 (m, 17.5H, H_{Ar})

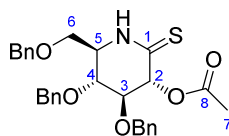
3,4,6-Tri-*O*-benzyl-2-*O*-acetoxy-D-glucono- δ -lactam (**242**)



Chemical Formula: C₂₉H₃₁NO₆
Molecular Weight: 489,57 g/mol

To a solution of lactam **212** in Ac₂O (11.5 mL) was added pyridine (11.5 mL). The solution was stirred for 4h at room temperature. Water was added slowly (14 mL) at 0 °C. The aqueous phase was extracted with DCM (3 times). The combined organic layers were then washed with an aqueous solution of HCl (2M, 2 x 4 mL) and saturated NaHCO₃ solution, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated. Product **242** (440 mg, 0.90 mmol, 100%) was obtained as pure compound without purification. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[524]

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 2.06 (s, 3H, C(O)CH₃), 3.24 (dd, J = 9.1, 7.6 Hz, 1H, H5), 3.52-3.65 (m, 3H, H4 et H6), 4.0 (t, J = 9.4 Hz, 1H, H3), 4.41-4.49 (m, 2H OCH₂Ph), 4.54 (d, J = 11.2 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.73 (d, J = 11.6 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.81 (d, J = 11.4 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.87 (d, J = 11.2 Hz, 1H, OCH₂Ph), 5.28 (d, J = 9.5 Hz, 1H, H2), 6.07 (br s, 1H, NH), 7.18-7.38 (m, 15H, H_{Ar})

3,4,6-Tri-*O*-benzyl-2-*O*-acetyl-D-glucono- δ -thiolactam (**243**)Chemical Formula: C₂₉H₃₁NO₅S

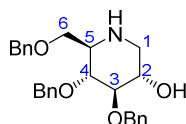
Molecular Weight: 505.63 g/mol

Lactam **242** (1 eq., 366 mg, 0.749 mmol), lawesson's reagent (2 eq., 625 mg, 1.5 mmol) and pyridine (0.5 eq., 29.6 mg, 0.0303 mL, 0.374 mmol) in toluene (11.1 mL) were stirred at room temperature for 16h. Diethyl ether was added and the organic layer was washed with sat. aq. NaHCO₃ solution. Aqueous layer was extracted with Et₂O (3X). Organic layer was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtrated and evaporated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (8:2 PE/EtOAc) to afford **243** (270 mg, 0.535 mmol, 71 %) as a yellow solid. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[524]

R_f (product) = 0.21 (8:2 PE/EtOAc)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_{H} 2.10 (s, 3H, H7), 3.28 (dd, J = 9.4, 7.5 Hz, 1H, H5), 3.55-3.70 (m, 3H, H4, H6), 3.93 (t, J = 8.0 Hz, 1H, H3), 4.42-4.49 (m, 3H, OCH₂Ph), 4.76 (s, 2H, OCH₂Ph), 4.77 (d, J = 10.9 Hz, OCH₂Ph), 5.59 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H2), 7.14-7.40 (m, 15H, H_{Ar}), 8.10 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_{C} 21.2 (C7), 58.4 (C5), 69.0 (C6), 73.6, 74.6, 74.7 (3 x OCH₂Ph), 76.1 (C2), 76.7 (C3), 79.9 (C4), 128.1, 128.1, 128.2, 128.37, 128.43, 128.6, 128.7, 128.8 (C_{Ar}), 137.0, 137.2, 137.7 (C^{IV}_{Ar}), 170.0 (C8), 198.0 (C1)

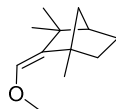
3,4,6-Tri-*O*-benzyl-1,5-dideoxy-1,5-imino-D-glucitol (**245**)Chemical Formula: C₂₇H₃₁NO₄

Molecular Weight: 433.55 g/mol

LiBH₄ (4.2 eq., 12.0 mg, 0.54 mmol) was dissolved in diethyl ether (2.4 mL). **243** (1 eq., 65.9 mg, 0.13 mmol) was dissolved in diethyl ether (1.0 mL) and added dropwise to LiBH₄ solution at 0 °C. The solution turned to opaque yellow. Solution was then stirred at room temperature for 1h30. MeOH was added; solution turned translucent instantly. The solution was filtered and rinsed with Et₂O and MeOH. Mixture was evaporated under reduced pressure. The crude was then dissolved in DCM and washed with brine. Organic phase was dried with Na₂SO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (Eluent: 6:4 AE/PE, 8:2 AE/PE, 100AE and 9:1 DCM/MeOH) affording **245** (26.6 mg, 0.06 mmol, 47%) as a white solid. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[459]

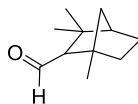
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_{H} 2.51 (dd, J = 12.4, 10.4 Hz, 1H, H6a), 2.76 (ddd, J = 9.1, 5.5, 2.7 Hz, 1H, H2), 3.18 (dd, J = 12.4, 5.2 Hz, 1H, H6b), 3.34-3.45 (m, 2H, H3 and H4), 3.52-3.62 (m, 2H, H5 and H1a), 3.68 (dd, J = 9.1, 2.8 Hz, 1H, H1b), 4.44-4.57 (m, 3H, OCH₂Ph), 4.76 (d, J = 11.5 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.84 (d, J = 10.9 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.98 (d, J = 11.5 Hz, 1H, OCH₂Ph), 7.20-7.42 (m, 15H, H_{Ar})

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_{C} 49.6 (C6), 60.1 (C2), 70.1 (C1), 72.2 (C5), 73.6, 75.1, 75.4 (3 x OCH₂Ph), 80.5 (C3), 88.1 (C4), 127.9-128.8 (C^{III}_{Ar}), 138.0, 138.3, 138.8 (C^{IV}_{Ar})

Compound **247** and **248**

Chemical Formula: C₁₂H₂₀O
Molecular Weight: 180,29 g/mol

In a round bottom flask was added diisopropylamine (3.49 eq., 3.6 mL, 25.5 mmol) followed by anhydrous THF (55.4 mL) at room temperature under dry nitrogen. n-Butyl Lithium (3.2 eq., 1.26 M, 18.5 mL, 23.3 mmol) was added dropwise to form the desired LDA (3.2 eq., 23.3 mmol) *in situ*. The stirred solution was cooled between -70 and -78°C and (Methoxymethyl)diphenylphosphine (3.16 eq., 5.31 g, 23.1 mmol) was added portionwise over 30 min. The dry ice acetone bath was replaced with an ice-water NaCl bath, and the reaction mixture was allowed to warm between -9 and -12°C and maintained at this temperature for 20 min. The reaction mixture was then cooled to between -70 to -78°C, and a solution of (S)-(+)-fenchone **246** (1 eq., 1.1 g, 7.3 mmol) in anhydrous THF (4.1 mL) was added dropwise. The reaction mixture was stirred for 3h and allowed to slowly warm to room temperature overnight. After 72h the red-orange suspension was cooled to between -70 and -80°C and water was added dropwise. The dry-ice bath was removed and the reaction was stirred at room temperature for 1h. Reaction mixture was extracted with EtOAc 3 times. The organic phase was washed with brine, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Diethyl ether was added, and the suspension was filtered. The filtrate was concentrated and purified by flash chromatography over silica gel (Eluent: 100 hexane) to afford **247** (0.826 g, 4.58 mmol, 63 %). The presence of the olefin and of the methoxy group were checked on ¹H-NMR (olefin H 5.58 ppm, OMe 3.45 ppm); (olefin' H 5.57 ppm, OMe 3.48 ppm).

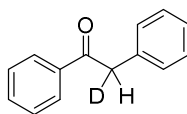


Chemical Formula: C₁₁H₁₈O
Molecular Weight: 166,26 g/mol

To a rapidly stirred solution of **247** (1 eq., 0.80 g, 4.5 mmol) in CHCl₃ (27 mL) was added a solution of trichloroacetic acid (3.96 eq., 1.8 mL, 17.7 mmol) in water (16 mL) at room temperature. The reaction mixture was stirred vigorously at room temperature for 6h. After 3h the reaction turns slightly pink. The solution was transferred to a separatory funnel with DCM, and the layers were separated. The organic phase was washed with saturated NaHCO₃ twice, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure to give **248** (713 mg, 4.3 mmol, 96 %) in an 77:23 mixture of *endo:exo* diastereomers. Analytical data of **247** and **248** were in accordance with those reported in literature.^[372]

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H major isomer, 1.08 (s, 3H), 1.10 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 1.24-1.32 (m, 2H), 1.53-1.58 (m, 2H), 1.78-1.84 (m, 3H), 1.86 (dd, *J* = 3.7, 2.4 Hz, 1H), 9.84 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H); minor isomer, 1.01 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 1.09 (s, 3H), 9.59 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H)

Compound 250



Chemical Formula: $C_{14}H_{11}DO$
Molecular Weight: 197,26 g/mol

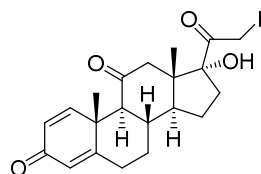
Benzoin (1 eq., 450 mg, 2.12 mmol) was dissolved in the minimum amount of anhydrous THF (8.31 mL). CD_3OD (8.67 eq., 0.75 mL) was then added and the mixture was stirred at room temperature for 15 min. The solution was then evaporated under reduced pressure and the procedure was reiterated twice. 1H -NMR showed complete incorporation after 3 additions of CD_3OD .

Deuterated benzoin **249** (1 eq., 108 mg, 0.498 mmol) was solubilised in toluene (2.1 mL) at room temperature. PPh_3 , polymer bound (1.95 eq., 254 mg, 0.97 mmol), pyridine (1 eq., 0.040 mL, 0.50 mmol) and then iodine (0.508 eq., 64.2 mg, 0.253 mmol) were added to the mixture. The reaction was then stirred under reflux for 14h. The reaction was diluted with toluene and filtered to remove the PPh_3 on PS. PPh_3 on PS was rinsed with DCM and MeOH, and then the filtrate was evaporated under reduced pressure. The residue was then diluted with DCM and washed with $Na_2S_2O_3$. Organic phase was dried over Na_2SO_4 , filtered and evaporated to dryness. No purification was needed and **250** was obtained (29.5 mg, 0.15 mmol, 30 %) with 42 % of deuterium incorporation.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ_H 4.19 (t, J = 2.2 Hz, 1.1H), 4.22 (s, 2H), 7.15-7.23 (m, 8H), 7.23-7.29 (m, 5.3H), 7.36-7.41 (m, 5.6H), 7.46-7.51 (m, 2.7H), 7.92-7.97 (m, 5H)

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{14}H_{12}DO$ $[M+H]^+$ 198.1024 found 198.1013

21-iodoprednisone (253)



Chemical Formula: $C_{21}H_{25}IO_4$
Molecular Weight: 468,33 g/mol

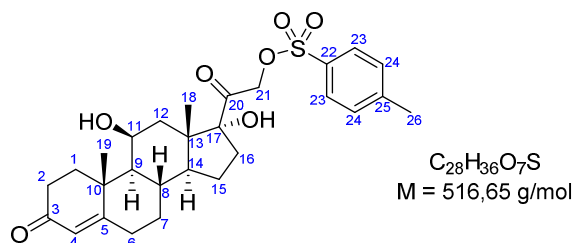
PPh_3 (1.4 eq., 255 mg, 0.973 mmol) and imidazole (1.49 eq., 70.5 mg, 1.04 mmol) were added to a solution of Prednisone (1 eq., 248 mg, 0.693 mmol) in THF (5.1 mL) under argon atmosphere. I_2 (0.598 eq., 105 mg, 0.414 mmol) was then added at 0°C. The solution was stirred at 0°C for 40 min. The reaction mixture was diluted with EtOAc and washed with sat. $Na_2S_2O_3$ solution, water and brine. The organic phase was dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (6:4 PE/EtOAc) to afford **253** (26.7 mg, 0.057 mmol, 8 %) as an oil and **207** (200 mg, 0.585 mmol, 84 %) as white solid.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1.20 (s, 3H, H18), 1.43 (s, 3H, H19), 1.45-1.60 (m, 2H, H15a and H17a), 1.72-1.83 (m, 1H, H16a), 1.90-2.18 (m, 5H, H8, H9, H7b, H15a and H12a), 2.34-2.44 (m, 2H, H6a and H14), 2.51 (td, J = 13.7, 5.2 Hz, 1H, H6b), 2.80-2.90 (m, 2H, H12b and H16b), 3.14 (s, 1H, OH), 3.91 (d, J = 10.9 Hz, 1H, H21a), 4.16 (d, J = 10.9 Hz, 1H, H21b), 6.08 (t, J = 1.7 Hz, 1H, H4), 6.21 (dd, J = 10.1, 2.0 Hz, 1H, H2), 7.67 (d, J = 10.3 Hz, 1H, H1)

^{13}C -NMR (100MHZ, CDCl_3): δ 3.9 (C31), 16.3 (C18), 18.8 (C19), 23.6 (C15), 32.2 (C7), 33.6 (C6), 35.9 (C16), 36.2 (C8), 42.4 (C10), 49.2 (C14), 49.8 (C12), 51.5 (C13), 60.1 (C9), 88.9 (C17), 124.6 (C4), 127.6 (C2), 155.4 (C1), 166.7 (C5), 186.5 (C3), 204.7 (C20), 208.9 (C11)

ESI-MS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{IO}_4$ 469.08; Found 469.08.

21-Tosylprednisone (**254**)



To a solution of hydrocortisone **204** (1 eq., 198 mg, 0.537 mmol) in CH_2Cl_2 (3.69 mL) was added distilled Et_3N (3 eq., 163 mg, 0.224 mL, 1.61 mmol), tosyl chloride (1.51 eq., 154 mg, 0.81 mmol) and DMAP (0.035 eq., 2.3 mg, 0.0188 mmol). The reaction was stirred under N_2 at room temperature for 3.5 h. Solution was white opaque at the beginning and translucent after 1 h 45. The reaction was quenched by addition of H_2O . The mixture was extracted with CH_2Cl_2 , washed with brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under vacuum. The crude was purified by flash chromatography (eluent 1:1 PE/EtOAc) and then recrystallised with MeOH to give **254** (241 mg, 0.468 mmol, 87 %) as a white solid. Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[525]

Mp = 108-109 °C

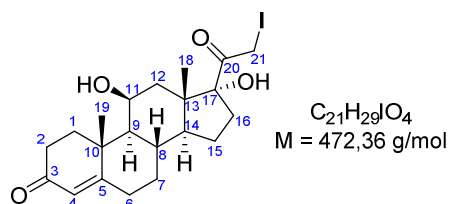
Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +139$ (c 1.05, CHCl_3)

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 0.91 (s, 3H, H18), 1.00 (dd, $J = 11.2, 3.2 \text{ Hz}$, 1H, H9), 1.06 (s, 1H, (OH)-C11), 1.08-1.17 (m, 1H, $\text{H}7^a$), 1.38-1.50 (m, 5H, H19, $\text{H}15^a$, $\text{H}16^a$), 1.54 (dd, $J = 13.9, 2.6 \text{ Hz}$, 1H, $\text{H}12^a$), 1.60-1.69 (m, 1H, H14), 1.77-1.91 (m, 2H, $\text{H}1^a$, $\text{H}16^b$), 1.96-2.12 (m, 4H, H8, $\text{H}7^b$, $\text{H}12^b$, OH-C17), 2.15-2.28 (m, 2H, $\text{H}6^a$, $\text{H}1^b$), 2.36 (dt, $J = 16.8, 4.3 \text{ Hz}$, 1H, $\text{H}2^a$), 2.42-2.54 (m, 5H, H26, $\text{H}6^b$, $\text{H}2^b$), 2.76 (tt, $J = 13.7, 3.4 \text{ Hz}$, 1H, $\text{H}15^b$), 4.46 (s, 1H, H11), 4.88 (d, $J = 17.4 \text{ Hz}$, 1H, $\text{H}21^a$), 5.10 (d, $J = 17.5 \text{ Hz}$, $\text{H}21^b$), 5.68 (s, 1H, H4), 7.36 (d, $J = 8.2 \text{ Hz}$, 2H, H24), 7.85 (d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, H23)

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 17.4 (C18), 21.2 (C19), 21.8 (C26), 23.7 (C16), 31.5 (C8), 32.1 (C6), 32.9 (C7), 34.0 (C2), 32.1 (C15), 35.2 (C1), 39.3 (C10), 40.0 (C12), 47.8 (C13), 52.1 (C14), 56.1 (C9), 68.3 (C11), 71.5 (C21), 90.0 (C17), 122.6 (C4), 128.2 (C23), 130.0 (C24), 133.2 (C22), 145.3 (C25), 172.0 (C5), 199.6 (C3), 202.4 (C20)

IR (CHCl_3) ν_{max} : 3507, 2931, 1735, 1654, 1356, 1190, 1176, 1022, 754, 662, 554 cm^{-1}

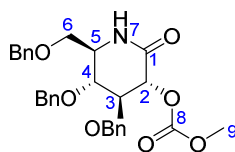
HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{O}_7\text{S}$ ($\text{M} + \text{H}^+$) 517.2255 found 517.2267

21-Iodohydrocortisone **255**

To a solution of **254** (1.0 eq., 194 mg, 0.412 mmol) in acetone (9.08 mL) was added NaI (5.03 eq., 352 mg, 0.0964 mL, 2.35 mmol). The mixture was heated to reflux for 20 h under argon atmosphere. The solution turned to yellow translucent when NaI was added. Gleaming white solid was formed in suspension in the yellow/orange solution. After 20 h of refluxing, the mixture was cooled to room temperature and filtered. The filtrate was concentrated and dissolved with EtOAc, washed with H₂O, brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under vacuum to give **255** after purification on column chromatography with silica gel (4:6 EtOAc/PE). Analytical data were in accordance with those reported in literature.^[525]

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.99 (s, 3H, H18), 1.01-1.06 (m, 2H, H9 and (OH)-C11), 1.09-1.17 (m, 1H, H7^a), 1.44 (s, 3H, H19), 1.46-1.66 (m, 4H, H16^a, H15^a, H12^a), 1.68-1.79 (m, 1H, H14), 1.81-1.93 (m, 2H, H1^a, H16^b), 1.96-2.10 (m, 3H, H8, H7^b, H12^b), 2.14-2.21 (m, 1H, H1^b), 2.21-2.28 (m, 1H, H6^a), 2.31-2.41 (m, 2H, H2^a, OH-C17), 2.42-2.54 (m, 2H, H2^b, H6^b), 2.77-2.86 (m, 1H, H15^b), 3.99 (d, $J = 11.0 \text{ Hz}$, 1H, H21^a), 4.18 (d, $J = 11.1 \text{ Hz}$, 1H, H21^b), 4.46-4.50 (m, 1H, H11), 5.68 (s, 1H, H4).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 18.2 (C18), 21.2 (C19), 24.1 (C6), 31.6 (C8), 32.2 (C6), 32.8 (C7), 34.0 (C2), 35.2 (C15), 35.4 (C1), 39.3 (C10), 40.0 (C12), 47.9 (C13), 51.5 (C14), 56.1 (C9), 68.5 (C11), 90.0 (C17), 122.6 (C4), 171.9 (C5), 199.5 (C3), 205.4 (C20).

