



HAL
open science

Les exo-glycals activés pour la synthèse de dérivés saccharidiques complexes : application à la préparation de glycoamino acides et de peptidomimétiques

Mylène Richard

► **To cite this version:**

Mylène Richard. Les exo-glycals activés pour la synthèse de dérivés saccharidiques complexes : application à la préparation de glycoamino acides et de peptidomimétiques. Autre. Université de Lorraine, 2015. Français. NNT : 2015LORR0133 . tel-01754621

HAL Id: tel-01754621

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01754621v1>

Submitted on 30 Mar 2018

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

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



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THÈSE

Présentée pour l'obtention du grade de

Docteur de l'Université de Lorraine

en Chimie et Physicochimie Moléculaires

par

Mylène RICHARD

Les *exo*-glycols activés pour la synthèse de dérivés saccharidiques complexes : application à la préparation de glycoamino acides et de peptidomimétiques

Soutenance publique le 13 Novembre 2015 devant la commission d'examen

Rapporteurs : Dr. David Gueyrard, Université Claude Bernard - Lyon 1
Pr. José Cristobal López, Instituto de Química Orgánica General - CSIC,
Madrid

Examineurs : Dr. Philippe Gros, Université de Lorraine
Dr. Nadia Pellegrini-Moïse, Université de Lorraine - Directeur de thèse

Invité : Dr. Yves Chapleur

A ma famille

A mes amis

Remerciements

Ce travail a été réalisé au laboratoire SRSMC (Structure et Réactivité des Systèmes Moléculaires Complexes), UMR 7565 CNRS-UL, au sein de l'équipe MoBAT (Molécules Bioactives et Traceurs), dirigée par le Professeur Jean-Bernard Regnouf De Vains.

Je voudrais tout d'abord adresser mes plus sincères remerciements à Monsieur le Directeur de Recherche Yves Chapleur, pour m'avoir permis d'effectuer ma thèse au sein de son laboratoire et pour m'avoir guidé tout au long de mes recherches.

J'exprime également toute ma gratitude à Madame le Docteur Nadia Pellegrini-Moïse, pour son encadrement, ses conseils avisés, la confiance et l'autonomie qu'elle m'a accordé pendant ces trois années. Travailler avec elle fut un grand plaisir, tant pour sa bonne humeur de tout instant que pour sa rigueur scientifique.

Je remercie très sincèrement Monsieur le Professeur José Cristobal López, de l'Instituto de Química Orgánica General, de Madrid et Monsieur le Docteur David Gueyrard, de l'Université Claude Bernard - Lyon 1, pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de juger ces travaux et d'en être les rapporteurs.

Je remercie également Monsieur le Professeur Philippe Gros de l'Université de Lorraine, pour l'intérêt qu'il veut bien accorder à cette thèse en acceptant de juger ce travail.

Je remercie le Professeur Muriel Barberi-Heyob du CRAN de Nancy pour m'avoir permis d'effectuer les tests biologiques au sein de son laboratoire. Je remercie également le Docteur Cédric Boura et Alicia Château pour le temps et l'aide qu'ils m'ont apporté lors de la réalisation de ces différents tests.

Je remercie le Docteur Bernard Maignet pour ses travaux de modélisation et de docking sur mes composés ainsi que le Docteur Claude Didierjean pour les structures RX qu'il a effectuées sur mes composés. Je remercie également le Docteur Christian Jelsch pour ses travaux de biocristallographie sur mes composés.

D'autre part, je remercie le Docteur Marie-Christine Averlant-Petit pour les travaux de modélisation moléculaire et de RMN qu'elle a réalisés sur certains de mes produits et pour les

expériences d'Infra-rouge qu'elle m'a aidé à mener à bien. Je remercie également Stéphane Parant pour l'aide qu'il m'a apporté lors des expériences de dichroïsme circulaire.

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements :

Au Dr Sandrine Lamandé-Langle, pour sa bonne humeur, ses conseils scientifiques (et ses conseils de lecture).

Au Dr Anne-Sophie Felten, pour ses conseils et l'aide qu'elle m'a apporté lors de mon stage de M2 ainsi que pour sa contribution régulière à l'amélioration du décor du laboratoire.

Au Dr Françoise Chrétien et à Madame Brigitte Fernet pour leurs conseils sur la spectroscopie RMN et les techniques HPLC, à Messieurs François Dupire et Fabien Lachaud pour la spectroscopie de masse.

A Madame Agnès Petitjean pour ses réparations de verrerie, ses bons gateaux et ses encouragements.

Au personnel du groupe MoBAT que j'ai côtoyé ces dernières années : au Pr Jean-Bernard Regnouf de Vains et aux Drs Jean-Pierre Joly et Michel Boisbrun pour leurs précieux conseils, aux Drs Maxime Mourer et Igor Clarot et à Claire Beck et Paule Bazard.

Je remercie plus particulièrement mes anciens collègues maintenant docteurs : Charlotte Collet, Maxime Meyer, Frédéric Lemée, Sahar Saliba, Afra Khiralla, Robin Cisneros et Marjorie Etique. Je remercie également mes stagiaires à qui je souhaite une belle réussite future.

Pour finir, je tiens à remercier mes amis et ma famille, notamment mes parents, pour m'avoir encouragée à chaque instant, et mes frères et sœurs, Romain, Mélanie, Chloé et Louise pour m'avoir soutenu tout au long de cette période.

Liste des abréviations

Ac : acétate

AcOH : acide acétique

ACN : acétonitrile

AIBN : azobisisobutyronitrile

Ala : résidu alanine

Arg : résidu arginine

Boc : *tert*-butoxycarbonyle

Cbz : benzyloxycarbonyle

CCM : chromatographie sur couche mince

CI₅₀ : concentration inhibitrice médiane

COSY : COrrélation SpectroscopY

Cp : cyclopentadiényle

DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène

DC : dichroïsme circulaire

DEAD : diéthylazodicarboxylate

DIEA : *N,N*-diisopropyléthylamine

DMAP : 4-(diméthylamino)pyridine

DMF : *N,N*-diméthylformamide

DMSO : diméthylsulfoxyde

DPAP : 2,2-diméthoxy-2-phénylacétophène

EA : acétate d'éthyle

EDC : 3-(éthyliminométhylèneamino)-*N,N*-diméthylpropan-1-amine

ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

éq. : équivalent

ESI : ionisation par électrospray

Et₃N : triéthylamine

γGAA : γ-glycoamino acide

gpn : gabapentine

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

HMBC : Heteronuclear Multiple Bond Correlation spectroscopy

HMQC : Heteronuclear Multiple Quantum Coherence spectroscopy

HOBt : hydroxybenzotriazole

HRMS : High Resolution Mass Spectrometry

HRP : Horse-radish peroxidase

HUVEC : Human Umbilical Vein Endothelial Cells (cellules endothéliales de veines de cordon ombilical humain)

*i*Pr : isopropyle

IR : infrarouge

LH : liaison hydrogène

MEC : matrice extra-cellulaire

MHz : Mégahertz

MOM : méthoxyméthyle

Mp : Point de fusion

NOESY : Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

NRP-1 : neuropiline-1

Ph : phényle

PyBOP : benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate

R_f : rapport frontal

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RX : rayons X

t.a. : température ambiante

TBAF : fluorure de tétra-*n*-butylammonium

TBDMS : *tert*-butyldiméthylsilyle

*t*Bu : *tert*-butyle

TEMPO : 2,2,6,6-tétraméthylpipéridine 1-oxyl

TEP : tomographie par émission de positons

TFA : acide trifluoroacétique

TFP : trifurylphosphine

THF : tétrahydrofurane

TMB : 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine

TMSCl : chlorure de triméthylsilyle

Ts : tosyle

UV : ultraviolet

μM : micromolaire

VEGF (bt) : facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (biotynilé)

WST : Water-Soluble Tetrazolium

Sommaire

Introduction générale	1
Partie I - Réactivité des <i>exo</i>-glycals activés : obtention de glycopeptides linéaires et cycliques	5
A- Étude de la réactivité des <i>exo</i>-glycals	7
I- État de l'art	7
I.1- Préparation des <i>exo</i> -glycals	7
I.1.1- Méthodes directes	8
I.1.2- Méthodes indirectes	10
I.2- Fonctionnalisation des <i>exo</i> -glycals	11
I.2.1- Fonctionnalisation de la double liaison	11
I.2.2- Réactions d'addition sur le carbone anomérique	14
II- Objectifs	21
III- Addition de nucléophiles carbonés	22
III.1- Rappels bibliographiques	22
III.1.1- Synthèse de <i>C,C</i> -glycosides	22
III.1.2- Addition de Michael de dérivés carbonés	25
III.2- Addition de nitrométhane sur les <i>exo</i> -glycals activés	26
III.2.1- Application à des furano- <i>exo</i> -glycals trisubstitués	26
III.2.1- Cas des furano- <i>exo</i> -glycals tétrasubstitués	33
III.2.3- Cas des pyrano- <i>exo</i> -glycals	36
III.3- Calculs théoriques	37
III.4- Addition d'autres nucléophiles carbonés	40
IV- Addition de dérivés soufrés	41
IV.1- Rappels bibliographiques	41
IV.1.1- Addition de thiols par réaction de Michael	41
IV.1.2- Addition de thiols en conditions radicalaires	43
IV.2- Mise au point de l'addition de thiols sur les <i>exo</i> -glycals	47
IV.2.1- En conditions basiques	47
IV.2.2- En conditions radicalaires	49
IV.4- Applications à d'autres thiols	56
IV.4.1- Thiols aliphatiques, aromatiques et glucidiques	57
IV.4.2- Additions de peptides contenant une fonction thiol	59
V- Conclusion	65

B- Synthèse de glycopeptides linéaires et cycliques	67
I- Objectifs	67
II- Synthèse de glycopeptides linéaires et propriétés de structuration	69
II.1- Rappels bibliographiques	69
II.1.1- Oligomères non contraints	69
II.1.2- Oligomères comportant une contrainte cyclique.....	70
II.1.4- Oligomères comportant des unités saccharidiques	74
II.2- Préparation des glycopeptides	76
II.2.1- Accès aux monomères : γ -glycoamino acides anomériques	76
II.2.2. Oligomérisation	79
II.3- Etudes des propriétés de structuration.....	83
II.3.1- Essais de cristallisation	83
II.3.2- Etude conformationnelle par RMN	84
II.3.3- Infra-rouge en solution.....	89
II.3.4- Dichroïsme circulaire	91
II.3.5- Modélisation moléculaire.....	93
II.3.6- Discussion	94
III- Glycopeptides cycliques	96
III.1- Rappels bibliographiques.....	96
III.1.1- Les différents types de plates-formes multivalentes.....	96
III.1.2- Les cyclopeptides : propriétés et utilisation comme plates-formes multifonctionnelles.....	97
III.2- Préparation des cyclo(glyco)peptides	100
III.2.1- 1 ^{ère} génération	101
III.2.2- 2 ^{ème} génération	103
III.2.3- 3 ^{ème} génération	106
III.2.3- Déprotection des stuctures cycliques.....	108
III.3- Conclusion	109
Partie II - C-glycosides ciblant le récepteur NRP-1 : conception, synthèse et évaluation biologique.....	111
I- Introduction	113
I.1- Le récepteur NRP-1	113
I.1.1- Le phénomène d'angiogenèse	113
I.1.2- Fonction et potentiel thérapeutique de NRP-1	114
I.2- Les ligands connus de NRP-1.....	115
I.2.1- Les ligands peptidiques	116
I.2.2- Peptidomimétiques et ligands non-peptidiques.....	118

I.3- Rôle potentiel de NRP-1 dans la thérapie et le diagnostic du cancer	123
I.3.1- Anticorps anti-NRP-1	124
I.3.2- Peptides pénétrant les cellules	125
I.3.3- ATWLPPR.....	126
II- Objectifs	128
III- 1 ^{ère} génération : analogues d'AN41	130
III.1- Plate-forme saccharidique de configuration <i>cis</i>	130
III.1.1- Conservation du bras di-guanidinylé	130
III.1.2- Lien triazole	132
III.2- Plate-forme saccharidique de configuration <i>trans</i>	134
III.3- Conclusion	135
IV- 2 ^{ème} génération de ligands : spiro-isoxazolidines	137
IV.1- Synthèse de la plate-forme spiro-isoxazolidine	137
IV.2- Fonctionnalisation par l'ester en C-4.....	138
IV.3- Fonctionnalisation en C-9	140
IV.3.1- Formation d'un triazole	141
IV.3.2- Formation d'un lien amide.....	143
IV.3.3- Formation d'un lien amine.....	144
IV.4- Conclusion	145
V- 3 ^{ème} génération : arginine en position C-terminale	146
V.1- Synthèse	146
V.1.1- Dérivés de configuration <i>cis</i>	147
V.1.2- Dérivés de configuration <i>trans</i>	151
V.1.3- Conjugaison avec un groupe fluoré.....	154
V.2- Modélisation moléculaire.....	156
VI- Evaluation biologique	159
VI.1- Test ELISA et calcul d'affinité	159
VI.2- Résultats.....	160
VI.2.1- 1 ^{ère} génération : analogues de AN241	160
VI.2.2- 2 ^{ème} génération : spiro-isoxazolidines.....	161
VI.2.3- 3 ^{ème} génération : arginine en position C-terminale	163
VI.3- Test de sélectivité.....	165
VI.4- Tests sur cellules HUVEC	166
VI.4.1- Effet sur l'activation des voies de signalisation de NRP-1.....	167
VI.4.2- Effets sur la survie et la prolifération des cellules endothéliales	169
VI.4.3- Effets sur l'invasion et le remodelage des cellules endothéliales en capillaires..	170

VI.4.4- Discussion.....	172
VII- Conclusion.....	173
Conclusion générale.....	175
Partie expérimentale.....	179
Bibliographie	305

Introduction générale

Les saccharides sont des composés omniprésents dans la nature et possèdent des rôles biologiques multiples. Le développement de nouvelles structures plus ou moins complexes dérivées d'unités saccharidiques présente donc un intérêt certain en chimie organique, notamment en ce qui concerne les *C*-glycosides qui sont pourvus d'une meilleure stabilité métabolique que les *O*-glycosides. La stabilité de ces composés leur confère un intérêt tout particulier pour la conception d'agents thérapeutiques.

Ces dernières années, il a été montré que des *C*-glycosides fonctionnalisés peuvent être issus d'*exo*-glycals possédant en position anomérique une double liaison carbone-carbone. De nombreuses voies d'accès à des *exo*-glycals par des méthodes directes ou indirectes ont été rapportées. Une synthèse originale à partir de lactones de sucres a été décrite au laboratoire et a conduit au développement de divers composés d'intérêt pharmacologique. En outre, cette méthode ne donnant accès qu'à des *exo*-glycals de structure peu diversifiée, des travaux méthodologiques pour la fonctionnalisation de ces composés ont été menés à bien. Ce présent travail s'inscrit dans la suite de ces recherches et se penche sur deux aspects différents, l'étude de la réactivité des *exo*-glycals et leur utilisation pour la conception et la préparation de glycoamino acides et de peptidomimétiques.

Dans la première partie de ce travail, la fonctionnalisation d'*exo*-glycals par addition de différents nucléophiles carbonés ou soufrés a été mise au point, constituant ainsi une voie d'accès rapide et originale à des bis *C,C*-glycosides ou à des *C,S*-glycosides. Ensuite, la réactivité des *C,C*-glycosides formés a été exploitée afin de préparer des γ -glycoamino acides anomériques. Ces nouveaux acides aminés glycosidiques ont été incorporés dans des peptides α/γ alternés avec deux finalités. La première est l'étude des propriétés de structuration en solution d'une première famille de glycopeptides, un travail qui s'inscrit dans le domaine des foldamères. La deuxième finalité est la préparation d'édifices macromoléculaires de type cycloglycopeptides donnant accès à des plates-formes multifonctionnelles.

Dans le second volet du travail, nous nous sommes intéressés à la fonctionnalisation d'une plate-forme de type *C*-glycoside de façon à cibler un récepteur impliqué dans l'angiogenèse tumorale, le récepteur NRP-1. L'élaboration de ces composés a été en partie guidée par des études de modélisation moléculaire. L'affinité des ligands peptidomimétiques formés a été mesurée par des tests de binding (ELISA) ainsi que par des tests de viabilité sur des cellules endothéliales (HUVEC). Leurs propriétés anti-angiogéniques ont également été étudiées.

Partie I - Réactivité des exo-glycals activés : obtention de glycopeptides linéaires et cycliques

A- Étude de la réactivité des *exo*-glycals

I- État de l'art

Les glycals sont des dérivés saccharidiques de type *C*-glycosides qui possèdent une double liaison en position anomérique. Cette famille est séparée en deux groupes : les *endo*-glycals où la double liaison est *endo*-cyclique et les *exo*-glycals ou *C*-glycosylidènes pour lesquels la double liaison est *exo*-cyclique. Nous emploierons la dénomination *exo*-glycals tout au long de ce manuscrit (Figure 1).

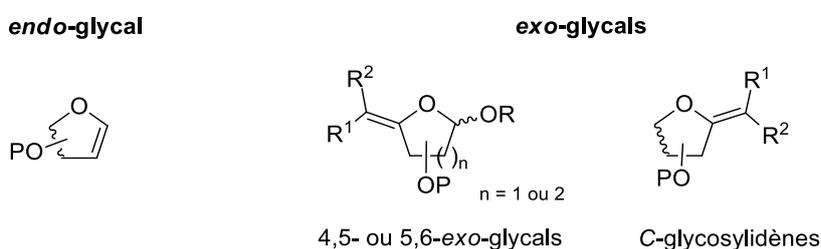


Figure 1. Les différents types de glycals

Les *C*-glycosides sont des analogues d'intérêt des *O*-glycosides largement étudiés, notamment pour leur stabilité face à l'hydrolyse enzymatique et leur occurrence dans de nombreux composés naturels. Les *exo*-glycals étant des précurseurs de *C*-glycosides, le développement de méthodes de synthèse et de fonctionnalisation d'*exo*-glycals est donc directement lié à l'intérêt que présentent les *C*-glycosides.

La chimie de ces *exo*-glycals s'est développée essentiellement après la découverte par Chapleur¹ et Wilcox² en 1984 de deux méthodes de préparation directe de ces composés à partir de lactones de sucres. D'autres méthodes de synthèse directe ont également été décrites par Gueyrard *et al.*³ Les principales méthodes de synthèse d'*exo*-glycals issues de la littérature ainsi que quelques exemples de fonctionnalisation et d'utilisation de ces composés sont décrites dans les paragraphes suivants.

I.1- Préparation des *exo*-glycals

Les méthodes de préparation d'*exo*-glycals peuvent être divisées en deux groupes : les méthodes directes conduisant à la formation des *exo*-glycals en une seule étape et les méthodes indirectes nécessitant plusieurs étapes.

I.1.1- Méthodes directes

Bien que différentes au niveau des réactifs mis en œuvre, ces méthodes directes de préparation d'*exo-glycols* sont toujours réalisées à partir de lactones de sucre. Elles sont classées en trois catégories : réaction de Wittig, réaction avec un organométallique ou réaction de Julia.

a- Réaction de Wittig

Le développement de synthèses d'*exo-glycols* par réaction de Wittig à partir de lactones de sucres a été mis au point par Chapleur *et al.* (Schéma 1).¹ La première oléfination décrite faisait état de l'utilisation de tétrachlorure de carbone et de tris(diméthylamino)phosphine à froid pour obtenir des dérivés dichlorés à partir de 1,4-lactones.^{1,4} Cette méthode n'était applicable que pour des 1,4-lactones qui présentaient un groupement protecteur de type 2,3-isopropylidène. La synthèse des dérivés dichlorés a été revue par la suite afin de la généraliser à un plus grand nombre de lactones.⁵ La liaison C-Br étant plus réactive que la liaison C-Cl, une synthèse de dibromo-oléfine a également été mise au point. Elle met en jeu un bromure de bromométhylphosphorane et le *tert*-butanolate de potassium qui réagissent *in situ* pour former le phosphorane dibromé. Ce système a permis la synthèse d'une série de furano- et de pyrano-*exo-glycols* dibromés.⁶ En 1989, Motherwell *et al.* ont développé une réaction de Wittig conduisant à des *exo-glycols* difluorés.⁷ La réaction a lieu en présence de tris(diméthylamino)phosphine, de dibromodifluorométhane et de zinc dans le THF à reflux.

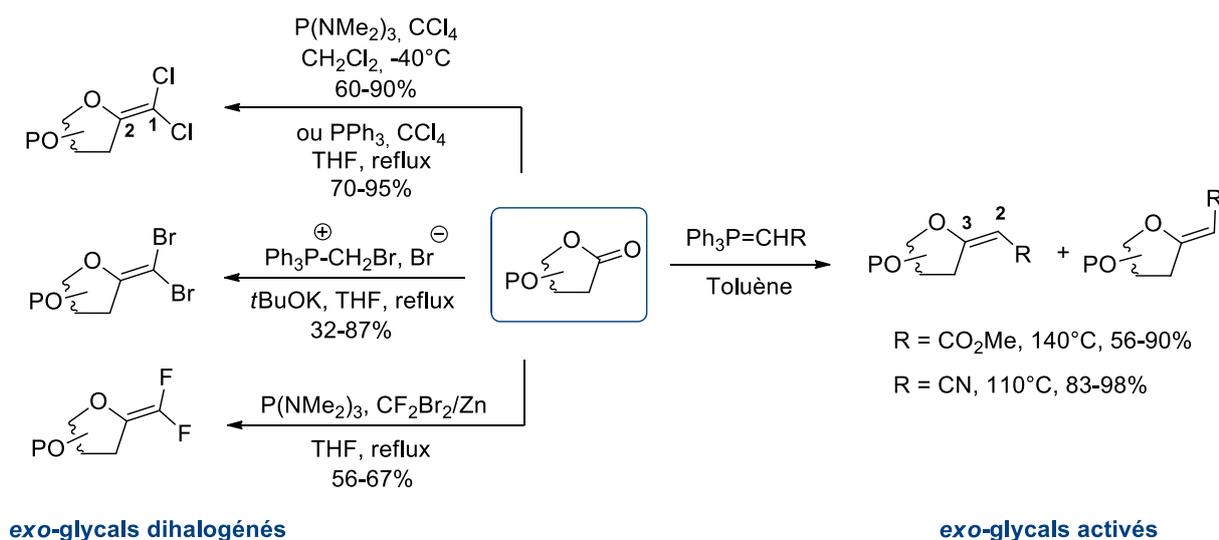


Schéma 1. Oléfination par réaction de Wittig

Un peu plus tard, d'autres *exo*-glycols ont été préparés par réaction entre lactones et phosphoranes stabilisés.⁸ Dans ce cas, les réactions ont lieu dans le toluène à 140°C en réacteur fermé. Les nouveaux *exo*-glycols obtenus sont dits « activés » car ils présentent une substitution « push-pull » liée à la présence d'un oxygène en C-3 et d'un groupement électroattracteur en C-2.

b- Réaction avec le réactif de Tebbe ou le réactif de Petasis

En 1984, Wilcox *et al.* ont décrit la première synthèse d'un méthylène *exo*-glycol avec le réactif de Tebbe (Schéma 2).² Cette réaction est applicable pour la préparation de furano- et de pyrano-*exo*-glycols.^{9,10} La double liaison formée n'est pas fonctionnalisée mais les méthylène *exo*-glycols sont particulièrement réactifs et une fonctionnalisation ultérieure est possible. Le réactif de Petasis a également été employé pour la formation de ces *exo*-glycols.¹¹

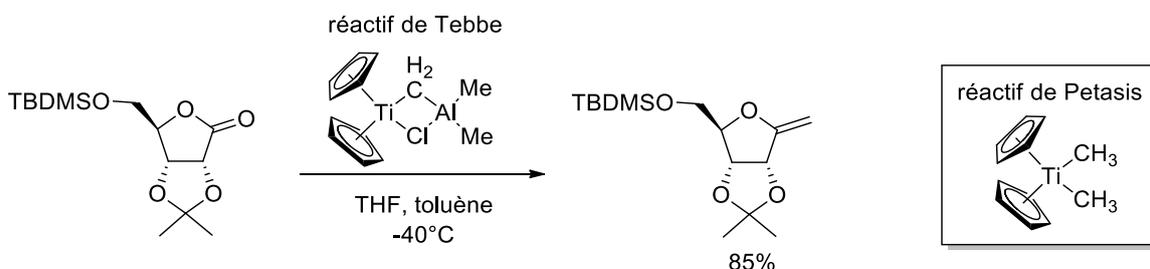


Schéma 2. Oléfination par le réactif de Tebbe²

c- Oléfination de Julia

Gueyrard *et al.* ont développé plus récemment la synthèse d'*exo*-glycols fonctionnalisés par des alkyles linéaires ou cycliques *via* le réactif de Julia (Schéma 3).³ Cette méthode a été récemment élargie à la synthèse d'*exo*-glycols mono- ou difluorés par l'emploi d'un réactif de Julia préalablement modifié.¹² Cette oléfination est applicable à des lactones saccharidiques à 5 ou 6 chaînons et permet d'obtenir des *exo*-glycols tri- ou tétrasubstitués avec des rendements moyens à très bons.

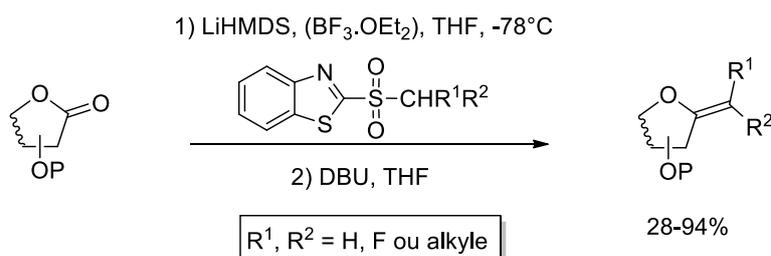


Schéma 3. Oléfination par le réactif de Julia

I.1.2- Méthodes indirectes

Il existe également des méthodes de préparation indirectes, c'est-à-dire en plusieurs étapes, d'*exo*-glycols. Les principales sont regroupées dans le schéma 4. Ces méthodes, plus longues à mettre en œuvre, peuvent mener à des méthylènes *exo*-glycols ou bien à d'autres *exo*-glycols porteurs d'un groupe fonctionnel.

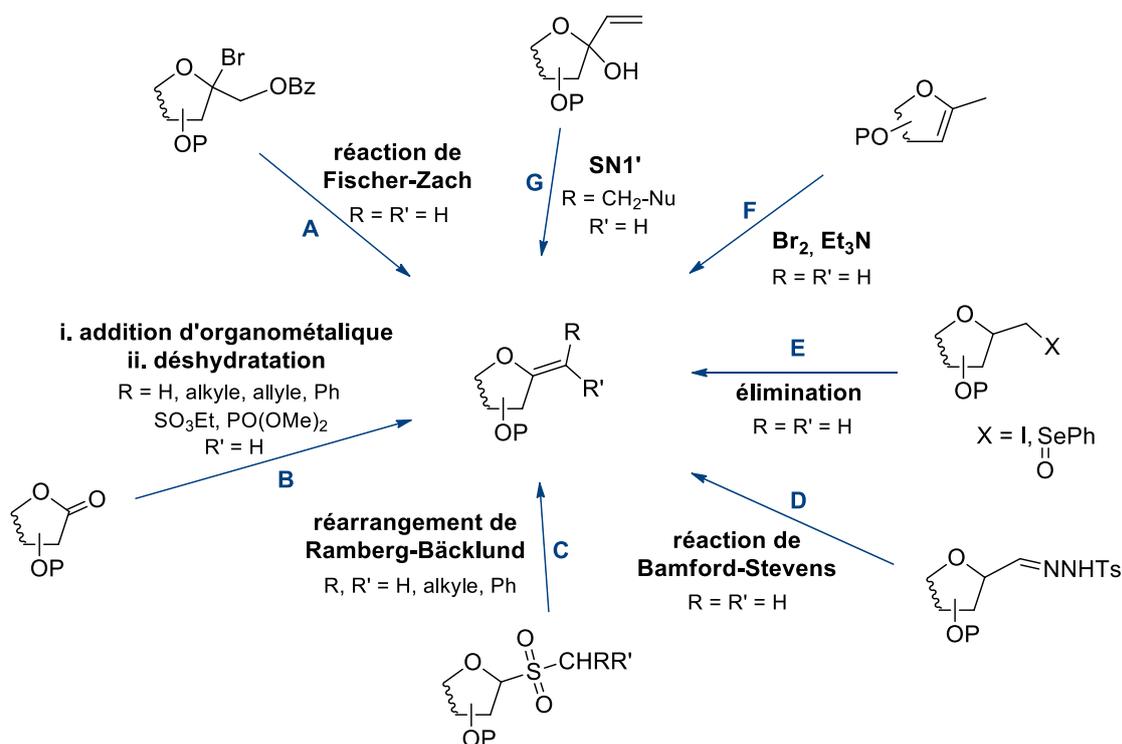


Schéma 4. Méthodes indirectes pour la préparation d'*exo*-glycols

Ainsi, les méthylènes *exo*-glycols peuvent être obtenus par réaction de Fischer-Zach¹³ (méthode A), réaction de Bamford-Stevens¹⁴ (méthode D), élimination d'iodure ou de sélénioxyde¹⁵ (méthode E) ou encore par bromation d'*endo*-glycols suivie d'une élimination¹⁶ (méthode F).

Des méthodes indirectes donnant accès à des oléfines fonctionnalisées ont également été décrites. Par exemple, en 2002, Lin *et al.* ont décrit une méthode de synthèse stéréosélective d'*exo*-glycols par addition nucléophile d'un magnésien ou d'un lithien sur le carbonyle de la lactone suivie d'une déshydratation par l'anhydride trifluoroacétique^{17a} (méthode B). Cette méthode conduit uniquement à la formation de l'*exo*-glycol de configuration *Z* substitué par divers groupements d'intérêt (ester, alkyle, allyle, phosphoryle ou sulfonyle). Les équipes de Sinaÿ et Vincent ont d'ailleurs employé cette méthode pour préparer des inhibiteurs de l'UDP-

galactopyranose mutase.^{17b,17c} Des *exo*-glycols ont également été préparés par réaction de Wittig de phosphoranes glucidiques sur des aldéhydes.¹⁸ Le réarrangement de Ramberg-Bäcklund à partir de sulfones anomériques conduit à des *exo*-glycols substitués par un aromatique ou un alkyle (méthode C).¹⁹ Enfin, en 2007, Yamanoi *et al.* ont décrit la formation d'*exo*-glycols par substitution SN1' (méthode G).²⁰

I.2- Fonctionnalisation des *exo*-glycols

Disposant de voies de synthèses efficaces d'*exo*-glycols, la mise au point de méthodes de fonctionnalisation de ces oléfines a été particulièrement étudiée au laboratoire (Schéma 5). D'une part, la fonctionnalisation de la double liaison anomérique a été examinée par formation de liaisons carbone-carbone à partir de liaisons carbone-halogène. D'autre part, l'addition d'hydrogène, de carbènes ou de nucléophiles azotés ou oxygénés a été explorée.