3,4,6-Tri-*O*-benzyl-2-*O*-methyl carbonate-D-glucono- δ -lactam **256**

Chemical Formula: $C_{29}H_{31}NO_7$
Molecular Weight: 505,57 g/mol

Lactam **219** (1 eq., 105 mg, 0.236 mmol) was dissolved in toluene (1.0 mL), PPh₃ (1.53 eq., 94.8 mg, 0.361 mmol) then pyridine (1 eq., 18.7 mg, 0.0191 mL, 0.236 mmol) and finally iodine (0.517 eq., 31 mg, 0.0304 mL, 0.122 mmol) were added at room temperature. Methyl cyanofomate (3 eq., 0.06 mL, 0.71 mmol) was added and the mixture was heated to reflux for 8h. Solution was cooled to room temperature, Na₂S₂O₃ was added. Aqueous phase was extracted with DCM. Organic phases were gathered and dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated to dryness under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography on silica gel (Eluent 4:6 to 6:4 EtOAc/PE) to afford **256** (66 mg, 0.13 mmol, 55%) as an oil.

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +104$ (c 0.47, CHCl₃)

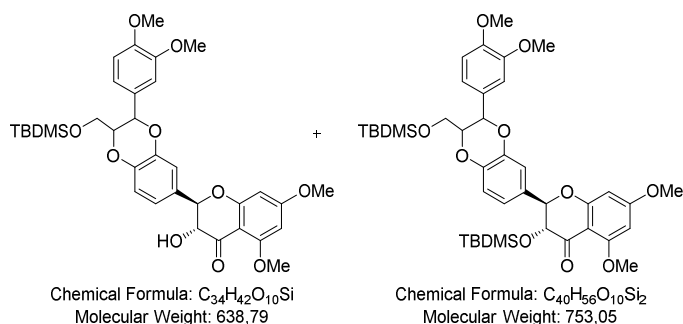
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 3.18-3.27 (m, 1H, H6^b), 3.52-3.65 (m, 3H, H4, H5, H6^a), 3.82 (s, 3H, H9), 4.03 (t, $J = 9.4 \text{ Hz}$, 1H, H3), 4.43 (d, $J = 11.9 \text{ Hz}$, 1H, OCH₂Ph), 4.46 (d, $J = 11.9 \text{ Hz}$, 1H, OCH₂Ph), 4.54 (d, $J = 11.1 \text{ Hz}$, 1H, OCH₂Ph), 4.78 (d, $J = 11.4 \text{ Hz}$, 1H, OCH₂Ph), 4.81 (d, $J = 11.4 \text{ Hz}$, 1H, OCH₂Ph), 4.89 (d, $J = 11.2 \text{ Hz}$, 1H, OCH₂Ph), 5.12 (d, $J = 9.5 \text{ Hz}$, 1H, H2), 6.00 (s, 1H, NH), 7.16-7.39 (m, 15H, H_{Ar})

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 54.3 (C5), 55.5 (C9), 70.1 (C6), 73.5, 75.17, 75.25 (3 x OCH₂Ph), 75.8 (C2), 76.7 (C4), 80.4 (C3), 128.0-123.7 (C^{III}_{Ar}), 137.2 (C^{IV}_{Ar}), 137.4 (C^{IV}_{Ar}), 137.8 (C^{IV}_{Ar}), 155.4 (C8), 166.5 (C1)

IR (CHCl₃) ν_{max} : 3031, 2922, 1757, 1692, 1454, 1442, 1266, 1106, 738, 698 cm⁻¹

HRMS (ESI) m/z calcd for C₂₉H₃₁NO₇ (M+Na⁺) 528.1993 found 528.1953

Compound 258 and 259



Powdered AgNO₃ (1 eq., 48.5 mg, 0.285 mmol) was added to a solution of **260** (1 eq., 149 mg, 0.285 mmol) and TBDMSCl (1.2 eq., 53.2 mg, 0.0611 mL, 0.342 mmol) in pyridine (2.03 mL), and the mixture was stirred at 45°C for 2 h. After 4 h 30 of reaction, TBDMSCl (0.8 eq., 35.5 mg, 0.0408 mL, 0.228 mmol) was added. After 23 h of reaction, TBDMSCl (0.5 eq., 22.2 mg, 0.143 mmol), AgNO₃ (1 eq., 48.5 mg, 0.285 mmol) and imidazole (2.5 eq., 48.5 mg, 0.713 mmol) were added. The heating was stopped, and the reaction was then stirred at room temperature. After 30 h of reaction, TBDMSCl (3 eq., 128 mg, 0.856 mmol) was added. Reaction was complete and stopped after 6 days of reaction. The mixture was then diluted with ice-cold water. The precipitate was filtered off and dissolved with EtOAc. The organic phase was dried over anhydrous Na₂SO₄ and evaporated to dryness. Flash column chromatography on silica gel (From 7:3 to 1:1 PE/EtOAc) afforded monosilylated compound **258** (95.6 mg, 0.15 mmol, 52 %) and disilylated compound **259** (73.5 mg, 0.0976 mmol, 34 %).

Compound 259

Rf (product 259) = 0.4 (3:7 EtOAc/PE); 0.7 (4:6 EtOAc/PE); 0.9 (6:4 EtOAc/PE)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ -0.26 (s, 3H, H32a), -0.23 (s, 3H, H32a), 0.06 (s, 3H, H29a), 0.069 (s, 3H, H29a), 0.071 (s, 3H, H29b), 0.08 (s, 3H, H29b), 0.15 (s, 6H, H32b), 0.64 (s, 9H, H30 or H33), 0.65 (s, 9H, H30 or H33), 0.89 (s, 9H, H30 or H33), 0.90 (s, 9H, H30 or H33), 3.57 (dd, J = 11.8, 2.9 Hz, 2H, H19a), 3.78 (s, 3H, H1), 3.79 (s, 3H, H1), 3.84-3.87 (m, 2H, H19b), 3.87-3.90 (m, 18H, H25, H27 and H5), 3.92 (dt, J = 7.8, 2.5 Hz, 1H, H18), 3.98 (dt, J = 7.6, 2.7 Hz, 1H, H18), 4.28 (s, J = 11.2 Hz, 1H, H10), 4.31 (d, J = 11.2 Hz, 1H, H10), 4.96-5.04 (m, 4H, H20 and H11), 6.07-6.11 (m, 4H, H3 and H8), 6.87-7.12 (m, 12 H, H_{Ar})

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 18.35, 18.37 (C34 and C31), 25.6, 25.9 (C30 and C33), 62.3 (C19), 75.9, 76.0 (C20), 76.04, 76.1 (C10), 78.6, 78.7 (C18), 83.5, 83.6 (C11), 93.32, 93.34, 93.39, 93.43 (C8 and C3), 104.4 (C6), 110.3, 110.5, 111.1, 111.2, 116.1, 116.7, 166.8, 166.9, 120.01, 120.03, 121.0, 121.2 (6 C^{III}_{Ar}) 129.23, 129.26 (C21), 130.5, 130.6 (C12), 143.7, 143.8 (C16), 144.18, 144.20 (C15), 149.1, 149.37, 149.39 (C24 and C26), 162.39, 162.40 (C2 or C4), 164.5 (C7), 165.9 (C2 or C4), 190.2 (C9).

IR (CHCl₃) ν_{max} : 2929, 2855, 1691, 1608, 1575, 1508, 1462, 1422, 1360, 1256, 1236, 1214, 1111, 1155, 1029, 995, 834, 778, 732 cm⁻¹.

HRMS (ESI) m/z [M+H]⁺ calcd for C₄₀H₅₇O₁₀Si₂ 753.3525; Found 753.3485.

Compound 258

Rf (product 258) = 0.05 (3:7 EtOAc/PE); 0.2 (4:6 EtOAc/PE); 0.5 (6:4 EtOAc/PE)

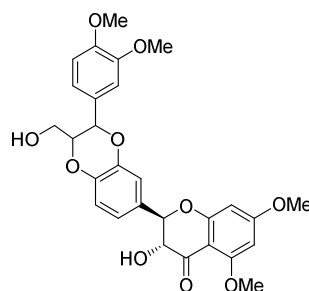
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.09 (s, 6H, H29a), 0.10 (s, 6H, H29b), 0.92 (s, 18H, H30), 3.58 (dd, *J* = 11.9, 2.8 Hz, 2H, H19a), 3.817 (s, 3H, H1), 3.823 (s, 3H, H1), 3.86-3.89 (m, 2H, H19b), 3.89-3.94 (m, 18H, H25, H27 and H5), 3.96-4.01 (m, 2H, H18), 4.10 (d, *J* = 1.7 Hz, 2H, OH), 4.44 (dd, *J* = 5.9, 1.7 Hz, 1H, H10), 4.47 (dd, *J* = 5.8, 1.7 Hz, 1H, H10), 4.96 (d, *J* = 12.1 Hz, 2H, H11), 5.05 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H20), 6.10-6.15 (m, 4H, H3 and H8), 6.89-7.26 (m, 12H, H_{Ar})

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 18.3 (C31), 25.8 (C30), 55.7, 55.8, 55.9, 56.2 (C25, C27, C1 and C5), 62.3 (C19), 72.5, 72.6 (C10), 76.04, 76.08 (C20), 78.57, 78.58 (C18), 82.96, 82.98 (C11), 93.2 (C3), 93.62, 93.64 (C8), 102.9 (C6), 110.3, 111.0, 116.2, 116.5, 117.1, 117.2, 120.1, 120.8, 121.2 (6 C^{III}_{Ar}), 129.1 (C21), 129.2, 129.3 (C12), 143.8, 143.9 (C16), 144.5, 144.6 (C15), 149.1 (C26), 149.3 (C24), 162.1 (C2 or C4), 164.9 (C7), 167.0 (C2 or C4), 190.8 (C9)

IR (CHCl₃) ν_{max} : 2930, 2856, 1674, 1607, 1573, 1508, 1461, 1423, 1255, 1215, 1158, 1140, 1108, 1026, 987, 833, 778, 731 cm⁻¹.

HRMS (ESI) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₃₄H₄₃O₁₀Si 639.2614; Found 639.2620.

Compound 260



Chemical Formula: C₂₈H₂₈O₁₀
Molecular Weight: 524.52

To a solution containing Silibinin (1 eq., 410 mg, 0.852 mmol) in acetone (14.4 mL) under an argon atmosphere, dimethyl sulfate (9.19 eq., 987 mg, 0.742 mL, 7.83 mmol) followed by K₂CO₃ (3.5 eq., 412 mg, 2.98 mmol) were added. The reaction was heated at 50°C and allowed to stir for 24 hours. Product is yellow under 366 nm light; another spot below is blue. The reaction was diluted with water and evaporated. When all the acetone was removed, the aqueous phase was extracted with EtOAc. The organic phase was dried over Na₂SO₄. Filtration, removal of solvent under reduced pressure and column chromatography of the residue on silica gel (Eluent: 75:25 EtOAc/PE) gave **260** (394 mg, 0.751 mmol, 88 %) as a white solid. Analytical data of **260** were in accordance with those reported in literature.^[526]

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 3.51-3.58 (m, 1H, H19a), 3.74-3.82 (m, 12H, H27, H25, H5, H1), 4.17-4.23 (m, 1H, H19b), 4.38 (dt, *J* = 11.1, 4.7 Hz, 1H, H18), 4.94-5.00 (m, 2H, H10 and OH), 5.05 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, H20), 5.35 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H, H11), 6.16-6.19 (m, 1H, H3 or H8), 6.21-6.24 (m, 1H, H3 or H8), 6.95-7.10 (m, 6H, H_{Ar})

ENZYMATIC TESTS

Material

Volumes were taken by different mechanical micropipettes from Sartorius brand: 100-1000 μL , 10-100 μL , 0.5-10 μL and one multi-channels 10-100 μL .

Optical densities of 96-Well plates were measured thanks to Versamax microplate reader.

The *p*-nitrophenyl- α -D-mannopyranoside and α -mannosidase (EC 3.2.1.24, from Jack bean, $K_m = 2.0 \text{ mM}$ pH 5.5) were purchased from Sigma Aldrich.

General procedure for inhibition assay

Inhibitory potencies are determined spectrophotometrically measuring the residual hydrolytic activities of the mannosidase against *p*-nitrophenyl- α -D-mannopyranoside in the presence of inhibitor. All kinetics are performed between $25^\circ\text{C} - 27^\circ\text{C}$ and started by enzyme addition. Each well are filled with a volume of 100 μL containing substrate (40 μL), enzyme (10 μL), acetate buffer and inhibitor (50 μL). Inhibitor concentration varies from 0 to a few K_i . After 30-40 min incubation, the reaction is quenched by addition of 100 μL of 1M Na_2CO_3 . The absorbance of the resulting mixture is determined at 405 nm and compared with blanks. Blanks do not contain enzyme nor inhibitor. K_i values are determined in duplicate or triplicate, using the LB graphical method. When inhibitors are only partially soluble in water, they are dissolved in half DMSO and half buffer for concentrated mother solutions. Previously, the stability of the enzymes in presence of various concentrations of DMSO was controlled and the enzyme activity was unaffected.

The 96-well plates were prepared as followed (Figure 80):

- $[S]$ is constant in a same column
- $[I]$ is constant in a same row
- A blank column is done for each $[S]$

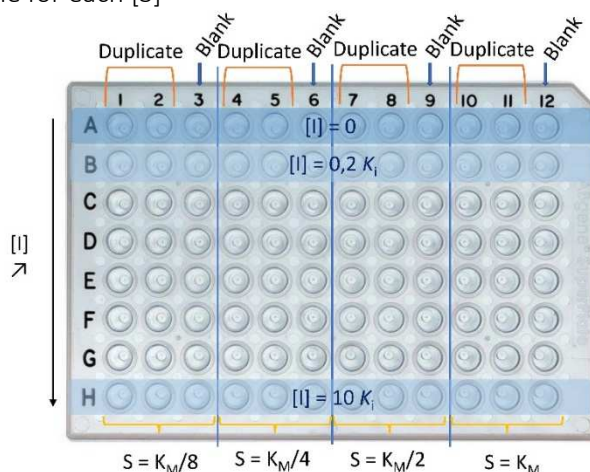


Figure 80 Plates preparation for inhibition tests

Linear regressions were analysed by Microsoft Excel and nonlinear regressions were analysed by Graph Pad Prism 7.0.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] P. Compain, O. R. Martin, Eds., *Iminosugars*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, **2007**.
- [2] R. A. Dwek, *Chemical Reviews* **1996**, *96*, 683–720.
- [3] H. S. Bennett, *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* **1963**, *11*, 14–23.
- [4] J. Šebestík, M. Reiniš, J. Ježek, in *Biomedical Applications of Peptide-, Glyco- and Glycopeptide Dendrimers, and Analogous Dendrimeric Structures*, Springer Vienna, Vienna, **2012**, pp. 23–27.
- [5] D. L. Zechel, S. G. Withers, *Accounts of Chemical Research* **2000**, *33*, 11–18.
- [6] A. Helenius, M. Aebi, *Annual Review of Biochemistry* **2004**, *73*, 1019–1049.
- [7] S. Inouye, T. Tsuruoka, T. Nida, *The Journal of Antibiotics* **1966**, *19*, 288–292.
- [8] S. Inouye, T. Tsuruoka, T. Ito, T. Niida, *Tetrahedron* **1968**, *24*, 2125–2144.
- [9] M. Isobe, S. Sakamura, *Agricultural and Biological Chemistry* **1974**, *38*, 1111–1112.
- [10] A. Welter, J. Jadot, G. Dardenne, M. Marlier, J. Casimir, *Phytochemistry* **1976**, *15*, 747–749.
- [11] M. Yagi, T. Kouno, T. Aoyagi, H. Murai, *Nippon Kagaku Kaishi* **1976**, *50*, 571–572.
- [12] S. Murao, S. Miyata, *Agricultural and Biological Chemistry* **1980**, *44*, 219–221.
- [13] H. Paulsen, *Angewandte Chemie International Edition* **1966**, *5*, 495–510.
- [14] H. Paulsen, I. Sangster, K. Heyns, *Chemische Berichte* **1967**, *100*, 802–815.
- [15] N. Asano, H. Kizu, K. Oseki, E. Tomioka, K. Matsui, M. Okamoto, M. Baba, *Journal of Medicinal Chemistry* **1995**, *38*, 2349–2356.
- [16] S. V. Evans, L. E. Fellows, T. K. M. Shing, G. W. J. Fleet, *Phytochemistry* **1985**, *24*, 1953–1955.
- [17] L. E. Fellows, E. A. Bell, D. G. Lynn, F. Pilikiewicz, I. Miura, K. Nakanishi, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1979**, 977.
- [18] L. D. Hohenschutz, E. A. Bell, P. J. Jewess, D. P. Leworthy, R. J. Pryce, E. Arnold, J. Clardy, *Phytochemistry* **1981**, *20*, 811–814.
- [19] R. Molyneux, L. James, *Science* **1982**, *216*, 190–191.
- [20] M. Iwami, O. Nakayama, H. Terano, M. Kohsaka, H. Aoki, H. Imanaka, *The Journal of Antibiotics* **1987**, *40*, 612–622.
- [21] R. J. Molyneux, M. Benson, R. Y. Wong, J. E. Tropea, A. D. Elbein, *Journal of Natural Products* **1988**, *51*, 1198–1206.
- [22] A. Goldmann, M.-L. Milat, P.-H. Ducrot, J.-Y. Lallemand, M. Maille, A. Lepingle, I. Charpin, D. Tepfer, *Phytochemistry* **1990**, *29*, 2125–2127.
- [23] T. Aoyagi, H. Suda, K. Uotani, F. Kojima, T. Aoyama, K. Horiguchi, M. Hamada, T. Takeuchi, *The Journal of Antibiotics* **1992**, *45*, 1404–1408.
- [24] G. Kusano, M. Shibano, D. Tsukamoto, *Heterocycles* **2002**, *57*, 1539.
- [25] R.-Y. Yan, H.-Q. Wang, J. Kang, R.-Y. Chen, *Carbohydrate Research* **2014**, *384*, 9–12.
- [26] A. Kato, Y. Hirokami, K. Kinami, Y. Tsuji, S. Miyawaki, I. Adachi, J. Hollinshead, R. J. Nash, J. L. Kiappes, N. Zitzmann, et al., *Phytochemistry* **2015**, *111*, 124–131.
- [27] G. Horne, F. X. Wilson, in *Progress in Medicinal Chemistry*, Elsevier, **2011**, pp. 135–176.
- [28] N. Asano, R. J. Nash, R. J. Molyneux, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1645–1680.
- [29] A. Mitrouk, N. Tountas, A. E. Raptis, R. J. Bauer, H. Schulz, S. A. Raptis, *Diabetic Medicine* **1998**, *15*, 657–660.
- [30] T. D. Butters, R. A. Dwek, F. M. Platt, *Chemical Reviews* **2000**, *100*, 4683–4696.
- [31] A. Markham, *Drugs* **2016**, *76*, 1147–1152.
- [32] D. P. Germain, D. A. Hughes, K. Nicholls, D. G. Bichet, R. Giugliani, W. R. Wilcox, C. Feliciani, S. P. Shankar, F. Ezgu, H. Amartino, et al., *New England Journal of Medicine* **2016**, *375*, 545–555.
- [33] E. R. Benjamin, J. J. Flanagan, A. Schilling, H. H. Chang, L. Agarwal, E. Katz, X. Wu, C. Pine, B. Wustman, R. J. Desnick, et al., *Journal of Inherited Metabolic Disease* **2009**, *32*, 424–440.
- [34] H. Lis, N. Sharon, *Chemical Reviews* **1998**, *98*, 637–674.
- [35] R. T. Lee, Y. C. Lee, *Glycoconjugate Journal* **2000**, *17*, 543–551.
- [36] Y. C. Lee, R. T. Lee, *Accounts of Chemical Research* **1995**, *28*, 321–327.
- [37] C. Fasting, C. A. Schalley, M. Weber, O. Seitz, S. Hecht, B. Kokscho, J. Dornedde, C. Graf, E.-W. Knapp, R. Haag, *Angewandte Chemie International Edition* **2012**, *51*, 10472–10498.
- [38] M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angewandte Chemie International Edition* **1998**, *37*, 2754–2794.
- [39] P. Compain, C. Decroocq, J. Iehl, M. Holler, D. Hazeldard, T. Mena Barragán, C. Ortiz Mellet, J.-F. Nierengarten, *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49*, 5753–5756.
- [40] M. L. Lepage, J. P. Schneider, A. Bodlener, A. Meli, F. De Riccardis, M. Schmitt, C. Tarnus, N.-T. Nguyen-Huynh, Y.-N. Francois, E. Leize-Wagner, et al., *Chemistry - A European Journal* **2016**, *22*, 5151–5155.
- [41] L. Ellgaard, A. Helenius, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2003**, *4*, 181–191.

- [42] I. Papp, C. Sieben, K. Ludwig, M. Roskamp, C. Böttcher, S. Schlecht, A. Herrmann, R. Haag, *Small* **2010**, *6*, 2900–2906.
- [43] M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angewandte Chemie International Edition* **1998**, *37*, 2754–2794.
- [44] C. A. Hunter, H. L. Anderson, *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48*, 7488–7499.
- [45] C. A. Schalley, Ed., *Analytical Methods in Supramolecular Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2012**.
- [46] J. P. McCoy, J. Varani, I. J. Goldstein, *Exp. Cell Res.* **1984**, *151*, 96–103.
- [47] R. Rísquez-Cuadro, J. M. García Fernández, J.-F. Nierengarten, C. Ortiz Mellet, *Chemistry - A European Journal* **2013**, *19*, 16791–16803.
- [48] G. Binnig, C. F. Quate, C. Gerber, *Physical Review Letters* **1986**, *56*, 930–933.
- [49] J. Stetefeld, S. A. McKenna, T. R. Patel, *Biophysical Reviews* **2016**, *8*, 409–427.
- [50] Y. Brissonnet, C. Ortiz Mellet, S. Morandat, M. I. Garcia Moreno, D. Deniaud, S. E. Matthews, S. Vidal, S. Šesták, K. El Kirat, S. G. Gouin, *Journal of the American Chemical Society* **2013**, *135*, 18427–18435.
- [51] S. Mirabella, G. D’Adamio, C. Matassini, A. Goti, S. Delgado, A. Gimeno, I. Robina, A. J. Moreno-Vargas, S. Šesták, J. Jiménez-Barbero, *et al.*, *Chemistry - A European Journal* **2017**, *23*, 14585–14596.
- [52] E. Howard, A. Cousido-Siah, M. L. Lepage, J. P. Schneider, A. Bodlenner, A. Mitschler, A. Meli, I. Izzo, H. A. Alvarez, A. Podjarny, *et al.*, *Angewandte Chemie International Edition* **2018**, *57*, 8002–8006.
- [53] M. Caron, A. Faure, *Revue Francaise de Transfusion et Immuno-hématologie* **1982**, *25*, 527–539.
- [54] J. J. Lundquist, E. J. Toone, *Chemical Reviews* **2002**, *102*, 555–578.
- [55] L. Kiessling, *Current Opinion in Chemical Biology* **2000**, *4*, 696–703.
- [56] C. R. Bertozzi, *Science* **2001**, *291*, 2357–2364.
- [57] V. Wittmann, R. J. Pieters, *Chemical Society Reviews* **2013**, *42*, 4492.
- [58] R. Visini, X. Jin, M. Bergmann, G. Michaud, F. Pertici, O. Fu, A. Pukin, T. R. Branson, D. M. E. Thies-Weesie, J. Kemmink, *et al.*, *ACS Chemical Biology* **2015**, *10*, 2455–2462.
- [59] M. Weber, A. Bujotzek, R. Haag, *The Journal of Chemical Physics* **2012**, *137*, 054111.
- [60] R. J. Pieters, *Organic & Biomolecular Chemistry* **2009**, *7*, 2013.
- [61] A. L. Banerjee, D. Eiler, B. C. Roy, X. Jia, M. K. Haldar, S. Mallik, D. K. Srivastava, *Biochemistry* **2005**, *44*, 3211–3224.
- [62] J. Bonzi, O. Bornet, S. Betzi, B. T. Kasper, L. K. Mahal, S. J. Mancini, C. Schiff, C. Sebban-Kreuzer, F. Guerlesquin, L. Elantak, *Nature Communications* **2015**, *6*, 6194–6206.
- [63] S. Thiemann, L. G. Baum, *Annual Review of Immunology* **2016**, *34*, 243–264.
- [64] M. Mammen, G. Dahmann, G. M. Whitesides, *Journal of Medicinal Chemistry* **1995**, *38*, 4179–4190.
- [65] D. Ponader, P. Maffre, J. Aretz, D. Pussak, N. M. Ninnemann, S. Schmidt, P. H. Seeberger, C. Rademacher, G. U. Nienhaus, L. Hartmann, *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136*, 2008–2016.
- [66] S. Choi, *Synthetic Multivalent Molecules: Concepts and Biomedical Applications*, Wiley, Hoboken, N.J., **2004**.
- [67] A. Lohse, K. B. Jensen, K. Lundgren, M. Bols, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **1999**, *7*, 1965–1971.
- [68] S. G. Gouin, *Chemistry - A European Journal* **2014**, *20*, 11616–11628.
- [69] P. Compain, A. Bodlenner, *ChemBioChem* **2014**, *15*, 1239–1251.
- [70] R. Rísquez-Cuadro, J. M. García Fernández, J.-F. Nierengarten, C. Ortiz Mellet, *Chemistry - A European Journal* **2013**, *19*, 16791–16803.
- [71] B. A. Johns, C. R. Johnson, *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 749–752.
- [72] I. McCort, M. Sanière, Y. Le Merrer, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 2693–2700.
- [73] T. Wennekes, R. J. B. H. N. van den Berg, K. M. Bongers, W. E. Donker-Koopman, A. Ghisaidoobe, G. A. van der Marel, A. Strijland, J. M. F. G. Aerts, H. S. Overkleeft, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 836–846.
- [74] H. N. Baris, I. J. Cohen, P. K. Mistry, *Pediatr Endocrinol Rev* **2014**, *12 Suppl 1*, 72–81.
- [75] A. T. van der Ploeg, A. J. Reuser, *The Lancet* **2008**, *372*, 1342–1353.
- [76] C. R. Kahn, *Diabetes* **1994**, *43*, 1066–1085.
- [77] J. Diot, M. I. García-Moreno, S. G. Gouin, C. Ortiz Mellet, K. Haupt, J. Kovensky, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 357–363.
- [78] K. Prime, G. Whitesides, *Science* **1991**, *252*, 1164–1167.
- [79] A. Dondoni, A. Marra, *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 1649–1652.
- [80] H. Kato, A. Yashiro, A. Mizuno, Y. Nishida, K. Kobayashi, H. Shinohara, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2001**, *11*, 2935–2939.
- [81] H. Kato, N. Kaneta, S. Nii, K. Kobayashi, N. Fukui, H. Shinohara, Y. Nishida, *Chemistry & Biodiversity* **2005**, *2*, 1232–1241.
- [82] C. Decroocq, D. Rodríguez-Lucena, V. Russo, T. Mena Barragán, C. Ortiz Mellet, P. Compain, *Chemistry - A European Journal* **2011**, *17*, 13825–13831.
- [83] M. Kanai, K. H. Mortell, L. L. Kiessling, *Journal of the American Chemical Society* **1997**, *119*, 9931–9932.
- [84] B. S. Gnanesh Kumar, G. Pohlentz, M. Schulte, M. Mormann, N. Siva Kumar, *Glycobiology* **2014**, *24*, 252–261.
- [85] E. Moreno-Clavijo, A. T. Carmona, A. J. Moreno-Vargas, L. Molina, D. W. Wright, G. J. Davies, I. Robina, *European Journal of Organic Chemistry* **2013**, 7328–7336.

- [86] C. Bonduelle, J. Huang, T. Mena-Barragán, C. Ortiz Mellet, C. Decroocq, E. Etamé, A. Heise, P. Compain, S. Lecommandoux, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 3350–3352.
- [87] D. Alvarez-Dorta, Y. Brissonnet, A. Saumonneau, D. Deniaud, J. Bernard, X. Yan, C. Tellier, F. Daligault, S. G. Gouin, *ChemistrySelect* **2017**, 2, 9552–9556.
- [88] J. F. Darby, J. Landström, C. Roth, Y. He, G. J. Davies, R. E. Hubbard, *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, 53, 13419–13423.
- [89] M. Sandbhor, M. Bhasin, D. T. Williams, M. Hsieh, S.-H. Wu, W. Zou, *Carbohydrate Research* **2008**, 343, 2878–2886.
- [90] Y. Brissonnet, S. Ladevèze, D. Tezé, E. Fabre, D. Deniaud, F. Daligault, C. Tellier, S. Šesták, M. Remaud-Simeon, G. Potocki-Veronese, et al., *Bioconjugate Chemistry* **2015**, 26, 766–772.
- [91] C. Matassini, M. Marradi, F. Cardona, C. Parmeggiani, I. Robina, A. J. Moreno-Vargas, S. Penadés, A. Goti, *RSC Advances* **2015**, 5, 95817–95822.
- [92] P. K. Mistry, M. D. Cappellini, E. Lukina, H. Özsan, S. Mach Pascual, H. Rosenbaum, M. Helena Solano, Z. Spigelman, J. Villarrubia, N. P. Watman, et al., *American Journal of Hematology* **2011**, 86, 110–115.
- [93] C. Mendre, B. Mouillac, *médecine/sciences* **2010**, 26, 627–635.
- [94] R. R. Wei, H. Hughes, S. Boucher, J. J. Bird, N. Guziewicz, S. M. Van Patten, H. Qiu, C. Q. Pan, T. Edmunds, *Journal of Biological Chemistry* **2011**, 286, 299–308.
- [95] C. Decroocq, D. Rodríguez-Lucena, K. Ikeda, N. Asano, P. Compain, *ChemBioChem* **2012**, 13, 661–664.
- [96] A. R. Sawkar, W.-C. Cheng, E. Beutler, C.-H. Wong, W. E. Balch, J. W. Kelly, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, 99, 15428–15433.
- [97] A. Joosten, C. Decroocq, J. de Sousa, J. P. Schneider, E. Etamé, A. Bodlenner, T. D. Butters, P. Compain, *ChemBioChem* **2014**, 15, 309–319.
- [98] J.-Q. Fan, *Trends in Pharmacological Sciences* **2003**, 24, 355–360.
- [99] E. Laigre, D. Hazelard, J. Casas, J. Serra-Vinardell, H. Michelakakis, I. Mavridou, J. M. F. G. Aerts, A. Delgado, P. Compain, *Carbohydrate Research* **2016**, 429, 98–104.
- [100] G. D’Adamio, C. Matassini, C. Parmeggiani, S. Catarzi, A. Morrone, A. Goti, P. Paoli, F. Cardona, *RSC Advances* **2016**, 6, 64847–64851.
- [101] Y. Rivera-Colón, E. K. Schutsky, A. Z. Kita, S. C. Garman, *Journal of Molecular Biology* **2012**, 423, 736–751.
- [102] P. Compain, C. Decroocq, A. Joosten, J. de Sousa, D. Rodríguez-Lucena, T. D. Butters, J. Bertrand, R. Clément, C. Boinot, F. Becq, et al., *ChemBioChem* **2013**, 14, 2050–2058.
- [103] S. J. F. Macdonald, K. G. Watson, R. Cameron, D. K. Chalmers, D. A. Demaine, R. J. Fenton, D. Gower, J. N. Hamblin, S. Hamilton, G. J. Hart, et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2004**, 48, 4542–4549.
- [104] T. Honda, S. Yoshida, M. Arai, T. Masuda, M. Yamashita, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2002**, 12, 1929–1932.
- [105] S. J. F. Macdonald, R. Cameron, D. A. Demaine, R. J. Fenton, G. Foster, D. Gower, J. N. Hamblin, S. Hamilton, G. J. Hart, A. P. Hill, et al., *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, 48, 2964–2971.
- [106] P. E. Goss, C. L. Reid, D. Bailey, J. W. Dennis, *Clin Cancer Res* **1997**, 3, 1077–1086.
- [107] I. Cenci di Bello, P. Dorling, B. Winchester, *Biochem. J.* **1983**, 215, 693–696.
- [108] D. Alvarez-Dorta, D. T. King, T. Legigan, D. Ide, I. Adachi, D. Deniaud, J. Désiré, A. Kato, D. Vocadlo, S. G. Gouin, et al., *Chemistry - A European Journal* **2017**, 23, 9022–9025.
- [109] R. Myerowitz, *Human Molecular Genetics* **2002**, 11, 1343–1351.
- [110] R. Wolfenden, X. Lu, G. Young, *Journal of the American Chemical Society* **1998**, 120, 6814–6815.
- [111] D. L. Zechel, S. G. Withers, *Acc. Chem. Res.* **2000**, 33, 11–18.
- [112] V. Lombard, H. Golaconda Ramulu, E. Drula, P. M. Coutinho, B. Henrissat, *Nucleic Acids Research* **2014**, 42, D490–D495.
- [113] B. Henrissat, G. Davies, *Current Opinion in Structural Biology* **1997**, 7, 637–644.
- [114] G. Davies, B. Henrissat, *Structure* **1995**, 3, 853–859.
- [115] L. Pauling, *Chemical & Engineering News* **1946**, 24, 1375–1377.
- [116] G. J. Davies, A. Planas, C. Rovira, *Accounts of Chemical Research* **2012**, 45, 308–316.
- [117] D. E. Koshland, *Biological Reviews* **1953**, 28, 416–436.
- [118] T. D. Heightman, M. Locatelli, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **1996**, 79, 2190–2200.
- [119] A. Varrot, M. Schüle, M. Pipelier, A. Vasella, G. J. Davies, *Journal of the American Chemical Society* **1999**, 121, 2621–2622.
- [120] T. D. Heightman, A. T. Vasella, *Angewandte Chemie International Edition* **1999**, 38, 750–770.
- [121] M. L. Sinnott, *Chemical Reviews* **1990**, 90, 1171–1202.
- [122] S. G. Withers, I. P. Street, *Journal of the American Chemical Society* **1988**, 110, 8551–8553.
- [123] A. White, D. Tull, K. Johns, S. G. Withers, D. R. Rose, *Nature Structural Biology* **1996**, 3, 149–154.
- [124] J. Gebler, N. R. Gilkes, M. Claeysens, D. B. Wilson, P. Béguin, W. W. Wakarchuk, D. G. Kilburn, R. C. Miller, R. A. Warren, S. G. Withers, *J. Biol. Chem.* **1992**, 267, 12559–12561.