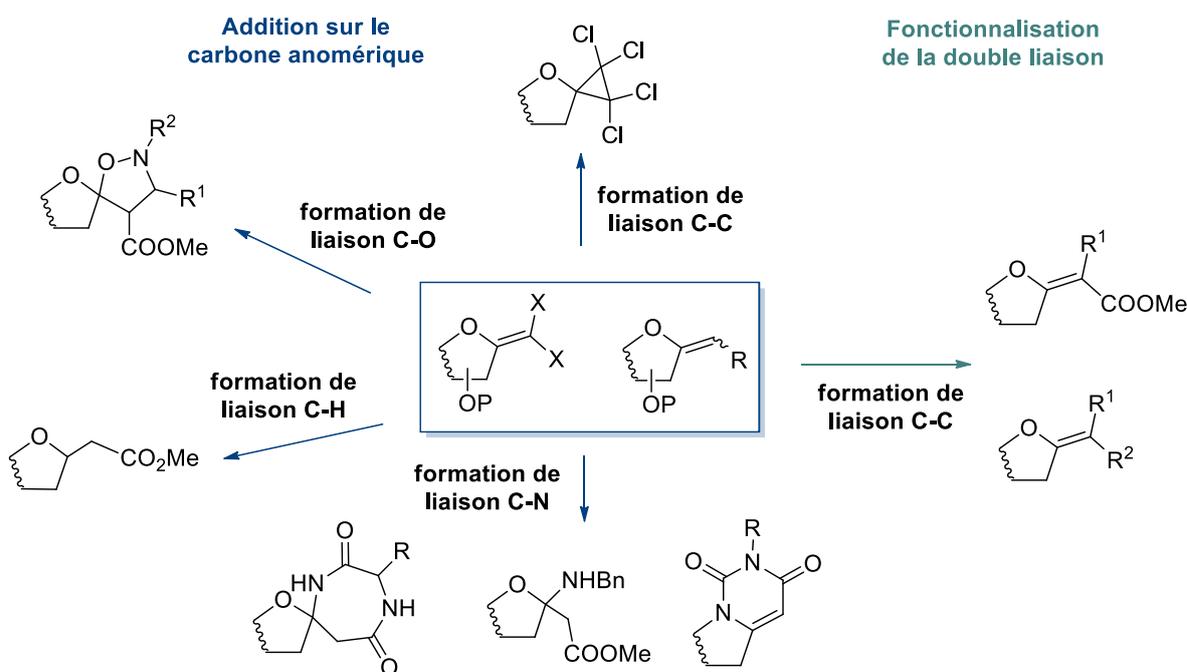


Schéma 5. Travaux de fonctionnalisation réalisés au laboratoire

I.2.1- Fonctionnalisation de la double liaison

Il s'agit de transformer des *exo*-glycols aisément accessibles en *exo*-glycols plus fonctionnalisés en tirant profit des réactions de couplage organométallique.

a- Cas des *exo*-glycols dihalogénés

Une méthode originale de double fonctionnalisation « one-pot » d'*exo*-glycols bromés a été développée par López *et al.* (Schéma 6, a).²¹ Cette stratégie a permis l'introduction de diverses amines en position allylique et de divers groupements aromatiques sur l'*exo*-glycol en une seule étape et avec une stéréochimie contrôlée. Les *exo*-glycols halogénés sont donc des substrats potentiels pour les réactions de couplage organométallique.

En se basant sur ces travaux, l'emploi d'*exo*-glycols dihalogénés a permis la préparation d'*exo*-glycols disubstitués par des groupements aromatiques ou allyliques (Schéma 6, b).²² Une première réaction de Suzuki ou de Stille appliquée aux *exo*-glycols dibromés conduit aux *exo*-glycols monosubstitués. Après purification de l'isomère *Z* majoritairement obtenu, un deuxième couplage de Stille ou de Suzuki permet l'obtention des *exo*-glycols disubstitués.

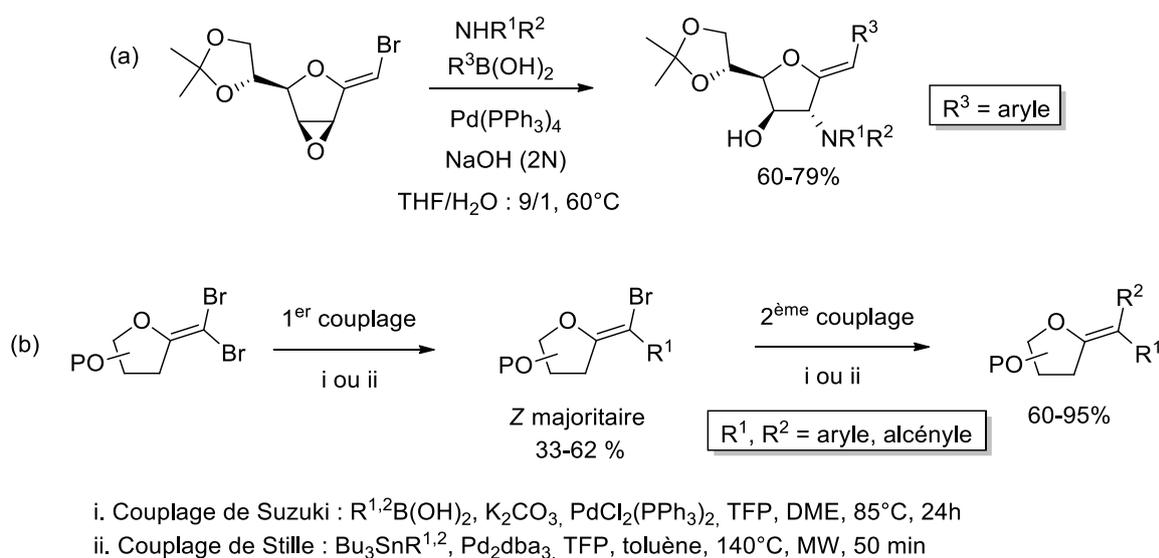


Schéma 6. Couplages pallado-catalysés successifs sur les *exo*-glycols dibromés^{21,22}

Ces systèmes oléfiniques gem-disubstitués par deux noyaux aromatiques présentent une forte analogie structurale avec des inhibiteurs connus de la polymérisation de la tubuline comme la phénstatine²³ ou l'iso-combréstatine,²⁴ leurs propriétés biologiques ont donc été évaluées en ce sens (Figure 2). L'unité saccharidique pouvait être considérée comme un lien entre les deux groupements aromatiques, mais aussi comme un moyen de contrôler l'hydrosolubilité des composés par simple déprotection des hydroxyles saccharidiques.

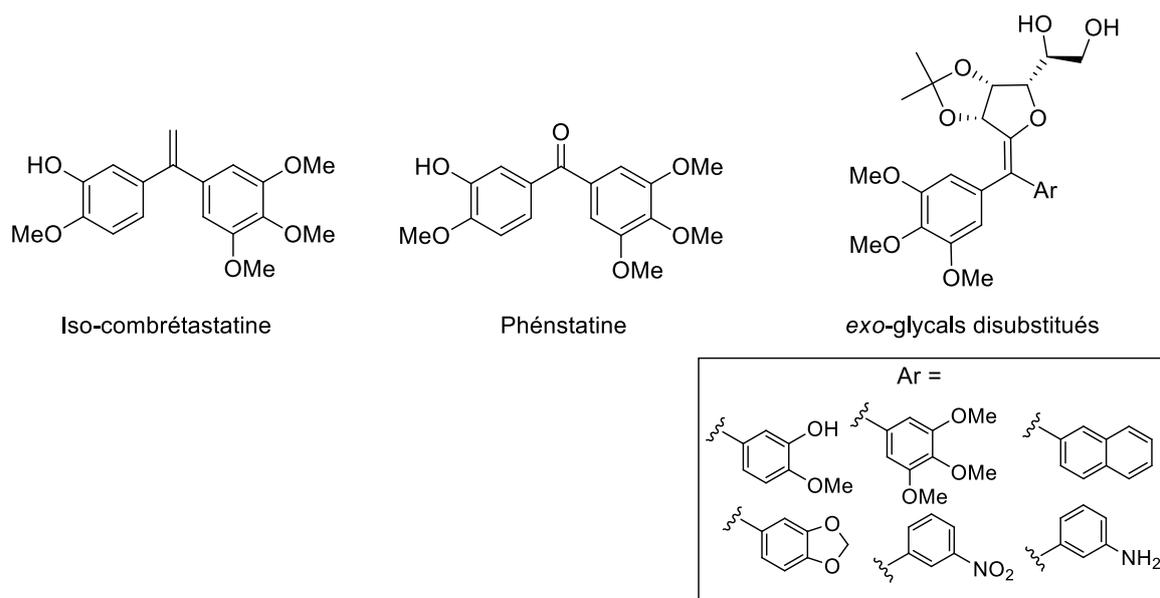
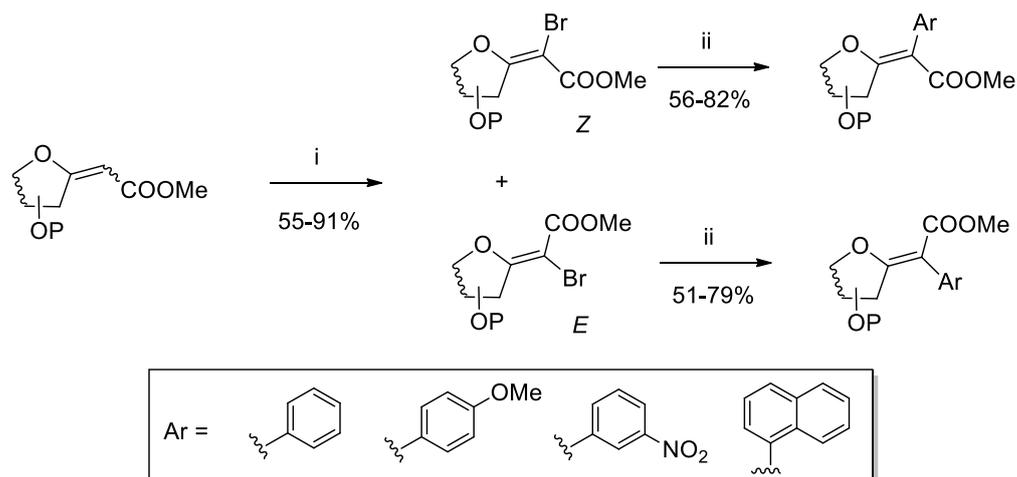


Figure 2. Structures de quelques inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline et des analogues synthétisés

Ces dérivés n'ont pas montré de propriétés d'inhibition pour la polymérisation de la tubuline. Des études de docking ont montré que les composés n'adoptaient pas de mode de liaison cohérent, ce qui empêchait l'établissement des interactions nécessaires à l'activité biologique souhaitée. En revanche, certains de ces produits ont démontré des propriétés antiprolifératives envers différentes lignées cellulaires cancéreuses *via* un mécanisme jusqu'ici indéterminé.²⁵

b- Cas des *exo*-glycols « push-pull »

La synthèse d'*exo*-glycols activés par réaction de Wittig est limitée à l'emploi de quelques phosphoranes stabilisés par des groupements électroattracteurs (CN, CO₂Me).²⁶ Fonctionnaliser ces *exo*-glycols pour accéder à des composés plus complexes présente un intérêt évident. L'une des méthodes de fonctionnalisation possible est l'halogénéation en C-2. Ainsi, des furano- et pyrano-*exo*-glycols bromés ont été obtenus avec d'excellents rendements, mais la stéréochimie de l'*exo*-glycol de départ n'est pas conservée et un mélange *Z/E* de proportion variable a été obtenu dans chaque cas (Schéma 7).^{22b} Après bromation, la fonctionnalisation des *exo*-glycols par un couplage pallado-catalysé de type Suzuki a été effectuée. Les différents *exo*-glycols tétrasubstitués ont été obtenus avec de très bons rendements.



i. Br₂, Et₃N, CCl₄, 0°C → t.a., ii. ArB(OH)₂, K₂CO₃, Pd(PPh₃)₄, 1,4-dioxane, 110°C, 24h

Schéma 7. Bromation en C-2 et couplage de Suzuki

I.2.2- Réactions d'addition sur le carbone anomérique

Outre la fonctionnalisation de leur double liaison, ces différents *exo*-glycals peuvent aussi être de bons substrats pour différentes réactions d'addition. Ces additions peuvent ainsi conduire à la formation de liaisons C-H, C-O, C-N ou C-C sur le centre anomérique.

a- Formation de liaison C-H, accès à des C-glycosides

Une des réactions possible à partir de ces composés est la réduction de la double liaison et la formation de lien C-H, conduisant à des C-glycosides. A titre d'exemple, la réactivité de l'*exo*-glycal de configuration *D-gulo* vis-à-vis de cette réaction a été étudiée.

En ce qui concerne l'*exo*-glycal dichloré et les produits monobromés, un traitement par le Nickel de Raney fraîchement préparé conduit à la formation d'un groupement méthyle (Schéma 8, a) ou du C-glycoside correspondant (b).¹ L'hydrogénation de la liaison C-Br nécessite une pression en hydrogène élevée (b).^{22b}

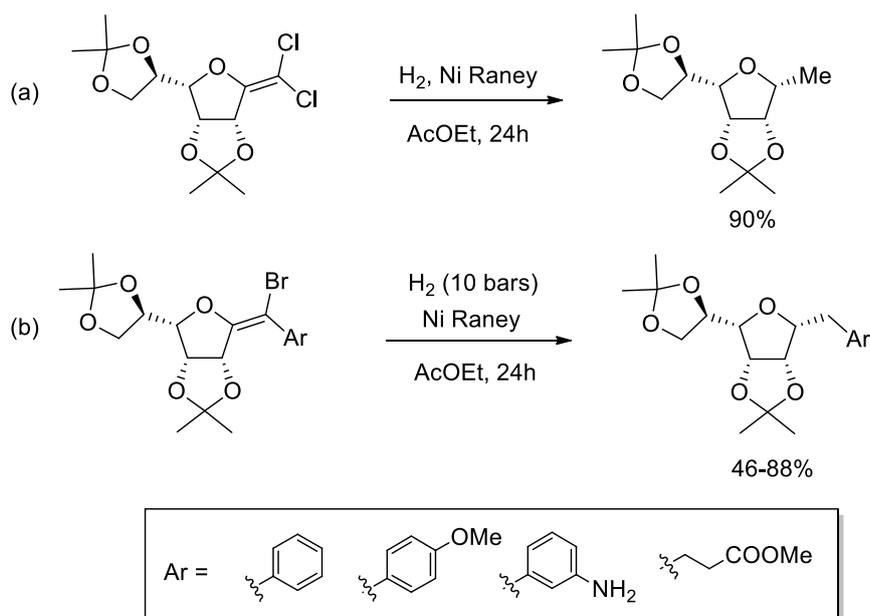


Schéma 8. Réduction des *exo*-glycals dichlorés ou monobromés

Pour les *exo*-glycals activés trisubstitués, l'utilisation de catalyseurs palladiés sous atmosphère d'hydrogène conduit aux C-glycosides attendus avec de très bons rendements (Schéma 9, a).²⁷ Certains de ces composés ont servi de plates-formes pour l'élaboration de peptidomimétiques du récepteur NRP-1,²⁸ impliqué dans l'angiogenèse tumorale. La préparation et l'intérêt de ces peptidomimétiques seront détaillés dans la deuxième partie de ce manuscrit.

La réduction des *exo*-glycals activés tétrasubstitués nécessite l'emploi d'oxyde de platine et une pression en hydrogène beaucoup plus élevée (50 bars), conduisant à la formation d'un carbone asymétrique en C-2. La stéréochimie de ce nouveau centre chiral a été déduite de la configuration *E* de l'*exo*-glycal de départ (b).^{22a}

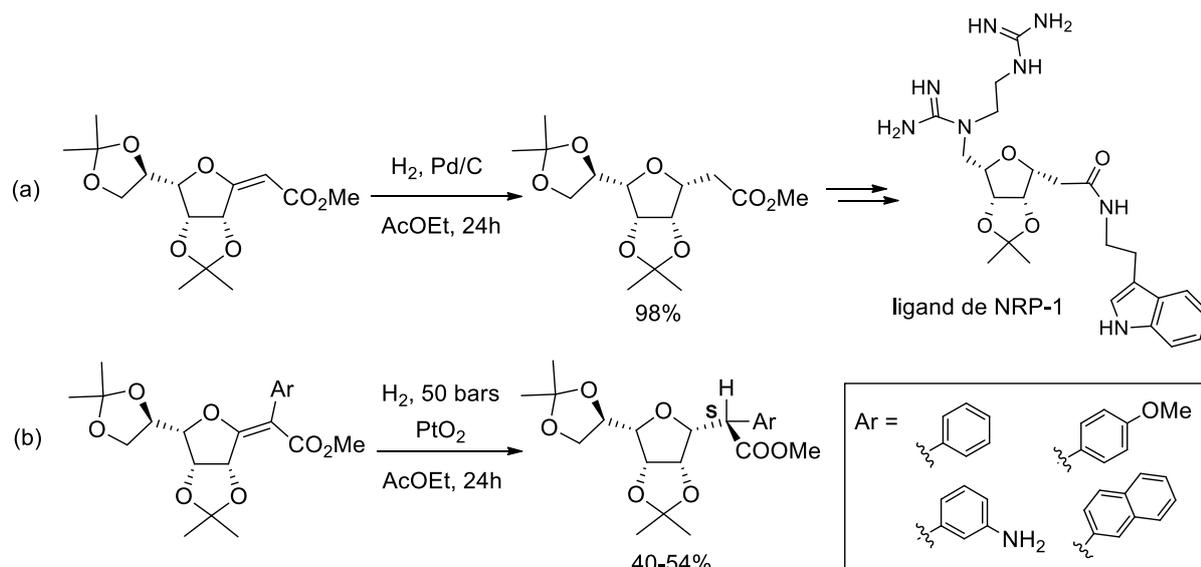


Schéma 9. Réduction des *exo*-glycols activés tri- ou tétrasubstitués

b- Formation de liaison C-O, accès à des C,O-glycosides

Appliquée aux dichloro-*exo*-glycols, l'époxydation avec l'acide *m*éta-chloroperbenzoïque a conduit à des intermédiaires de type dichloro époxydes instables qui se réarrangent en chlorures d'acyle (Schéma 10).²⁹

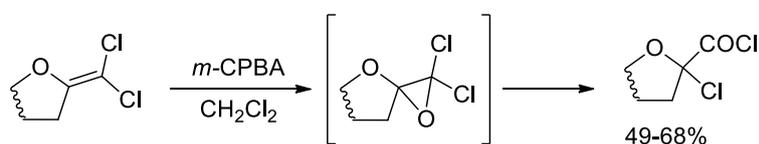


Schéma 10. Epoxidation des *exo*-glycols dichlorés

L'addition intramoléculaire d'hydroxyles sur des *exo*-glycols activés a déjà été observée lorsque la réaction de Wittig est effectuée sur des lactones comportant des hydroxyles libres (Schéma 11).³⁰ Cette réactivité particulière a notamment été utilisée pour la synthèse de la partie acétal bicyclique des acides zaragoziques.³¹

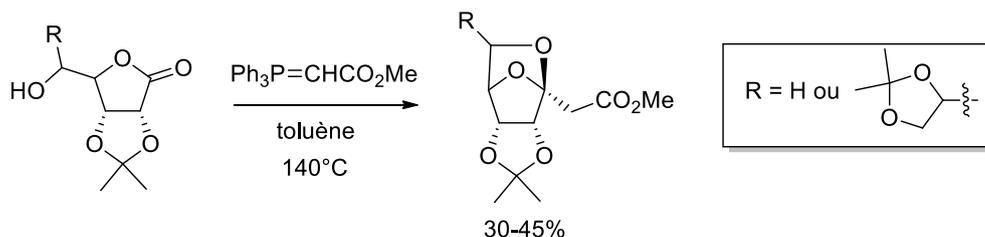


Schéma 11. Addition intramoléculaire d'hydroxyle lors de la réaction de Wittig

Une autre façon efficace de former une liaison C-O au niveau du carbone anomérique est la cycloaddition 1,3-dipolaire entre *exo*-glycols et nitrones ou oxydes de nitrile.³²

La réaction entre furano-*exo*-glycols et nitrones conduit à des spiro-isoxazolidines (Schéma 12, a). Pour le furano-*exo*-glycol de configuration *D-gulo*, l'addition a lieu sur la face β qui n'est pas encombrée par le cycle 6,7-*O*-isopropylidène (numérotation sur le schéma). Deux diastéréoisomères en C-3 sont obtenus, le composé majoritaire étant celui pour lequel R¹ et CO₂Me sont en *anti* l'un par rapport à l'autre. En ce qui concerne les pyrano-*exo*-glycols, la sélectivité faciale est plus faible et un mélange de 4 produits (2 anomères/2diastéréoisomères en C-3) est obtenu quelque soit la nitronne utilisée (b).

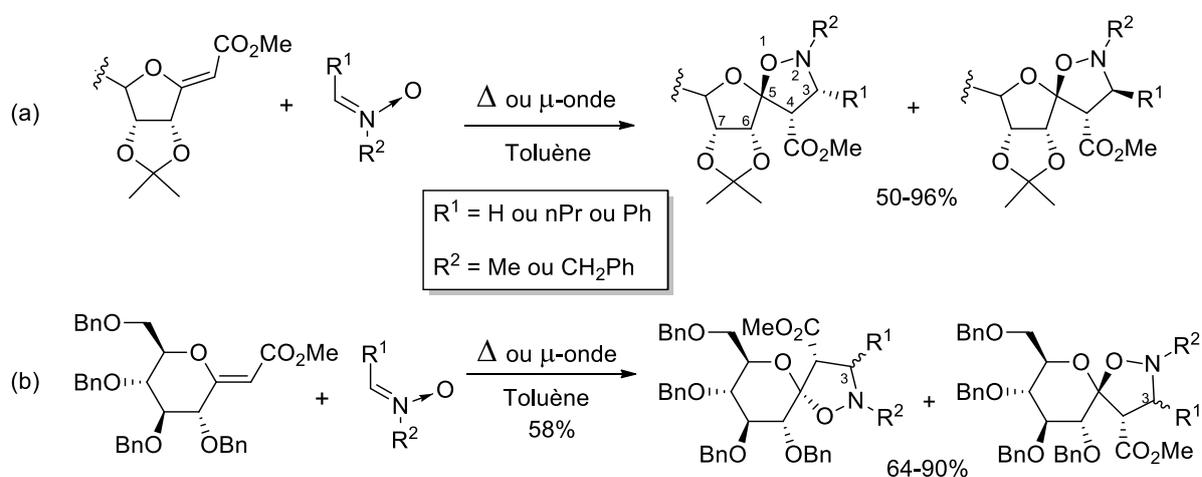


Schéma 12. Cycloadditions 1,3-dipolaires sur les *exo*-glycols activés

La cycloaddition entre une nitronne chirale et l'*exo*-glycol *D-manno* de configuration *Z* a conduit au seul anomère α au vu de l'encombrement stérique de la face β de l'*exo*-glycol (Schéma 13). De plus, la cycloaddition avec cette nitronne encombrée ne conduit qu'à un seul des deux diastéréoisomères possible en C-3, contrairement à ce qui a été observé avec une nitronne moins encombrée (Schéma 12).³³ Les configurations des carbones C-5 et C-4 sont dépendantes de la configuration de la double liaison de départ.

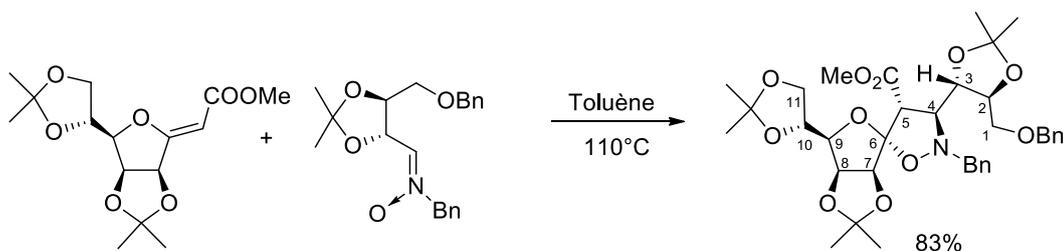
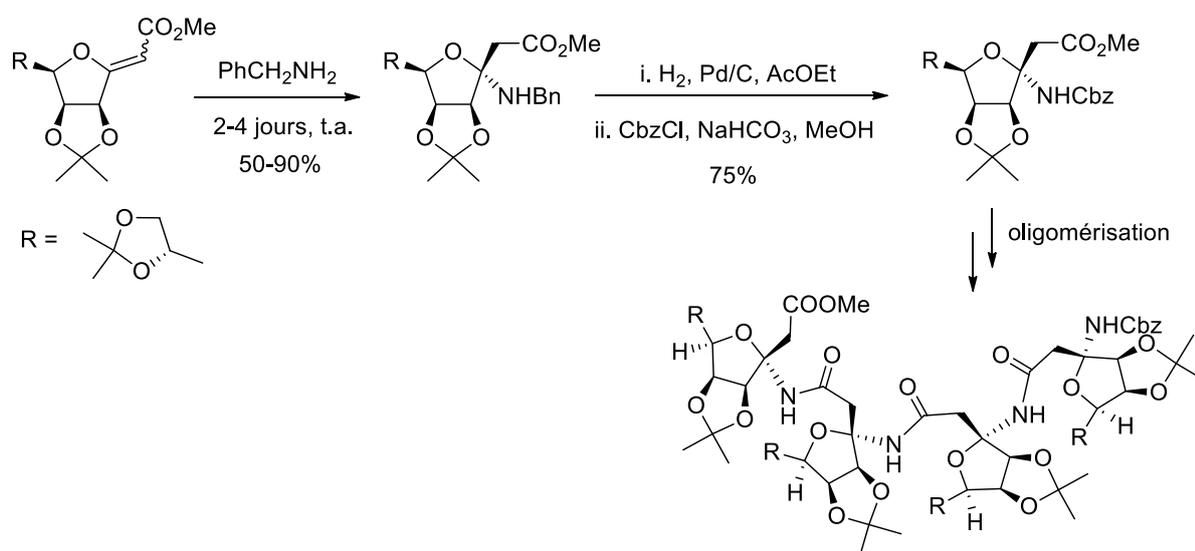


Schéma 13. Cycloaddition 1,3-dipolaire avec une nitroène chirale**c- Formation de liaison C-N, accès à des C,N-glycosides**

L'addition-1,4 de nucléophiles azotés sur des carbonyles α,β -insaturés est un moyen simple de former des liaisons C-N. Cette réaction a été appliquée aux *exo*-glycols activés avec la benzylamine. Concernant les furano-*exo*-glycols, les différents adduits sont obtenus avec des rendements compris entre 50 et 90% après simple agitation dans la benzylamine pendant quelques jours (Schéma 14), un seul anomère correspondant à une addition de benzylamine sur la face la moins encombrée est obtenu.³⁴ Cette réaction permet d'accéder aisément à des β -glycoamino acides qui présentent un intérêt pour la synthèse de plate-formes multifonctionnelles³⁵ ou la construction de glyco- ou peptidomimétiques.^{36,37,38} Dans ce cadre, un sucre de configuration *D-manno* a été choisi à titre d'exemple. L'hydrogénation catalytique de l'adduit a conduit à un mélange d'anomères et la protection de l'amine nouvellement formée par un benzyloxycarbone a permis d'isoler l'anomère majoritaire. L'amine et l'acide carboxylique de ce composé ont ensuite été déprotégés sélectivement, ce qui a permis le couplage du β -glycoamino acide sur lui-même. Différents oligomères saccharidiques ont ainsi été préparés et leurs propriétés de structuration en solution ont été étudiées.³⁹ Ce travail s'inscrit dans le domaine des foldamères qui s'intéresse au comportement de courts oligomères d'amino-acides et à leur capacité à s'auto-structurer en solution.⁴⁰

**Schéma 14.** Addition de benzylamine sur un furano-*exo*-glycol et oligomérisation

La réaction d'addition s'est révélée être plus complexe pour les pyrano-*exo*-glycals, qui conduisent majoritairement à des structures ouvertes de type énainoesters.

D'autres transformations de ces analogues β -glycoamino acides ont été envisagées (Schéma 15). Par exemple, un dérivé *D-gulo* couplé avec une alanine a été déprotégé et mis en conditions de cyclisation (Voie A).⁴¹ Cette séquence a permis la préparation de nouvelles 1,4-diazépines saccharidiques. Des sous-produits dimériques ont également été isolés pendant cette cyclisation. D'autre part, ce dérivé *D-gulo* a pu être transformé en urée par traitement avec différents isocyanates (Voie B).⁴² Des *C*-nucléosides acycliques ont ensuite été obtenus à partir de ces urées. Une réaction de Mitsunobu sur ces composés acycliques a conduit à des nouveaux analogues d'uridine pour lesquels les deux cycles sont fusionnés.

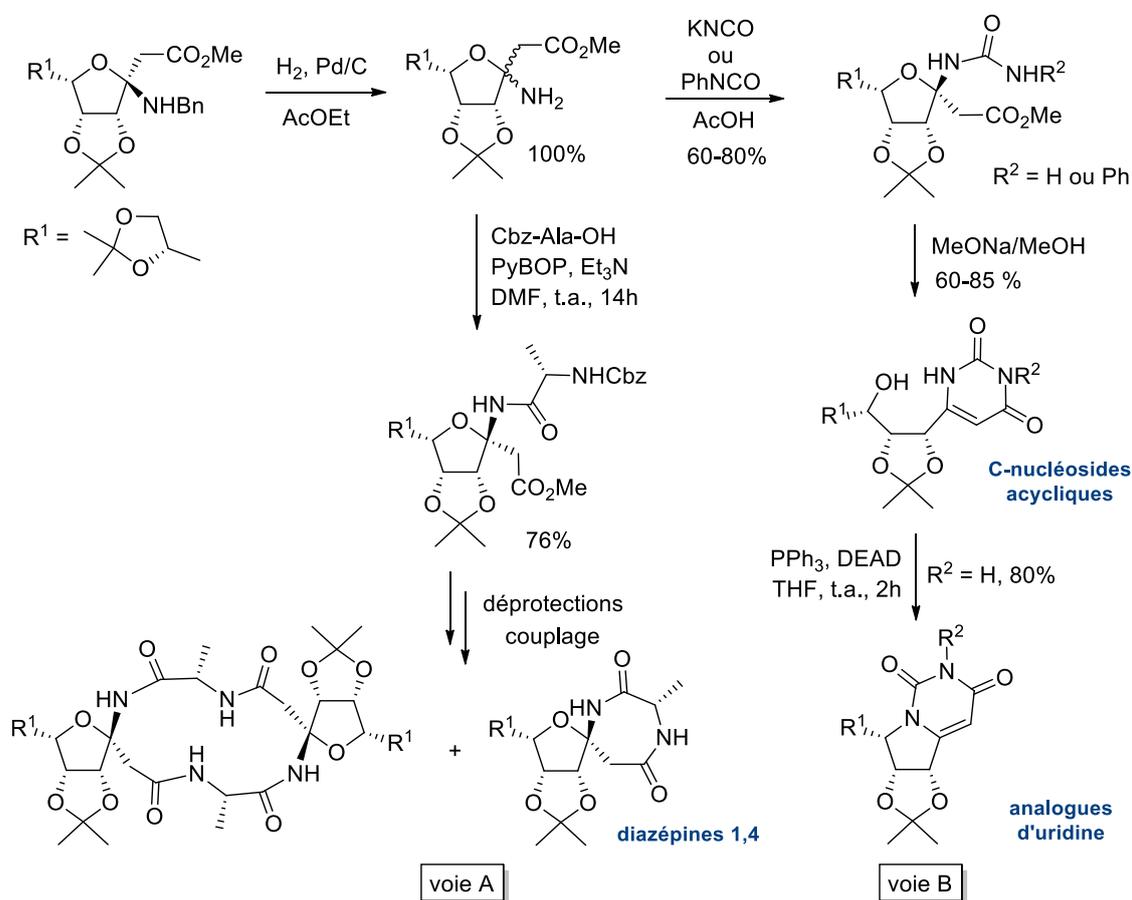


Schéma 15. Réactivité des β -glycoamino acides

d- Formation de liaison C-C, accès à des bis *C,C*-glycosides

L'addition de carbène sur les furano-*exo*-glycals dichlorés a été réalisée en utilisant un transfert de phase dans un système biphasique générateur de carbènes (chloroforme/solution aqueuse de

NaOH, Schéma 16).⁴³ Des tétrachlorocyclopropanes ont ainsi été obtenus avec de bons rendements et le traitement de ces composés avec l'hydruure d'aluminium et de lithium dans le THF a conduit à des spirocyclopropanes. Ces mêmes conditions appliquées aux *exo*-glycals activés n'ont pas permis d'obtenir les dérivés spiraniques attendus.