- [125] P. Compain, O. R. Martin, Eds., *Iminosugars: From Synthesis to Therapeutic Applications*, J. Wiley, Chichester, West Sussex, England ; Hoboken, NJ, USA, **2007**.
- [126] M. K. Tong, G. Papandreou, B. Ganem, *Journal of the American Chemical Society* **1990**, *112*, 6137–6139.
- [127] B. Ganem, G. Papandreou, *Journal of the American Chemical Society* **1991**, *113*, 8984–8985.
- [128] R. Wolfenden, in *Methods in Enzymology*, Elsevier, **1977**, pp. 15–28.
- [129] Y.-K. Li, L. D. Byers, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* **1989**, *999*, 227–232.
- [130] Y. Blériot, T. Dintinger, A. Genre-Grandpierre, M. Padrines, C. Tellier, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1995**, *5*, 2655–2660.
- [131] B. Ganem, G. Papandreou, *Journal of the American Chemical Society* **1991**, *113*, 8984–8985.
- [132] V. Notenboom, S. J. Williams, R. Hoos, S. G. Withers, D. R. Rose, *Biochemistry* **2000**, *39*, 11553–11563.
- [133] M. Hrmova, V. A. Streltsov, B. J. Smith, A. Vasella, J. N. Varghese, G. B. Fincher, *Biochemistry* **2005**, *44*, 16529–16539.
- [134] A. Tankrathok, J. Iglesias-Fernández, R. J. Williams, S. Pengthaisong, S. Baiya, Z. Hakki, R. C. Robinson, M. Hrmova, C. Rovira, S. J. Williams, et al., *ACS Catalysis* **2015**, *5*, 6041–6051.
- [135] G. Speciale, A. J. Thompson, G. J. Davies, S. J. Williams, *Current Opinion in Structural Biology* **2014**, *28*, 1–13.
- [136] J. Iglesias-Fernández, L. Raich, A. Ardèvol, C. Rovira, *Chemical Science* **2015**, *6*, 1167–1177.
- [137] J. F. Stoddart, *Stereochemistry of Carbohydrates*, Wiley-Interscience, New York, **1971**.
- [138] D. Cremer, J. A. Pople, *Journal of the American Chemical Society* **1975**, *97*, 1354–1358.
- [139] V. M.-A. Ducros, D. L. Zechel, G. N. Murshudov, H. J. Gilbert, L. Szabó, D. Stoll, S. G. Withers, G. J. Davies, *Angewandte Chemie International Edition* **2002**, *41*, 2824–2827.
- [140] G. Sulzenbacher, C. Bignon, T. Nishimura, C. A. Tarling, S. G. Withers, B. Henrissat, Y. Bourne, *Journal of Biological Chemistry* **2004**, *279*, 13119–13128.
- [141] J. Zou, G. J. Kleywegt, J. Ståhlberg, H. Driguez, W. Nerinckx, M. Claeysens, A. Koivula, T. T. Teeri, T. A. Jones, *Structure* **1999**, *7*, 1035–1045.
- [142] K. Karaveg, A. Siriwardena, W. Tempel, Z.-J. Liu, J. Glushka, B.-C. Wang, K. W. Moremen, *Journal of Biological Chemistry* **2005**, *280*, 16197–16207.
- [143] F. Vallée, K. Karaveg, A. Herscovics, K. W. Moremen, P. L. Howell, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 41287–41298.
- [144] F. Grabnitz, M. Seiss, K. P. Rucknagel, W. L. Staudenbauer, *European Journal of Biochemistry* **1991**, *200*, 301–309.
- [145] J. Monod, G. Cohen-Bazire, M. Cohn, *Biochimica et Biophysica Acta* **1951**, *7*, 585–599.
- [146] B. Winchester, *Biochemical Society Transactions* **1984**, *12*, 522–524.
- [147] G. Z. Lederkremer, M. H. Glickman, *Trends in Biochemical Sciences* **2005**, *30*, 297–303.
- [148] M. Molinari, *Nature Chemical Biology* **2007**, *3*, 313–320.
- [149] T. Kuribara, M. Hirano, G. Speciale, S. J. Williams, Y. Ito, K. Totani, *ChemBioChem* **2017**, *18*, 1027–1035.
- [150] G. Z. Lederkremer, *Current Opinion in Structural Biology* **2009**, *19*, 515–523.
- [151] S. Pan, S. Wang, B. Utama, L. Huang, N. Blok, M. K. Estes, K. W. Moremen, R. N. Sifers, *Molecular Biology of the Cell* **2011**, *22*, 2810–2822.
- [152] R. Benyair, N. Ogen-Shtern, N. Mazkereth, B. Shai, M. Ehrlich, G. Z. Lederkremer, *Molecular Biology of the Cell* **2015**, *26*, 172–184.
- [153] M. K. Barker, D. R. Rose, *Journal of Biological Chemistry* **2013**, *288*, 13563–13574.
- [154] J. L. Kiappes, M. L. Hill, D. S. Alonzi, J. L. Miller, R. Iwaki, A. C. Sayce, A. T. Caputo, A. Kato, N. Zitzmann, *ACS Chemical Biology* **2018**, *13*, 60–65.
- [155] A. Herscovics, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **1999**, *1473*, 96–107.
- [156] A. E. Stütz, T. M. Wrodnigg, in *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Elsevier, **2016**, pp. 225–302.
- [157] J. J. Flanagan, B. Rossi, K. Tang, X. Wu, K. Mascioli, F. Donaudy, M. R. Tuzzi, F. Fontana, M. V. Cubellis, C. Porto, et al., *Human Mutation* **2009**, *30*, 1683–1692.
- [158] M. Venkatesan, D. A. Kuntz, D. R. Rose, *Protein Science* **2009**, *18*, 2242–2251.
- [159] R. Bedilu, K. A. Nummy, A. Cooper, R. Wevers, J. Smeitink, W. J. Kleijer, K. H. Friderici, *Molecular Genetics and Metabolism* **2002**, *77*, 282–290.
- [160] J. C. Dreyfus, L. Poenaru, H. Skala, *Experimental Eye Research* **1977**, *25*, 47–51.
- [161] A. E. Stütz, Ed., *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*, Wiley-VCH, Weinheim ; New York, **1999**.
- [162] G. Legler, in *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors* (Ed.: A.E. Stütz), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, FRG, **1998**, pp. 31–67.
- [163] H. Sarazin, S. Prudent, A. Defoin, C. Tarnus, *ChemistrySelect* **2017**, *2*, 1484–1490.
- [164] H. Fiaux, D. A. Kuntz, D. Hoffman, R. C. Janzer, S. Gerber-Lemaire, D. R. Rose, L. Juillerat-Jeanneret, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2008**, *16*, 7337–7346.
- [165] H. Fiaux, F. Popowycz, S. Favre, C. Schütz, P. Vogel, S. Gerber-Lemaire, L. Juillerat-Jeanneret, *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, *48*, 4237–4246.

- [166] H. Fiaux, C. Schütz, P. Vogel, L. Juillerat-Jeanneret, S. Gerber-Lemaire, *CHIMIA International Journal for Chemistry* **2006**, *60*, 185–189.
- [167] Y.-S. Tian, J.-E. Joo, B.-S. Kong, V.-T. Pham, K.-Y. Lee, W.-H. Ham, *The Journal of Organic Chemistry* **2009**, *74*, 3962–3965.
- [168] A. W. Carroll, K. Savasapun, A. C. Willis, M. Hoshino, A. Kato, S. G. Pyne, *The Journal of Organic Chemistry* **2018**, *83*, 5558–5576.
- [169] M.-P. Heck, S. P. Vincent, B. W. Murray, F. Bellamy, C.-H. Wong, C. Mioskowski, *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 1971–1979.
- [170] D. Hazelard, M. Lepage, J. Schneider, M. Pichon, P. Compain, F. Massicot, in *Carbohydrate Chemistry : Proven Synthetic Methods*, C. Vogel & P. Murphy Eds, CRC Press, **2017**, pp. 303–314.
- [171] E. Lindbäck, Ó. López, J. G. Fernández-Bolaños, S. P. A. Sauer, M. Bols, *Organic Letters* **2011**, *13*, 2908–2911.
- [172] T. Aoyagi, H. Suda, K. Uotani, F. Kojima, T. Aoyama, K. Horiguchi, M. Hamada, T. Takeuchi, *J. Antibiot.* **1992**, *45*, 1404–1408.
- [173] T. Aoyama, H. Naganawa, H. Suda, K. Uotan, T. Aoyagi, T. Takeuchi, *The Journal of Antibiotics* **1992**, *45*, 1557–1558.
- [174] T. M. Gloster, S. Roberts, G. Perugini, M. Rossi, M. Moracci, N. Panday, M. Terinek, A. Vasella, G. J. Davies, *Biochemistry* **2006**, *45*, 11879–11884.
- [175] B. Shanmugasundaram, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **2005**, *88*, 2593–2602.
- [176] M. Terinek, A. Vasella, *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 449–469.
- [177] M. Terinek, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **2004**, *87*, 3035–3049.
- [178] N. Panday, A. Vasella, *Synthesis* **1999**, 1459–1468.
- [179] T. Granier, N. Panday, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **1997**, *80*, 979–987.
- [180] M. Terinek, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **2003**, *86*, 3482–3509.
- [181] M. I. Simone, L. J. Mares, C. A. Eveleens, A. McCluskey, B. B. Pappin, M. J. Kiefel, T. A. Houston, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2018**, *18*, 812–827.
- [182] C.-F. Chang, C.-W. Ho, C.-Y. Wu, T.-A. Chao, C.-H. Wong, C.-H. Lin, *Chemistry & Biology* **2004**, *11*, 1301–1306.
- [183] G. Fanconi, E. Uehlinger, C. Knaver, *Wien Medizinische Wochenschrift* **1936**, *86*, 753–756.
- [184] D. H. Andersen, *American Journal of Diseases of Children* **1938**, *56*, 344.
- [185] K. D. Blackfan, C. D. May, *The Journal of Pediatrics* **1938**, *13*, 627–634.
- [186] Riordan, J. Rommens, B. Kerem, N. Alon, R. Rozmahel, Z. Grzelczak, J. Zielenski, S. Lok, N. Plavsic, J. Chou, et al., *Science* **1989**, *245*, 1066–1073.
- [187] S. L. Martin, V. Saint-Criq, T.-C. Hwang, L. Csanády, *Journal of Cystic Fibrosis* **2018**, *17*, S22–S27.
- [188] K. Powell, P. L. Zeitlin, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2002**, *54*, 1395–1408.
- [189] F. Liu, Z. Zhang, L. Csanády, D. C. Gadsby, J. Chen, *Cell* **2017**, *169*, 85–95.
- [190] D. N. Sheppard, M. J. Welsh, *Physiological Reviews* **1999**, *79*, S23–S45.
- [191] F. Becq, M. A. Mall, D. N. Sheppard, M. Conese, O. Zegarar-Moran, *Journal of Cystic Fibrosis* **2011**, *10*, S129–S145.
- [192] I. Callebaut, P. A. Chong, J. D. Forman-Kay, *Journal of Cystic Fibrosis* **2018**, *17*, S5–S8.
- [193] P. Bisignano, O. Moran, *Biochimie* **2010**, *92*, 51–57.
- [194] V. Birault, R. Solari, J. Hanrahan, D. Y. Thomas, *Current Opinion in Chemical Biology* **2013**, *17*, 353–360.
- [195] M. E. Hodson, *Respiration* **2000**, *67*, 595–607.
- [196] B. J. Rosenstein, G. R. Cutting, *The Journal of Pediatrics* **1998**, *132*, 589–595.
- [197] S. Bui, J. Macey, M. Fayon, T. Bihouée, P.-R. Burgel, V. Colomb, H. Corvol, I. Durieu, D. Hubert, C. Marguet, et al., *Archives de Pédiatrie* **2016**, *23*, 12S47–12S53.
- [198] L. E. Gibson, R. E. Cooke, *Pediatrics* **1959**, *23*, 545–549.
- [199] A. R. Penketh, A. Wise, M. B. Mearns, M. E. Hodson, J. C. Batten, *Thorax* **1987**, *42*, 526–532.
- [200] A. Hamosh, S. C. FitzSimmons, M. Macek Jr., M. R. Knowles, B. J. Rosenstein, G. R. Cutting, *The Journal of Pediatrics* **1998**, *132*, 255–259.
- [201] P. M. Farrell, *Journal of Cystic Fibrosis* **2008**, *7*, 450–453.
- [202] G. R. Cutting, *Nature Reviews Genetics* **2015**, *16*, 45–56.
- [203] W. Dalemans, P. Barbry, G. Champigny, S. Jallat, S. Jallat, K. Dott, D. Dreyer, R. G. Crystal, A. Pavirani, J.-P. Lecocq, et al., *Nature* **1991**, *354*, 526–528.
- [204] C. L. Ward, S. Omura, R. R. Kopito, *Cell* **1995**, *83*, 121–127.
- [205] G. L. Lukacs, X. B. Chang, C. Bear, N. Kartner, A. Mohamed, J. R. Riordan, S. Grinstein, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 21592–21598.
- [206] H. Li, E. Pesce, D. N. Sheppard, A. K. Singh, N. Pedemonte, *Journal of Cystic Fibrosis* **2018**, *17*, S14–S21.
- [207] N. Kälin, A. Claaß, M. Sommer, E. Puchelle, B. Tümmler, *Journal of Clinical Investigation* **1999**, *103*, 1379–1389.
- [208] A. Helenius, M. Aebi, *Annual Review of Biochemistry* **2004**, *73*, 1019–1049.
- [209] A. J. Thompson, R. J. Williams, Z. Hakki, D. S. Alonzi, T. Wennekes, T. M. Gloster, K. Songsrirote, J. E. Thomas-Oates, T. M. Wrodnigg, J. Spreitz, et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2012**, *109*, 781–786.

- [210] R. R. Kopito, *Physiological Reviews* **1999**, *79*, S167–S173.
- [211] A. J. Parodi, *Annual Review of Biochemistry* **2000**, *69*, 69–93.
- [212] S. W. Mast, K. Diekman, K. Karaveg, A. Davis, R. N. Sifers, K. W. Moremen, *Glycobiology* **2005**, *15*, 421–436.
- [213] N. Hosokawa, I. Wada, K. Hasegawa, T. Yoriizu, L. O. Tremblay, A. Herscovics, K. Nagata, *EMBO reports* **2001**, *2*, 415–422.
- [214] S. Olivari, T. Cali, K. E. H. Salo, P. Paganetti, L. W. Ruddock, M. Molinari, *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2006**, *349*, 1278–1284.
- [215] K. Hirao, Y. Natsuka, T. Tamura, I. Wada, D. Morito, S. Natsuka, P. Romero, B. Sleno, L. O. Tremblay, A. Herscovics, et al., *Journal of Biological Chemistry* **2006**, *281*, 9650–9658.
- [216] E. W. F. W. Alton, D. K. Armstrong, D. Ashby, K. J. Bayfield, D. Bilton, E. V. Bloomfield, A. C. Boyd, J. Brand, R. Buchan, R. Calcedo, et al., *The Lancet Respiratory Medicine* **2015**, *3*, 684–691.
- [217] U. R. Somaraju, A. Solis-Moya, *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2016**, *56*, 1297–1303.
- [218] R. C. Stern, J. D. Eisenberg, J. S. Wagener, R. Ahrens, M. Rock, G. doPico, D. M. Orenstein, *The American Journal of Gastroenterology* **2000**, *95*, 1932–1938.
- [219] M. Bouche-careilh, W. E. Balch, *Current Molecular Medicine* **2012**, *12*, 815–826.
- [220] T. Okiyonedo, G. Veit, J. F. Dekkers, M. Bagdany, N. Soya, H. Xu, A. Roldan, A. S. Verkman, M. Kurth, A. Simon, et al., *Nature Chemical Biology* **2013**, *9*, 444–454.
- [221] M. M. Rafeeq, H. A. S. Murad, *Journal of Translational Medicine* **2017**, *15*, 84–92.
- [222] B. Lubamba, B. Dhooche, S. Noel, T. Leal, *Clinical Biochemistry* **2012**, *45*, 1132–1144.
- [223] F. Van Goor, K. S. Straley, D. Cao, J. González, S. Hadida, A. Hazlewood, J. Joubran, T. Knapp, L. R. Makings, M. Miller, et al., *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* **2006**, *290*, L1117–L1130.
- [224] Y. Wang, T. W. Loo, M. C. Bartlett, D. M. Clarke, *Molecular Pharmacology* **2006**, *71*, 751–758.
- [225] Y. Wang, T. W. Loo, M. C. Bartlett, D. M. Clarke, *Journal of Biological Chemistry* **2007**, *282*, 33247–33251.
- [226] R. L. Dormer, R. Dérand, C. M. McNeilly, Y. Mettey, L. Bulteau-Pignoux, T. Métayé, J. M. Vierfond, M. A. Gray, L. J. Galletta, M. R. Morris, et al., *J. Cell. Sci.* **2001**, *114*, 4073–4081.
- [227] P. K. Chiaw, L. Wellhauser, L. J. Huan, M. Ramjeesingh, C. E. Bear, *Molecular Pharmacology* **2010**, *78*, 411–418.
- [228] L. Wellhauser, P. K. Chiaw, S. Pasyk, C. Li, M. Ramjeesingh, C. E. Bear, *Molecular Pharmacology* **2009**, *75*, 1430–1438.
- [229] F. Becq, Y. Mettey, M. A. Gray, L. J. V. Galletta, R. L. Dormer, M. Merten, T. Métayé, V. Chappe, C. Marvingt-Mounir, O. Zegarra-Moran, et al., *Journal of Biological Chemistry* **1999**, *274*, 27415–27425.
- [230] J. P. Clancy, S. M. Rowe, F. J. Accurso, M. L. Aitken, R. S. Amin, M. A. Ashlock, M. Ballmann, M. P. Boyle, I. Bronsveld, P. W. Campbell, et al., *Thorax* **2012**, *67*, 12–18.
- [231] S. G. Bompadre, Y. Sohma, M. Li, T.-C. Hwang, *The Journal of General Physiology* **2007**, *129*, 285–298.
- [232] F. J. Accurso, F. Van Goor, J. Zha, A. J. Stone, Q. Dong, C. L. Ordonez, S. M. Rowe, J. P. Clancy, M. W. Konstan, H. E. Hoch, et al., *Journal of Cystic Fibrosis* **2014**, *13*, 139–147.
- [233] F. Van Goor, H. Yu, B. Burton, B. J. Hoffman, *Journal of Cystic Fibrosis* **2014**, *13*, 29–36.
- [234] P. A. Flume, T. G. Liou, D. S. Borowitz, H. Li, K. Yen, C. L. Ordoñez, D. E. Geller, *Chest* **2012**, *142*, 718–724.
- [235] F. Ratjen, S. C. Bell, S. M. Rowe, C. H. Goss, A. L. Quittner, A. Bush, *Nature Reviews Disease Primers* **2015**, 15010.
- [236] C. E. Wainwright, J. S. Elborn, B. W. Ramsey, G. Marigowda, X. Huang, M. Cipolli, C. Colombo, J. C. Davies, K. De Boeck, P. A. Flume, et al., *New England Journal of Medicine* **2015**, *373*, 220–231.
- [237] D. Hubert, R. Chiron, B. Camara, D. Grenet, A. Prévotat, L. Bassinet, S. Dominique, G. Rault, J. Macey, I. Honoré, et al., *Journal of Cystic Fibrosis* **2017**, *16*, 388–391.
- [238] N. Popowicz, J. Wood, A. Tai, S. Morey, S. Mulrennan, *Journal of Cystic Fibrosis* **2017**, *16*, 392–394.
- [239] A. Horsley, P. Barry, *Journal of Cystic Fibrosis* **2017**, *16*, 311–312.
- [240] J. C. Thomassen, M. I. Mueller, M. A. Alejandre Alcazar, E. Rietschel, S. van Koningsbruggen-Rietschel, *Journal of Cystic Fibrosis* **2018**, *17*, 271–275.
- [241] J. W. Hanrahan, E. Matthes, G. Carlile, D. Y. Thomas, *Current Opinion in Pharmacology* **2017**, *34*, 105–111.
- [242] G. W. Carlile, Q. Yang, E. Matthes, J. Liao, S. Radinovic, C. Miyamoto, R. Robert, J. W. Hanrahan, D. Y. Thomas, *Scientific Reports* **2018**, *8*, 11404.
- [243] N. Vij, S. Fang, P. L. Zeitlin, *Journal of Biological Chemistry* **2006**, *281*, 17369–17378.
- [244] A. Leonard, P. Lebecque, J. Dingemanse, T. Leal, *Journal of Cystic Fibrosis* **2012**, *11*, 231–236.
- [245] S. M. Rowe, J. P. Clancy, M. Wilschanski, in *Cystic Fibrosis* (Eds.: M.D. Amaral, K. Kunzelmann), Humana Press, Totowa, NJ, **2011**, pp. 69–86.
- [246] C. Norez, S. Noel, M. Wilke, M. Bijvelds, H. Jorna, P. Melin, H. DeJonge, F. Becq, *FEBS Letters* **2006**, *580*, 2081–2086.
- [247] G. M. Denning, M. P. Anderson, J. F. Amara, J. Marshall, A. E. Smith, M. J. Welsh, *Nature* **1992**, *358*, 761–764.
- [248] D. S. Alonzi, D. C. A. Neville, R. H. Lachmann, R. A. Dwek, T. D. Butters, *Biochemical Journal* **2008**, *409*, 571–580.
- [249] C. M. Cabral, Y. Liu, R. N. Sifers, *Trends in Biochemical Sciences* **2001**, *26*, 619–624.
- [250] U. Fuhrmann, E. Bause, G. Legler, H. Ploegh, *Nature* **1984**, *307*, 755–758.
- [251] K. W. Hering, K. Karaveg, K. W. Moremen, W. H. Pearson, *The Journal of Organic Chemistry* **2005**, *70*, 9892–9904.

- [252] A. D. Elbein, J. E. Tropea, M. Mitchell, G. P. Kaushal, *Journal of Biological Chemistry* **1990**, *265*, 15599–15605.
- [253] Y.-T. Pan, G. P. Kaushal, G. Papandreou, B. Ganem, A. D. Elbein, *Journal of Biological Chemistry* **1992**, *267*, 8313–8318.
- [254] G. Papandreou, M. K. Tong, B. Ganem, *Journal of the American Chemical Society* **1993**, *115*, 11682–11690.
- [255] M.-P. Heck, S. P. Vincent, B. W. Murray, F. Bellamy, C.-H. Wong, C. Mioskowski, *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 1971–1979.
- [256] R. Hoos, A. B. Naughton, W. Thiel, A. Vasella, W. Weber, K. Rupitz, S. G. Withers, *Helvetica Chimica Acta* **1993**, *76*, 2666–2686.
- [257] Y. Blériot, A. Genre-Grandpierre, C. Tellier, *Tetrahedron Letters* **1994**, *35*, 1867–1870.
- [258] E. Kato, T. Kumagai, M. Ueda, *Tetrahedron Letters* **2005**, *46*, 4865–4869.
- [259] R. Kanso, S. Striegler, *Carbohydrate Research* **2011**, *346*, 897–904.
- [260] C. Decroocq, Conception et Synthèse de Nouvelles Classes d’iminosucres d’intérêt Thérapeutique : Chimie Click, Multivalence et Maladies Génétiques Rares, Université de Strasbourg, **2012**.
- [261] F. Stauffert, Conception et Synthèse d’iminosucres Di- à Tétravalents comme sondes mécanistiques et agents thérapeutiques potentiels, Université de Strasbourg, **2015**.
- [262] M. L. Lepage, Conception et synthèse de nouvelles classes d’iminosucres d’intérêt biologique : ingénierie click pour des systèmes multivalents, Université de Strasbourg, **2014**.
- [263] S. Jérémy, Synthèse d’une diversité de glycoclusters : effet multivalent sur l’inhibition des glycosidases, Université de Strasbourg, **2017**.
- [264] E. D. Goddard-Borger, R. V. Stick, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3797–3800.
- [265] N. Fischer, E. D. Goddard-Borger, R. Greiner, T. M. Klapötke, B. W. Skelton, J. Stierstorfer, *The Journal of Organic Chemistry* **2012**, *77*, 1760–1764.
- [266] H. Ye, R. Liu, D. Li, Y. Liu, H. Yuan, W. Guo, L. Zhou, X. Cao, H. Tian, J. Shen, et al., *Organic Letters* **2013**, *15*, 18–21.
- [267] H. P. Kokatla, R. Lahiri, P. K. Kancharla, V. R. Doddi, Y. D. Vankar, *The Journal of Organic Chemistry* **2010**, *75*, 4608–4611.
- [268] T. Li, L. Guo, Y. Zhang, J. Wang, Z. Zhang, J. Li, W. Zhang, J. Lin, W. Zhao, P. G. Wang, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2011**, *19*, 2136–2144.
- [269] T. Granier, N. Panday, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **1997**, *80*, 979–987.
- [270] R. J. Williams, J. Iglesias-Fernández, J. Stepper, A. Jackson, A. J. Thompson, E. C. Lowe, J. M. White, H. J. Gilbert, C. Rovira, G. J. Davies, et al., *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53*, 1087–1091.
- [271] R. C. F. Jones, P. Dimopoulos, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 2061–2074.
- [272] K. Tatsuta, S. Miura, S. Ohta, H. Gunji, *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 1085–1088.
- [273] F. Gessier, T. Tschamber, C. Tarnus, M. Neuburger, W. Huber, J. Streith, *European Journal of Organic Chemistry* **2001**, 4111–4125.
- [274] H. C. Dorfmueller, V. S. Borodkin, M. Schimpl, S. M. Shepherd, N. A. Shpiro, D. M. F. van Aalten, *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 16484–16485.
- [275] E. Dubost, D. Le Nouën, J. Streith, C. Tarnus, T. Tschamber, *European Journal of Organic Chemistry* **2006**, *2006*, 610–626.
- [276] L. D. S. Yadav, C. Awasthi, *Carbohydrate Research* **2010**, *345*, 318–323.
- [277] N. Panday, A. Vasella, *Synthesis* **1999**, 1459–1468.
- [278] M. Terinek, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **2004**, *87*, 3035–3049.
- [279] M. Terinek, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **2005**, *88*, 10–22.
- [280] K. Tatsuta, S. Miura, *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 6721–6724.
- [281] B. Iddon, B. Iddon, *Heterocycles* **1985**, *23*, 417.
- [282] N. Panday, Y. Canac, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **2000**, *83*, 58–79.
- [283] M. Terinek, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **2003**, *86*, 3482–3509.
- [284] S. Vonhoff, K. Piens, M. Pipelier, C. Braet, M. Claeysens, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **1999**, *82*, 963–980.
- [285] M. Terinek, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **2004**, *87*, 719–734.
- [286] P. Knochel, W. Dohle, N. Gommermann, F. F. Kneisel, F. Kopp, T. Korn, I. Sapountzis, V. A. Vu, *Angewandte Chemie International Edition* **2003**, *42*, 4302–4320.
- [287] K. Sonogashira, Y. Tohda, N. Hagihara, *Tetrahedron Letters* **1975**, *16*, 4467–4470.
- [288] R. D. Stephens, C. E. Castro, *The Journal of Organic Chemistry* **1963**, *28*, 3313–3315.
- [289] L. Cassar, *Journal of Organometallic Chemistry* **1975**, *93*, 253–257.
- [290] H. A. Dieck, F. R. Heck, *Journal of Organometallic Chemistry* **1975**, *93*, 259–263.
- [291] K. Sonogashira, *Journal of Organometallic Chemistry* **2002**, *653*, 46–49.
- [292] R. Chinchilla, C. Nájera, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 874–922.
- [293] R. Chinchilla, C. Nájera, *Chemical Society Reviews* **2011**, *40*, 5084.
- [294] K. Sonogashira, in *Comprehensive Organic Synthesis*, Elsevier, **1991**, pp. 551–561.
- [295] C. Glaser, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1869**, *2*, 422–424.

- [296] M. B. Ibrahim, B. E. Ali, I. Malik, M. Fettouhi, *Tetrahedron Letters* **2016**, 57, 554–558.
- [297] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angewandte Chemie International Edition* **2002**, 41, 2596–2599.
- [298] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *The Journal of Organic Chemistry* **2002**, 67, 3057–3064.
- [299] R. Huisgen, *Angewandte Chemie International Edition* **1963**, 2, 565–598.
- [300] R. Huisgen, *Angewandte Chemie International Edition* **1963**, 2, 633–645.
- [301] L. Zhang, X. Chen, P. Xue, H. H. Y. Sun, I. D. Williams, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, G. Jia, *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127, 15998–15999.
- [302] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angewandte Chemie International Edition* **2001**, 40, 2004–2021.
- [303] B. T. Worrell, J. A. Malik, V. V. Fokin, *Science* **2013**, 340, 457–460.
- [304] R. Berg, B. F. Straub, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2013**, 9, 2715–2750.
- [305] L. Jin, D. R. Tolentino, M. Melaimi, G. Bertrand, *Science Advances* **2015**, 1, e1500304–e1500304.
- [306] R. Zelli, E. Bartolami, J.-F. Longevial, Y. Bessin, P. Dumy, A. Marra, S. Ulrich, *RSC Advances* **2016**, 6, 2210–2216.
- [307] S. Ulrich, D. Boturyn, A. Marra, O. Renaudet, P. Dumy, *Chemistry - A European Journal* **2014**, 20, 34–41.
- [308] C. Matassini, M. Marradi, F. Cardona, C. Parmeggiani, I. Robina, A. J. Moreno-Vargas, S. Penadés, A. Goti, *RSC Advances* **2015**, 5, 95817–95822.
- [309] V. Gembus, F. Marsais, V. Levacher, *Synlett* **2008**, 1463–1466.
- [310] J. Dong, L. Krasnova, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, 53, 9430–9448.
- [311] H. Haruki, M. G. Pedersen, K. I. Gorska, F. Pojer, K. Johnsson, *Science* **2013**, 340, 987–991.
- [312] A. Dondoni, A. Marra, *Organic & Biomolecular Chemistry* **2017**, 15, 1549–1553.
- [313] M. van Dijk, D. T. S. Rijkers, R. M. J. Liskamp, C. F. van Nostrum, W. E. Hennink, *Bioconjugate Chemistry* **2009**, 20, 2001–2016.
- [314] I. Papp, J. Darnedde, S. Enders, R. Haag, *Chemical Communications* **2008**, 44, 5851.
- [315] M. L. Lepage, J. P. Schneider, A. Bodlener, P. Compain, *The Journal of Organic Chemistry* **2015**, 80, 10719–10733.
- [316] F. Ortega-Caballero, J. J. Giménez-Martínez, A. Vargas-Berenguel, *Organic Letters* **2003**, 5, 2389–2392.
- [317] S. Menuel, J.-P. Joly, B. Courcot, J. Elysée, N.-E. Ghermani, A. Marsura, *Tetrahedron* **2007**, 63, 1706–1714.
- [318] C. Decroocq, A. Joosten, R. Sergent, T. Mena Barragán, C. Ortiz Mellet, P. Compain, *ChemBioChem* **2013**, 14, 2038–2049.
- [319] E. Laigre, D. Hazelard, J. Casas, J. Serra-Vinardell, H. Michelakakis, I. Mavridou, J. M. F. G. Aerts, A. Delgado, P. Compain, *Carbohydrate Research* **2016**, 429, 98–104.
- [320] F. Stauffert, A. Bodlener, T. M. N. Trinh, M. I. García-Moreno, C. O. Mellet, J.-F. Nierengarten, P. Compain, *New Journal of Chemistry* **2016**, 40, 7421–7430.
- [321] I. Billault, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **1999**, 82, 1137–1149.
- [322] A. Marra, R. Zelli, G. D’Orazio, B. La Ferla, A. Dondoni, *Tetrahedron* **2014**, 70, 9387–9393.
- [323] B. T. Burlingham, T. S. Widlanski, *Journal of Chemical Education* **2003**, 80, 214.
- [324] M. Dixon, *Biochemical Journal* **1953**, 55, 170–171.
- [325] P. J. Butterworth, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Enzymology* **1972**, 289, 251–253.
- [326] H. Lineweaver, D. Burk, *Journal of the American Chemical Society* **1934**, 56, 658–666.
- [327] J. Anderson, T. Byrne, K. J. Woelfel, J. E. Meany, G. T. Spyridis, Y. Pocker, *Journal of Chemical Education* **1994**, 71, 715.
- [328] R. A. Copeland, *Enzymes*, John Wiley & Sons, Inc., New York, USA, **2000**.
- [329] A. Goldstein, *The Journal of General Physiology* **1944**, 27, 529–580.
- [330] M. Dixon, E. C. Webb, C. J. R. Thorne, *Enzymes*, Longman, London, **1979**.
- [331] P. M. Turner, K. M. Lerea, F. J. Kull, *Biochemical and Biophysical Research Communications* **1983**, 114, 1154–1160.
- [332] M. Dixon, *Biochemical Journal* **1972**, 129, 197–202.
- [333] J. F. Morrison, *Biochim. Biophys. Acta* **1969**, 185, 269–286.
- [334] P. J. F. Henderson, *Biochemical Journal* **1972**, 127, 321–333.
- [335] P. J. F. Henderson, *Biochemical Journal* **1973**, 135, 101–107.
- [336] J. ten Dam, U. Hanefeld, *ChemSusChem* **2011**, 4, 1017–1034.
- [337] S. Krishnamurthy, H. C. Brown, *The Journal of Organic Chemistry* **1976**, 41, 3064–3066.
- [338] A. Bordoni, R. M. de Lederkremer, C. Marino, *Tetrahedron* **2008**, 64, 1703–1710.
- [339] D. H. R. Barton, S. W. McCombie, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1975**, 1574.
- [340] P. Girard, J. L. Namy, H. B. Kagan, *Journal of the American Chemical Society* **1980**, 102, 2693–2698.
- [341] J. L. Namy, P. Girard, H. B. Kagan, *Nouveau Journal de Chimie* **1977**, 1, 5–7.
- [342] N. Akane, Y. Kanagawa, Y. Nishiyama, Y. Ishii, *Chemistry Letters* **1992**, 21, 2431–2434.
- [343] R. Flowers, II, *Synlett* **2008**, 1427–1439.
- [344] M. Berndt, A. Hölemann, A. Niermann, C. Bentz, R. Zimmer, H.-U. Reissig, *European Journal of Organic Chemistry* **2012**, 1299–1302.
- [345] M. Szostak, M. Spain, D. Parmar, D. J. Procter, *Chemical Communications* **2012**, 48, 330–346.

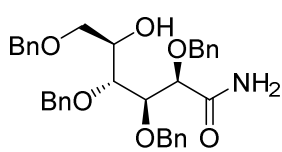
- [346] M. Szostak, D. J. Procter, *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50*, 7737–7739.
- [347] K. C. Nicolaou, S. P. Ellery, J. S. Chen, *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48*, 7140–7165.
- [348] G. A. Molander, in *Organic Reactions* (Ed.: John Wiley & Sons, Inc.), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **1994**, pp. 211–367.
- [349] S. Py, F. Khuong-Huu, *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 1661–1664.
- [350] S. M. Mennen, S. J. Miller, *The Journal of Organic Chemistry* **2007**, *72*, 5260–5269.
- [351] J. D. White, T. C. Somers, *Journal of the American Chemical Society* **1987**, *109*, 4424–4426.
- [352] N. F. O'Rourke, M. A. H. N. Higgs, A. Eastman, G. C. Micalizio, *Organic Letters* **2017**, *19*, 5154–5157.
- [353] A. Zörb, R. Brückner, *European Journal of Organic Chemistry* **2010**, *2010*, 4785–4801.
- [354] C. L. Hugelshofer, T. Magauer, *Journal of the American Chemical Society* **2015**, *137*, 3807–3810.
- [355] D. Mazéas, T. Skrydstrup, O. Doumeix, J.-M. Beau, *Angewandte Chemie International Edition* **1994**, *33*, 1383–1386.
- [356] Y. Kamochi, T. Kudo, *Chemistry Letters* **1991**, *20*, 893–896.
- [357] J. T. Lowe, J. S. Panek, *Organic Letters* **2008**, *10*, 3813–3816.
- [358] M. Szostak, M. Spain, A. J. Eberhart, D. J. Procter, *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136*, 2268–2271.
- [359] G. A. Molander, C. N. Wolfe, *The Journal of Organic Chemistry* **1998**, *63*, 9031–9036.
- [360] G. A. Molander, J. A. McKie, *The Journal of Organic Chemistry* **1993**, *58*, 7216–7227.
- [361] H. B. Kagan, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 10351–10372.
- [362] J. L. Namy, J. Soupe, H. B. Kagan, *Tetrahedron Letters* **1983**, *24*, 765–766.
- [363] E. Nandan, C. U. Dinesh, H.-U. Reissig, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 4267–4277.
- [364] T. Ankner, G. Hilmersson, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 10856–10862.
- [365] D. H. R. Barton, D. Crich, A. Löbberding, S. Z. Zard, *Tetrahedron* **1986**, *42*, 2329–2338.
- [366] J. J. Li, *Name Reactions*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2003**.
- [367] J. T. Flasz, K. J. Hale, *Organic Letters* **2012**, *14*, 3024–3027.
- [368] D. Matsuura, K. Takabe, H. Yoda, *Tetrahedron Letters* **2006**, *47*, 1371–1374.
- [369] W. G. Whittingham, M. K. Ellis, P. Guerry, G. B. Henderson, B. Müller, D. A. Taylor, F. J. Leeper, A. R. Battersby, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1989**, 1116–1119.
- [370] E. Palombo, G. Audran, H. Monti, *Synlett* **2005**, 2104–2106.
- [371] E. Palombo, G. Audran, H. Monti, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 9545–9549.
- [372] E. Kotsikorou, F. Navas, M. J. Roche, A. F. Gilliam, B. F. Thomas, H. H. Seltzman, P. Kumar, Z.-H. Song, D. P. Hurst, D. L. Lynch, et al., *Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *56*, 6593–6612.
- [373] C. Palomo, F. P. Cossío, C. Cuevas, J. M. Odriozola, J. M. Ontoria, *Tetrahedron Letters* **1992**, *33*, 4827–4830.
- [374] C. Palomo, F. P. Cossío, J. M. Ontoria, J. M. Odriozola, *Tetrahedron Letters* **1991**, *32*, 3105–3108.
- [375] K. Tanda, A. Toyao, A. Watanabe, M. Sakamoto, T. Yamasaki, *Synlett* **2014**, *25*, 2953–2956.
- [376] D. Robbins, A. F. Newton, C. Gignoux, J.-C. Legeay, A. Sinclair, M. Rejzek, C. A. Laxon, S. K. Yalamanchili, W. Lewis, M. A. O'Connell, et al., *Chemical Science* **2011**, *2*, 2232.
- [377] X. Hong, J. M. Mejía-Oneto, A. Padwa, *Tetrahedron Letters* **2006**, *47*, 8387–8390.
- [378] G. Wen, Y. Su, G. Zhang, Q. Lin, Y. Zhu, Q. Zhang, X. Fang, *Organic Letters* **2016**, *18*, 3980–3983.
- [379] A. G. Chaudhary, D. G. I. Kingston, *Tetrahedron Letters* **1993**, *34*, 4921–4924.
- [380] S. W. McCombie, W. B. Motherwell, M. J. Tozer, in *Organic Reactions* (Ed.: John Wiley & Sons, Inc.), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **2012**, pp. 161–432.
- [381] C. Chatgililoglu, C. Ferreri, *Research on Chemical Intermediates* **1993**, *19*, 755–775.
- [382] H. Redlich, W. Sudau, H. Paulsen, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 4253–4260.
- [383] Y. Lu, H. Nakatsuji, Y. Okumura, L. Yao, K. Ishihara, *Journal of the American Chemical Society* **2018**, *140*, 6039–6043.
- [384] S. M. Evans, T. Leksono, P. D. McKinnell, *Marine Pollution Bulletin* **1995**, *30*, 14–21.
- [385] W. T. Smith, *Journal of the American Chemical Society* **1951**, *73*, 1883–1884.
- [386] H. Adkins, B. Wojcik, L. W. Covert, *Journal of the American Chemical Society* **1933**, *55*, 1669–1676.
- [387] J. E. Milne, J. A. Murry, A. King, R. D. Larsen, *The Journal of Organic Chemistry* **2009**, *74*, 445–447.
- [388] A. Bowers, H. J. Ringold, *Journal of the American Chemical Society* **1958**, *80*, 3091–3093.
- [389] M. S. Maier, A. M. Seldes, E. G. Gros, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **1985**, *22*, 833–836.
- [390] R. E. Conrow, *The Journal of Organic Chemistry* **1999**, *64*, 1042–1044.
- [391] N. Murata, S. Fujimori, Y. Ichihara, Y. Sato, T. Yamaji, H. Tsuboi, M. Uchida, H. Suzuki, M. Yamada, T. Oikawa, et al., *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **2006**, *54*, 1567–1570.
- [392] X. Creary, *The Journal of Organic Chemistry* **1979**, *44*, 3938–3945.
- [393] X. Creary, *The Journal of Organic Chemistry* **1980**, *45*, 2419–2425.
- [394] G. W. Breton, P. J. Kropp, R. G. Harvey, in *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* (Ed.: John Wiley & Sons, Ltd), John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, **2001**.
- [395] L. A. Cort, M. A. Mahesar, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1979**, 2034–2043.
- [396] M. J. Gilkey, A. V. Mironenko, D. G. Vlachos, B. Xu, *ACS Catalysis* **2017**, *7*, 6619–6634.