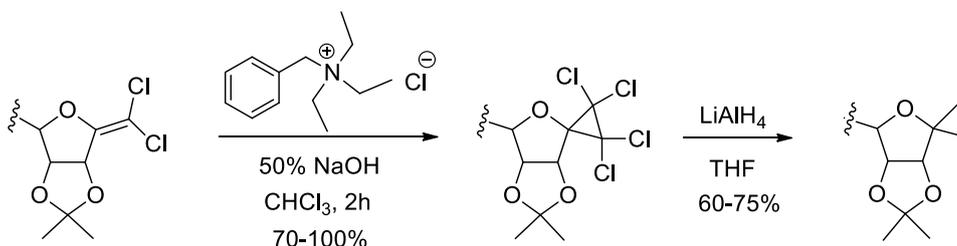


Schéma 16. Addition de carbène sur les furano-*exo*-glycals dichlorés

Les différentes réactions développées sur ces *exo*-glycals ont ainsi permis d'obtenir des *exo*-glycals plus complexes, des composés spiraniques, des C-glycosides ou encore des β -glycoamino acides. Poursuivre le travail de méthodologie fut l'un des objectifs de ce travail de thèse, notamment par la fonctionnalisation de la double liaison anomérique *via* l'addition d'autres nucléophiles par exemple.

II- Objectifs

Le premier objectif de ce travail de thèse est donc de poursuivre le développement de méthodes de fonctionnalisation des *exo*-glycals activés. La formation de liaison C-H, C-O ou C-N a été menée à bien au cours de ces dernières années et nous proposons ici de développer la formation de liaisons C-C et C-S au niveau du carbone anomérique, établissant ainsi un accès nouveau à des composés de type bis *C,C*-glycosides ou *C,S*-glycosides.

Dans un premier temps et compte tenu de l'efficacité de l'addition 1,4 observée lors de l'addition de benzylamine, la réactivité des *exo*-glycals vis-à-vis de nucléophiles carbonés sera explorée. Il s'agit là d'une méthode originale pour la synthèse de composés de type bis *C,C*-glycosides. De plus, si le carbanion utilisé est un nitrométhyle, l'addition conduira en une seule étape à des nitro-esters, précurseurs directs de γ -glycoamino acides anomériques.

Dans un second temps, l'addition de thiols en position anomérique sera examinée. Des *C,S*-glycosides pourront ainsi être obtenus en une seule étape et de manière catalytique à partir d'*exo*-glycals. Deux aspects mécanistiques différents seront abordés dans ce cas : l'addition en conditions basiques et en conditions radicalaires. La mise au point de ces nouvelles réactions de type « click-chemistry » rejoint l'un des axes de recherche de l'équipe, à savoir le développement de méthodes efficaces de couplage entre sucres et peptides à SH.^{44,45}

III- Addition de nucléophiles carbonés : nouvel accès à des bis *C,C*-glycosides

La première méthode de fonctionnalisation d'*exo-glycals* étudiée est l'addition-1,4 ou addition de Michael de carbanions en position anomérique. Cette réaction, jamais étudiée sur ces substrats, conduit en une étape à des bis *C,C*-glycosides. Ces derniers, moyennant l'utilisation d'un nucléophile approprié, pourraient être des précurseurs de γ -glycoamino acides d'intérêt dans le domaine des foldamères ou pour la construction de plate-formes multifonctionnelles.

III.1- Rappels bibliographiques

III.1.1- Synthèse de *C,C*-glycosides

L'étude et la préparation des *C,C*-glycosides est moins documentée que celle des *C*-glycosides,⁴⁶ certainement parce que la synthèse de ces composés est moins évidente et plus longue. Il existe quatre types de réactions principales pour former ces composés ; l'addition de carbènes anomériques sur des alcènes, l'addition de nucléophiles sur un intermédiaire oxonium, l'addition *via* un mécanisme radicalaire et l'addition de méthylène *exo-glycals* sur des carbènes.

a- Addition de carbènes anomériques

Cette réaction met en jeu un précurseur de carbène anomérique et un alcène. Avec cette méthode, les équipes de Vasella et de Descotes ont par exemple préparé des cyclopropanes à partir de précurseurs de carbènes anomériques (Schéma 17). Ces précurseurs peuvent être des sucres présentant une fonction diazirine en position anomérique, des dérivés de tosylhydrazone ou encore des sucres pour lesquels la position anomérique est gem-disubstituée par des azides. Ces dérivés saccharidiques sont ensuite engagés dans des réactions avec des alcènes fonctionnalisés avec un ou deux groupements électroattracteurs,⁴⁷ des éthers d'énols⁴⁸ ou même des fullerènes.⁴⁹

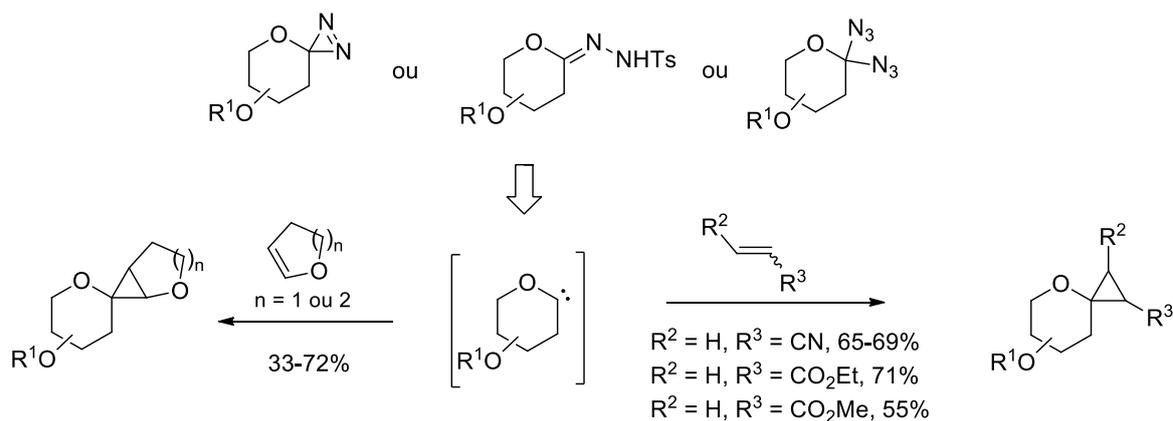
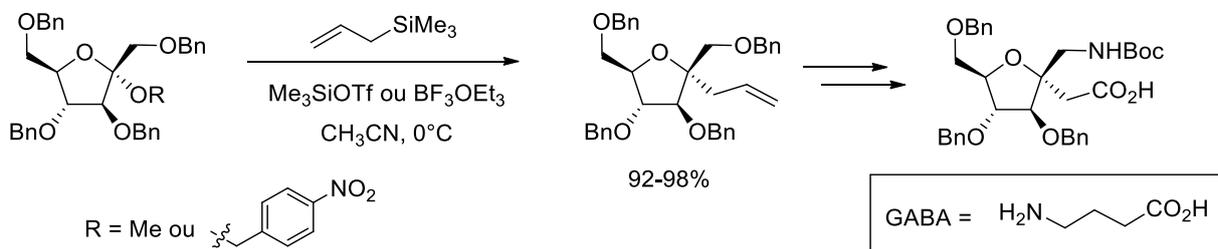


Schéma 17. Synthèse de cyclopropanes à partir de carbènes anomériques

b- Addition sur un oxonium anomérique

Nicotra *et al.* ont décrit une synthèse de *C*-fructosides impliquant la formation d'un intermédiaire de type oxonium en position anomérique suivie de l'addition d'un nucléophile carboné (Schéma 18).⁵⁰ Cette synthèse catalysée par un acide de Lewis donne un dérivé allylique dont la fonctionnalisation conduit par exemple à des analogues de l'acide γ -amino butyrique (GABA).⁵¹

Schéma 18. Synthèse de *C*-fructoside décrite par Nicotra *et al.*

De façon similaire, les équipes de Vankar,⁵² López⁵³ ou Hindsgaul⁵⁴ (Schéma 19) ont publié des *C*-glycosylations catalysées par des acides de Lewis entre des intermédiaires de type hémiacétal et des partenaires nucléophiles comme l'allyltriméthylsillane ou le cyanure de triméthylsilyle.

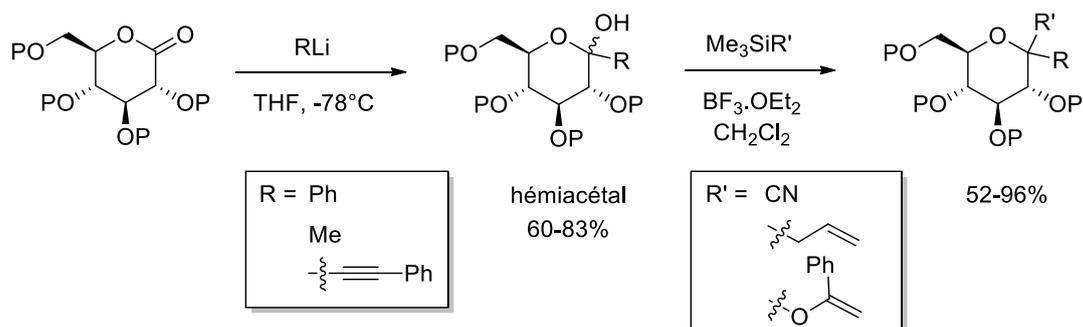


Schéma 19. Formation de bis *C,C*-glycosides à partir de lactones par López *et al.*⁵³

c- Additions radicalaires

La formation de bis *C,C*-glycosides est aussi possible en conditions radicalaires. López *et al.* ont obtenu des *C,C*-glycosides par addition radicalaire d'allyltributylétain sur un 1,2-*endo*-glycol en présence d'AIBN dans le toluène (Schéma 20, a).⁵⁵ Dans ces conditions réactionnelles et au vu de l'encombrement stérique du cycle saccharidique, seul l'anomère β est obtenu. Praly *et al.* ont également publié des synthèses mettant en jeu d'une part l'allyltributylétain et d'autre part un sucre dihalogéné en position anomérique (b).⁵⁶

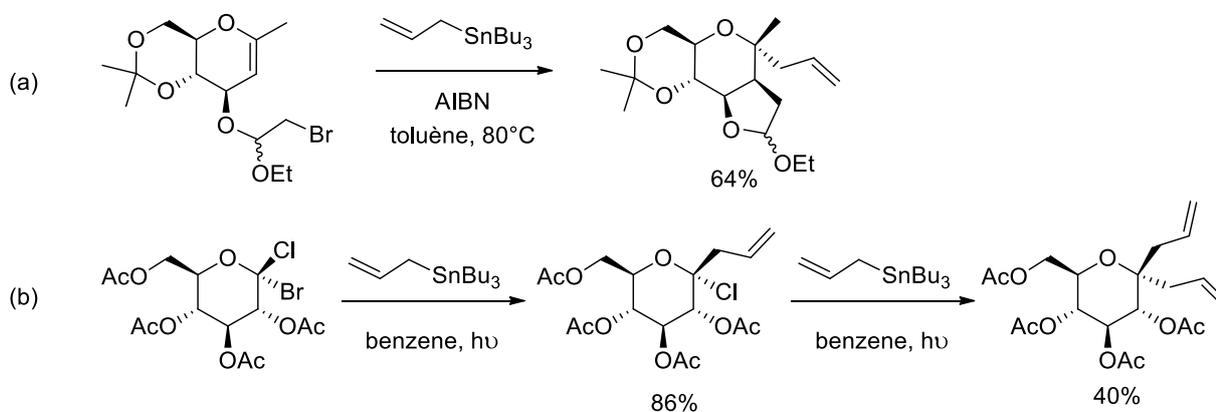


Schéma 20. Formation de *C,C*-glycosides par mécanisme radicalaire

d- Addition d'*exo*-glycols

La formation de bis *C,C*-glycosides à partir de méthylène *exo*-glycols est également décrite dans la littérature. Cette réaction peut avoir lieu par cyclopropanation avec le diazoacétate d'éthyle (Schéma 21),^{47c,57} par azidosélation suivie d'addition anomérique sur l'acrylate de *tert*-butyle⁵⁸ ou encore par réaction de Povarov avec des bases de Schiff aromatiques.⁵⁹

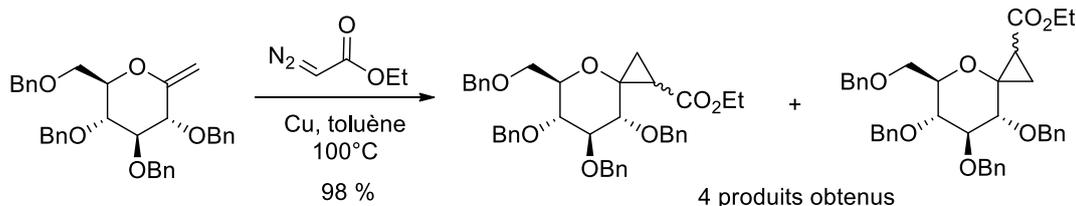


Schéma 21. Synthèse de cyclopropanes à partir de méthylène *exo*-glycol et de diazoacétate d'éthyle^{47c}

Les *exo*-glycols activés pourraient également être de bons substrats pour la formation de bis *C,C*-glycosides. En effet, on peut supposer que leur réactivité particulière permettrait l'addition de carbanions sur la position anomérique insaturée. Ainsi, contrairement aux méthodes développées ci-dessus, une nouvelle approche basée sur une addition de Michael de carbanion est proposée pour la formation de bis *C,C*-glycosides.

III.1.2- Addition de Michael de dérivés carbonés

L'addition de Michael de carbanions est une réaction très utilisée en synthèse organique pour la formation de liaisons carbone-carbone.⁶⁰ Parmi les carbanions utilisés, les nitroalcanes sont particulièrement intéressants car le groupement nitro peut être facilement transformé en d'autres groupements fonctionnalisables (amine, oxyde de nitrile, cétone, acide carboxylique).⁶¹ Le développement de méthodes d'additions catalytiques et énantiosélectives de nitroalcanes⁶² et l'utilisation de catalyseurs asymétriques pour ces additions sont ainsi très étudiés.⁶³

En ce qui concerne plus précisément les oléfines dites « push-pull », seuls des exemples d'additions intramoléculaires ont été décrits. Ces réactions ont été mises en œuvre pour la synthèse de chromanes fonctionnalisés par les équipes de Xiao,⁶⁴ Du⁶⁵ et Luo.⁶⁶ Pour tous ces exemples, l'addition de Michael est réalisée en présence d'un catalyseur asymétrique et conduit par réaction cascade à la cyclisation des composés de façon diastéréo- et énantiosélective (Schéma 22). Les produits ouverts sont également obtenus et peuvent ensuite être cyclisés en conditions basiques.

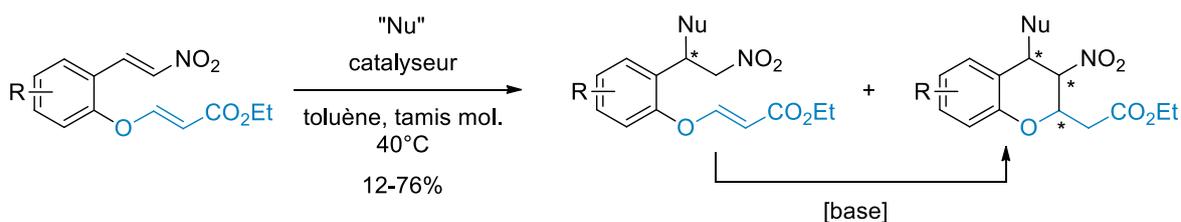


Schéma 22. Exemple d'addition de nitrométhane sur une oléfine « push-pull »⁶⁷

L'addition de nitroalcanes sur des doubles liaisons dites « push-pull » est donc possible et les *exo*-glycols développés au laboratoire sont des candidats potentiels pour cette addition. Des bis *C,C*-glycosides seraient ainsi obtenus de façon originale et en une seule étape.

III.2- Addition de nitrométhane sur les *exo*-glycols activés

Les synthèses de bis *C,C*-glycosides à partir de méthylène *exo*-glycols décrites dans la littérature conduisent uniquement à la formation de cyclopropanes spiraniques. D'autre part, aucune des méthodes de la littérature ne fait état de l'addition d'un carbanion sur le centre anomérique d'un *exo*-glycol. Nous nous sommes donc intéressés à cette réaction qui permettrait d'obtenir très simplement et rapidement des bis *C,C*-glycosides, précurseurs directs de γ -glycoamino acides. Les nitroalcanes étant de bons substrats pour cette addition, nous avons centré notre étude sur le nitrométhane.

III.2.1- Application à des furano-*exo*-glycols trisubstitués

La réaction d'addition du nitrométhane a d'abord été explorée sur l'*exo*-glycol **1-E** de configuration *D-gulo* afin de mettre au point les conditions réactionnelles. La réaction a ensuite été étendue à d'autres *exo*-glycols.

a- Mise au point de l'addition sur **1**

L'addition de dérivés carbonés sur ce type d'alcènes peu électrophiles et possédant par ailleurs un ester méthylique nécessite d'utiliser des bases fortes⁶⁸ et non nucléophiles comme le 1,5-diazabicyclo[5.4.0]undéc-5-ène (DBU). Un essai préliminaire a été réalisé sur **1-E** dans le toluène en présence de 5 équivalents de nitrométhane et de 2 équivalents de DBU. Deux anomères inséparables **2 α** et **2 β** (Schéma 23) ont été obtenus avec un très bon rendement, mais avec un temps de réaction assez long cependant (48 heures). Ces deux adduits présentant une polarité trop similaire, leur purification par chromatographie sur silice n'a pas été possible, quelques soient les conditions d'éluion choisies.

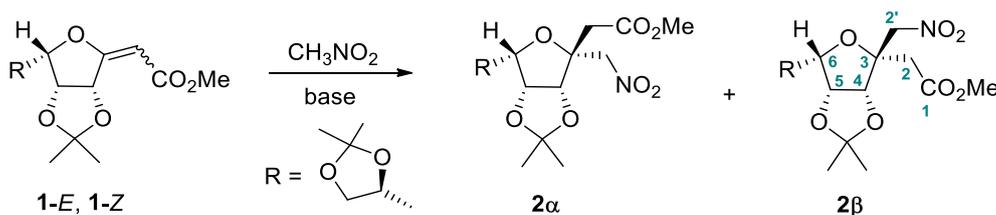


Schéma 23. Addition du nitrométhane sur **1**

Pour optimiser cette addition, nous avons fait varier le solvant, la base et la quantité de base utilisés. Les différents résultats obtenus d'après ces essais sont regroupés dans le tableau 1.

entrée <i>exo-glycal</i>		solvant ^a	base - éq. ^b	temps de réaction (h)	ratio $2\alpha/2\beta^d$	rendement (%)
1	1-E	toluène	DBU - 2	48	1/5,3	85
2	1-E	CH ₃ CN	DBU - 2	20	1/4	82
3	1-E	CH ₂ Cl ₂	DBU - 2	20	1/2,3	79
4	1-E	THF	DBU - 2	28	1/3	85
5	1-E	CH ₃ NO ₂	DBU - 2	7	1/5,7	92
6	1-E	CH ₃ NO ₂	DBU - 4	4	1/5,7	92
7	1-E	CH ₃ NO ₂	DBU - 1	24	1/2,3	90
8	1-E	CH ₃ NO ₂	DBU - 0.1	72	1/2,3	13 ^e
9	1-E	CH ₃ NO ₂	TBAF, H ₂ O - 4	20	1/9	75
10	1-Z	CH ₃ NO ₂	DBU - 2	50	1/3	38 ^e
11	1-Z	CH ₃ NO ₂	DBU - 4	24	1/3	47
12	1-Z	CH ₃ NO ₂	DBU - 2	7 ^c	1/1,5	49
13	1-Z	CH ₃ NO ₂	TBAF, H ₂ O - 4	10 ^c	1/1,5	58

[a] 5 éq. de CH₃NO₂ utilisés si CH₃NO₂ n'est pas le solvant

[b] équivalents de base calculés à partir de l'*exo-glycal* de départ

[c] réaction à 60°C

[d] déterminé par intégration des signaux H-2 en RMN ¹H

[e] quantité importante de produit de départ, la réaction n'évolue plus après 3 jours

Tableau 1. Mise au point des conditions réactionnelles sur **1**

L'addition dans CH₃CN, CH₂Cl₂ ou THF a conduit aux adduits avec des temps de réaction plus courts que pour le toluène (tableau 1, entrées 2-4), la réaction est plus rapide lorsque le solvant est le nitrométhane (entrée 5). La quantité de DBU introduite joue également un rôle important (entrées 5-8). On note qu'une augmentation de la quantité de DBU conduit à un temps de réaction plus court. L'entrée 8 nous indique qu'une quantité catalytique de base n'est pas efficace pour convertir la totalité du produit de départ, même en prolongeant la durée de la réaction. La base n'est donc pas régénérée et le mécanisme de la réaction n'est pas catalytique. Pour tous ces essais, la proportion des deux anomères obtenus $2\alpha/2\beta$ a été déterminée par intégration des protons H-2 en RMN ¹H et varie de 1/2,3 à 1/5,7. Par ailleurs, l'utilisation de 4 équivalents de TBAF•3H₂O a été efficace et a conduit à la formation des deux adduits dans une

proportion $2\alpha/2\beta$: 1/9 (entrée 9). Bien que le temps de réaction soit plus long avec cette base, le rapport α/β est modifié en faveur de l'anomère majoritaire.

D'autres bases telles que la triéthylamine, K_2CO_3 ou *t*BuOK ont été utilisées mais leur emploi n'a pas permis la formation des adduits attendus et seul le produit de départ a été récupéré, même avec des conditions réactionnelles plus poussées (temps plus long, plus d'équivalents de base, en chauffant ou sous activation micro-ondes).

La réactivité de l'isomère **1-Z** a ensuite été explorée. Pour ce composé, l'emploi de DBU a conduit aux produits d'addition avec des rendements très moyens et la réaction a nécessité un temps plus long (entrées 10 et 11). Chauffer le milieu réactionnel à 60 °C a permis d'améliorer très légèrement le rendement et de réduire la durée de la réaction (entrée 12). Le meilleur rendement a été obtenu avec 4 équivalents de TBAF•3H₂O (entrée 13). Pour cet *exo-glycol*, le produit d'addition majoritaire est le même que pour l'isomère *E*, mais on remarque que l'élévation de la température conduit à une équilibration du ratio $2\alpha/2\beta$ (1/1,5). Pour expliquer ces différences de réactivité entre isomères *E* et *Z*, des calculs théoriques ont été effectués par le Dr Manuel Ruiz-Lopez (Université de Lorraine, UMR SRSMC, cf chapitre III.3).

On constate donc que l'addition conduit toujours majoritairement à la formation de l'anomère 2β . Par contre, le ratio α/β est très variable et dépend de nombreux paramètres. Ainsi, la base utilisée a une influence sur cette proportion (entrées 6 et 9), la meilleure sélectivité étant obtenue avec TBAF•3H₂O. La température de réaction est également importante puisque les mêmes conditions appliquées à température ambiante ou à 60 °C (entrées 10 et 12) conduisent à des résultats différents. L'élévation de température est corrélée à une équilibration du ratio. Le solvant utilisé (entrées 1-5), la quantité de base et le temps de réaction (entrées 5-8) ont également un effet sur la proportion α/β obtenue mais il est plus difficile de rationaliser l'effet de ces paramètres.

b- Détermination de la configuration des produits

La configuration du carbone anomérique des deux adduits 2α et 2β obtenus a été déterminée grâce aux données RMN ¹H dans un premier temps. Pour le mélange $2\alpha/2\beta$, il y a une forte corrélation nOe entre les protons H-6 et H-2' du composé majoritaire, ce qui a permis d'assigner la configuration β du carbone anomérique (Figure 3). Aucune corrélation n'est observée pour le composé minoritaire (2α).

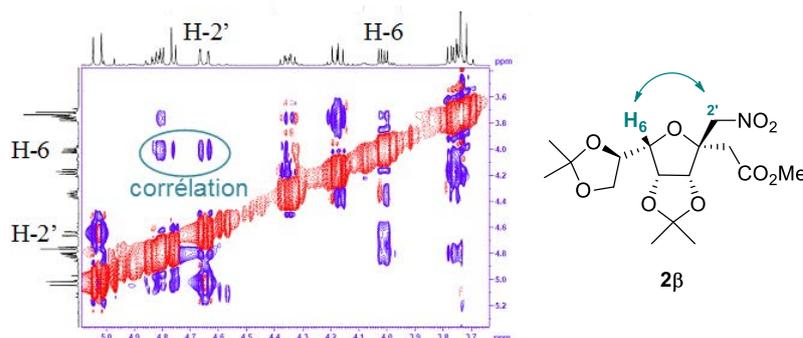


Figure 3. Corrélations nOe observées pour **2β**

La structure du composé majoritaire confirme donc que le groupement nitrométhyle se situe sur la face β , moins encombrée, en *anti* par rapport au 4,5-isopropylidène. Cependant, de précédents résultats concernant la benzylamine faisaient état d'une addition stéréosélective sur la face la moins encombrée (Schéma 14, chapitre I.2.2.c).³⁴ Pour déterminer si la présence du deuxième anomère provient d'une attaque sur la face la plus encombrée ou d'une isomérisation de **2β** en milieu basique, il a été nécessaire de séparer les deux anomères obtenus.

Pour cela, les diols **3α** et **3β** ont été obtenus par hydrolyse sélective de l'isopropylidène exocyclique du mélange **2α/2β** en milieu acide (HCl 1N / MeOH, schéma 24). Les produits issus de cette déprotection ont alors pu être séparés par chromatographie sur silice. L'anomère minoritaire **3α** a été mis en réaction dans différents solvants (CH₃CN, CH₃NO₂ ou toluène) en présence d'une base (DBU ou TBAF·3H₂O, 2 éq.). Après 15h d'agitation et quelque soit le solvant, le mélange **3α/3β** est obtenu dans un ratio 1/2.3 avec le DBU, 1/1.5 avec TBAF·3H₂O, déterminé par RMN ¹H. Ce résultat indique donc un phénomène d'isomérisation en milieu basique de ces adduits. Cette isomérisation est due à l'acidité des protons en α de l'ester méthylique (H-2) en présence de la base. Cette réactivité conduit à l'ouverture du cycle saccharidique, la forme ouverte étant stabilisée par résonance. L'attaque de l'alcoolate pour refermer le cycle peut ensuite avoir lieu des deux côtés du système insaturé, ce qui conduit à la formation des deux anomères. On en déduit donc que l'anomère minoritaire résulte d'une isomérisation de l'adduit majoritaire. L'addition du nitrométhane a donc lieu uniquement sur la face la moins encombrée du sucre (face β pour un composé *D-gulo*), comme cela a été observé antérieurement dans le cas de la benzylamine.

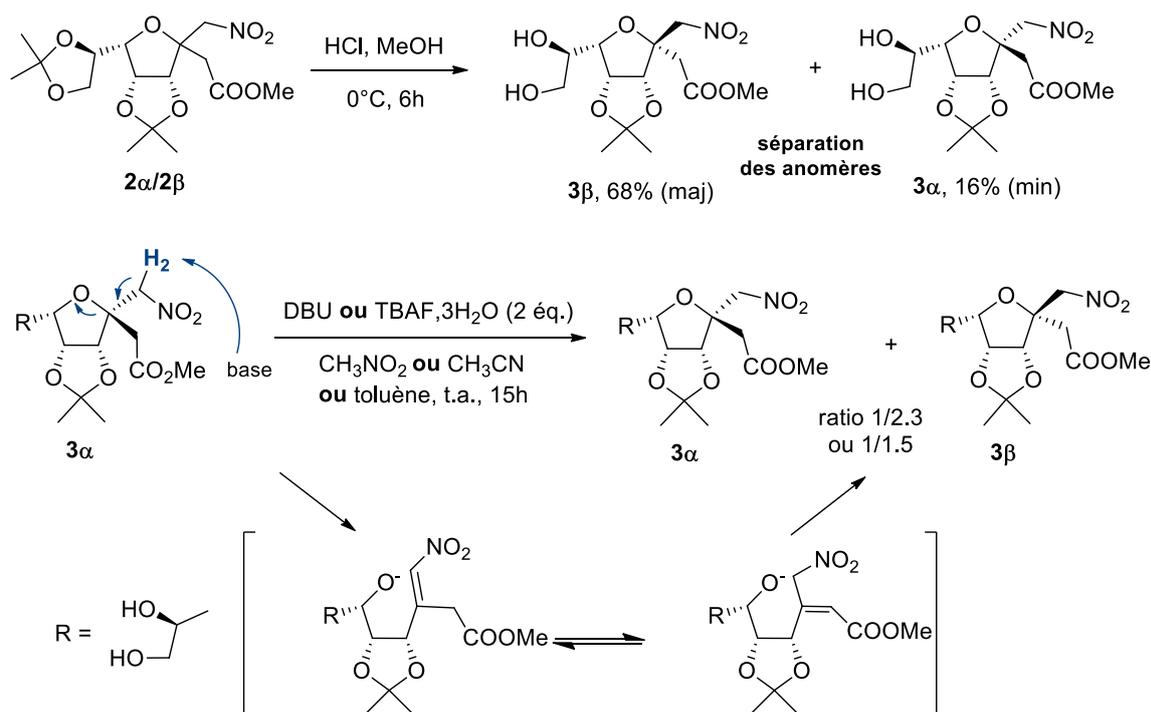


Schéma 24. Isomérisation en milieu basique

c- Application à d'autres furano-*exo*-glycols

Cette réaction a ensuite été étendue à d'autres furano-*exo*-glycols, les composés **4-E** et **4-Z** de configuration *D-érythro* (Schéma 25, Tableau 2, entrées 1-3) et les composés **5-E** et **5-Z** de configuration *D-manno* (entrées 4-7). Pour ces *exo*-glycols, les conditions expérimentales les plus favorables ont été utilisées, 2 équivalents de DBU ou 4 équivalents de TBAF, H₂O pour les *exo*-glycols de configuration *E* et 4 équivalents de DBU pour les *exo*-glycols *Z* dans le nitrométhane.