- [397] R. E. Koenigkramer, H. Zimmer, *The Journal of Organic Chemistry* **1980**, *45*, 3994–3998.
- [398] C. A. Hoeger, A. D. Johnston, W. H. Okamura, *Journal of the American Chemical Society* **1987**, *109*, 4690–4698.
- [399] V. Pushkara Rao, J.-F. Wang, N. J. Turro, C. Doubleday, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **1990**, *28*, 193–201.
- [400] W. Reusch, R. LeMahieu, *Journal of the American Chemical Society* **1964**, *86*, 3068–3072.
- [401] R. C. Fuson, P. E. Hoch, *Journal of the American Chemical Society* **1949**, *71*, 1585–1586.
- [402] J. E. Milne, T. Storz, J. T. Colyer, O. R. Thiel, M. Dilmeghani Seran, R. D. Larsen, J. A. Murry, *The Journal of Organic Chemistry* **2011**, *76*, 9519–9524.
- [403] S. Czaplicki, S. T. V. Kostanecki, V. Lampe, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1909**, *42*, 827–838.
- [404] T.-L. Ho, *Synthetic Communications* **1979**, *9*, 665–668.
- [405] M. E. Jung, M. J. Martinelli, G. A. Olah, G. K. Surya Prakash, J. Hu, in *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* (Ed.: John Wiley & Sons, Ltd), John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, **2005**.
- [406] M. E. Jung, P. L. Ornstein, *Tetrahedron Letters* **1977**, *18*, 2659–2662.
- [407] L. R. Krepski, S. M. Heilmann, J. K. Rasmussen, M. L. Tumey, H. K. Smith, *Synthetic Communications* **1986**, *16*, 377–386.
- [408] F. Feist, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1902**, *35*, 1537–1544.
- [409] E. Benary, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1911**, *44*, 489–493.
- [410] E. Wenkert, M. Guo, R. Lavilla, B. Porter, K. Ramachandran, J. H. Sheu, *The Journal of Organic Chemistry* **1990**, *55*, 6203–6214.
- [411] M. Numazawa, M. Nagaoka, Y. Kunitama, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1984**, 31–32.
- [412] M. Numazawa, M. Nagaoka, Y. Kunitama, *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 3722–3726.
- [413] Z. Li, P. Heffner, Y. Gong, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **2011**, *54*, 839–846.
- [414] G. Borsato, O. De Lucchi, F. Fabris, V. Lucchini, P. Frascella, A. Zambon, *Tetrahedron Letters* **2003**, *44*, 3517–3520.
- [415] T. Sakai, K. Miyata, M. Utaka, A. Takeda, *Tetrahedron Letters* **1987**, *28*, 3817–3818.
- [416] G. A. Olah, S. C. Narang, B. G. B. Gupta, R. Malhotra, *The Journal of Organic Chemistry* **1979**, *44*, 1247–1251.
- [417] M. Pauvert, S. Collet, A. Guingant, *Tetrahedron Letters* **2003**, *44*, 4203–4206.
- [418] T. Yamagami, M. Hatsuda, M. Utsugi, R. Kobayashi, Y. Moritani, *European Journal of Organic Chemistry* **2013**, *2013*, 7467–7470.
- [419] T. Yamagami, N. Moriyama, M. Kyuhara, A. Moroda, T. Uemura, H. Matsumae, Y. Moritani, I. Inoue, *Organic Process Research & Development* **2014**, *18*, 437–445.
- [420] L.-Z. Yuan, D. Renko, I. Khelifi, O. Provot, J.-D. Brion, A. Hamze, M. Alami, *Organic Letters* **2016**, *18*, 3238–3241.
- [421] F. F. Blicke, N. Grier, *Journal of the American Chemical Society* **1943**, *65*, 1725–1728.
- [422] T.-L. Ho, C. M. Wong, *Synthesis* **1975**, 161–161.
- [423] J.-J. Bourguignon, V. Collot, M. Schmitt, P. Marwah, *Heterocycles* **1999**, *51*, 2823.
- [424] M. Dobmeier, J. M. Herrmann, D. Lenoir, B. König, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2012**, *8*, 330–336.
- [425] H. Kiliani, S. Kleemann, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1884**, *17*, 1296–1303.
- [426] I. Furukawa, B. Zhou, S. Hashimoto, *Nippon Kagaku Kaishi* **1984**, 1208–1212.
- [427] A. P. Rauter, A. C. Fernandes, J. A. Figueiredo, *Journal of Carbohydrate Chemistry* **1998**, *17*, 1037–1045.
- [428] P. J. Garegg, T. Regberg, J. Stawiński, R. Strömberg, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **1987**, 271–274.
- [429] T.-S. Hu, Y.-L. Wu, Y. Wu, *Organic Letters* **2000**, *2*, 887–889.
- [430] N. B. Kalamkar, V. M. Kasture, S. T. Chavan, S. G. Sabharwal, D. D. Dhavale, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 8522–8526.
- [431] D. Y. W. Lee, L. Yang, W. Xu, G. Deng, L. Guo, L.-Y. Liu-Chen, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20*, 5749–5752.
- [432] E. Ideue, J. Shimokawa, T. Fukuyama, *Organic Letters* **2015**, *17*, 4964–4967.
- [433] Y. Okumura, S. Masui, *The Journal of Organic Chemistry* **1965**, *30*, 2060–2062.
- [434] J. Tatsugi, K. Ikuma, Y. Izawa, *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 8611–8612.
- [435] A. Bordonì, R. M. de Lederkremer, C. Marino, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2010**, *18*, 5339–5345.
- [436] I. Saito, H. Ikehira, R. Kasatani, M. Watanabe, T. Matsuura, *Journal of the American Chemical Society* **1986**, *108*, 3115–3117.
- [437] J. G. Uranga, A. F. Chiosso, A. N. Santiago, *RSC Advances* **2013**, *3*, 11493.
- [438] A. G. Griesbeck, J. Mattay, *Synthetic Organic Photochemistry*, Marcel Dekker, New York, **2005**.
- [439] J.-P. Pulicani, H. Bouchard, J.-D. Bourzat, A. Commerçon, *Tetrahedron Letters* **1994**, *35*, 9709–9712.
- [440] M. M. Krayushkin, B. V. Lichitskii, A. P. Mikhalev, A. A. Dudinov, S. N. Ivanov, *Russian Journal of Organic Chemistry* **2005**, *41*, 87–90.
- [441] M. Y. Belikov, M. Y. Ievlev, I. V. Belikova, O. V. Ershov, V. A. Tafeenko, M. D. Surazhskaya, *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2015**, *51*, 518–525.
- [442] P. Turnbull, H. W. Moore, *The Journal of Organic Chemistry* **1995**, *60*, 644–649.

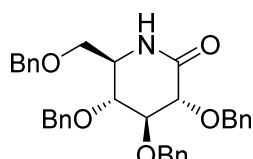
- [443] D. O. Arnaiz, H. W. Moore, in *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* (Ed.: John Wiley & Sons, Ltd.), John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, **2001**.
- [444] J. L. Jeffrey, R. Sarpong, *Organic Letters* **2009**, *11*, 5450–5453.
- [445] K. Stockton, S. Glover, B. Greatrex, *Synlett* **2014**, *26*, 111–115.
- [446] H.-G. Henning, *Tetrahedron Letters* **1966**, *7*, 2585–2589.
- [447] T. Mukaiyama, T. Kumamoto, T. Nagaoka, *Tetrahedron Letters* **1966**, *7*, 5563–5567.
- [448] J. Winter, V. D. Bokkenheuser, L. Ponticorvo, *The Journal of Biological Chemistry* **1979**, *254*, 2626–2629.
- [449] J. Winter, V. D. Bokkenheuser, *Journal of Steroid Biochemistry* **1978**, *9*, 379–384.
- [450] S. D. Feighner, V. D. Bokkenheuser, J. Winter, P. B. Hylemon, *Biochim. Biophys. Acta* **1979**, *574*, 154–163.
- [451] H. L. Holland, E. Riemland, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1984**, 1481–1482.
- [452] H. L. Holland, R. W. Ninniss, F. M. Brown, *Canadian Journal of Chemistry* **1989**, *67*, 1590–1595.
- [453] J. Sanseverino, B. Montenecourt, J. Sands, *Applied Microbiology and Biotechnology* **1989**, *30*, 239–242.
- [454] T. M. Aida, A. Ikarashi, Y. Saito, M. Watanabe, R. L. Smith, K. Arai, *The Journal of Supercritical Fluids* **2009**, *50*, 257–264.
- [455] Y. Matsuura, A. Onda, S. Ogo, K. Yanagisawa, *Catalysis Today* **2014**, *226*, 192–197.
- [456] C. Chapuis, *Helvetica Chimica Acta* **2014**, *97*, 197–214.
- [457] M. M. Pichon, F. Stauffert, L. G. Addante-Moya, A. Bodlenner, P. Compain, *European Journal of Organic Chemistry* **2018**, *2018*, 1538–1545.
- [458] D. C. Batesky, M. J. Goldfogel, D. J. Weix, *The Journal of Organic Chemistry* **2017**, *82*, 9931–9936.
- [459] F. Stauffert, M. L. Lepage, M. M. Pichon, D. Hazelard, A. Bodlenner, P. Compain, *Synthesis* **2016**, *48*, 1177–1180.
- [460] J.-L. Zheng, H. Liu, Y.-F. Zhang, W. Zhao, J.-S. Tong, Y.-P. Ruan, P.-Q. Huang, *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 257–263.
- [461] M. Carteron, O. Henin, A.-F. Maggio, J.-L. Pirat, H.-J. Cristau, *Synlett* **2000**, *1996*, 1123–1124.
- [462] P. L. Robinson, C. N. Barry, S. W. Bass, S. E. Jarvis, S. A. Evans, *The Journal of Organic Chemistry* **1983**, *48*, 5396–5398.
- [463] M. von Itzstein, I. D. Jenkins, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1987**, 2057–2060.
- [464] N. García-Delgado, A. Riera, X. Verdager, *Organic Letters* **2007**, *9*, 635–638.
- [465] P. E. Sonnet, *Synthesis* **1980**, 828–830.
- [466] P. L. Robinson, S. A. Evans, *The Journal of Organic Chemistry* **1985**, *50*, 3860–3863.
- [467] P. J. Garegg, B. Samuelsson, *Synthesis* **1979**, 469–470.
- [468] J. Singleton, K. Sahteli, J. Hoberg, *Synthesis* **2008**, 3682–3686.
- [469] V. Balasubramanian, V. G. Bhatia, S. B. Wagh, *Tetrahedron* **1983**, *39*, 1475–1485.
- [470] Y. Jagadeesh, J. S. Reddy, B. Venkateswara Rao, J. L. Swarnalatha, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 1202–1207.
- [471] P. P. J. Da Silva, L. Meijer, *Medical Sciences* **2012**, *28*, 534–542.
- [472] L. S. Jeong, H. R. Moon, Y. J. Choi, M. W. Chun, H. O. Kim, *The Journal of Organic Chemistry* **1998**, *63*, 4821–4825.
- [473] S. Torii, T. Inokuchi, R. Oi, K. Kondo, T. Kobayashi, *The Journal of Organic Chemistry* **1986**, *51*, 254–256.
- [474] B. Lopez-Ortega, S. F. Jenkinson, T. D. W. Claridge, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 976–983.
- [475] C. J. Schwörer, M. Oberthür, *European Journal of Organic Chemistry* **2009**, 6129–6139.
- [476] A. B. Smith, R. A. Rivero, K. J. Hale, H. A. Vaccaro, *Journal of the American Chemical Society* **1991**, *113*, 2092–2112.
- [477] N. C. Chaudhuri, A. Moussa, A. Stewart, J. Wang, R. Storer, *Organic Process Research & Development* **2005**, *9*, 457–465.
- [478] S. U. Hansen, M. Baráth, B. A. B. Salameh, R. G. Pritchard, W. T. Stimpson, J. M. Gardiner, G. C. Jayson, *Organic Letters* **2009**, *11*, 4528–4531.
- [479] D. D. Long, M. D. Smith, A. Martín, J. R. Wheatley, D. G. Watkin, M. Müller, G. W. J. Fleet, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **2002**, 1982–1998.
- [480] M. Arslan, M. Şentürk, İ. Fidan, O. Talaz, D. Ekin, S. Coşgun, C. T. Supuran, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2015**, *30*, 896–900.
- [481] E. S. Dremina, X. Li, N. A. Galeva, V. S. Sharov, J. F. Stobaugh, C. Schöneich, *Analytical Biochemistry* **2011**, *418*, 184–196.
- [482] N. Panday, M. Meyyappan, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **2000**, *83*, 513–538.
- [483] K. Clausen, M. Thorsen, S.-O. Lawesson, *Tetrahedron* **1981**, *37*, 3635–3639.
- [484] J. Pabba, N. Mohal, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **2006**, *89*, 1373–1386.
- [485] A. Kamal, K. V. Ramana, A. V. Ramana, A. H. Babu, *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 2587–2594.
- [486] T. D. Ocain, D. H. Rich, *Journal of Medicinal Chemistry* **1988**, *31*, 2193–2199.
- [487] U. Teubert, K. Zwingenberger, S. Wnendt, K. Eger, *Archiv der Pharmazie* **1998**, *331*, 7–12.
- [488] J. K. Chavda, P. A. Procopiou, P. N. Horton, S. J. Coles, M. J. Porter, *European Journal of Organic Chemistry* **2014**, 129–139.
- [489] C. Richter, F. Berndt, T. Kunde, R. Mahrwald, *Organic Letters* **2016**, *18*, 2950–2953.
- [490] R. Appel, R. Kleinstück, K.-D. Ziehn, *Chemische Berichte* **1971**, *104*, 1030–1034.

- [491] J. Anthes, K. McCormick, J. Hey, R. Aslanian, P. Biju, M. Berlin, D. Solomon, H. Wang, Y.-H. Lim, Y. J. Lee, et al., *C20-C21 Substituted Glucocorticoid Receptor Agonists*, **2009**, WO2009085879 (A2).
- [492] K. C. K. Swamy, N. N. B. Kumar, E. Balaraman, K. V. P. P. Kumar, *Chemical Reviews* **2009**, *109*, 2551–2651.
- [493] A. Bissember, *Synlett* **2009**, *2009*, 681–682.
- [494] M. Habán, P. Otepka, L. Kobida, M. Habánová, *Horticultural Science* **2018**, *36*, 69–74.
- [495] A. Zarrelli, V. Romanucci, L. De Napoli, L. Previtera, G. Di Fabio, *Helvetica Chimica Acta* **2015**, *98*, 399–409.
- [496] C. E. Anson, C. S. Creaser, A. V. Malkov, L. Mojovic, G. R. Stephenson, *Journal of Organometallic Chemistry* **2003**, *668*, 101–122.
- [497] M. Majewski, N. M. Irvine, G. W. Bantle, *The Journal of Organic Chemistry* **1994**, *59*, 6697–6702.
- [498] M. R. Jirousek, S. M. Mazza, R. G. Salomon, *The Journal of Organic Chemistry* **1988**, *53*, 3688–3695.
- [499] D. K. Mahapatra, S. K. Bharti, V. Asati, *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2017**, *17*, 3146–3169.
- [500] T. J. Slaga, *Human Cancerous Cell Anti-Proliferation and Survival Inhibition Agent*, **2002**, US2002193424 (A1).
- [501] R. Gažák, K. Valentová, K. Fuksová, P. Marhol, M. Kuzma, M. Á. Medina, I. Oborná, J. Ulrichová, V. Křen, *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *54*, 7397–7407.
- [502] S. P. Schröder, L. Wu, M. Artola, T. Hansen, W. A. Offen, M. J. Ferraz, K.-Y. Li, J. M. F. G. Aerts, G. A. van der Marel, J. D. C. Codée, et al., *Journal of the American Chemical Society* **2018**, *140*, 5045–5048.
- [503] R. Leung-Toung, T. F. Tam, Y. Zhao, C. D. Simpson, W. Li, D. Desilets, K. Karimian, *The Journal of Organic Chemistry* **2005**, *70*, 6230–6241.
- [504] I. Papp, J. Darnedde, S. Enders, R. Haag, *Chemical Communications* **2008**, 5851.
- [505] F. Stauffert, Conception et Synthèse d'Iminosucre Di- à Tétravalents comme sondes mécanistiques et agents thérapeutiques potentiels, Université de Strasbourg, **2015**.
- [506] M. Ortega-Muñoz, F. Perez-Balderas, J. Morales-Sanfrutos, F. Hernandez-Mateo, J. Isac-García, F. Santoyo-Gonzalez, *European Journal of Organic Chemistry* **2009**, *2009*, 2454–2473.
- [507] A. Mollard, I. Zharov, *Inorganic Chemistry* **2006**, *45*, 10172–10179.
- [508] F. Ortega-Caballero, J. J. Giménez-Martínez, A. Vargas-Berenguel, *Organic Letters* **2003**, *5*, 2389–2392.
- [509] F. Stauffert, J. Serra-Vinardell, M. Gómez-Grau, H. Michelakakis, I. Mavridou, D. Grinberg, L. Vilageliu, J. Casas, A. Bodlenner, A. Delgado, et al., *Organic & Biomolecular Chemistry* **2017**, *15*, 3681–3705.
- [510] G. W. J. Fleet, D. R. Witty, *Tetrahedron: Asymmetry* **1990**, *1*, 119–136.
- [511] S. Dias Lucas, H. Iding, A. Alker, H. Peter Wessel, A. Pilar Rauter, *Journal of Carbohydrate Chemistry* **2006**, *25*, 187–196.
- [512] M. P. Doyle, J. S. Tedrow, A. B. Dyatkin, C. J. Spaans, D. G. Ene, *The Journal of Organic Chemistry* **1999**, *64*, 8907–8915.
- [513] H. Reimann, E. P. Oliveto, R. Neri, M. Eisler, P. Perlman, *Journal of the American Chemical Society* **1960**, *82*, 2308–2311.
- [514] J. Zhang, M. Senthilkumar, S. C. Ghosh, S. H. Hong, *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49*, 6391–6395.
- [515] S. U. Hansen, M. Baráth, B. A. B. Salameh, R. G. Pritchard, W. T. Stimpson, J. M. Gardiner, G. C. Jayson, *Organic Letters* **2009**, *11*, 4528–4531.
- [516] K. L. Bhat, D. M. Flanagan, M. M. Joullié, *Synthetic Communications* **1985**, *15*, 587–598.
- [517] G. Banda, I. E. Chakravarthy, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 1684–1687.
- [518] K. Nakashima, N. Kikuchi, D. Shirayama, T. Miki, K. Ando, M. Sono, S. Suzuki, M. Kawase, M. Kondoh, M. Sato, et al., *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **2007**, *80*, 387–394.
- [519] R. R. Gadikota, A. I. Keller, C. S. Callam, T. L. Lowary, *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 737–742.
- [520] Y. Du, F. Kong, *Journal of Carbohydrate Chemistry* **1996**, *15*, 797–817.
- [521] H.-S. Dang, B. P. Roberts, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **2002**, 1161–1170.
- [522] D. C. Kapeller, F. Hammerschmidt, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 591–598.
- [523] S. Mandal, N. Sharma, B. Mukhopadhyay, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 2172–2176.
- [524] N. Panday, M. Meyyappan, A. Vasella, *Helvetica Chimica Acta* **2000**, *83*, 513–538.
- [525] J. Anthes, K. McCormick, J. Hey, R. Aslanian, P. Biju, M. Berlin, D. Solomon, H. Wang, Y.-H. Lim, Y. J. Lee, et al., *C20-C21 Substituted Glucocorticoid Receptor Agonists*, **2009**, WO2009085879 (A2).
- [526] P. Džubák, M. Hajdúch, R. Gažák, A. Svobodová, J. Psotová, D. Walterová, P. Sedmera, V. Křen, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, *14*, 3793–3810.