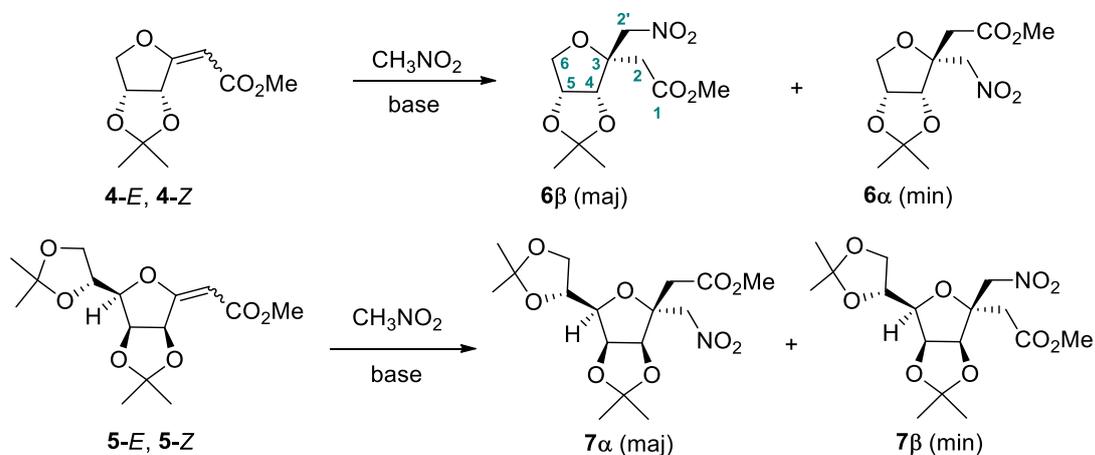


Schéma 25. Addition du nitrométhane sur 4 et 5

Pour ces *exo*-glycols, les résultats obtenus sont très similaires à ceux obtenus dans le cas de **1-E** et **1-Z** (Tableau 2). Les isomères *Z* sont moins réactifs que les isomères *E* et deux produits d'addition sont obtenus pour chaque *exo*-glycol. Comme cela a été observé pour **1**, le ratio α/β varie selon les conditions réactionnelles, de 1/2,3 à 1/4 pour **4** et de 1,5/1 à 4/1 pour **5**, avec un anomère toujours majoritaire par rapport à l'autre.

entrée	<i>exo</i> -glycol	base - éq. ^a	temps de réaction (h)	produit	ratio α/β^c	rendement (%)
1	4-E	DBU - 2	7	6	1/2.3	86
2	4-E	TBAF, H ₂ O - 4	25	6	1/4	70
3	4-Z	DBU - 4	24	6	1/2.3	47
4	5-E	DBU - 2	7	7	3/1	95
5	5-E	TBAF, H ₂ O - 4	20	7	4/1	67
6	5-Z	DBU - 4	24	7	2.3/1	44
7	5-Z	DBU - 2	10 ^b	7	1.5/1	54

[a] réactions dans le nitrométhane, équivalents de base calculés à partir de l'*exo*-glycol de départ

[b] réaction à 60°C

[c] déterminé par intégration des signaux H-2 en RMN ¹H

Tableau 2. Addition du nitrométhane sur les *exo*-glycols **6** et **7**

L'attribution de la configuration des carbones anomériques a été réalisée par étude RMN ¹H. Ainsi, pour le mélange **7 α /7 β** (*D-manno*), une interaction entre H-2 et H-6 est observée pour le produit minoritaire, ce qui implique une configuration β du carbone anomérique (Figure 4).

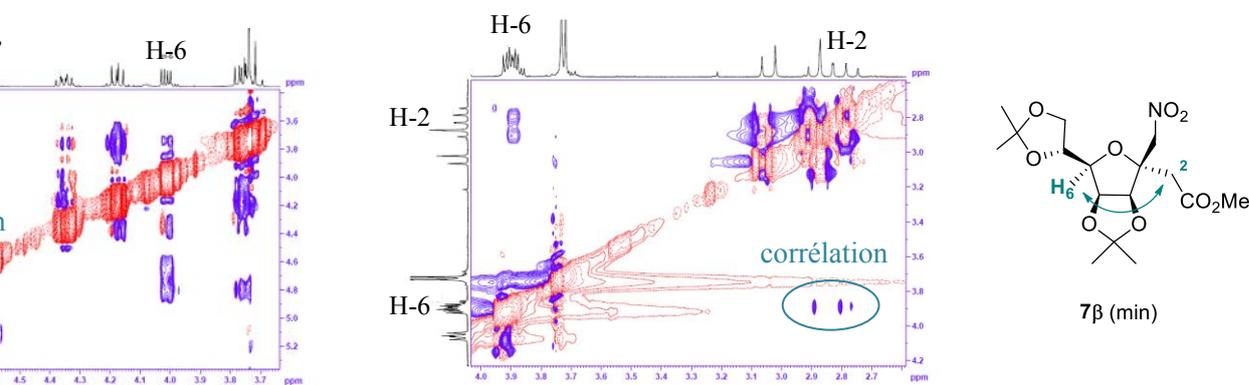


Figure 4. Corrélations nOe observées pour l'anomère minoritaire **7 β**

Ces attributions ont été confirmées grâce à l'analyse cristallographique du composé **8** obtenu par saponification du mélange **6 α /6 β** (*D-érythro*) (Schéma 26).

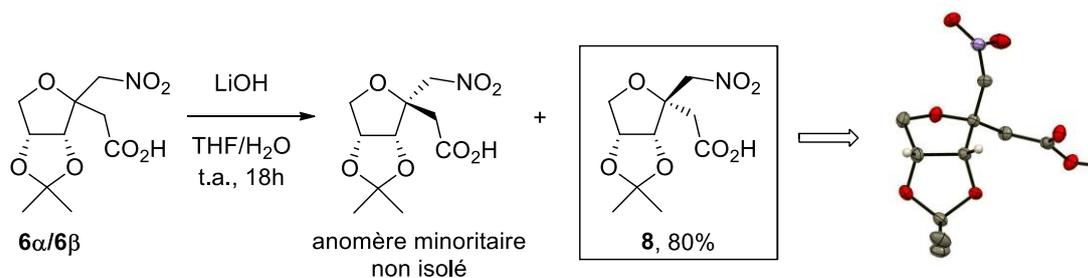


Schéma 26. Saponification du composé **6** et diagramme ORTEP du composé **8** (pour plus de clarté, certains hydrogènes ne sont pas représentés)

L'addition du nitrométhane a ensuite été mise en oeuvre pour les sucres de configuration *D-ribo*, qui ont la particularité de présenter de l'encombrement sur les deux faces. Dans tous les cas étudiés, aucun produit d'addition n'a été obtenu (Schéma 27). Cette absence de réactivité est certainement due à l'encombrement stérique qui empêche l'approche du dérivé carboné. Lorsque l'hydroxyle en C7 est protégé par un groupement méthoxyméthyle (MOM) ou méthyle, le produit de départ est retrouvé inchangé, quelques soient les conditions de réaction employées (temps plus long, plus d'équivalents de base, en chauffant ou sous activation micro-ondes). Seul le composé **9-Z**, pour lequel l'hydroxyle est protégé sous forme d'acétate, a conduit après deux jours de réaction à la formation du produit de cyclisation intramoléculaire **10**. Ce composé résulte de l'attaque sur la double liaison de l'hydroxyle en C7 dont le groupement protecteur acétate n'est pas stable dans ces conditions basiques. La formation de ce produit de cyclisation intramoléculaire avait déjà été observée au cours de précédents travaux réalisés au laboratoire.^{31,30}

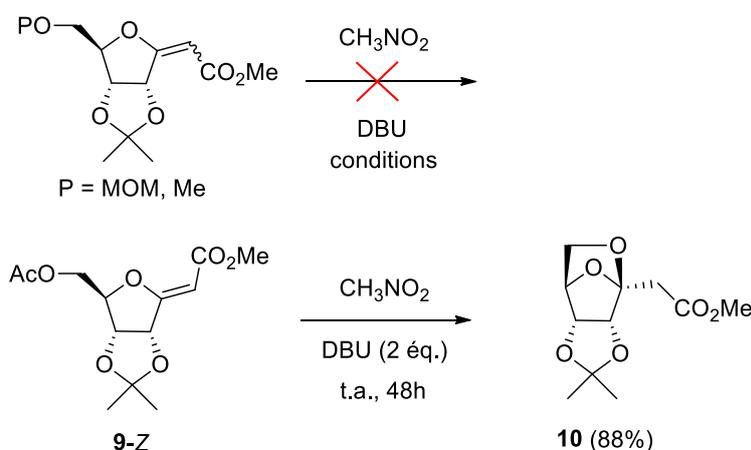


Schéma 27. Application aux *exo*-glycols de configuration *D-ribo*

III.2.1- Cas des furano-*exo*-glycols tétrasubstitués

Après avoir étudié la réaction pour des *exo*-glycols trisubstitués, des systèmes plus complexes présentant une double liaison tétrasubstituée ont été examinés. Ces *exo*-glycols sont obtenus par bromation des *exo*-glycols monosubstitués suivi d'un couplage pallado-catalysé type Suzuki (chapitre I.2.1.b).^{22b} La double liaison des *exo*-glycols est donc substituée par un groupement aromatique supplémentaire. A titre d'exemple, trois aromatiques différents ont été employés : un phényle, un phényle substitué par un groupe électroattracteur (NO₂) et un phényle substitué par un groupe électrodonneur (OMe).

a- Résultats

Lors de l'addition du nitrométhane sur ces systèmes, deux centres asymétriques peuvent être formés : l'un au niveau du carbone anomérique et l'autre au niveau du carbone C-2, on pouvait donc s'attendre à la formation de 4 stéréoisomères lors de l'addition. Expérimentalement, seuls deux produits ont été obtenus (Schéma 28).

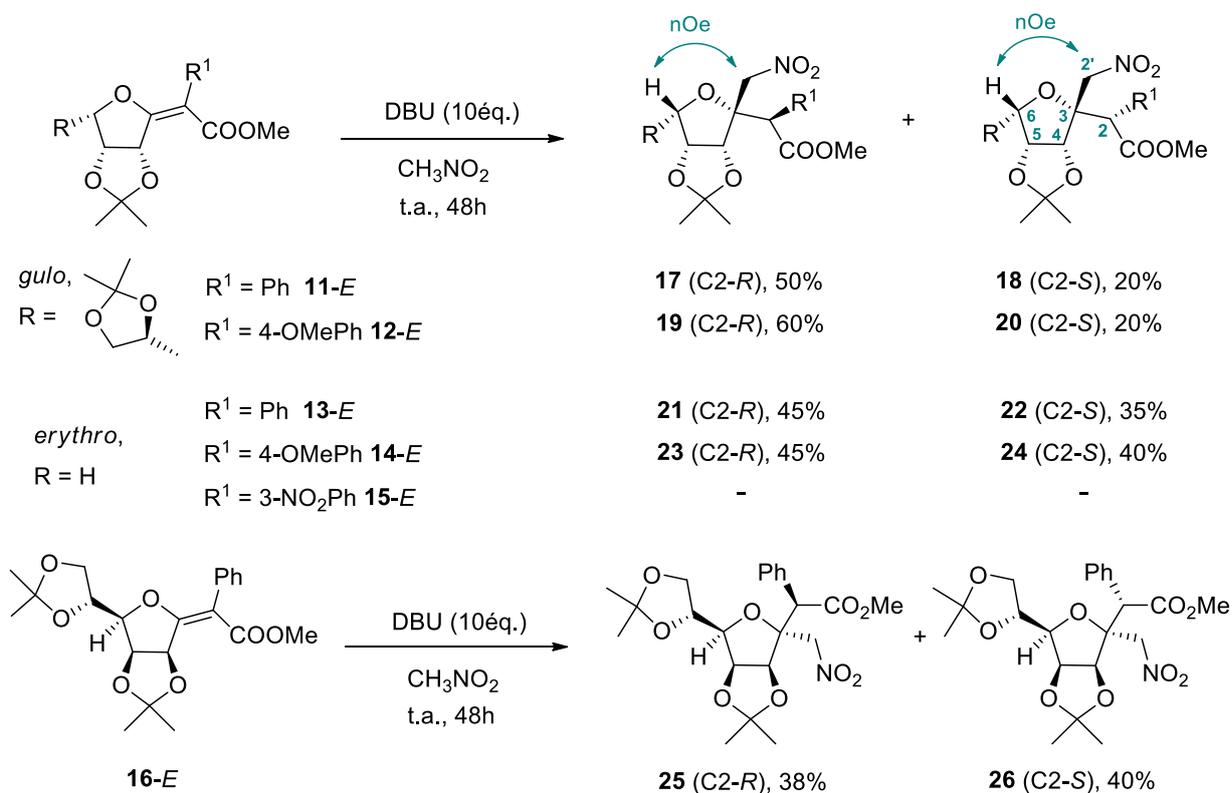


Schéma 28. Addition du nitrométhane sur des *exo*-glycols tétrasubstitués

De bons rendements ont été obtenus lorsque cette addition a été réalisée à partir des *exo-glycols* de configuration *E* substitués par un phényle ou un 4-OMe-phényle (70-85%). Ainsi, les *exo-glycols* **11-E** et **12-E** de configuration *D-gulo* ont conduit aux produits **17/18** et **19/20**. Les composés **13-E** et **14-E** (*D-érythro*) ont donné les adduits **21/22** et **23/24** respectivement. Enfin, les produits **25** et **26** ont été obtenus lorsque la réaction a été appliquée à l'*exo-glycol* **16-E** (*D-manno*). Pour ces *exo-glycols* plus encombrés, il a fallu modifier les conditions réactionnelles établies pour les *exo-glycols* trisubstitués. En effet, 10 équivalents de DBU et un temps de réaction de 48 heures ont été nécessaires pour que le produit de départ soit totalement consommé. Dans chaque cas, deux adduits avec la même configuration au niveau du carbone anomérique et une configuration différente au niveau du carbone C-2 ont été obtenus dans des proportions variables. Cette proportion semble être légèrement dépendante de la configuration du sucre de départ.

Le composé **15-E**, substitué par un 3-NO₂-phényle, n'a pas réagi dans ces conditions et n'a pas conduit aux adduits attendus. Cette absence de réactivité est certainement due à la position *méto* du groupement électroattracteur NO₂. De même, seuls les résultats obtenus avec les *exo-glycols* de configuration *E* sont indiqués dans le schéma 28 puisque les *exo-glycols* de configuration *Z* ne réagissent pas du tout ou très peu et seules des traces de produits d'addition sont visibles sur les RMN ¹H des bruts réactionnels. Augmenter le temps de réaction, la quantité de base ou la température n'a pas permis d'améliorer ces résultats. La différence de réactivité observée précédemment entre *Z* et *E* est donc exacerbée pour ces composés tétrasubstitués, des calculs théoriques ont là aussi été réalisés pour expliquer ces différences (cf chapitre III.3).

b- Détermination de la stéréochimie des produits

Pour déterminer les configurations des carbones C-2 et C-3 des produits obtenus, les RMN 2D ont d'abord été examinées. Par exemple, des corrélations nOe entre les protons H-2' et H-6 sont visibles pour les deux adduits **17** et **18**, indiquant la présence du groupement nitrométhyl sur la face β pour les deux adduits. La configuration au niveau du carbone anomérique a ainsi pu être fixée pour chaque adduit. D'ailleurs, le traitement des composés **17** ou **18** en milieu basique ne conduit pas à un mélange d'adduits comme cela a été observé pour les composés trisubstitués. On peut supposer que l'isomérisation n'a pas lieu avec ces composés ou que, le cas échéant, un seul anomère est obtenu lorsque le cycle saccharidique se referme.

En ce qui concerne l'attribution de la stéréochimie du carbone C-2, les données RMN ne nous ont pas apporté suffisamment d'informations. Cependant, la détermination a été permise en associant les données RMN avec des données issues des structures cristallines des composés **24** et **26**, obtenues par diffraction des rayons X.

Ainsi, les analyses cristallographiques sur les cristaux du composé **24** ont permis d'établir clairement une configuration *S* pour le carbone C-2 (Figure 5). Cela implique donc que le carbone C-2 du composé **23** est de configuration *R*.

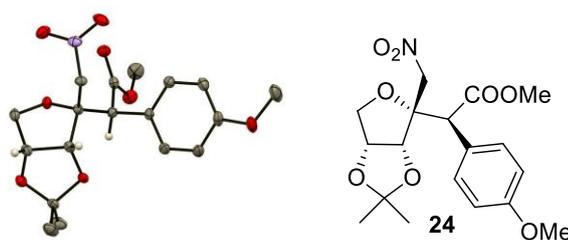


Figure 5. Diagramme ORTEP du composé **24** (certains hydrogènes ne sont pas représentés).

Nous avons corrélé ce résultat aux données RMN ^1H et notamment aux déplacements chimiques des protons H-2 et H-4 de **24** qui sont respectivement 4.62 et 5.00 ppm, alors que pour le composé **23** ces valeurs sont respectivement 4.16 et 5.42 ppm. Par analogie, les déplacements chimiques de H-2 et H-4 des composés **18**, **20** et **22**, comparables à ceux de **24**, ont permis d'établir la configuration *S* pour le carbone C-2 de ces composés. De même, les déplacements chimiques de H-2 et H-4 des composés **17**, **19** et **21**, comparables à ceux de **23**, impliquent une configuration *R* pour le carbone C-2 de ces composés (Tableau 3).

Composé	δ H-2 (ppm)	δ H-4 (ppm)	Configuration C-2
24	4.62	5.00	<i>S</i> (RX)
18	4.64	5.04	<i>S</i>
20	4.58	5.03	<i>S</i>
22	4.68	5.02	<i>S</i>
23	4.16	5.42	<i>R</i>
17	4.21	5.45	<i>R</i>
19	4.16	5.44	<i>R</i>
21	4.22	5.47	<i>R</i>

Tableau 3. Déplacements chimiques des protons H-2 et H-4 des composés **17-24**

La comparaison des déplacements chimiques n'étant pas applicable en série *D-manno*, les configurations des carbones C-2 et C-3 des composés **25** et **26** ont été déterminées à partir de l'analyse cristallographique de l'adduit **26** (Figure 6). La structure de **26** permet d'établir la configuration *S* du carbone C-2 et par conséquent la configuration *R* de ce carbone pour le composé **25**.

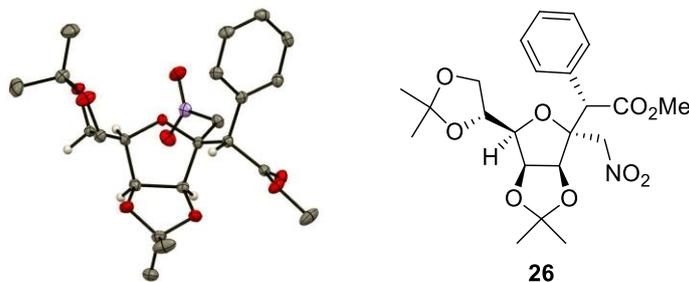


Figure 6. Diagramme ORTEP du composé **26** (certains hydrogènes ne sont pas représentés).

III.2.3- Cas des *pyrano-exo-glycals*

Pour compléter cette étude, l'addition du nitrométhane sur des pyranoglycosylidènes a été étudiée. Les *pyrano-exo-glycals* **27-Z**, **28-E** et **28-Z** ont été préparés par réaction de Wittig à partir des lactones correspondantes.⁸ La réaction d'addition n'a pas été réalisée sur l'isomère **27-E**, en effet l'oléfination à partir de la tétra-*O*-benzyl-*D*-gluconopyrano-1,5-lactone conduit uniquement à l'isomère *Z*.

Pour ces *pyrano-exo-glycals*, quelles que soient les conditions réactionnelles employées, aucun produit d'addition n'a été obtenu et seule l'isomérisation de l'*exo-glycal* en *endo-glycal* a été observée (Schéma 29). Par exemple, le traitement de **27-Z** par 2 équivalents de DBU dans le nitrométhane a abouti à la formation de **29** à hauteur de 75%. Le spectre RMN ¹H du brut réactionnel indique un ratio **29/27-Z** = 90/10. Quel que soit le solvant (NO₂Me, THF, CH₃CN, toluène), la base (DBU ou TBAF·3H₂O) ou le nombre d'équivalents de base (0,5, 1 ou 2), seule la formation du produit *endo* a été observée. De façon similaire, l'*exo-glycal* **28-E** a conduit à l'*endo-glycal* **30** avec un rendement de 70%. Le spectre RMN ¹H du brut réactionnel indique un ratio **30/28-E** = 80/20 et des traces de l'isomère **28-Z** sont également visibles. L'addition sur l'*exo-glycal* **28-Z** a conduit à un mélange d'*endo-glycal* **30** et d'*exo-glycal* **28-E**. La structure de ces produits a été déterminée grâce aux données RMN, IR et HRMS.

La formation de ces *endo*-glycals résulte d'une isomérisation de la double liaison en milieu basique, cette réaction a lieu quel que soit le solvant étudié. Après purification, une solution de **30** dans CH₃CN traitée avec DBU (1 éq.) a conduit à la formation de l'*exo*-glycal **28-E** à hauteur de 20%. Ces différents résultats suggèrent donc un équilibre entre forme *endo* et forme *exo* en milieu basique.

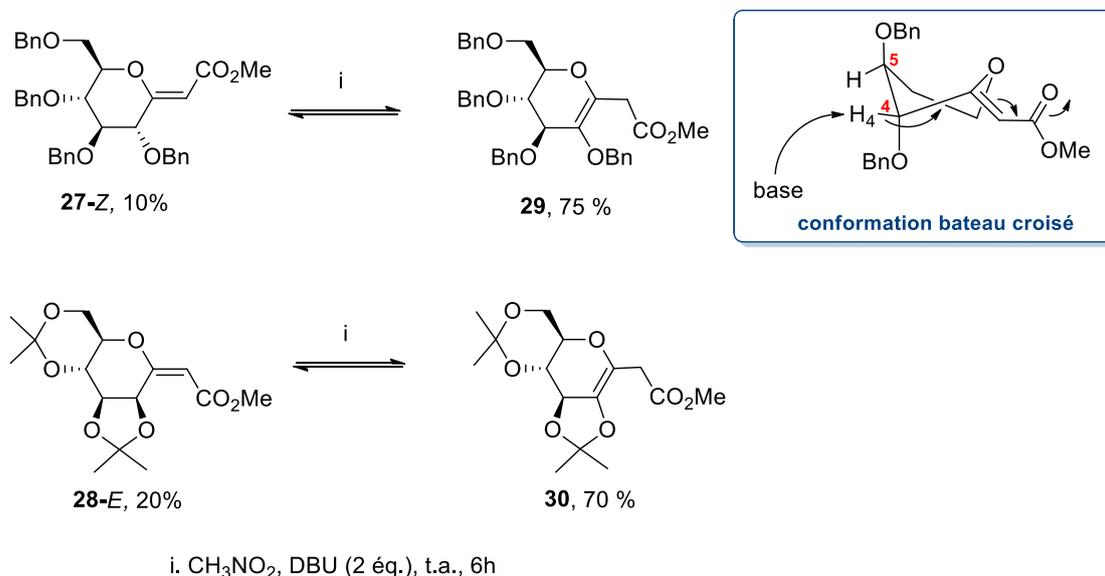


Schéma 29. Réarrangements des pyranoglycosylidènes en milieu basique

Une explication possible de ce réarrangement est liée la conformation spatiale des produits de départ. A titre d'exemple, le composé **27-Z** semble exister sous une conformation bateau croisé (Schéma S5), ce qui induit un encombrement stérique important sur la face β .⁶⁹ La présence des groupements OBn en C-4 et C-5 empêche probablement l'approche de l'anion du nitrométhane des deux côtés de la double liaison, l'addition n'a donc pas lieu. Cependant, le proton H-4 reste facilement accessible et son élimination par DBU conduit au réarrangement de la double liaison à l'intérieur du cycle. L'acidité du proton H-2 d'une 2,3:4,6-bis-*O*-isopropylidène-mannopyrano-1,5-lactone avait déjà été soulignée pour expliquer la formation d'un *endo*-glycal.⁷⁰

III.3- Calculs théoriques

Pour expliquer les différences de réactivité entre les isomères de configuration *E* et *Z*, une étude théorique a été effectuée sur les composés **4-E** et **4-Z** au sein de notre unité par le Dr. Manuel Ruiz-Lopez (UMR SRSMC, équipe Théorie-Modélisation et Simulation).

Ces calculs quantiques concernent la première étape de l'addition. Les géométries des *exo*-glycols **4-E** et **4-Z** de départ (R), des états de transition (ET) et des intermédiaires réactionnels (Int) sont représentées dans la figure F1 et certaines valeurs calculées sont données dans le tableau 4.

Entrée		4-E			4-Z		
		R	ET	Int	R	ET	Int
1	ΔH (kcal.mol ⁻¹)	0.0	17.0	13.1	0.0	21.0	13.9
2	O-C3 (Å)	1.360	1.389	1.441	1.350	1.390	1.517
3	δ (O-C3-C2-C1) (°)	177.8	174.6	178.8	0.0	33.2	76.1

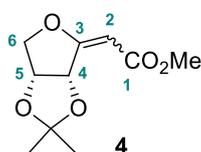


Tableau 4 : Valeurs déterminées à partir de la méthode de calcul B3LYP. Enthalpies relatives dans le nitrométhane, distances atomiques et angles de liaison dièdre δ pour les réactifs (R), structures des états de transition (ET) et intermédiaires réactionnels (Int).

La première différence concerne les enthalpies d'activation des deux *exo*-glycols, qui sont de 17.0 kcal/mol et 21.0 kcal/mol pour **4-E** et **4-Z** respectivement (Tableau 4, entrée 1). Cette différence est en accord avec les observations expérimentales puisque l'addition sur l'isomère *E* est plus rapide que sur l'isomère *Z*. La deuxième différence observée concerne la géométrie de états de transition. D'après la figure 7, on peut voir que l'orientation de l'anion du nitrométhane est différente entre **4-E** et **4-Z**, il y a des interactions électrostatiques entre les deux oxygènes du groupement nitro et le C=O dans le cas du composé *Z*, ce qui oblige le groupe nitro à adopter une position *endo* moins favorable. On retrouve aussi ce phénomène de répulsion électrostatique pour les intermédiaires réactionnels, le groupement nitrométhyle induit une rotation importante du groupement ester pour **4-Z**. Cela entraîne une élongation de la liaison C3-O, qui passe de 1,350 à 1,517 Å (Tableau 4, entrée 2), conduisant à un affaiblissement de cette liaison. De plus, l'angle dièdre O-C3-C2-C1 passe de 0° à +33,2° pour **4-Z** (entrée 3). Les modifications sont moins notables pour l'isomère *E*, la longueur de la liaison C3-O passe de 1,360 à 1,441 Å et la variation de l'angle dièdre n'est que de -3,2°. La liaison C3-O étant plus faible dans le cas de **4-Z**, une dégradation de l'intermédiaire de réaction est alors possible, ce qui peut expliquer les rendements moins bons observés pour les *exo*-glycols de configuration *Z*.

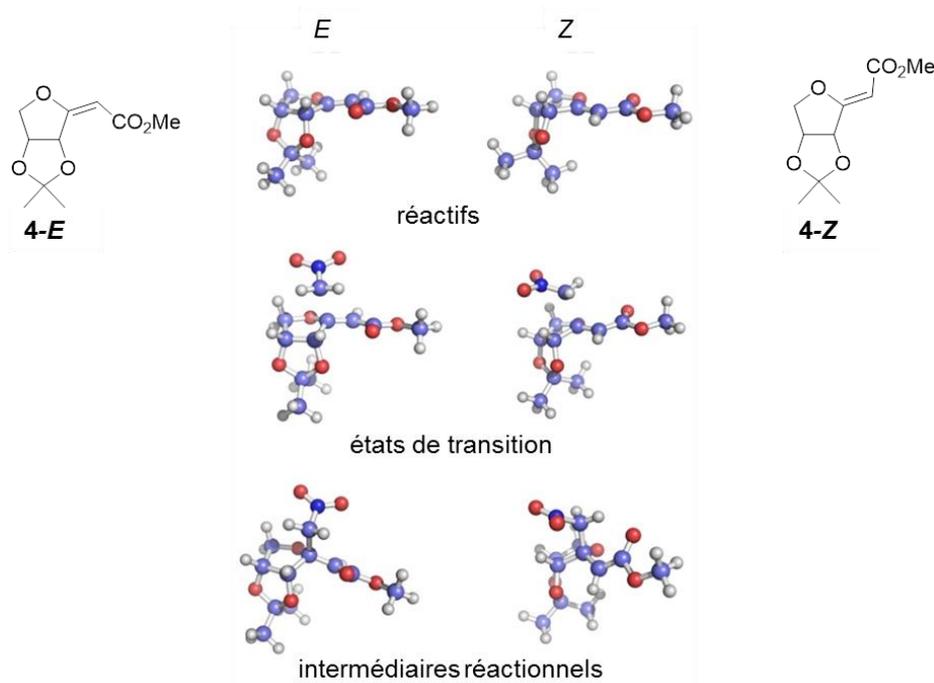


Figure 7. Structures des réactifs, états de transition et intermédiaires réactionnels déterminés grâce à la méthode de calcul quantique B3LYP pour la première étape de l'addition du nitrométhane

Pour les *exo*-glycals tétrasubstitués, les mêmes calculs demanderaient trop de temps. Seule la géométrie optimale des composés de départ a été déterminée (Figure 8). On voit que le groupement phényle de **13-Z** est presque perpendiculaire au plan de la double liaison. Cela limite donc l'accessibilité du nitrométhane et explique l'absence de réactivité de ces composés. Le groupement phényle du composé **13-E** induit lui aussi un encombrement spatial, moindre que celui de **13-Z** cependant, ce qui explique que la réaction donne de meilleurs résultats avec cet isomère.

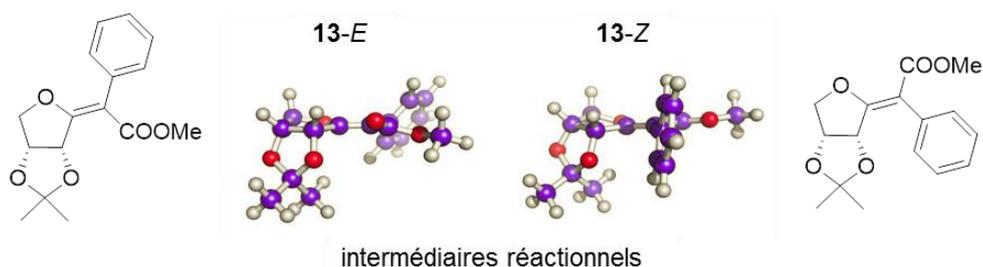


Figure 8. Géométries optimisées des réactifs **13-E** et **13-Z** déterminées grâce à la méthode de calcul quantique B3LYP pour la première étape de l'addition du nitrométhane

III.4- Addition d'autres nucléophiles carbonés

La formation de bis *C,C*-glycosides a également été explorée avec d'autres nucléophiles de type nitroalcanes, organomagnésiens ou organostanniques.