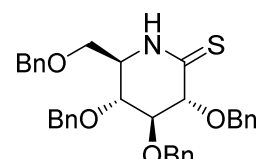
INDEX DES COMPOSES SYNTHETISES



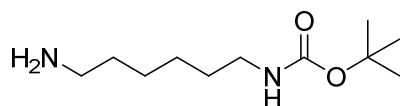
S70 (42, 170)



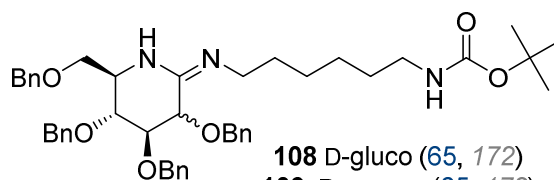
70 (42, 170)



71 (42, 171)

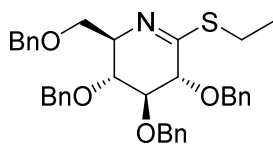


R108 (65, 171)

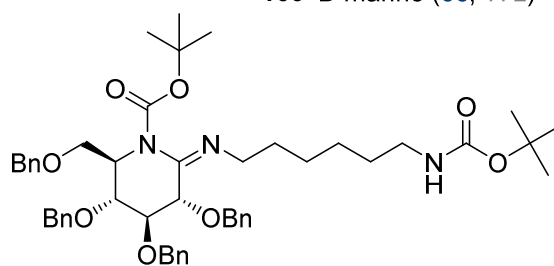


108 D-glucopyranoside (65, 172)

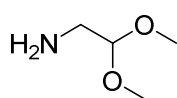
109 D-mannopyranoside (65, 172)



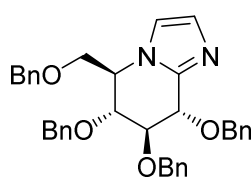
72 (42, 172)



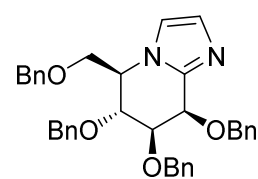
111 (66, 173)



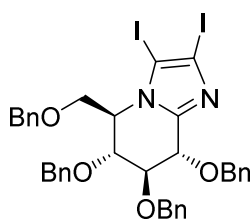
R125 (70, 174)



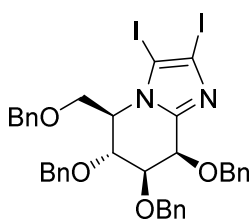
125a (70, 174)



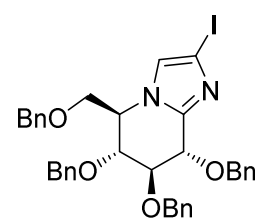
125b (70, 174)



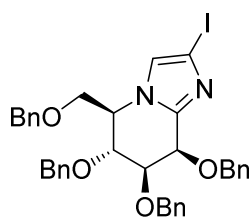
134a (72, 175)



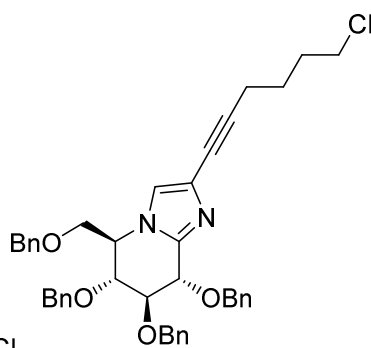
134b (72, 176)



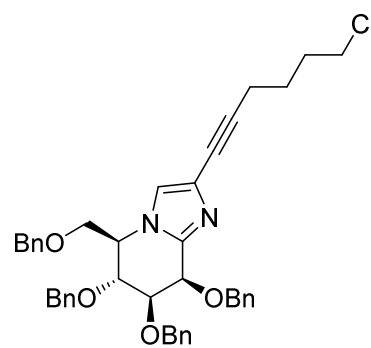
135a (75, 176)



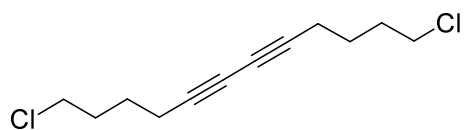
135b (75, 177)



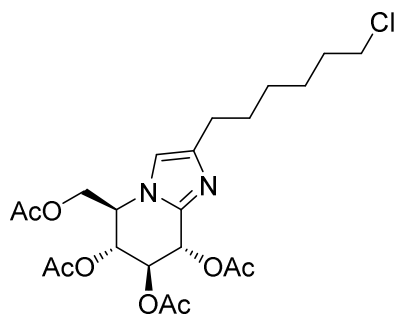
136a (77, 177)



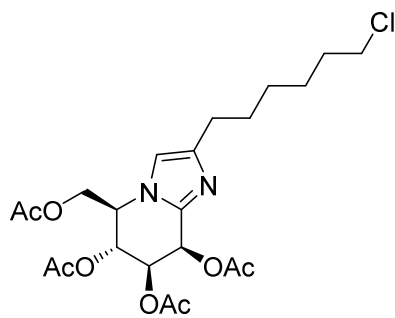
136b (77, 178)



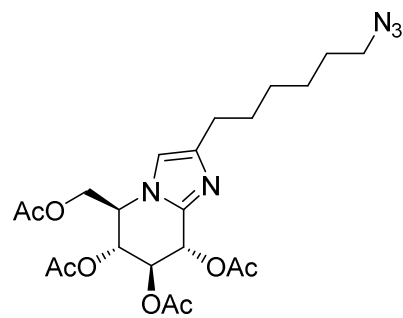
Produit couplage de Glaser (77, 179)



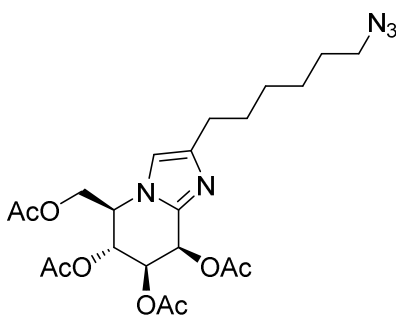
139a (78, 179)



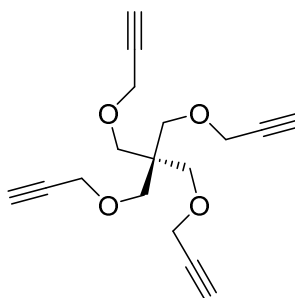
139b (78, 180)



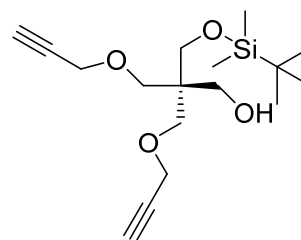
140a (79, 181)



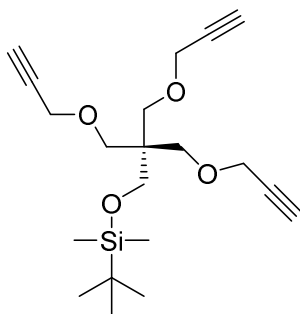
140b (79, 181)



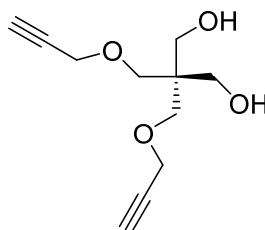
141 (84, 182)



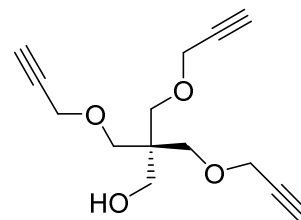
143 (84, 183)



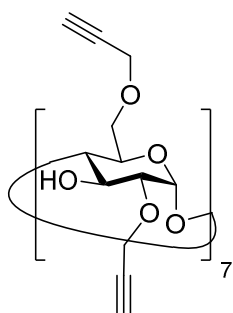
144 (84, 183)



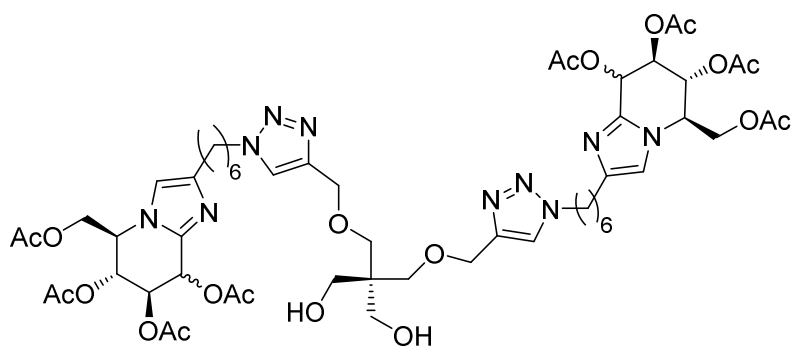
145 (84, 184)



146 (84, 185)



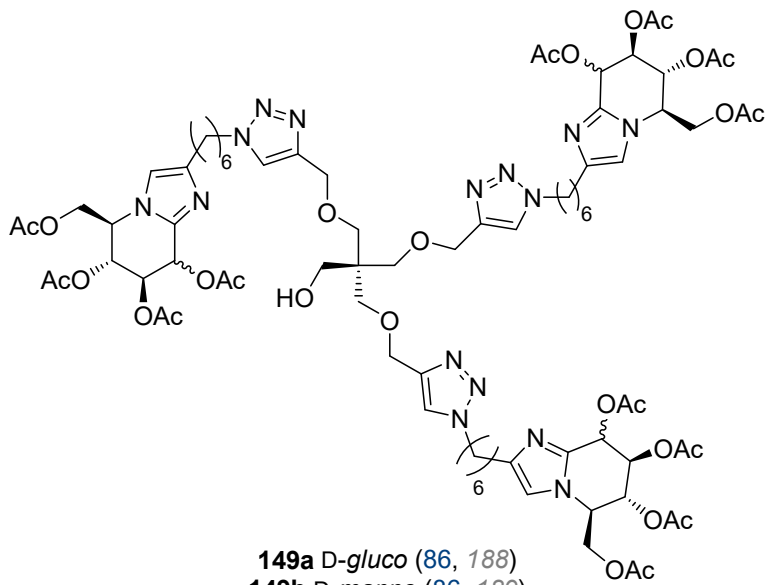
147 (85, 185)



148a D-gluco (86, 186)

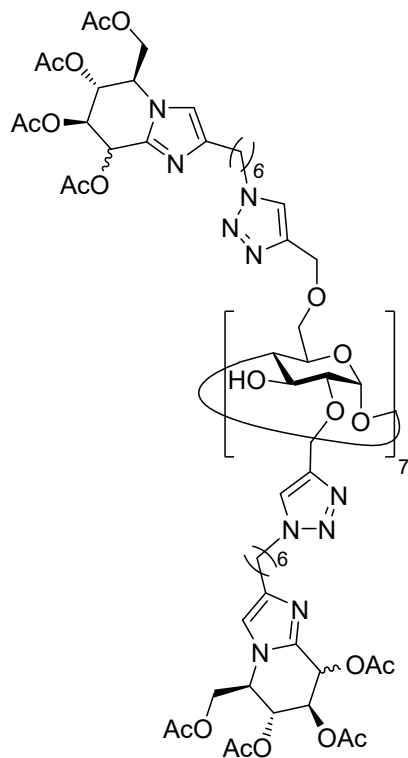
148b D-manno (86, 187)

N° du composé (N° de la page partie théorique, *Numéro de la page partie expérimentale*)



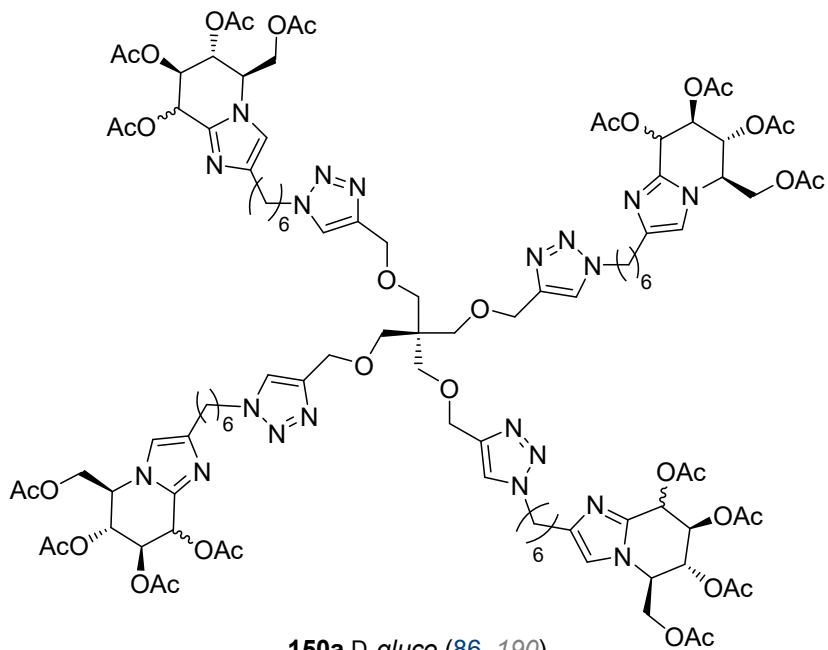
149a D-*gluco* (86, 188)

149b D-*manno* (86, 189)



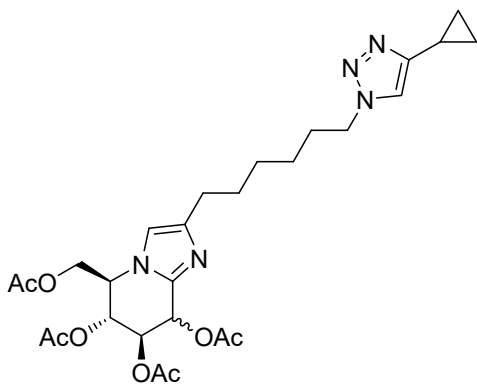
151a D-*gluco* (87, 192)

151b D-*manno* (87, 193)



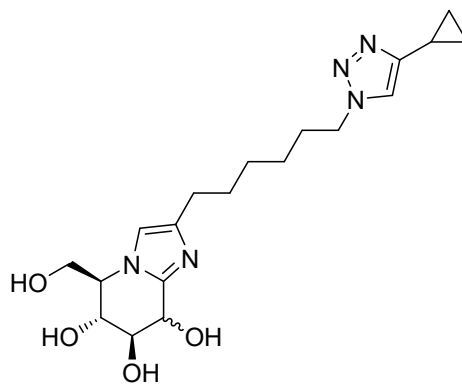
150a D-*gluco* (86, 190)

150b D-*manno* (86, 191)