Dans un premier temps, l'addition d'autres nitroalcanes (nitroéthane et 1-nitropropane) ou de l'acide de Meldrum en présence de DBU a été étudiée mais aucun adduit n'a été obtenu avec ces composés (Schéma 30, a). L'augmentation de la température ou l'irradiation micro-ondes n'ont pas été efficaces. Cette absence de réactivité peut être expliquée par un encombrement stérique plus important des carbanions formés ou par l'acidité moins forte des protons en α du nitro. L'allyltributylstannane associé à un acide de Lewis a été employé par McLeod *et al.* pour l'allylation de carbonyles α,β insaturés.⁷¹ Dans notre cas, l'emploi d'allyltributylstannane associé au tétrachlorure de titane dans le dichlorométhane à -78°C n'a pas donné l'adduit escompté mais a conduit à la déprotection de l'isopropylidène *exo*-cyclique de l'*exo*-glycol **1-E**, certainement à cause de l'acide de Lewis présent dans le milieu (composé **31**, b). Srikrishna *et al.* ont décrit l'addition-1,4 de magnésiens en présence d'iodure de cuivre dans le THF à -30°C .⁷² Appliquées à l'*exo*-glycol **1-E**, ces conditions opératoires ont laissé le produit de départ inchangé (c). Avec une température plus élevée (-10°C), une attaque du magnésien sur le carbonyle a été observée et le produit **32** a été isolé avec un rendement de 90% (d).

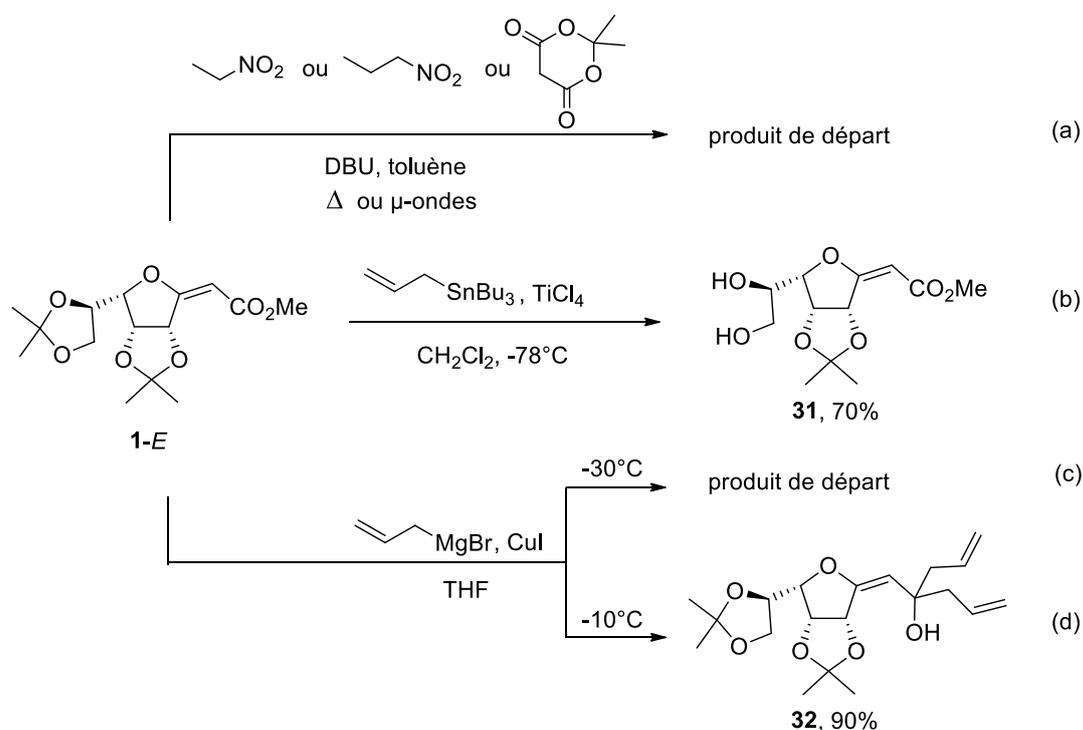


Schéma 30. Essais d'additions-1,4 avec d'autres nucléophiles carbonés

IV- Addition de dérivés soufrés

La réactivité des *exo*-glycols activés vis-à-vis de l'addition de Michael a ensuite été étendue à d'autres types de nucléophiles. Dans ce but, nous nous sommes intéressés à l'addition de dérivés soufrés. Il existe deux voies principales d'hydrothiolation de doubles liaisons, l'addition de Michael sur des dérivés carbonyles α,β -insaturés et l'addition radicalaire (couplage thiol-ène ou TEC).⁷³ Les deux mécanismes réactionnels mis en jeu sont bien distincts et conduisent classiquement à une régiosélectivité inversée. Pour nos systèmes, les deux méthodes sont envisageables et ont été évaluées en parallèle.

La formation d'une liaison carbone-soufre en position anomérique conduit à des thioglycosides, homologues des *O*-glycosides plus stables et plus résistants aux glycosidases, ce qui leur confère des propriétés biologiques, notamment vis-à-vis de l'hydrolyse enzymatique.⁷⁴ Dans notre cas, cette addition conduit à des *S*-glycosides tertiaires.

IV.1- Rappels bibliographiques

IV.1.1- Addition de thiols par réaction de Michael

La réaction de Michael entre thiols et alcènes déficients en électrons est généralement une réaction rapide, catalytique et efficace, qui appartient donc à la catégorie « click-chemistry ». Elle est très utilisée en chimie organique et bioorganique, dans les domaines des matériaux et des polymères⁷⁵ ou pour la fonctionnalisation de protéines par exemple (Schéma 31).⁷⁶

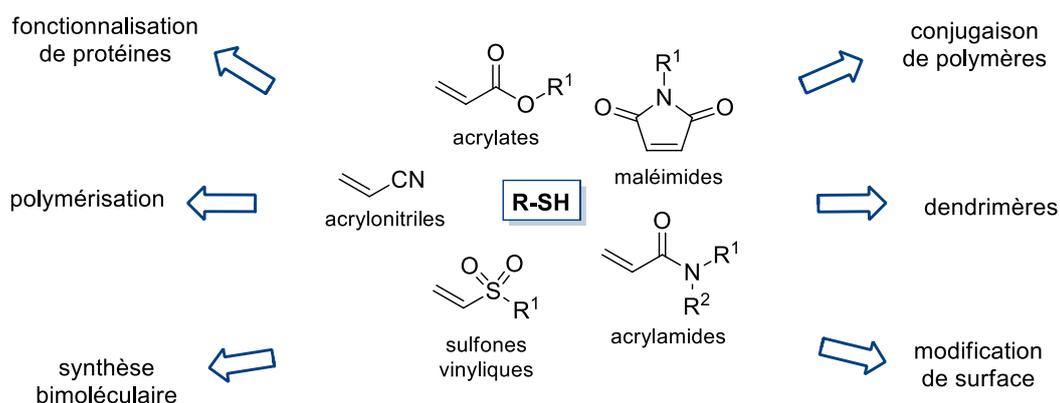
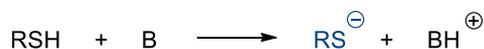


Schéma 31. Domaines d'utilisation de l'addition de Michael de thiols

L'addition de thiols par réaction de Michael conduit, *via* un processus catalysé, aux produits de façon stéréo- et régiosélective. Le catalyseur peut être une base ou un nucléophile azoté ou phosphoré (Schéma 32).

mécanisme basique



mécanisme nucléophile



GEA = Groupement
Electro-Attracteur

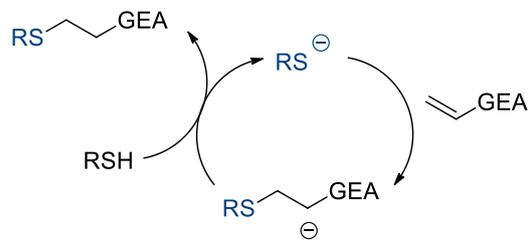


Schéma 32. Les deux mécanismes possibles pour l'addition de Michael de thiols

Il existe de nombreux exemples de cette réaction dans la littérature mais seuls des exemples ciblés sur des dérivés saccharidiques sont décrits ici. En effet, des dérivés glycosidiques accepteurs de Michael présentant une double liaison en position 2,3 ou en position 1,2 ont été employés comme substrats pour l'addition de thiols. On peut citer des additions de tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranose par Witzak *et al.*,⁷⁷ ou Varela *et al.*^{74b} (Schéma 33, a). Toshima *et al.* ont décrit l'addition de cystéines sur l' α -aculoside (b)⁷⁸ et Misra *et al.* ont additionné des thiols aromatiques sur des énonés glucidiques (c).⁷⁹ Pour tous ces exemples, les additions sont hautement stéréospécifiques et la stéréochimie du produit d'addition est contrôlée par la configuration du substrat saccharidique de départ.

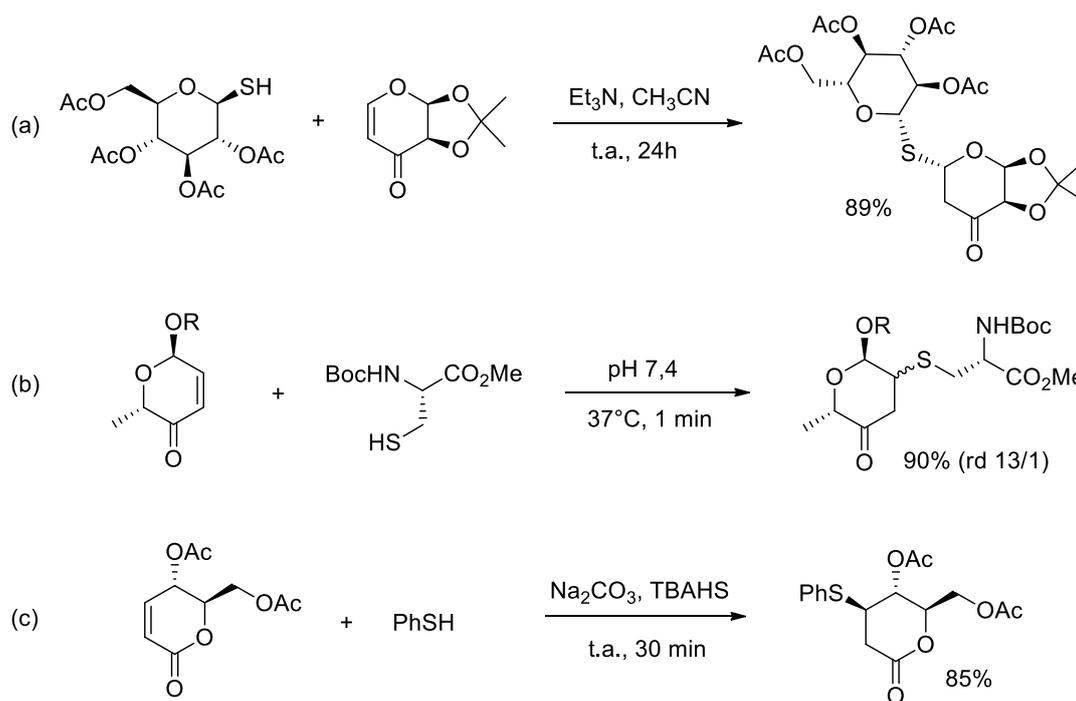


Schéma 33. Addition de thiols sur des énones glucidiques

Cependant, il n'existe pas à notre connaissance d'exemples d'addition de thiols sur le carbone anomérique d'un *exo*-glycol porteur d'un groupement électro attracteur.

IV.1.2- Addition de thiols en conditions radicalaires

L'addition de dérivés soufrés sur une liaison insaturée en conditions radicalaires passe par la formation d'un radical thiyl et conduit à un thioéther. L'addition est possible sans initiateur radicalaire et en irradiant avec une source UV, mais les rendements et vitesses de réactions sont accélérés lorsqu'un initiateur radicalaire est ajouté au milieu réactionnel. Les principaux initiateurs radicalaires sont l'azobisisobutyronitrile (AIBN), le peroxyde de benzoyle ou encore la 2,2-diméthoxy-2-phényl-acétophénone (DPAP, schéma 34). Différents solvants peuvent être employés lors de cette réaction : dichlorométhane, dichloroéthane, diméthylformamide, dioxane, benzène, toluène, ...⁷³ En premier lieu, l'activation U.V. ou thermique de l'initiateur radicalaire conduit à un radical thiyl qui s'additionne ensuite à la double liaison. L'échange d'un hydrogène entre le thiol et ce nouveau radical formé conduit alors à l'adduit final attendu et régénère le radical thiyl. Une quantité catalytique d'initiateur radicalaire est donc suffisante pour cette réaction.

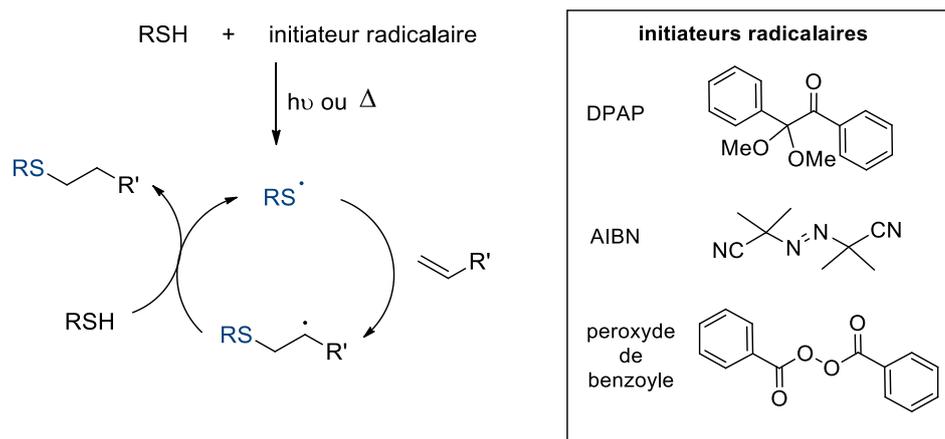


Schéma 34. Caractéristiques de l'addition de thiols en conditions radicalaires

Cette réaction présente de nombreux avantages : conditions douces, quantités catalytiques d'initiateur radicalaire, rendements et vitesse de réaction élevés. La régiosélectivité des additions radicalaires est classiquement anti-Markovnikov, ce qui correspond à une meilleure stabilisation de l'intermédiaire radicalaire. Le couplage thiol-ène en conditions radicalaires est donc très étudié dans la chimie des polymères,⁷³ la glycochimie et la glycobiologie,⁸⁰ la chimie des dendrimères⁸¹ ou encore pour la synthèse de cystéines S-alkylées.⁸² La littérature concernant cette réaction étant très riche, cette synthèse bibliographique cible des exemples d'additions sur des *endo*- ou des *exo*-glycols.

a- Additions radicalaires sur les *endo*-glycols

Des couplages radicalaires entre des thiols et des dérivés glucidiques portant une double liaison *endo*-cyclique en position 1,2 (Schéma 35, a) ou 2,3 (b) ont été décrits par Borbás *et al.*⁸³ Pour tous les thiols étudiés (cystéine, glutathion, thiosaccharides, thioglycérol), la réaction d'addition est complètement régio- et stéréospécifique. Lorsque la double liaison est en position 1,2, le soufre s'additionne sur la position anomérique, moins encombrée. La présence d'un hydroxyle en position 2 est essentielle pour la régio- et la stéréospécificité de cette addition. Pour les doubles liaisons en position 2,3, l'addition des thiosaccharides se fait en position 2 exclusivement. L'initiateur radicalaire employé pour ces couplages est le DPAP et la réaction a été effectuée dans le toluène. Globalement, les rendements sont plus faibles avec des sucres protégés par des groupements benzyles à cause de l'instabilité de ces groupes protecteurs dans les conditions radicalaires employées pour les réactions.

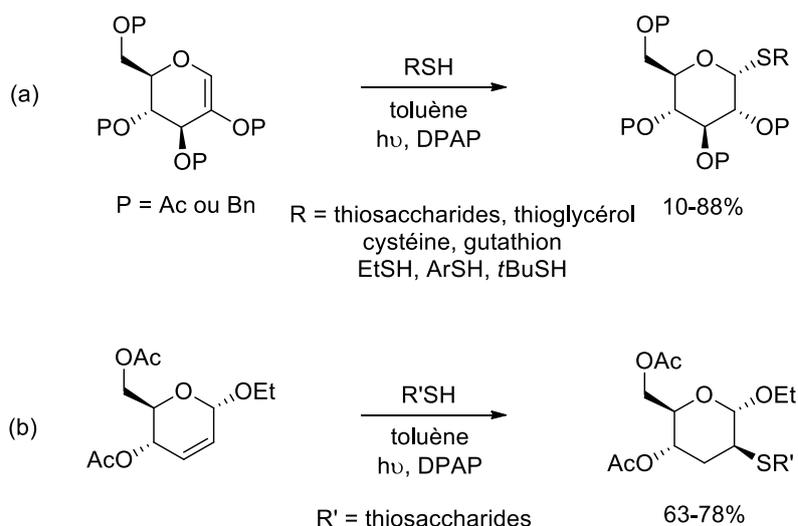


Schéma 35. Additions radicalaires de thiols sur des 1,2- ou 2,3-*endo-glycals* par Borbás *et al.*

Dondoni et Marra ont également étudié l'addition de thiosaccharides sur des 1,2-*endo-glycals* en présence de DPAP (Schéma 36).⁸⁴ L'addition est là aussi régiosélective, le thiol étant systématiquement fixé sur le carbone le plus éloigné de l'oxygène du cycle saccharidique. La formation de deux stéréoisomères est observée et les disaccharides sont obtenus avec des rendements moyens à bons.

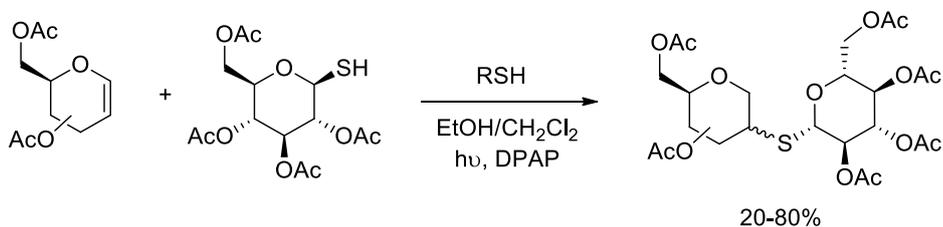


Schéma 36. Additions radicalaires de thiols sur des 1,2-*endo-glycals*

Borbás *et al.* ont publié un exemple de formation d'un disaccharide par addition d'un thiol sur un *endo-glycal* portant un groupement électroattracteur sur le carbone anomérique (Schéma 37).^{83b} Dans ce cas, la stabilisation du radical de l'intermédiaire réactionnel est plus importante au pied de l'ester méthylique, on observe donc l'addition du thiol sur le carbone en β du carbonyle. Le rendement assez faible de cette addition peut être expliqué par la présence de l'ester méthylique sur le carbone anomérique, qui a pour effet une diminution de la densité électronique de la double liaison.

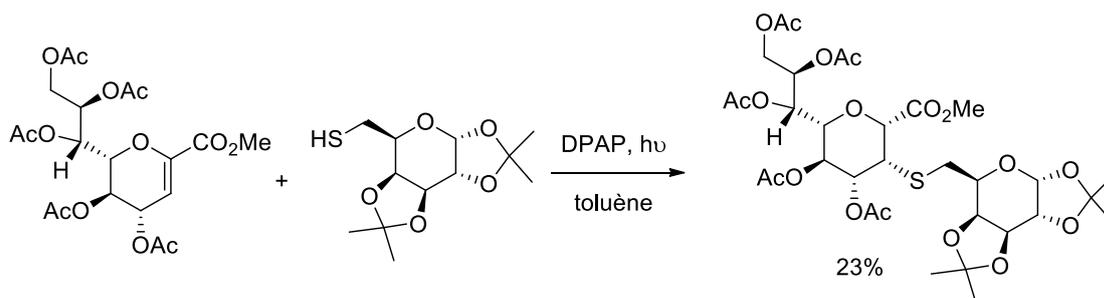


Schéma 37. Addition sur un *endo*-glycal substitué par un groupe électroattracteur

b- Addition sur les *exo*-glycals

L'addition radicalaire d'acide thioacétique sur des méthylène *exo*-glycals a aussi été explorée par Gervay *et al.* (Schéma 38, a).⁸⁵ Plus récemment, Dondoni *et al.* ont décrit l'hydrothiolation d'un 5,6-*exo*-glycal par le 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranose⁸⁶ (b) et Borbás *et al.* ont publié l'addition radicalaire de thiophénol sur un sucre portant une double liaison *exo*-cyclique en position 3 (c).^{83b} Pour tous ces exemples, le couplage est totalement régiosélectif, le thiol s'additionne sur le carbone terminal de la double liaison. La réaction suit une règle anti-Markovnikov puisque la stabilisation du radical est accrue sur le carbone le plus encombré.

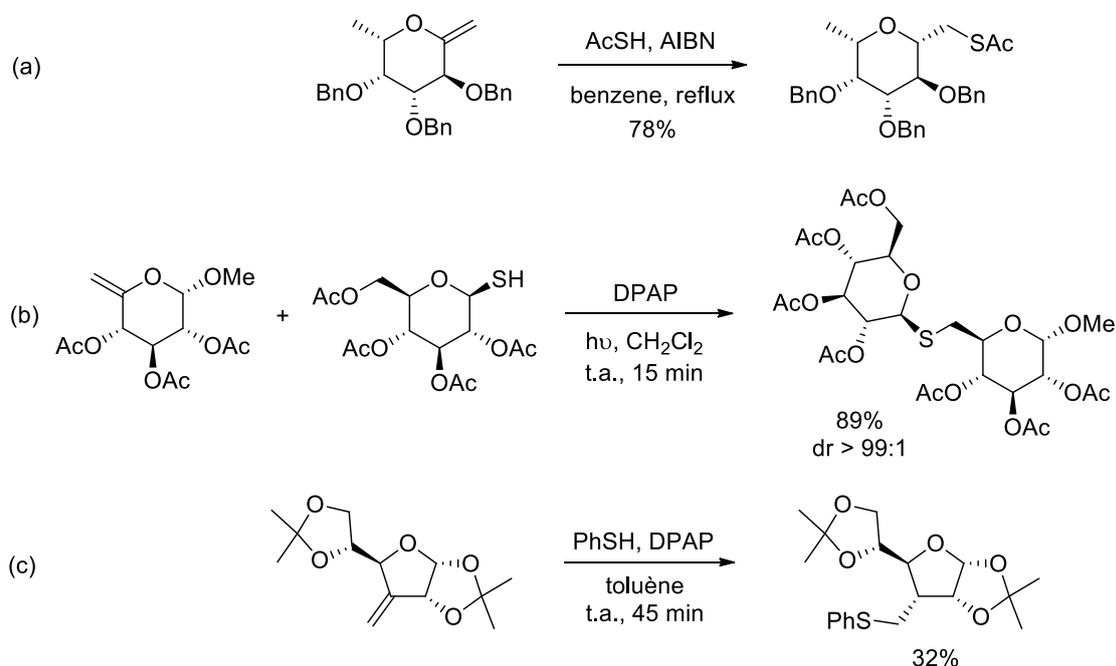


Schéma 38. Exemples d'addition sur des méthylène *exo*-glycals

A notre connaissance, aucun exemple traitant de l'addition radicalaire d'un thiol sur le carbone anomérique d'un *exo*-glycal n'a été rapporté. Nous avons donc cherché à mettre au point des

méthodes d'additions radicalaire et basique de thiols sur les *exo*-glycols push-pull trisubstitués développés au laboratoire.

IV.2- Mise au point de l'addition de thiols sur les *exo*-glycols

La réaction a d'abord été étudiée pour un thiol et un *exo*-glycol modèles afin de mettre au point les deux méthodes, basique et radicalaire. Dans un second temps, les conditions définies pour ce système ont été appliquées à d'autres furano-*exo*-glycols et à des pyrano-*exo*-glycols. Enfin, l'addition d'autres thiols (secondaires, tertiaires, aromatiques, saccharidiques) a été examinée.

La mise au point de ce couplage a été faite avec le phénylméthanethiol (PhCH₂SH) et les *exo*-glycols **4-E** et **4-Z** de configuration *D*-érythro (Schéma 39, Tableaux T5 et T6).

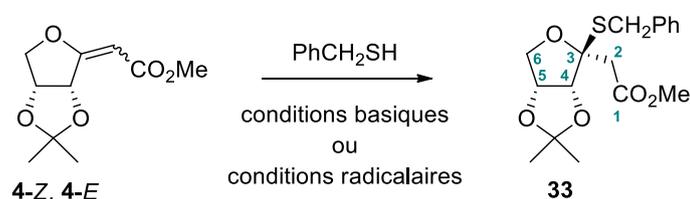


Schéma 39. Addition de PhCH₂SH sur **4-E** et **4-Z**

IV.2.1- En conditions basiques

La réaction a d'abord été effectuée en absence de base, cependant aucun adduit n'a été obtenu, même en augmentant les quantités de thiol ou le temps de réaction. L'addition nécessite donc la présence d'une base, non nucléophile pour éviter les réactions secondaires dues à la présence d'un ester méthylique. D'après la méthodologie d'addition développée pour le nitrométhane, le DBU est une base de choix pour ce type de réaction et a donc été choisi. La réaction a été réalisée dans l'acétonitrile avec différents équivalents de DBU (Tableau 5, entrées 2-4) et la formation de l'adduit **33** attendu a été observée. Les meilleurs rendements ont été obtenus pour une quantité catalytique de DBU (0.1 éq., entrée 2), l'utilisation d'une quantité stœchiométrique de DBU a conduit à une diminution du rendement (entrée 4). Dans ce cas, on a observé en CCM la présence de l'adduit **33**, de l'*exo*-glycol **4-E** de départ mais aussi de l'*exo*-glycol **4-Z**. Ce dernier provient d'une réaction de rétro-Michael permise par l'excès de base dans le milieu réactionnel, qui a lieu à partir de l'adduit **33** et conduisant aux *exo*-glycols **4-E** et **4-Z**.⁸⁷ Pour éviter cette réaction secondaire, il est préférable de travailler avec une quantité catalytique de base. Dans tous les cas, un seul anomère a été obtenu et il n'y a pas d'isomérisation, contrairement à ce qui avait été observé lors de l'addition du nitrométhane.

L'emploi de TBAF•3H₂O a également conduit à l'adduit **33**, avec un rendement moindre que pour le DBU cependant (entrée 5). D'autres solvants ont été utilisés (entrées 6-8), mais l'acétonitrile s'est révélé être le solvant de choix pour cette réaction. Lorsque les meilleures conditions obtenues pour l'*exo*-glycol **4-E** ont été appliquées sur l'*exo*-glycol **4-Z** (0.1 éq. de DBU dans l'acétonitrile pendant 1h, entrée 9), on a obtenu le même adduit **33** avec un excellent rendement. Aucune différence de réactivité n'a donc été observée entre l'*exo*-glycol *E* et l'*exo*-glycol *Z*. Pour confirmer cette observation, un essai a été réalisé à partir d'un mélange **4-E/4-Z** 1/1 mis en réaction avec 0.5 éq. de thiol et 0.1 éq. de DBU. Après 1h de réaction, la RMN ¹H du brut réactionnel a montré un mélange **33/4-E/4-Z** de 1.4/1.1/1, attestant que les deux *exo*-glycols réagissent à une vitesse similaire, contrairement à ce qui avait été observé pour le nitrométhane. Ce résultat est dû à une délocalisation moins importante dans le cas d'un thiolate, l'addition du thiol est donc plus rapide que dans le cas du nitrométhane et il n'y a pas de différences observées expérimentalement.

L'addition de Michael en présence de triéthylamine⁸⁸ ou de carbonate de potassium K₂CO₃⁸⁹ a été rapportée, mais ces bases n'ont pas été efficaces dans le cas de ces *exo*-glycols.

entrée	<i>exo</i> -glycol	solvant ^a	base – éq.	temps (h)	rendement % ^b
1	4-E	CH ₃ CN	-	24	0
2	4-E	CH ₃ CN	DBU – 0.1 éq.	1	93
3	4-E	CH ₃ CN	DBU – 0.5 éq.	1	80
4	4-E	CH ₃ CN	DBU – 1 éq.	4	53
5	4-E	CH ₃ CN	TBAF – 0.1 éq.	1	71
6	4-E	THF	DBU – 0.1 éq.	2	72
7	4-E	toluène	DBU – 0.1 éq.	6	63
8	4-E	CH ₂ Cl ₂	DBU – 0.1 éq.	6	14
9	4-Z	CH ₃ CN	DBU – 0.1 éq.	1	94

[a] 1.2 équivalents de thiol

[b] Rendements après purification

Tableau 5. Optimisation de l'addition de PhCH₂SH en conditions basiques

La structure de l'adduit obtenu a été déterminée par l'étude du spectre NOESY du composé **33** qui montre une corrélation entre l'un des protons H-2 et l'un des méthyles du groupement isopropylidène (Figure 9), indiquant leur présence sur la même face du sucre.

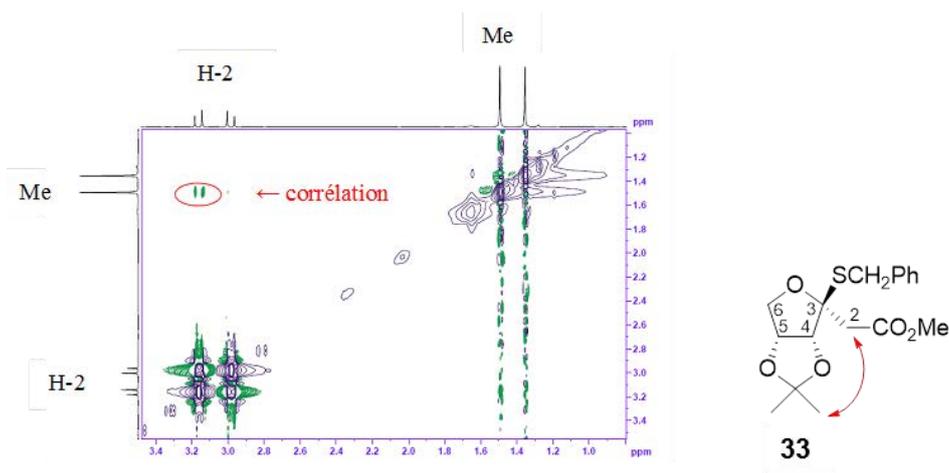


Figure 9. Spectre NOESY du composé **33**

Le produit obtenu correspond donc à l'addition du thiol en *anti* par rapport au groupement 4,5-isopropylidène. Ce résultat est en accord avec ce qui a été précédemment observé lors de l'addition de benzylamine³⁴ ou du nitrométhane. Contrairement à l'addition de nitrométhane, on n'observe pas d'isomérisation en position anomérique lors de l'addition du thiol, mais un phénomène de rétro-Michael permis par la labilité de l'atome de soufre. L'attribution de la configuration du carbone anomérique a été ensuite confirmée par l'analyse cristallographique du composé **35** (*D-gulo*, cf chapitre IV.3.a).