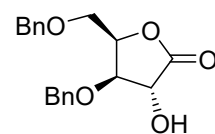
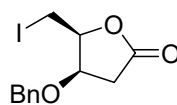
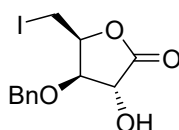
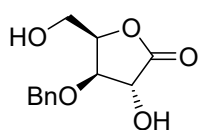
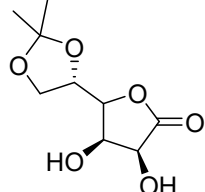
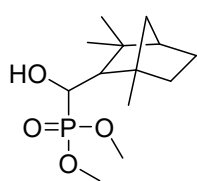
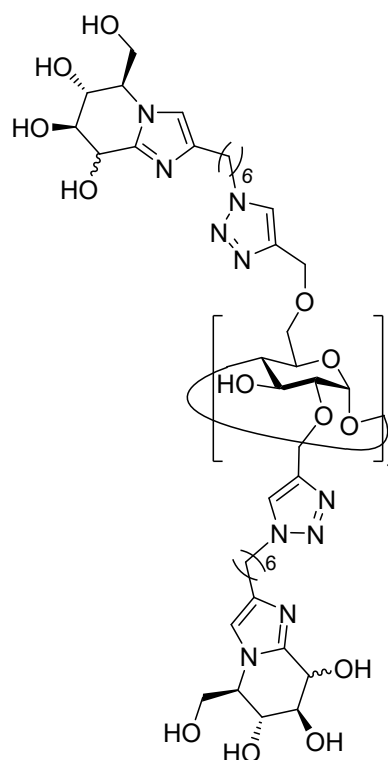
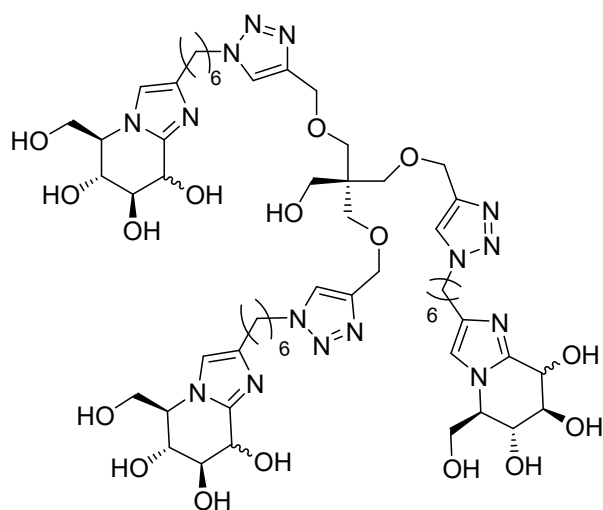
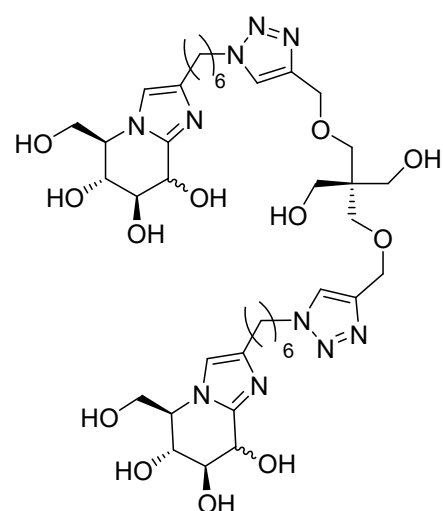
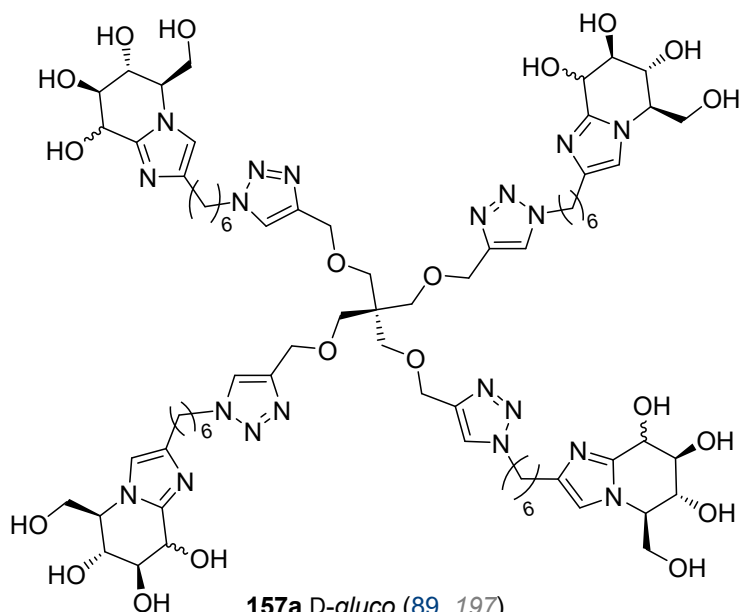
155a D-*gluco* (88, 194)

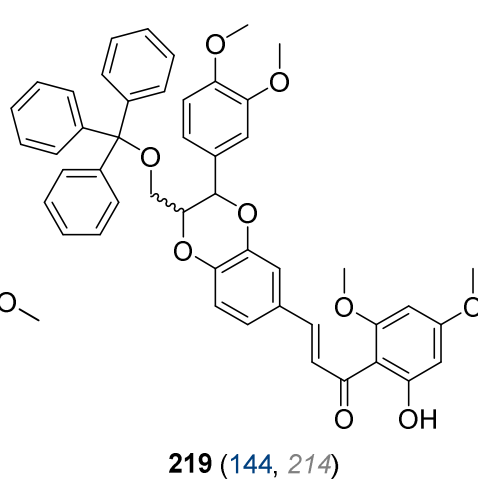
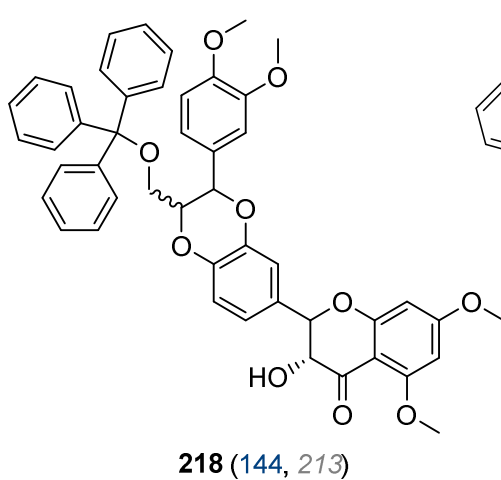
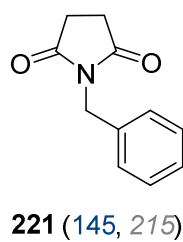
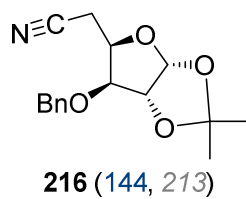
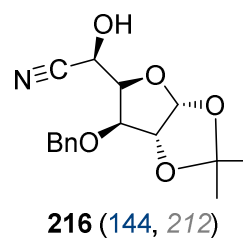
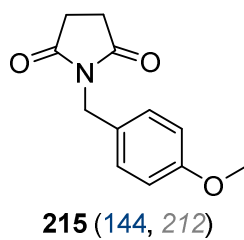
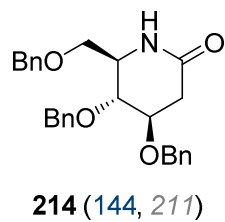
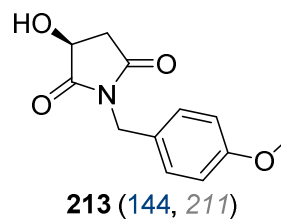
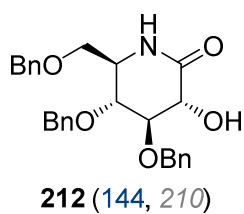
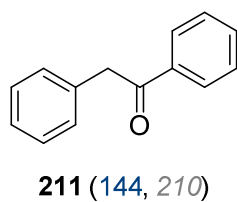
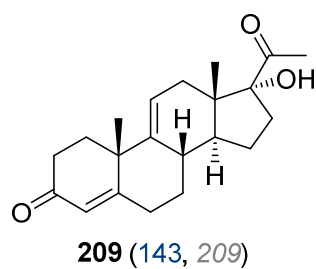
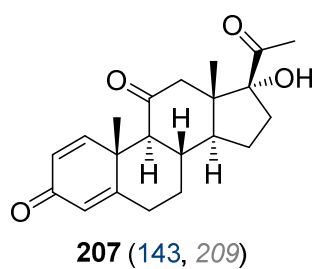
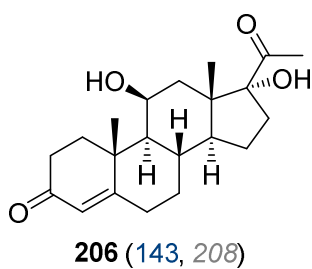
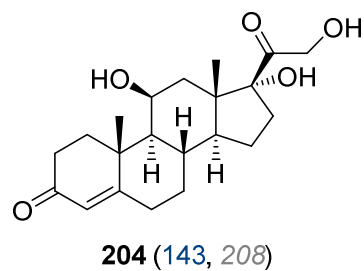
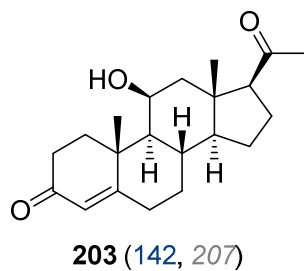
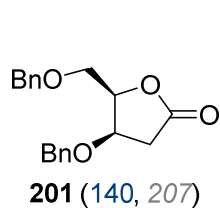
155b D-*manno* (88, 195)



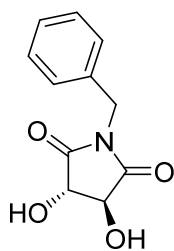
156a D-*gluco* ([88](#), [196](#))

156b D-manno (88, 196)

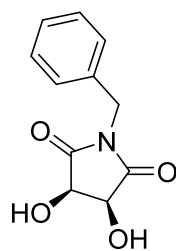




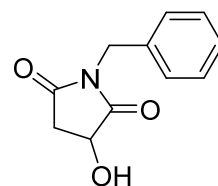
N° du composé (N° de la page partie théorique, Numéro de la page partie expérimentale)



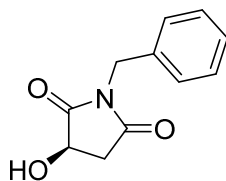
222trans (145, 216)



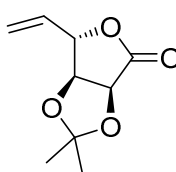
222cis (145, 216)



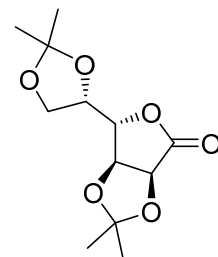
(±)-223 (145, 217)



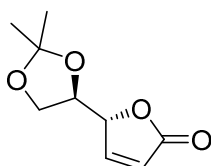
(+)-223 (145, 217)



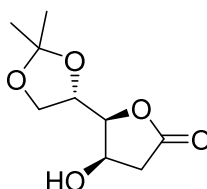
225 (147, 218)



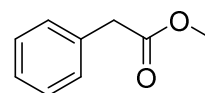
224 (147, 218)



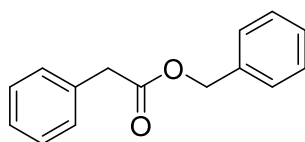
227 (147, 219)



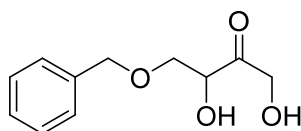
226 (147, 219)



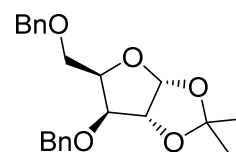
229 (148, 219)



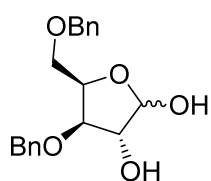
231 (148, 220)



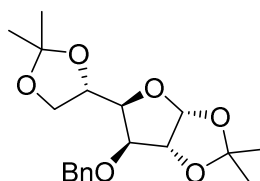
232 (150, 220)



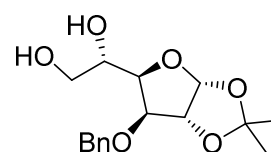
234 (151, 220)



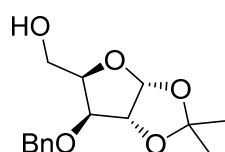
235 (151, 221)



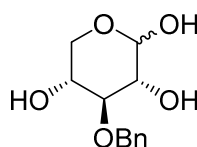
237 (151, 221)



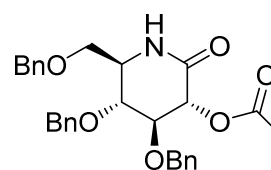
238 (151, 222)



239 (151, 222)

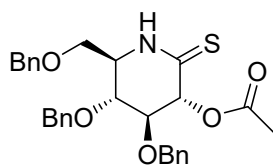


240 (151, 223)

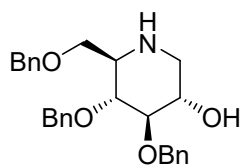


242 (153, 223)

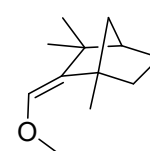
N° du composé (N° de la page partie théorique, Numéro de la page partie expérimentale)



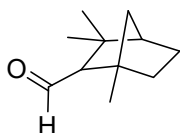
243 (154, 224)



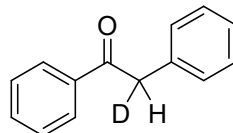
245 (154, 224)



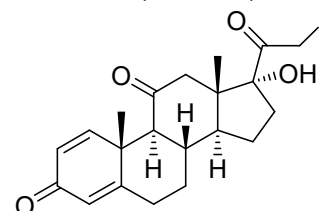
247 (155, 225)



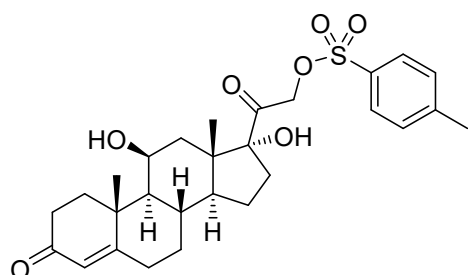
248 (155, 225)



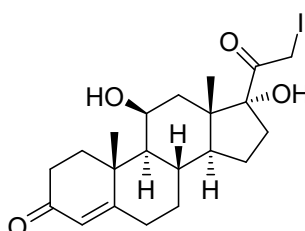
250 (157, 226)



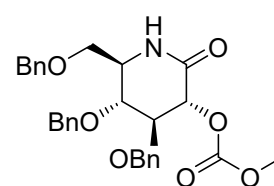
253 (158, 226)



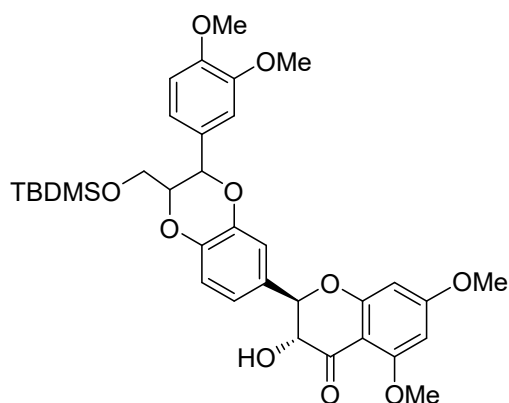
254 (159, 227)



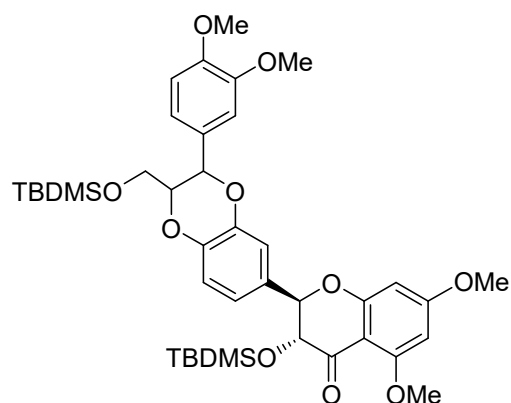
255 (159, 228)



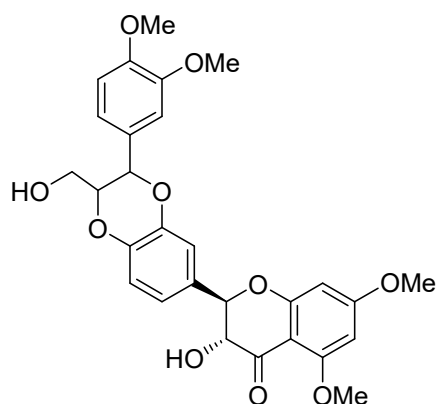
256 (160, 228)



258 (162, 229)



259 (162, 229)



260 (162, 230)

Conception et synthèse d'iminosucres multivalents bioactifs à motif glycoimidazole – Développement d'une méthode de déshydroxylation sélective

Résumé

La multivalence est reconnue en tant qu'outil permettant d'augmenter le pouvoir d'inhibition d'un inhibiteur. La mise en évidence, en 2010, d'un effet multivalent puissant sur l'inhibition des glycosidases par un iminosucre multivalent a ouvert la voie vers la synthèse de clusters toujours plus puissants. En 2016, un composé multivalent a permis d'atteindre une inhibition 173000 fois meilleure que le composé monovalent correspondant, ce qui équivaut à une augmentation record du pouvoir d'inhibition par iminosucre de 4800. La synthèse d'une nouvelle génération d'iminosucres multivalents à ligand affin pour sa cible, pour parvenir à augmenter encore l'effet multivalent, était mon objectif de thèse. Au cours de ce travail, de nouveaux iminosucres multivalents à motif gluco- ou mannoimidazole, très affin des mannosidases, ont été synthétisés. Ces composés multivalents ont permis de travailler sur deux projets parallèles : un projet fondamental et un projet appliqué. Le premier a consisté en l'étude de l'influence de l'affinité du ligand sur l'effet multivalent par mesure du pouvoir d'inhibition sur l'enzyme commerciale répondant le mieux à l'effet multivalent, l' α -mannosidase de Jack-bean. Les résultats montrent l'existence d'un effet multivalent notable mais sa valeur n'est pas aussi importante comparée aux études précédentes. Les iminosucres multivalents pouvant également cibler les glycosidases d'intérêt thérapeutique, nous nous sommes intéressés, dans le cadre du projet appliqué, au traitement de la mucoviscidose. L'idée était de viser les mannosidases I et II du réticulum endoplasmique pour permettre de secourir la protéine CFTR déficiente impliquée dans cette maladie. Malheureusement, aucun effet correcteur ni potentiateur n'a pu être observé pour nos composés. En marge de ces axes principaux, une méthode de déshydroxylation sélective a été optimisée et développée en élargissant son champ d'application et en apportant des preuves mécanistiques.

Mots-clés : Iminosucres, Multivalence, Glycoimidazole, Inhibiteurs de glycosidase, α -mannosidase de Jack-bean, Ligand affin, Mucoviscidose, CFTR, Chimie-click (CuAAC), Déshydroxylation sélective

Abstract

Multivalency is known to be a tool to drive inhibitors more potent. The multivalent effect, evidenced in 2010 with multivalent iminosugar on glycosidase inhibition, paved the way to the synthesis of multimeric inhibitors even more powerful. In 2016, an iminosugar cluster was reported to be 173 000 times more potent inhibitor compared to the monovalent reference. This is equal to an inhibitory potency enhancement of 4800 per iminosugar. The goal of my PhD was the synthesis of a new generation of multivalent iminosugars very potent towards their target, to keep increasing multivalent effect. New multivalent iminosugars with glycoimidazole motifs, with high affinity towards mannosidases, were synthesised. Those multivalent compounds allowed us to work on two parallel projects: a fundamental and an applied one. The first one focused on the influence of ligand affinity on multivalent effect by measuring the inhibition potency on the most sensitive to multivalent effect commercially available enzyme: the Jack-bean α -mannosidase. Results showed that multivalent effect was maintained but at a lower level than those reported previously. Multivalent iminosugars being also able to target glycosidases of therapeutic interest, we were interested in the treatment of cystic fibrosis. Targeting endoplasmic reticulum mannosidases I and II could restore the CFTR protein whose deficiency is the root cause of the disease. Unfortunately, no corrective or potentiation effect were observed. Aside those principal lines, a selective dehydroxylation method was optimized and developed widening the scope and providing mechanistic proofs.

Key words : Iminosugars, Multivalency, Glycoimidazole, Glycosidase inhibitors, Jack-bean α -mannosidase, Ligand affinity, Cystic Fibrosis, CFTR, Click-chemistry, Selective dehydroxylation