IV.2.2- En conditions radicalaires

L'addition en conditions radicalaires a ensuite été étudiée. Plusieurs types d'addition sont décrites dans la littérature : avec activation photochimique, thermique, avec ou sans initiateur radicalaire.^{80a}

Pour notre système, les premiers essais ont été réalisés d'après des conditions décrites par Marra *et al.*⁸⁶ Le thiol et l'*exo*-glycol ont été mis en réaction dans le dichlorométhane ou le toluène en présence de 0.1 éq. de DPAP avec une lampe UVA ($\lambda_{\text{max}} = 365 \text{ nm}$) pendant 30 minutes (Tableau 6, entrées 1 et 2). Aucun produit d'addition n'a été obtenu et l'augmentation du nombre d'équivalents de PhCH_2SH , du temps de réaction ou l'emploi d'AIBN (entrées 3 et 4) n'ont pas permis la formation de l'adduit.

entrée	<i>exo</i> -glycol	solvant	conditions	éq. thiol	temps (h)	rendement % ^d
1	4- <i>E</i>	CH ₂ Cl ₂	DPAP, hν ^a	1.2	0.5	0
2	4- <i>E</i>	toluène	DPAP, hν ^a	1.2	0.5	0
3	4- <i>E</i>	toluène	DPAP, hν ^a	3	1	0
4	4- <i>E</i>	toluène	AIBN, hν ^a	3	1	0
5	4- <i>E</i>	toluène	AIBN, Δ ^b	1.5	1	44
6	4- <i>E</i>	toluène	AIBN, Δ ^b	3	1	75
7	4- <i>E</i>	toluène	AIBN, Δ ^b	3	3	82
8	4- <i>E</i>	toluène	AIBN, Δ ^b	3	18	91
9	4- <i>E</i>	toluène	Δ	3	18	0
10	4- <i>Z</i>	toluène	AIBN, Δ ^b	3 ^c	22	70

[a] Réactions sous lampe UVA à λ_{max} 365 nm avec 0.1 éq. d'initiateur radicalaire

[b] Réactions à 120°C en tube scellé avec 0.1 éq. d'initiateur radicalaire

[c] 3 éq. de thiol et 0.1 éq. d'initiateur radicalaire ajoutés après isomérisation de 4-*E* en 4-*Z*

[d] Rendements après purification

Tableau 6. Optimisation de l'addition de PhCH₂SH en conditions radicalaires

L'activation photochimique ne permettant pas d'obtenir le produit attendu, l'activation thermique a ensuite été étudiée. La réaction menée à 120 °C dans le toluène avec 1.5 éq. de thiol et 0.1 éq. d'AIBN a conduit à l'adduit avec un rendement de 44% en une heure (entrée 5). Ce rendement a pu être amélioré jusqu'à 91% avec 3 équivalents de thiol et un temps de réaction de 18h (entrée 8). Il n'est pas surprenant que cette addition nécessite une activation thermique. En effet, il a été rapporté que les alcènes 1,2-disubstitués sont moins réactifs que les alcènes monosubstitués.⁷³

La présence de l'initiateur radicalaire est essentielle (entrée 9) et il est également nécessaire d'utiliser un toluène parfaitement anhydre pour éviter la formation du sous-produit de réaction **34**, issu de l'addition d'une molécule d'eau (Schéma 40).

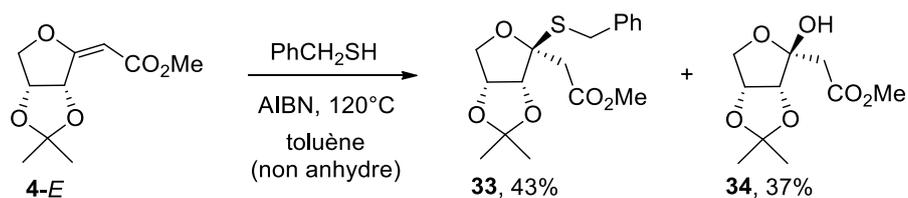


Schéma 40. Formation du sous-produit **34**

Les méthylène *exo*-glycols sont des éthers d'énols, la double liaison est donc enrichie en électrons grâce au doublet non liant de l'oxygène. Pour ces composés, l'hydrothiolation a toujours lieu sur le carbone terminal, moins encombré.^{83b,85} Dans notre cas, l'hydrothiolation passe par la formation d'un radical en C-2, stabilisé par conjugaison avec le groupement carboxyméthyle (Schéma 41), conduisant à la formation d'un composé unique **33**. Les deux méthodes basiques et radicalaires ont donc la même sélectivité et conduisent à la formation du même adduit.

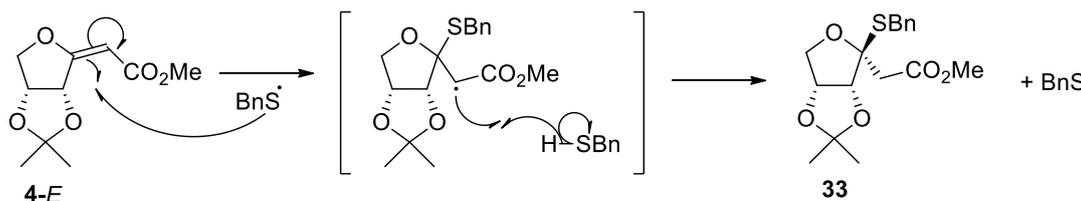


Schéma 41. Addition radicalaire sur **4-E**

Lorsque ces mêmes conditions réactionnelles (3 éq. de thiol, 0.1 éq. d'AIBN, 18h à 120 °C) ont été appliquées à l'*exo*-glycol **4-Z**, la formation de **4-E** a été observée par RMN ¹H du brut réactionnel (Schéma 42). Cette isomérisation en conditions radicalaires est un phénomène décrit dans la littérature,⁹⁰ notamment pour l'isomérisation *cis-trans* des chaînes insaturées des acides gras.⁹¹ Dans ce cas, pour parvenir plus rapidement à la formation de l'adduit **33**, 3 éq. de PhCH₂SH et 0.1 éq. d'AIBN supplémentaires ont été ajoutés après isomérisation de **4-Z** en **4-E** et le produit d'addition a finalement été obtenu avec un rendement de 70% (entrée 10).

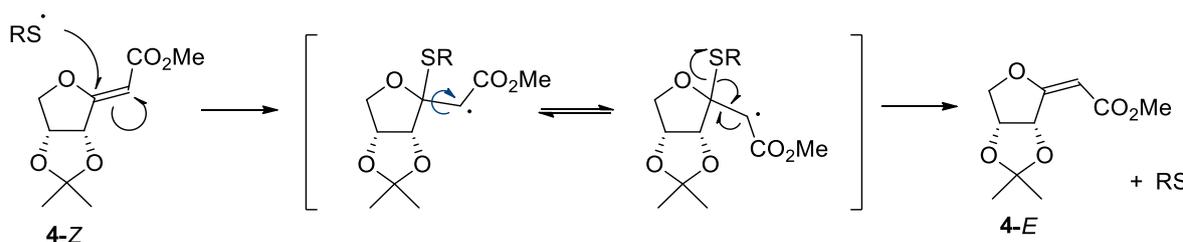


Schéma 42. Isomérisation en conditions radicalaires

Après avoir mis au point des conditions d'addition de thiol *via* un processus basique et *via* un processus radicalaire, la réaction a été étendue à d'autres *exo*-glycols. Pour chaque méthode, les meilleures conditions expérimentales ont été utilisées, 1,2 équivalents de thiol et 0,1 équivalents de DBU dans l'acétonitrile pour la méthode basique et 3 équivalents de thiol et 0,1 équivalents d'initiateur radicalaire dans le toluène à 120°C pour la méthode radicalaire.

IV.3- Applications à d'autres *exo*-glycols

Les méthodes basique (A) et radicalaire (B) ont été appliquées aux *exo*-glycols **1**, **5**, **9**, **27**, **28** et **36** (Figure 10) et les résultats obtenus sont détaillés dans le tableau 7.

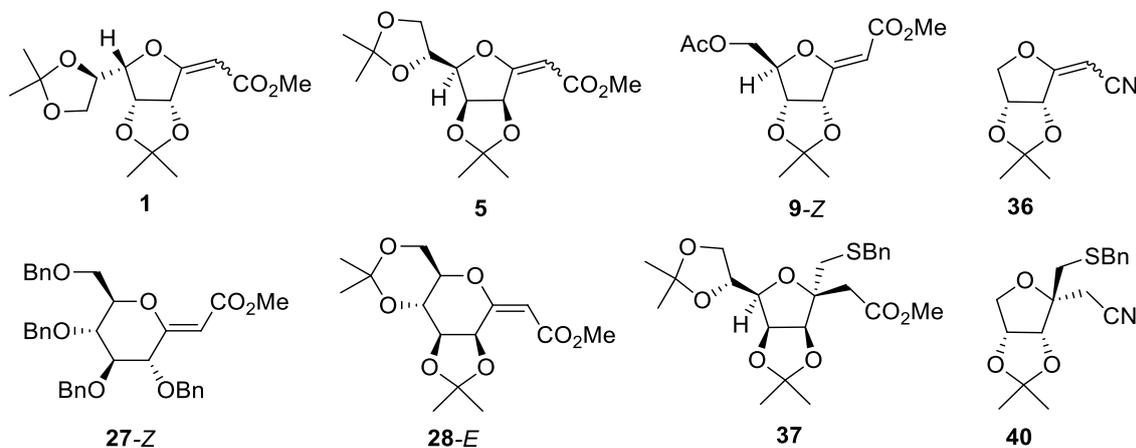


Figure 10. Les différents *exo*-glycols mis en jeu lors de l'addition de PhCH₂SH et la structure des adduits **37** et **40**

entrée	<i>exo</i> -glycol	méthode ^a	temps (h)	produit	rendement (%) ^d
1	1-E	A	1	35	83
2	1-Z	A	1	35	89
3	1-E	B	18	35	81
4	5-E	A	1	37	88
5	5-Z	A	1	37	98
6	5-E	B	18	37	77
7	9-Z	A	3	38, 39	77
8	9-Z	B	18 ^b	38, 39	29
9	36	A	1	40	69
10	27-Z	A	6 ^c	41, 42	71
11	28-E	A	1 ^c	43	86

[a] Méthode A : réactions dans CH₃CN à 20°C, 1.2 éq. de thiol et 0.1 éq. de DBU

Méthode B : réactions en tube scellé à 120°C dans le toluène avec 3 éq. de thiol et 0.1 éq. d'initiateur radicalaire (AIBN)

[b] 3 éq. de thiol et 0.1 éq. d'initiateur radicalaire ajoutés après isomérisation

[c] 2 éq. de thiol et 0.2 éq. de DBU

[d] Rendements après purification

Tableau 7. Addition de PhCH₂SH sur d'autres *exo*-glycols

a- Furano-*exo*-glycals

Pour les furano-*exo*-glycals **1** (*D-gulo*, entrées 1-3) et **5** (*D-manno*, entrées 4-6), les résultats obtenus en conditions basiques et radicalaires sont très similaires à ceux obtenus pour l'*exo*-glycal **4** et ont conduit aux composés **35** et **37** avec de très bons rendements. Des cristaux du composé **35** ont été obtenus et ont permis de confirmer la stéréochimie du carbone anomérique par diffraction des rayons X (Figure 11).

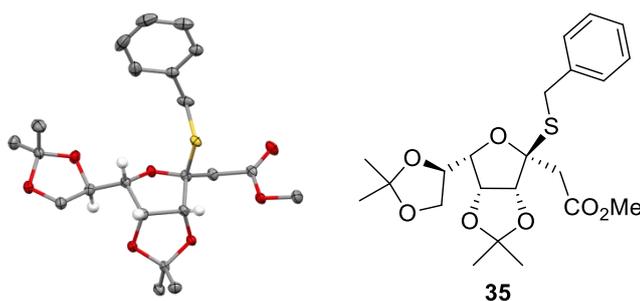
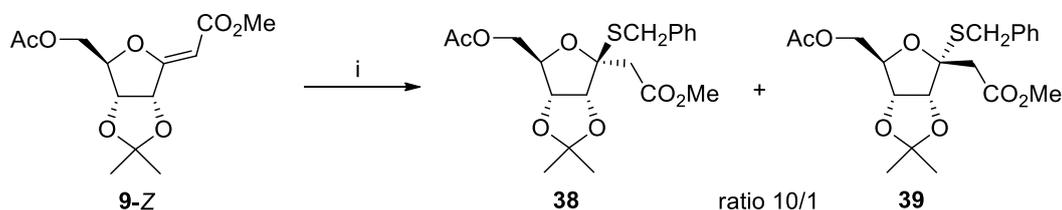


Figure 11. Diagramme ORTEP du composé **35** (certains hydrogènes ne sont pas représentés)

Dans le cas du *D-ribo* **9-Z** (entrées 7 et 8) pour lequel les deux faces présentent de l'encombrement stérique, la réaction a nécessité des temps plus longs et une quantité plus importante de thiol (2éq.) et de base (0.2 éq.). Deux produits d'addition sont obtenus (Schéma 43). Le produit majoritaire **38** résulte de l'attaque sur la face β en *anti* par rapport au 4,5-isopropylidène. L'adduit minoritaire **39** provient d'une attaque sur la face α . Lorsque l'on a appliqué la méthode radicalaire à cet *exo*-glycal, une isomérisation de **9-Z** en **9-E** a d'abord été observée. Les produits d'addition ont finalement été obtenus avec un rendement modeste après addition d'une portion supplémentaire de PhCH₂SH et d'AIBN (entrée 8).



i. Voir conditions dans le tableau 7

Schéma 43. Addition de PhCH₂SH sur **9-Z** et **27-Z**

Les anomères **38** et **39** ont été obtenus dans un ratio 10/1 à partir de **9-Z**, la stéréochimie des deux produits a été déterminée par l'étude des spectres NOESY (Figure 12). Pour l'anomère majoritaire **38**, une corrélation entre les protons benzyliques et les protons H-7 indique leur

présence sur la même face du sucre, alors que dans le cas du produit minoritaire **39** seule une corrélation entre H-2 et H-4 est visible.

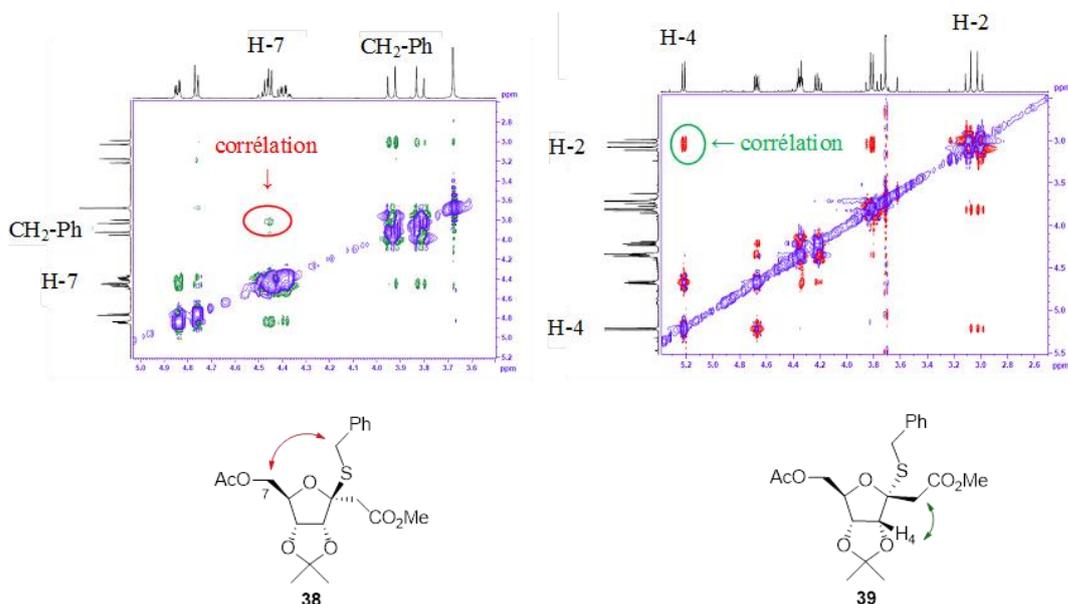


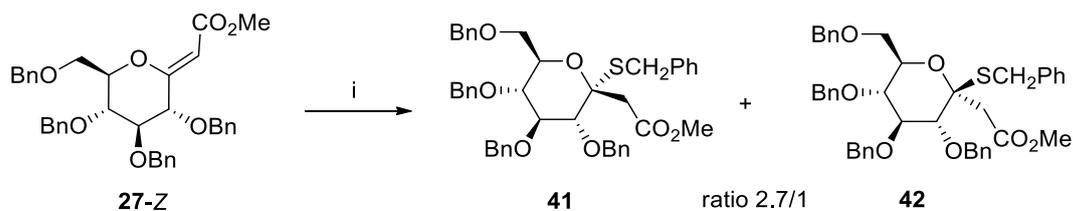
Figure 12. Spectres NOESY des composés **38** et **39**

Les conditions basiques appliquées au composé **36**, qui porte un groupement nitrile, ont conduit à l'adduit attendu **40** avec un bon rendement, montrant que la réaction peut être étendue à d'autres types d'*exo*-glycols « push-pull » (entrée 9).

b- Pyrano-*exo*-glycols

La réaction d'addition sur les pyrano-*exo*-glycols a ensuite été examinée. Dans ce cas, contrairement à ce qui avait été observé lors de l'addition du nitrométhane, les adduits attendus ont été obtenus.

Dans le cas du D-*gluco*-pyranose **27-Z** (entrée 10), deux anomères **41** et **42** ont été obtenus dans un ratio 2.7/1 pour un rendement global de 71% (Schéma 44).



i. PhCH₂SH (2 éq.), DBU (0.2 éq.), CH₃CN, t.a., 6h, 71%

Schéma 44. Addition de PhCH₂SH sur **27-Z**

La formation des deux anomères **41** et **42** est due à l'encombrement stérique présent sur les deux faces du sucre. La configuration de ces deux composés a été déterminée par RMN NOESY. La corrélation H-2/H-4 visible seulement pour le composé **41** (Figure 13), indique que ces deux protons se trouvent sur la même face du sucre et donc la configuration α du carbone anomérique. La corrélation H-2/H-5 observée pour le produit **42** confirme la configuration β du carbone anomérique. Le composé majoritaire **41** correspond donc à l'attaque du thiolate sur la face α , qui est la face la moins encombrée de l'*exo*-glycal **27-Z**.^{69,92,93}

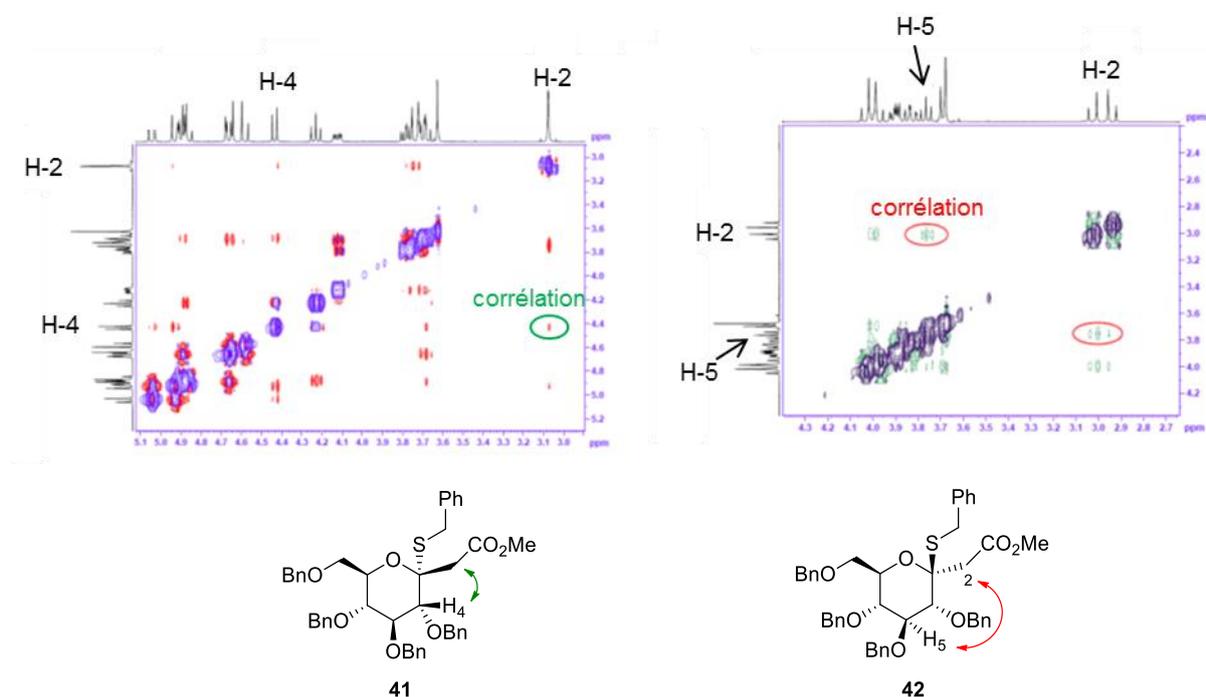


Figure 13. Spectres NOESY des composés **41** et **42**

Dans le cas du pyrano-*exo*-glycal **28-E** (entrée 11), le produit d'addition **43** a été obtenu accompagné d'un sous-produit de réaction, l'*endo*-glycal **30** qui provient du réarrangement de la double liaison en milieu basique déjà observé lors de l'addition du nitrométhane. La formation de ce sous-produit est limitée si l'on utilise 2 équ. de PhCH₂SH et 0.2 équ. de DBU. Des cristaux du produit d'addition obtenus après évaporation lente dans un mélange dichlorométhane/éthanol ont permis de confirmer la structure de l'adduit (Figure 14). Pour ce pyrano-*exo*-glycal, l'encombrement stérique présent sur la face β est important et seul le C,S-glycoside α est obtenu.

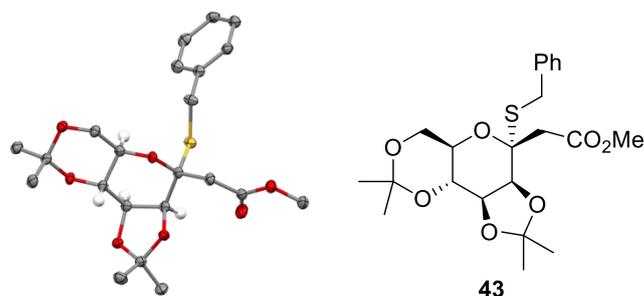


Figure 14. Diagramme ORTEP du composé **43** (certains hydrogènes ne sont pas représentés)

La méthode d'addition radicalaire appliquée aux pyrano-*exo*-glycols n'a pas permis d'obtenir les composés attendus. Pour l'*exo*-glycol **27**, ce résultat peut être expliqué par la labilité des groupes protecteurs benzyles dans les conditions de réaction.^{83b,94} Les conditions réactionnelles poussées (dans le toluène à 120°C en tube scellé) peuvent également expliquer l'instabilité des acétals du composé **28**. L'instabilité de l'acétal en 2,3 a d'ailleurs été exploitée précédemment pour la préparation de 2-cétoglycols.^{4b}

IV.4- Applications à d'autres thiols

Afin de définir les potentialités et les limites de cette réaction, l'étude a été étendue à d'autres thiols. Différents types de thiols ont été choisis : des thiols secondaire (*i*-PrSH), aromatique (PhSH), tertiaire (*t*-BuSH), présentant des points de fonctionnalisation (**44**, **45**), des thioglucoses (**46**, **47**) ou encore des acides aminés ou peptides contenant une fonction thiol (cystéine, glutathion). Ces thiols présentent donc des différences au niveau de l'encombrement stérique qu'ils induisent mais également au niveau de leur pK_a , qui varie globalement entre 7 et 11 (Figure 15).

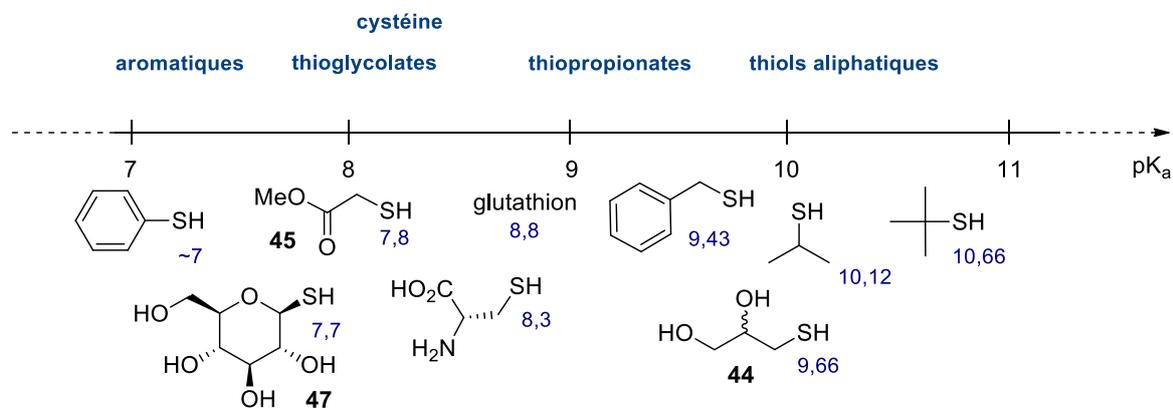


Figure 15. Les différentes classes de thiols et leurs pK_a

L'addition de ces différents thiols a été examinée pour les 3 furano-*exo*-glycals **4-E**, **1-E** et **36**. Un produit de réarrangement *endo* de la double liaison des pyrano-*exo*-glycals ayant été obtenu dans certaines conditions réactionnelles, ces composés n'ont pas été employés pour ce volet de l'étude.

IV.4.1- Thiols aliphatiques, aromatiques et glucidiques

Les conditions réactionnelles définies pour le phénylméthanethiol ont dû être légèrement modifiées dans le cas de l'addition du thiol secondaire *i*-PrSH sur **1-E** (2 éq. de thiol, 0.2 éq. de DBU, tableau 8, entrée 1) et le produit **48** a été obtenu avec un bon rendement après 2h de réaction. En conditions radicalaires, 10 équivalents de thiols ont été employés et l'adduit a été obtenu avec un rendement de 43% (entrée 2).

Pour le thiophénol (PhSH), l'addition a été effectuée sur l'*exo*-glycal **4-E** dans les conditions basiques déterminées précédemment (0.1 éq. DBU, 1.2 éq. thiol) et le composé **49** a été obtenu avec un rendement très faible (entrée 3). Augmenter les quantités de réactifs (2 éq. de thiol et 0.2 éq. de DBU) et la température (80°C) ont permis d'améliorer légèrement le rendement (entrée 4). Un rendement de 78% a finalement été obtenu avec un large excès de thiol (10 éq.), une quantité stœchiométrique de DBU et un temps de réaction de 30 h à 80 °C (entrée 5). En conditions radicalaires, l'emploi de 10 équivalents de thiol a conduit à l'adduit attendu **50** avec un rendement de 42% (entrée 6).

L'addition d'un thiol tertiaire (*t*-BuSH) est beaucoup plus difficile, le meilleur rendement a été obtenu avec 10 éq. de thiol, 1 éq. de DBU et un temps de réaction de 18h à 80°C (entrée 8). Dans ces conditions, l'adduit **51** est obtenu avec un rendement de 35% et un mélange d'*exo*-glycals **4-E** et **4-Z** est également récupéré. En conditions radicalaires, l'addition de ce thiol n'a pas lieu (entrée 9).

L'addition du thiol **45** sur le composé **36** a ensuite été examinée. La réaction nécessite l'emploi de 2 éq. de thiol et de 0,2 éq. de DBU (entrée 10) et le produit attendu est obtenu avec un rendement de 88%. **45** comporte une fonction ester et l'adduit formé **52** (Schéma 45) présente ainsi deux points de fonctionnalisation différents. Le thiol **44**, qui comporte une fonction diol, a été additionné sur l'*exo*-glycal **1-E**. En utilisant la méthode basique, le produit **53** a été obtenu avec un rendement de 82% (entrée 11). Les conditions radicalaires ont été légèrement modifiées (10 éq. de thiol, dans le méthanol à 80°C) et l'adduit **53** a été formé à hauteur de 50% (entrée 12).

La réaction d'addition de thio-glucoses a ensuite été étudiée (Schéma 45). Cette addition permet d'obtenir des *S*-disaccharides tertiaires. Dans le cas du méthyle 6-désoxy-6-thio- α -D-glucopyranoside **46** (fonction thiol sur le C-6, entrée 13) en conditions basiques, la réaction a nécessité l'utilisation d'eau comme co-solvant pour solubiliser **46**. De plus, 2 éq. de thiol et 0.2 éq. de DBU ont été employés pour conduire au composé **54**. L'emploi de la méthode radicalaire dans un mélange méthanol/eau a également permis la formation de ce produit à hauteur de 46% (entrée 14). En conditions radicalaires, les rendements obtenus sont plutôt moyens et un mélange d'*exo*-glycols *E* et *Z* est récupéré.

entrée	<i>exo</i> -glycol	méthode ^a	thiol	temps (h)	produit	rendement % ^g
1	1-E	A	<i>i</i> -PrSH	2 ^b	48	77
2	1-E	B	<i>i</i> -PrSH	18 ^c	48	43
3	4-E	A	PhSH	6	49	8
4	4-E	A	PhSH	3 ^{b,d}	49	20
5	4-E	A	PhSH	48 ^{d,e}	49	78
6	1-E	B	PhSH	18 ^c	50	42
7	4-E	A	<i>t</i> -BuSH	24	-	0
8	4-E	A	<i>t</i> -BuSH	18 ^{d,e}	51	35
9	1-E	B	<i>t</i> -BuSH	18 ^c	-	0
10	36	A	45	1 ^b	52	88
11	1-E	A	44	1	53	82
12	1-E	B	44	18 ^{c,d,f}	53	50
13	1-E	A	46	3 ^{b,f}	54	75
14	1-E	B	46	6 ^{d,f}	54	46

[a] Méthode A : réaction dans CH₃CN à 20°C, 1.2 éq. de thiol et 0.1 éq. de DBU.

Méthode B : réaction en tube scellé à 120°C dans le toluène avec 3 éq. de thiol et 0.1 éq. d'AIBN

[b] 2 éq. de thiol et 0.2 éq. de DBU

[c] 10 éq. de thiol

[d] réaction à 80°C

[e] 10 éq. de thiol et 1 éq. de DBU

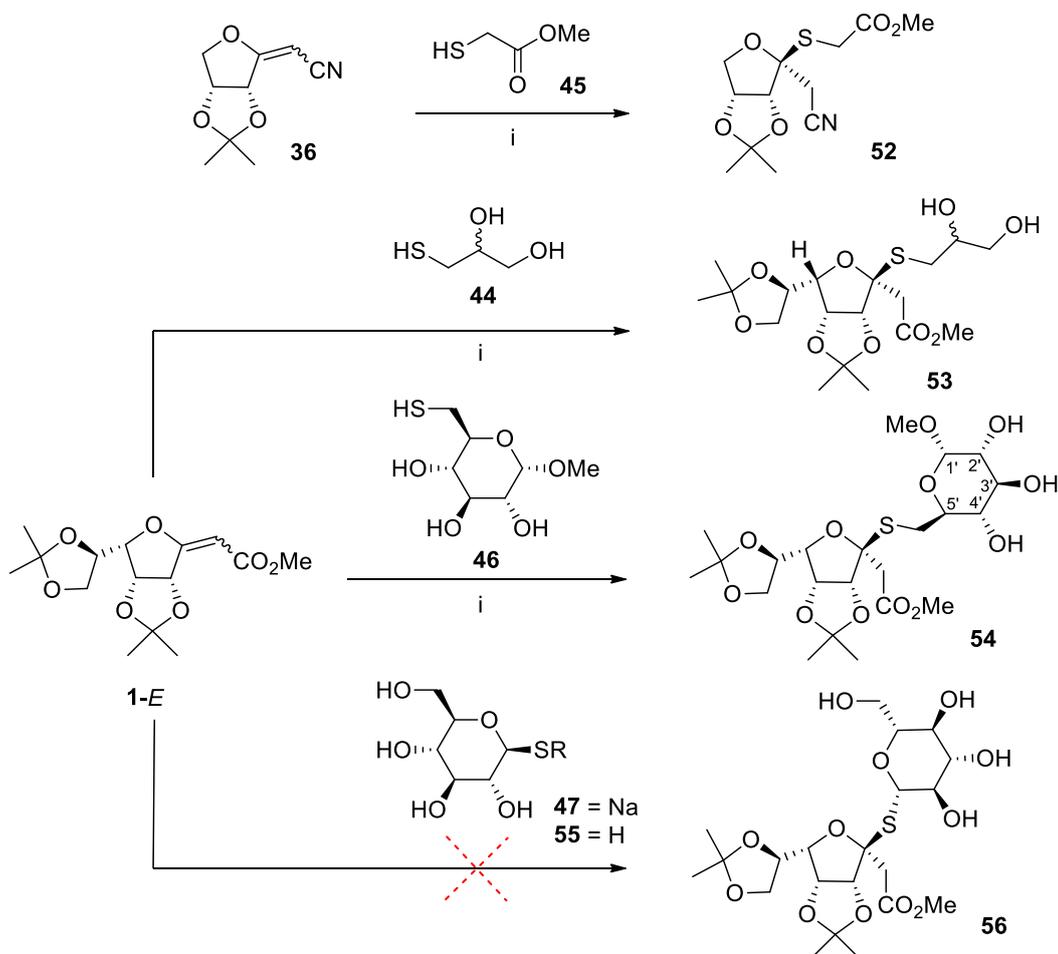
[f] MeOH pour l'entrée 12, CH₃CN/H₂O (1/1) pour l'entrée 13, MeOH/H₂O pour l'entrée 14

[g] Rendements après purification

Tableau 8. Addition de différents thiols sur **4-E**, **1-E** et **36**

Dans le cas du sel de sodium du 1-thio- β -D-glucopyranose **47**, la réaction a été effectuée en présence et en absence de DBU, le thiol étant déjà sous forme thiolate (Schéma 45). La

réaction a également été effectuée avec le sucre **55** en présence de DBU. Dans tous les cas, l'analyse HRMS du brut réactionnel montre la présence d'un adduit $[M+Na]^+ = 533.1673$ qui correspond au produit attendu **56**. Cependant, malgré un temps de réaction prolongé, l'ajout de thiol ou une élévation de la température de réaction, le taux de conversion de **1-E** est resté trop faible et le produit **56** n'a pas pu être isolé et caractérisé.



i. voir conditions dans le tableau T8

Schéma 45. Addition de différents thiols sur **1-E** et **36**

IV.4.2- Additions de peptides contenant une fonction thiol

Dans le cadre d'un projet de recherche concernant la préparation de groupes prosthétiques pour le radiomarquage de biomolécules, notre équipe s'intéresse au développement de méthodes de conjugaison rapide entre sucres et peptides.^{44,45} Il nous a donc semblé intéressant d'explorer l'addition de cystéine et de glutathion qui possèdent tous deux une fonction thiol. La purification des adduits cystéine et glutathion a été réalisée en phase inverse avec un éluant composé d'un mélange de méthanol et d'eau.

a- Addition en conditions basiques

Les premiers essais ont été réalisés dans les conditions définies précédemment, avec l'*exo-glycal 4-E* et la Boc-L-cys-OMe, protégée au niveau de l'amine pour éviter une compétition entre l'addition de l'amine ou du soufre. Les analyses RMN et HRMS des bruts réactionnels ont montré que le produit d'addition correspondant a bien été obtenu, cependant les polarités proches du produit de départ, du produit d'addition et d'une impureté provenant de l'acide aminé (homocouplage) ont rendu la purification difficile et le produit d'addition n'a pas pu être isolé. Pour éviter ce problème, nous avons choisi de travailler avec une cystéine pour laquelle l'acide carboxylique n'est pas protégé, ce qui a rendu la purification de l'adduit obtenu plus simple. L'addition a été explorée sur des *exo-glycals* de configuration *E* (sauf pour le *D-ribo* de configuration *Z*), mais nous avons vu précédemment que la réactivité des *exo-glycals Z* est similaire en conditions basiques.

entrée	<i>exo-glycal</i>	éq. DBU	Thiol ^a	temps (h)	produit	rendement % ^d
1	4-E	1.2	<i>N</i> -Ac-Cys-OH	2	57	8
2	4-E	1.5	<i>N</i> -Ac-Cys-OH	2	57	80
3	4-E	1.9	<i>N</i> -Ac-Cys-OH	2	57	93
4	4-E	1.9	H-Cys-OH	2	58	73
5	4-E	2.3	H-Cys-OH	2	58	58
6	1-E	1.9	H-Cys-OH	2	59	77
7	5-E	1.9	H-Cys-OH	2	60	72
8	61-Z	1.9	H-Cys-OH	4	62, 63	50 ^b
9	28-E	1.9	H-Cys-OH	2	64	31 ^c
10	4-E	3.0	glutathion	4	65	63
11	1-E	3.0	glutathion	4	66	58
12	5-E	3.0	glutathion	4	67	61
13	28-E	3.0	glutathion	4	68	31 ^c

[a] Réactions à 20°C avec 1.1 éq. de thiol, dans CH₃CN pour les dérivés de cystéine et dans CH₃CN/H₂O (1/1) pour le glutathion.

[b] Ratio 9/1

[c] Formation d'*endo-glycal 30* : 51% pour l'entrée 9, 20% pour l'entrée 13

[d] Rendements après purification

Tableau 9. Addition de cystéine et de glutathion selon la méthode basique

Avec une fonction acide carboxylique libre sur la cystéine, la quantité de DBU doit être ajustée en tenant compte de la quantité de cystéine. Différents essais (entrées 1-3, Tableau 9) réalisés avec des proportions variables de DBU indiquent que l'emploi de 1.9 équivalents de DBU est optimal pour cette réaction. Le produit **57** a alors été obtenu avec un excellent rendement (entrée 3). Les essais réalisés avec la cystéine déprotégée au niveau de l'amine ont également permis d'obtenir le produit **58** avec un bon rendement (Schéma 46, entrée 4).

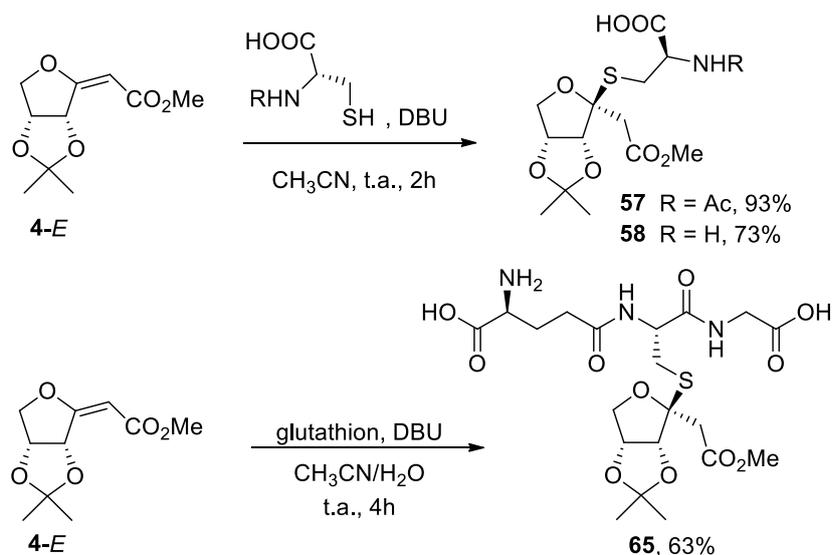


Schéma 46. Addition de cystéine et de glutathion sur **4-E**

Pour confirmer que le couplage a lieu par addition de l'atome de soufre et non pas de l'atome d'azote, le spectre HMBC du produit **58** obtenu a été soigneusement étudié (Figure 16). La corrélation entre le carbone anomérique (C-3) et les protons en α du soufre prouve que la réaction d'addition s'est faite *via* l'atome de soufre.

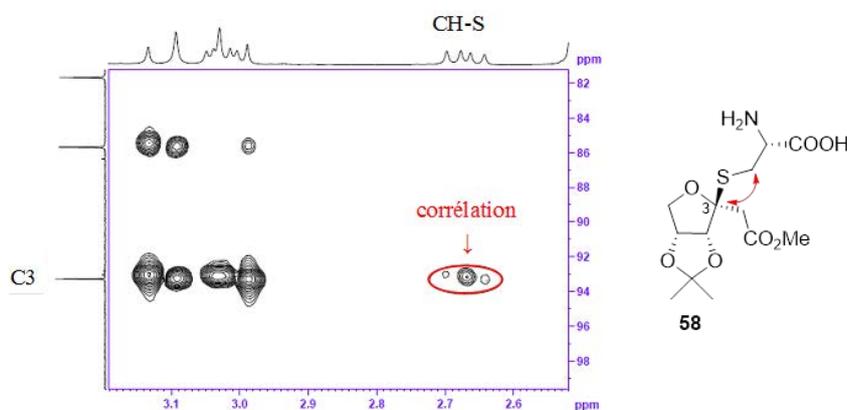


Figure 16. Spectre HMBC du composé **58**

Il n'est donc pas nécessaire de protéger les fonctions amine et acide carboxylique pour cette addition. Les meilleures conditions (1.1 éq. de cystéine, 1.9 éq. de DBU, 2h dans l'acétonitrile) ont été appliquées aux *exo*-glycols **1-E** et **5-E** et les produits d'addition correspondants **59** et **60** ont été obtenus avec de bons rendements (entrées 6-7). Appliquée au *D-ribo* **9-Z**, cette méthode n'a pas permis une addition efficace de la cystéine, des produits de dégradation de l'*exo*-glycol de départ ont été obtenus en mélange avec des produits d'addition. Cette dégradation s'explique par l'instabilité du groupe protecteur acétate dans des conditions basiques ou en présence de nucléophile azoté (cystéine). En revanche, lorsque la réaction a été effectuée sur l'*exo*-glycol **61-Z** dont l'hydroxyle O-7 est protégé par un méthoxyméthyle, deux produits d'addition **62** et **63** ont été obtenus dans un rapport 9/1 (Schéma 47). Le produit majoritaire **62** correspond à l'addition de la cystéine en anti par rapport à l'isopropylidène (entrée 8). Le rendement moyen et le temps de réaction plus long sont dûs à l'encombrement stérique présent sur les deux faces du sucre.

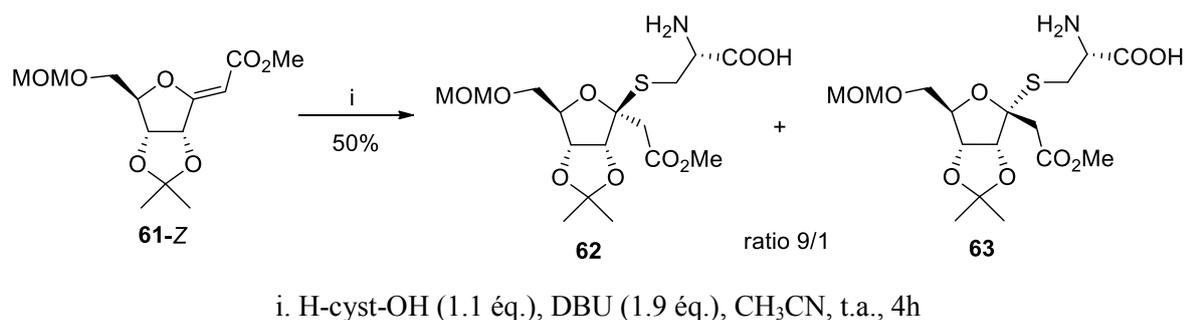


Schéma 47. Addition de cystéine sur **61-Z**

Pour le pyrano-*exo*-glycol **28-E**, les conditions réactionnelles employées ont conduit à l'adduit **64** attendu avec un rendement très moyen et on a observé majoritairement la formation de l'*endo*-glycol **30** (entrée 9). La face β de cet *exo*-glycol étant très encombrée, seul l'adduit α est obtenu. Cette observation rejoint les résultats obtenus lors de l'addition du nitrométhane sur cet *exo*-glycol, à savoir qu'un nombre d'équivalents de base plus élevé induit un réarrangement de la double liaison à l'intérieur du cycle saccharidique. Pour le pyrano-*exo*-glycol **27-Z**, la réaction d'addition de la cystéine a conduit à un mélange de produit de départ, d'*endo*-glycol et de produit d'addition. La formation de l'adduit a été prouvée par l'étude HRMS du brut réactionnel ($[M+H]^+ = 716.2867$) mais la polarité des nouveaux composés formés ne permet pas d'isoler le ou les adduits.

La méthodologie développée a ensuite été employée pour l'addition de glutathion sur les *exo*-glycols **4-E**, **1-E** et **5-E** et les produits **65**, **66** et **67** correspondant ont été obtenus avec de bons rendements (entrées 10-12). Le temps de réaction est alors augmenté à 4h et la quantité de DBU utilisée à 3 équivalents (2.2 équivalents pour les 2 fonctions acides carboxyliques du glutathion et 0.8 éq. pour la réaction d'addition). Pour **28-E**, on a observé là encore la formation du sous-produit **30** et l'adduit **68** a été obtenu avec un rendement très moyen de 31% (entrée 13).

b- Addition en conditions radicalaires

L'utilisation de la méthode radicalaire pour l'addition de la cystéine et du glutathion sur **1-E** a ensuite été examinée (Schéma 48). La réaction effectuée d'après les conditions optimales mises au point précédemment (dans le toluène à 120°C avec 0.1 éq. d'AIBN) n'a pas conduit à la formation du produit attendu à cause de la très faible solubilité de H-Cys-OH. Dondoni et Marra décrivent la réaction thiol-ène dans un mélange H₂O/DMF : 1/1^{80b} mais ces conditions ne se sont pas révélées efficaces pour notre système. L'emploi de H₂O/MeOH : 1/1 à 80°C a finalement conduit au composé **59** attendu avec un rendement de 53%. La formation de **69** (20%), pour lequel l'isopropylidène exocyclique est déprotégé, a également été observée dans ces conditions réactionnelles.

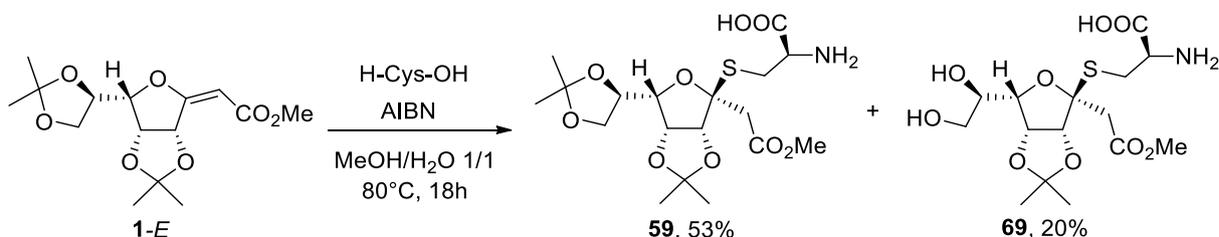


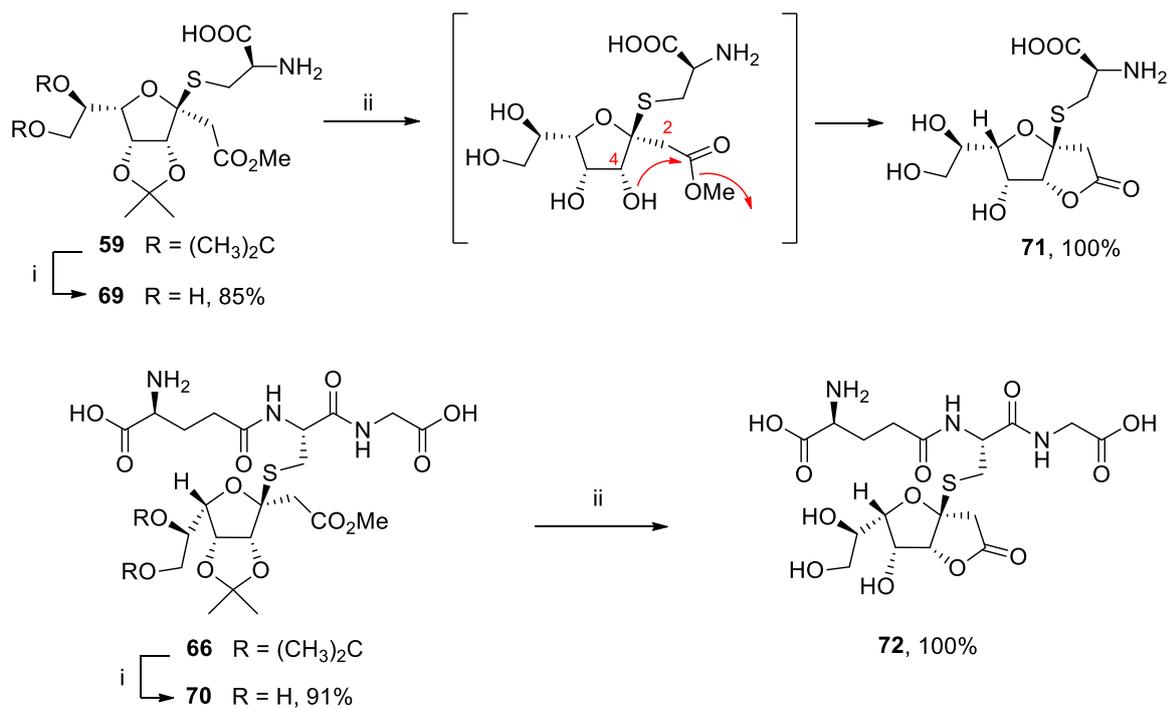
Schéma 48. Couplage de cystéine en conditions radicalaires

Les mêmes conditions réactionnelles ont été appliquées pour l'addition de glutathion mais aucun adduit n'a été obtenu, même en augmentant la durée, la température de réaction ou les équivalents d'initiateur radicalaire ou de glutathion.

c- Déprotection des adduits

Pour compléter et finir cette étude, la déprotection des composés **59** et **66** a été effectuée à titre d'exemple (Schéma 49). Une déprotection sélective de l'isopropylidène exocyclique a été réalisée en utilisant un mélange H₂O/TFA 3/1, le suivi CCM de la réaction indiquant qu'elle est

totale après 1 h à température ambiante. Les diols **69** et **70** ont été obtenus avec de très bons rendements. L'hydrolyse du deuxième isopropylidène présent sur ces composés a été réalisée dans un mélange H₂O/TFA 1/1 et la disparition des intermédiaires **69** et **70** a été totale après 8 h à température ambiante. Cette réaction est très efficace et a conduit aux deux lactones **71** et **72** avec des rendements quantitatifs.



i : H₂O/TFA 3/1, t.a., 1h; ii : H₂O/TFA 1/1, t.a., 8h

Schéma 49. Déprotection des glycopeptides **59** et **66**

La formation des composés **71** et **72** provient d'une réaction de trans-estérification entre l'alcool en C-4 et l'ester méthylique qui sont tous deux sur la face α du sucre. Cela conduit à des lactones à 5 chaînons qui sont très stables, ce type de cyclisation lors d'une déprotection en milieu acide a déjà été observé.⁹⁵ Le suivi CCM et RMN ¹H de la réaction de déprotection de **60** n'a permis à aucun moment d'observer l'intermédiaire comportant un hydroxyle libre en C-4, ce qui implique que la réaction de lactonisation est concomitante à l'hydrolyse du 4,5-isopropylidène.

V- Conclusion

L'addition de Michael d'un carbanion stabilisé a été étudiée pour différents *exo*-glycols. Cette réaction s'est révélée particulièrement efficace pour les furanoglycosylidènes et a conduit aux adduits avec d'excellents rendements (Schéma 50). Une importante différence de réactivité a été observée entre isomères *E* et *Z*, l'addition sur les *exo*-glycols *Z* nécessitant l'emploi de conditions plus poussées (plus de base, temps plus longs et températures élevées). Pour les furanoglycosylidènes trisubstitués, l'addition se fait de façon stéréosélective sur la face la moins encombrée uniquement, mais l'adduit est l'objet d'une isomérisation dans le milieu réactionnel basique et deux anomères sont finalement obtenus. L'utilisation de TBAF•3H₂O permet néanmoins de limiter ce phénomène. Cette isomérisation n'a pas été observée pour les furanoglycosylidènes tétrasubstitués, mais l'addition entraîne la formation d'un nouveau centre asymétrique en C-2, deux diastéréoisomères séparables par chromatographie ont été obtenus dans chaque cas. L'attribution de la stéréochimie de ces adduits a été effectuée par étude RMN ¹H et par diffraction des rayons X sur certains dérivés.

En ce qui concerne les pyranoglycosylidènes **28** et **27**, les conditions réactionnelles conduisent à une isomérisation de la double liaison et à la formation des *endo*-glycols correspondants.

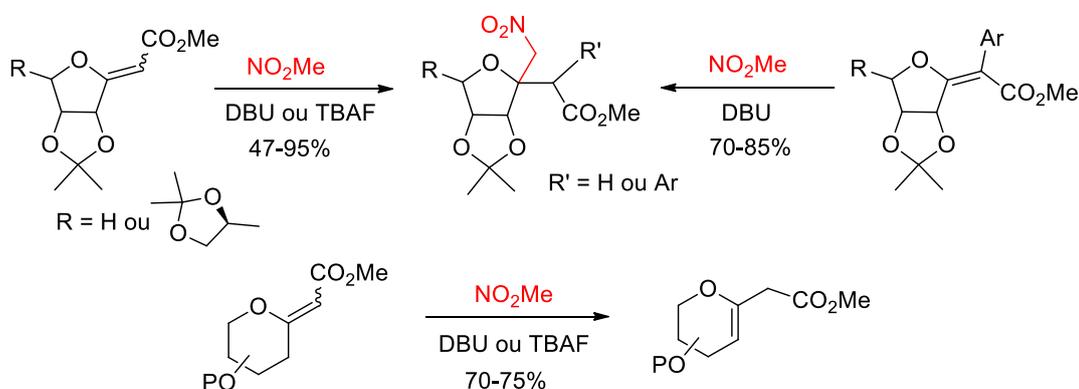


Schéma 50. Résultats de l'addition du nitrométhane sur différents *exo*-glycols

Une nouvelle voie d'accès à des bis *C,C*-glycosides a donc été élaborée. Les composés formés sont des précurseurs de γ -glycoamino acides (γ GAA), la fonction nitro étant précurseur de fonction amine. La conversion de ces nitro-esters en γ -amino acides et l'oligomérisation des γ GAA seront détaillées dans la suite de ce manuscrit.

L'addition de thiols sur des *exo*-glycals activés en conditions radicalaires et basiques a également été explorée (Schéma 51). La réaction a été mise au point avec un *exo*-glycal simple (*D*-érythro) et le phénylméthanethiol.

En conditions basiques, l'efficacité de la réaction dépend majoritairement de l'encombrement du thiol et de l'*exo*-glycal. Pour les thiols primaires, aromatiques, les dérivés de cystéine, le glutathion et le méthyle 6-désoxy-6-thio- α -D-glucopyranoside, les adduits sont obtenus avec des rendements élevés. Les conditions optimales déterminées pendant la mise au point (1.2 éq. thiol, 0.1 éq. DBU, 20°C dans l'acétonitrile) ont parfois besoin d'être légèrement modifiées. Les isomères *Z* et *E* présentent la même réactivité, la réaction est régio- et stéréosélective et conduit dans la plupart des cas à la formation d'un seul anomère. Pour le *D*-ribofuranose et le *D*-glucopyranose dont les deux faces sont encombrées, deux anomères sont obtenus. Il n'est pas nécessaire de protéger les fonctions acides carboxyliques, amines ou hydroxyles des thiols ajoutés. Cette réaction présente toutefois quelques limites. Les rendements sont faibles pour les thiols trop encombrés (*t*BuSH ou 1-thioglucose) et l'addition sur les pyrano-*exo*-glycals conduit à l'isomérisation en 3,4-*endo*-glycals lorsque la quantité de DBU dans le milieu réactionnel est trop importante.

En conditions radicalaires, les additions de thiols primaires, de cystéine ou du méthyle 6-désoxy-6-thio- α -D-glucopyranoside sont efficaces, même si les rendements sont globalement moins bons qu'en conditions basiques. De plus, cette réaction n'est pas efficace pour le glutathion et les thiols tertiaires et l'addition sur les pyrano-*exo*-glycals conduit à des produits de dégradation. Enfin, une isomérisation *Z*↔*E* de la double liaison est d'abord observée lors de l'addition sur l'isomère *Z*.

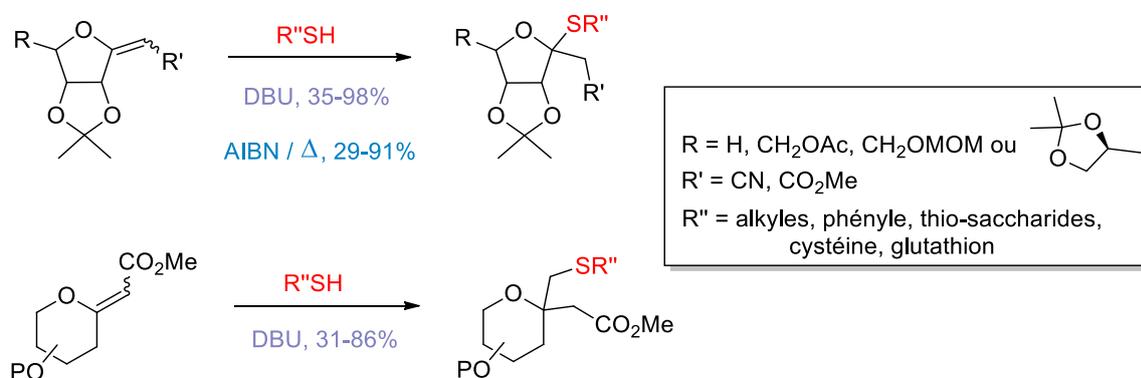


Schéma 51. Résultats de l'addition de thiols sur les *exo*-glycals activés

B- Synthèse de glycopeptides linéaires et cycliques

I- Objectifs

L'étude méthodologique de l'addition du nitrométhane sur les furano-*exo*-glycals a conduit à des composés nitro-esters originaux qui sont des précurseurs directs de γ -glycoamino acides anomériques (γ -GAA). Ayant en main ces nouveaux synthons, nous nous sommes intéressés à leurs utilisations potentielles. En effet, ces objets peuvent présenter un intérêt dans le domaine des foldamères d'une part et ils pourraient servir d'éléments de construction pour des objets de type plates-formes moléculaires d'autre part.

Dans ce cadre, le premier objectif est le développement d'une méthode efficace pour accéder à ces γ -GAA à partir des nitro-esters (Schéma 52). Différentes protections seront envisagées pour les amines de ces γ -GAA (*tert*-butyloxycarbonyle ou benzyloxycarbonyle).

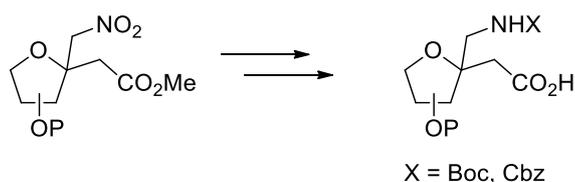


Schéma 52. Préparation des γ -glycoamino acides

Dans un deuxième temps, nous nous focaliserons sur l'emploi de ces γ GAA originaux dans deux domaines différents, les foldamères et la préparation de plates-formes cycliques. A notre connaissance, l'oligomérisation et l'étude des propriétés structurales de peptides constitués avec ces unités n'ont pas encore été rapportées et nous proposons ici d'en préparer un premier exemple (Schéma 53). Différents types de cyclopeptides α/γ alternés seront également préparés en se basant sur une stratégie de synthèse similaire. L'idée est d'incorporer différents acides aminés disposant de groupes fonctionnels (GF_1 , GF_2 , GF_3) permettant la conjugaison avec divers ligands d'intérêt. Ces cyclopeptides peuvent donc être assimilés à des plates-formes multifonctionnelles et pourraient présenter une stabilité accrue face aux enzymes et une hydrosolubilité modulable grâce aux hydroxyles des sucres.

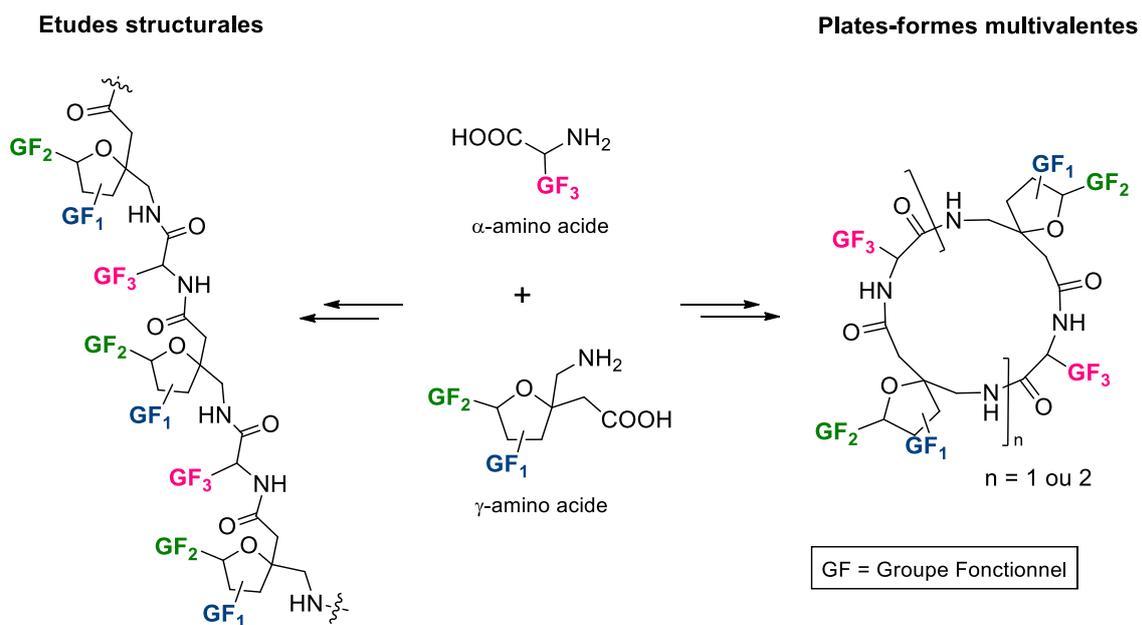


Schéma 53. Emploi envisagé des γ -glycoamino acides dans diverses constructions moléculaires

II- Synthèse de glycopeptides linéaires et propriétés de structuration

La synthèse de polymères non naturels possédant des propriétés de structuration intrinsèques est un domaine de recherche important en chimie organique.^{40a,40c,96,97,98} Les composés construits pour leurs propriétés potentielles de structuration sont communément appelés foldamères et les plus étudiés sont les foldamères peptidiques. Les peptides α naturels étant facilement hydrolysés, il est important de développer de nouvelles structures peptidiques plus robustes. Dans cette optique, la stabilité des β - et γ -amino acides est un avantage et de nombreux exemples de β - ou γ -oligomères ont été étudiés en ce sens.

Dans la première partie de ce manuscrit, nous avons décrit une méthode de préparation de γ -nitro esters anomériques, précurseurs de γ -glycoamino acides anomériques. Nous proposons ici un premier exemple de préparation de peptides constitués de γ -GAA anomériques alternés avec la L-alanine. Les propriétés de structuration en solution de ces espèces seront ensuite étudiées par différentes techniques : RMN, infra-rouge et dichroïsme circulaire. En complément, des études de modélisation moléculaire seront réalisées sur ces composés afin de nous aider à établir leur conformation en solution.

II.1- Rappels bibliographiques

Les β - et γ -peptides, alternés ou non, sont de bons candidats pour l'élaboration d'oligomères du fait de leur stabilité améliorée face aux enzymes et des nombreuses architectures qu'ils peuvent présenter. La littérature sur ce sujet étant très riche, nous présentons ici un résumé non exhaustif des structures existantes en nous focalisant sur les structures présentant soit une contrainte cyclique, soit des unités saccharidiques.

II.1.1- Oligomères non contraints

Les peptides non naturels les plus étudiés sont les β -peptides depuis les premiers travaux de Gellman⁹⁹ et Seebach¹⁰⁰ (exemples dans la figure 17). Ces travaux préliminaires ont montré que les peptides constitués d'acides aminés β avaient tendance à former des hélices plus stables que les α -peptides naturels. D'autres conformations (feuillet β ou coudes à 10 ou 12 chaînons) ont également été décrites.

Concernant les γ -peptides, les premières synthèses ont été rapportées en 1998 par Hanessian¹⁰¹ et Seebach¹⁰² (exemples sur la figure 17). La nomenclature de ces γ -amino acides est rappelée dans la figure 17. Ces composés ont montré des capacités à mimer de nombreuses structures secondaires (hélices, feuilletts, coudes).¹⁰³ Par exemple, les oligomères γ^4 ou $\gamma^{2,4}$ substitués représentés dans la figure 17 se structurent en hélice C_{14} , stabilisée par la formation d'un cycle à 14 chaînons *via* l'établissement d'un réseau de liaisons hydrogène. Des oligomères $\gamma^{2,3,4}$ ont depuis été décrits.^{103e}

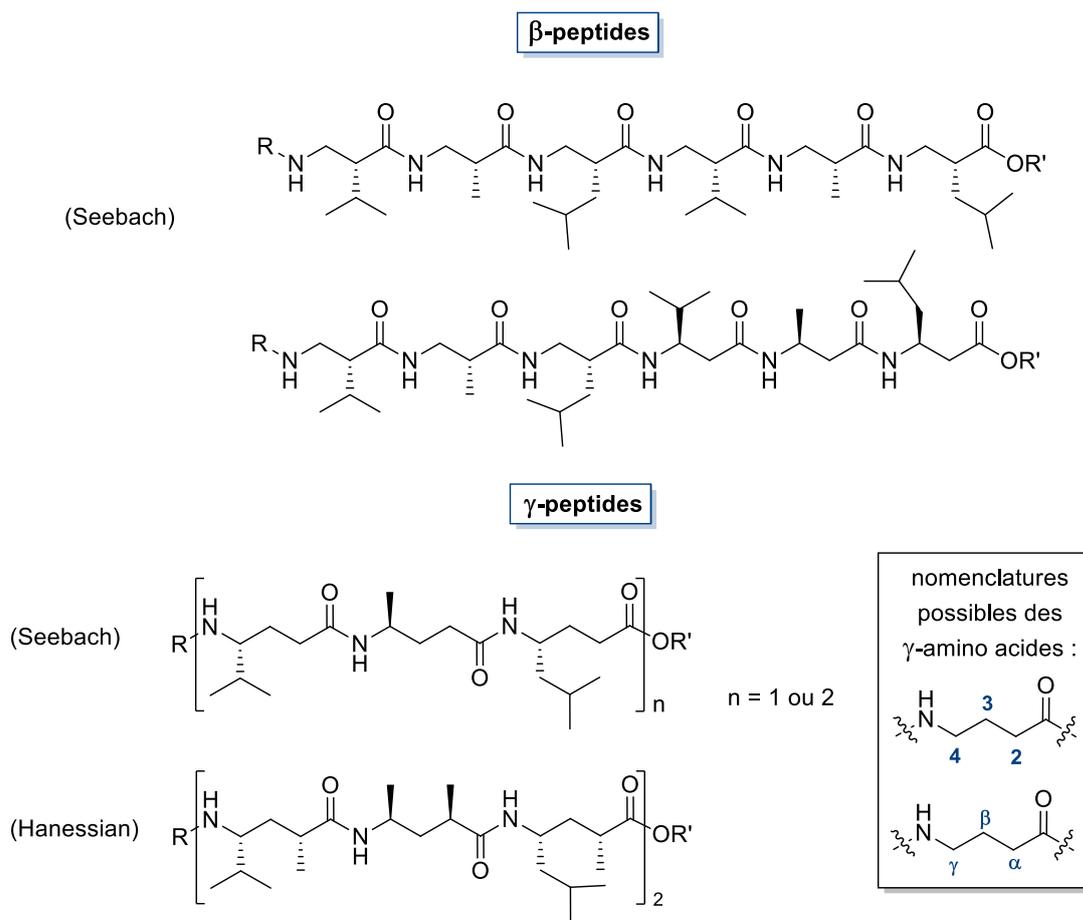


Figure 17. Quelques exemples de β - et γ -oligomères

II.1.2- Oligomères comportant une contrainte cyclique

Pour permettre l'établissement d'autres conformations que celles observées pour les homooligomères, la synthèse d'oligomères présentant une alternance entre résidus γ et résidus β ou α a été examinée.^{104a}

Il a également été envisagé de modifier la conformation des peptides en solution en introduisant des contraintes cycliques dans la chaîne de l'oligomère. Cela a pour conséquence une diminution de la flexibilité de la chaîne principale et la stabilisation potentielle d'une structure en hélice ou en feuillet.¹⁰⁴

a- Travaux de Gellman

Dans ce cadre, Gellman *et al.* ont introduit des acides aminés cycliques tels que la proline ou l'acide *trans*-3-aminocyclopentanoïque dans la chaîne principale d'un oligomère et ont observé, par diffraction des rayons X, l'établissement d'une structure en « épingle à cheveux » pour ces composés (Figure 18).^{104b}

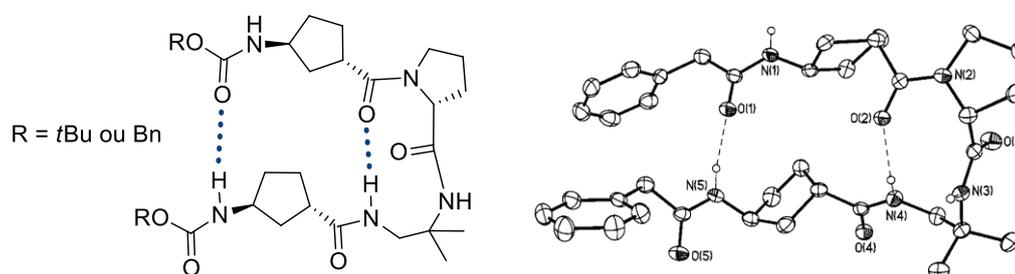


Figure 18. Oligomère α/γ alterné et structure cristallographique correspondante

La même équipe a récemment développé des oligomères α/γ alternés basés sur l'acide 2-aminométhyle-cyclohexanoïque et la L-alanine (Schéma 54).¹⁰⁵ Ces γ -amino acides ont été préparés par addition du nitrométhane sur le cyclohex-1-ène carbaldéhyde, ce qui a conduit aux deux produits d'addition *trans* et *cis* dans un ratio 4,5/1. Les $\gamma^{2,3}$ -AA sont substitués par un cyclohexyle et cette contrainte limite la flexibilité des peptides formés.

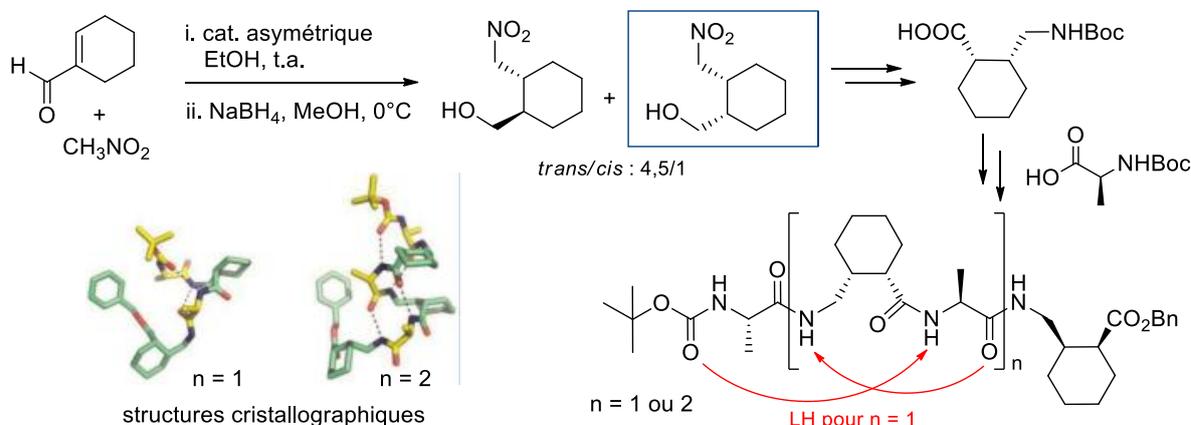


Schéma 54. Oligomères α/γ alternés basés sur des cyclohexanes

Seuls les oligomères basés sur les γ -AA *cis* ont montré une propension à se structurer, notamment par la formation de structures en hélice C_{12} et C_{10} très stables. Les structures cristallographiques de ces oligomères montrent l'établissement d'un réseau de liaisons hydrogène permettant la formation de ces hélices.

Cette équipe a également travaillé sur des oligomères similaires fondés sur une unité γ -amino acide $\gamma^{2,3}$ substituée par un *trans*-cyclopentyle et la D-alanine.¹⁰⁶ Cependant, ces molécules n'ont pas démontré de propriétés d'auto-structuration particulières (Schéma 55).

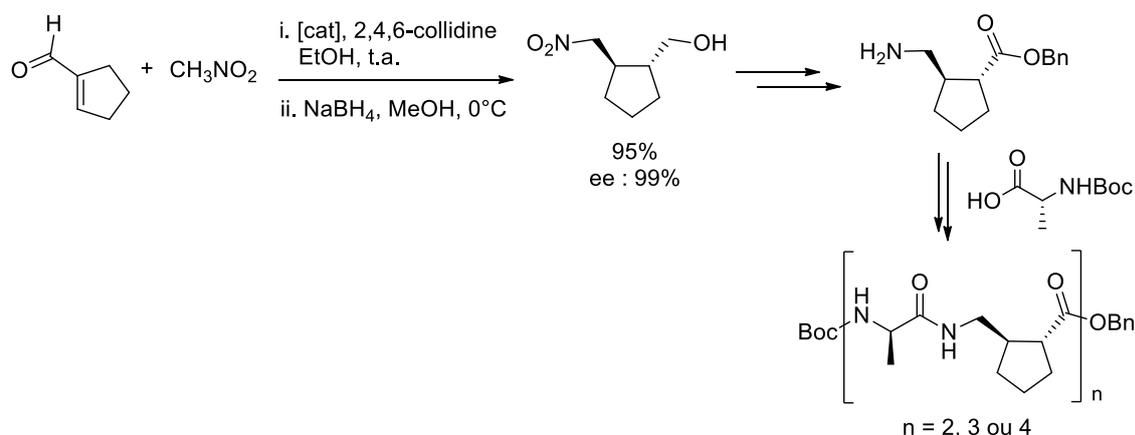


Schéma 55. Oligomères α/γ alternés basés sur des cyclopentanes

b- Oligomères de la Gabapentine

L'équipe de Balaram s'intéresse depuis de nombreuses années à la Gabapentine (Figure 19) et à son incorporation dans des oligomères homogènes et hétérogènes.¹⁰⁷ La Gabapentine (acide 2-[1-(aminométhyl)cyclohexyl]acétique, Gpn) est un dérivé de l'acide γ -aminobutyrique (GABA). La Gpn est commercialisée sous le nom *Neurotin*[®] pour le traitement de l'épilepsie et des douleurs neuropathiques.¹⁰⁸

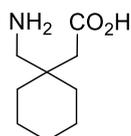


Figure 19. Structure de la Gabapentine

La structure particulière de ce γ -amino acide, disubstitué par un cyclohexane sur le carbone β , impose des contraintes structurales particulières en limitant les degrés de liberté au niveau des liaisons C^α - C^β et C^β - C^γ . Des homooligomères Boc-(Gpn)_n-NHMe où le motif Gpn est répété 2

ou 4 fois ont été synthétisés et leur structuration a été étudiée. Ces peptides courts se structurent sous forme d'hélices C_9 grâce à l'établissement d'un réseau de liaisons hydrogène formant des cycles à 9 chaînons.¹⁰⁹ Ces liaisons hydrogène, visibles sur les structures cristallographiques correspondantes, relient le carbonyle d'un résidu au proton NH amide du résidu suivant (Figure 20).

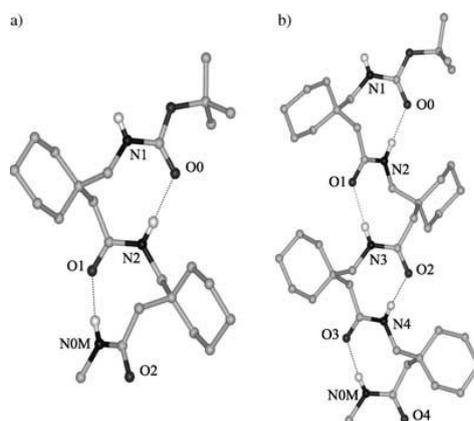


Figure 20. Structures cristallographiques d'oligomères de Gpn¹⁰⁹

Cette équipe a également synthétisé et étudié la structure d'oligomères α/γ alternés basés sur la Gabapentine et la L-leucine ou l'acide 2-aminoisobutyrique. Il a été démontré que de nombreuses structurations secondaires sont possibles (hélices C_{12} , hélices C_{12}/C_{10}) pour ces oligomères.^{110,111} Par ailleurs, la structure cristallographique d'un oligomère ne présentant qu'un seul motif Gpn au centre d'une chaîne d'acides aminés α (L-leucine, L-phénylalanine, L-valine ou acide 2-aminoisobutyrique) fait apparaître une conformation particulière en « épingle à cheveux » (Figure 21).¹¹¹ Cette structuration particulière est due à la présence centrale de la Gpn.

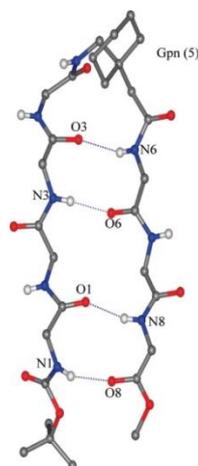


Figure 21. Structure en épingle à cheveux¹¹¹

II.1.4- Oligomères comportant des unités saccharidiques

Des sucres portant à la fois une fonction acide carboxylique et une fonction amine ont également été au centre de travaux dans ce domaine. Ils induisent une contrainte stérique grâce à leur structure cyclique et les fonctions hydroxyles naturellement présentes sur les composés glucidiques peuvent jouer un rôle important dans la régulation de l'hydrophilie ou de l'hydrophobie d'un peptide. La polarité des substituants des chaînes latérales est d'ailleurs déterminante pour la structuration secondaire et même tridimensionnelle des peptides.¹¹²

a- β -glycoamino acides

Sharma *et al.* ont étudié de nombreux peptides constitués d'unités β -amino glycosidiques (Figure 22), alternées ou non avec des acides aminés α .¹¹³ Grâce aux études structurales réalisées sur ces oligomères, ils ont démontré que la chaîne latérale sucre avait une forte influence sur la structuration et sur la stabilité des hélices formées.

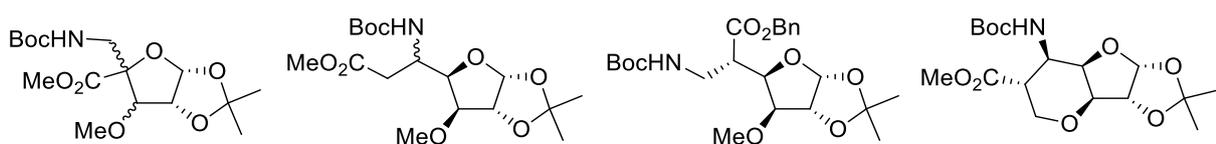
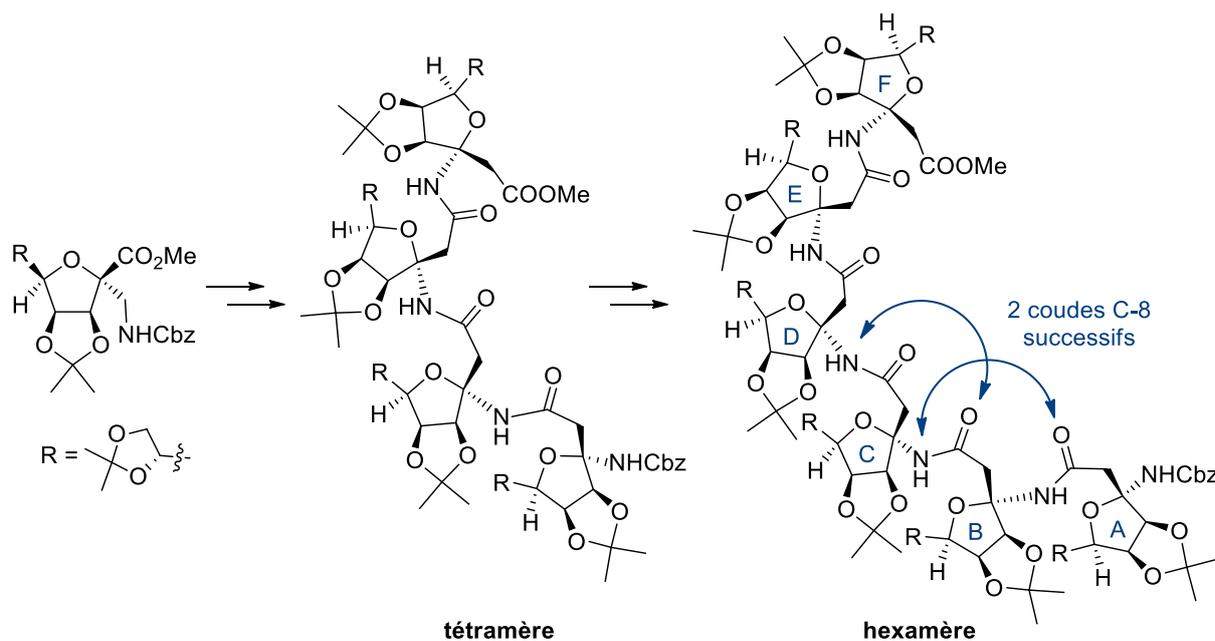


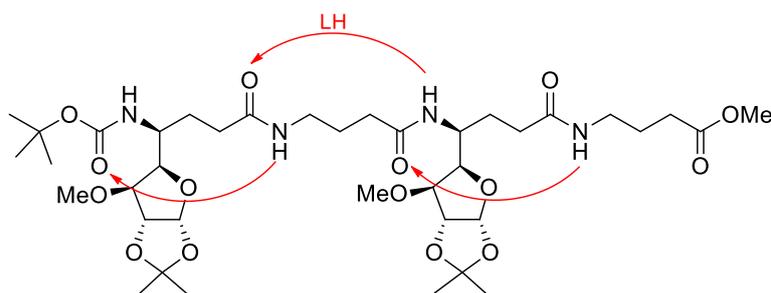
Figure 22. Exemples de β -glycoamino acides étudiés par Sharma *et al.*

Des homooligomères de β -amino acides anomériques ont également été étudiés dans notre groupe par Andreini (Schéma 56).^{39,114} Les analyses RMN, infra-rouge et de dichroïsme circulaire associées à des études de modélisation moléculaire ont ainsi mis en évidence l'existence de deux coudes C-8 successifs pour l'hexamère.³⁹

Schéma 56. β -glycoamino acides et homooligomères^{39,114}

b- γ -glycoamino acides

En ce qui concerne les acides γ -glycoaminés, l'équipe de Sharma a préparé des γ -oligomères en alternant l'acide γ -aminobutyrique et des γ -glycoamino acides (Figure 23). Ces composés se structurent en hélices C_9 via l'établissement d'un réseau stable de liaisons hydrogène. Les sucres ne sont pas directement ancrés sur la chaîne principale du peptide, ils constituent les chaînes latérales des γ -GAA.

Figure 23. γ -oligomère décrit par Sharma *et al.*

Des oligomères α/γ et β/γ alternés ont également été préparés par la même équipe¹¹⁵ Ils conduisent à l'établissement d'un nouveau type de structure, des hélices C_{12}/C_{10} et C_{11}/C_{13} respectivement.

c- δ -glycoamino acides

D'autres types de foldamères contenant des δ -glycoamino acides¹¹⁶ ont également été très étudiés par Fleet *et al.*¹¹⁷ Un exemple de structure préparée par cette équipe est donné dans le schéma 57. Les études RMN menées sur ces oligomères ont mis en évidence l'établissement de coude(s) C-10 par liaison hydrogène.

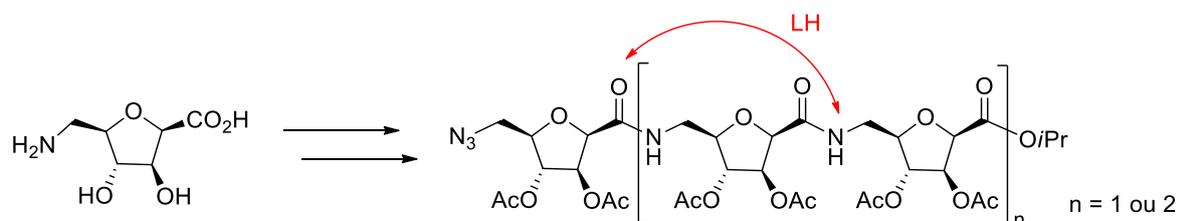


Schéma 57. Homooligomères saccharidiques^{117a}

II.2- Préparation des glycopeptides

Dans la partie précédente, nous avons décrit la synthèse de nitro-esters anomériques, transformables en γ -amino acides anomériques. Compte tenu de la littérature existante se rapportant à la Gabapentine et aux composés de Gellman *et al.* et d'après des travaux précédemment réalisés dans le groupe, il semblait intéressant de développer des oligomères de ces γ -amino acides et d'analyser leur comportement en solution. Dans cette optique, la première étape a été le développement d'une voie de synthèse efficace de ces γ -GAA. Dans un second temps, l'oligomérisation de ces composés avec la L-alanine a été examinée et un premier exemple d'oligomères α/γ alternés a ainsi été obtenu.

II.2.1- Accès aux monomères : γ -glycoamino acides anomériques

Pour intégrer les nitro-esters anomériques précédemment obtenus dans la synthèse de peptides, ils doivent être convertis en γ -amino acides. Pour obtenir ces acides aminés, une réaction évidente est l'hydrogénolyse des nitro-esters anomériques, le groupement nitro étant un précurseur du groupement amine. Cependant, des études préliminaires ont montré que la réduction directe de la fonction nitro sur le mélange d'anomères **2 α -2 β** n'était pas possible. En effet, l'analyse HRMS du brut réactionnel a montré un mélange entre le produit attendu **73** et le composé **74** (Schéma 58). **74** résulte d'une cyclisation intramoléculaire entre l'amine nouvellement formée et l'ester méthylique qui conduit à la formation d'un lactame à 5

chaînon stable. Fleet *et al.* avaient déjà observé ce phénomène et avaient employé un ester isopropylique pour contourner le problème.^{117c} Cette solution n'était pas envisageable dans notre cas car la réaction de Wittig avec le phosphorane isopropylique ne donne pas de bons rendements.

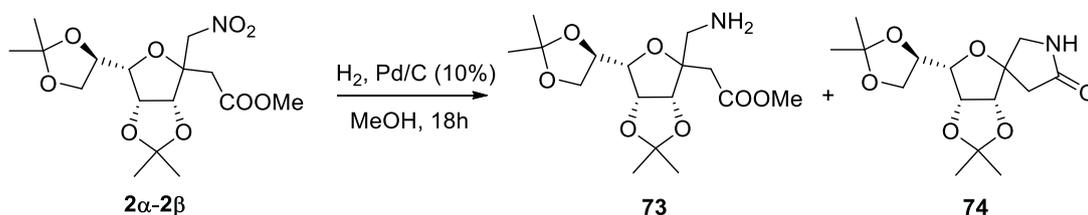


Schéma 58. Hydrogénation du mélange 2α - 2β

Pour piéger *in situ* l'amine formée et ainsi empêcher la cyclisation, l'hydrogénolyse a été réalisée en présence de dicarbonate de di-*tert*-butyle (Boc_2O) (Schéma 59). Pour les deux sucres étudiés, *D-erythro* et *D-gulo*, un mélange de composés monoprotégés et diprotégés (**75/76 gulo** et **77/78 érythro**) a été obtenu, mettant en évidence la réduction partielle de la fonction nitro en hydroxylamine. Nous avons envisagé l'hydrogénolyse de la liaison N-OBoc, mais l'emploi de différents catalyseurs palladiés ou de nickel de Raney et/ou des pressions en hydrogène élevées n'ont pas permis de déplacer totalement la réaction vers la formation des produits monoprotégés **75** et **77**, même avec des temps de réaction plus longs.

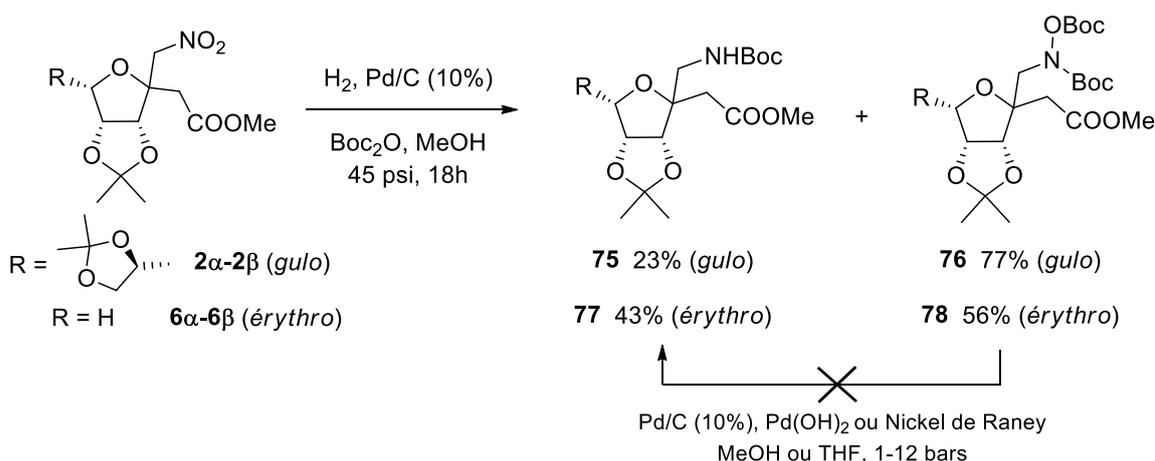
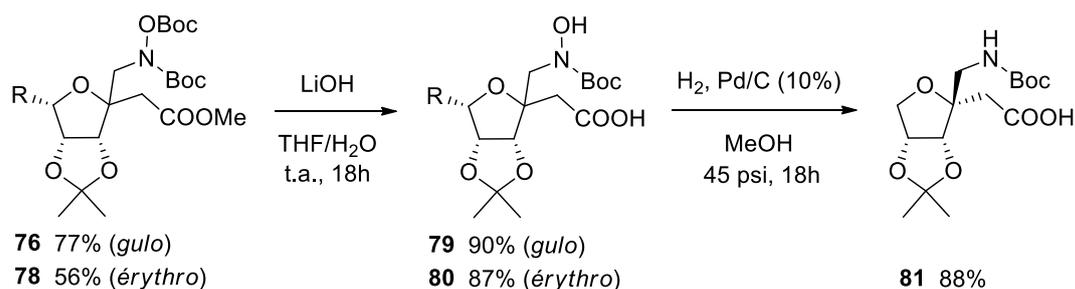


Schéma 59. Hydrogénolyse en présence de $(\text{Boc})_2\text{O}$

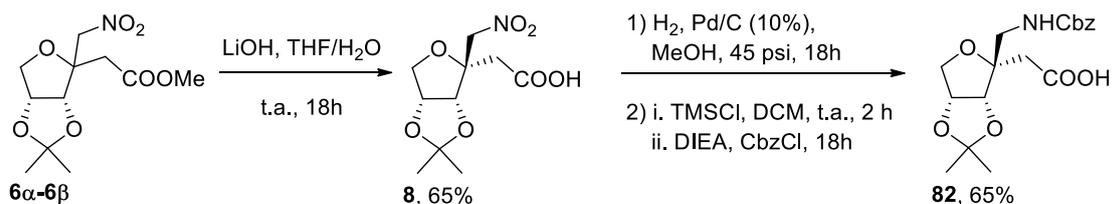
Le groupement -*O-tert*-butyloxycarbonyl n'étant pas stable en milieu basique, le traitement des composés **76** et **78** avec LiOH dans un mélange THF/ H_2O a conduit aux acides carboxyliques **79** et **80** respectivement, sous forme de mélange d'anomères (Schéma 60). La

liaison N-OH du composé **80** a alors pu être coupée par hydrogénolyse et la séparation des deux anomères a été réalisée. Le γ -amino acide majoritaire **81** a ainsi été isolé avec un rendement de 88% et le produit minoritaire n'a pas été récupéré. Cependant, la même séquence réactionnelle appliquée au composé **79** (configuration *gulo*) n'a pas permis d'accéder au γ -GAA correspondant. Ce résultat est certainement dû aux conditions réactionnelles poussées qui conduisent à une déprotection de l'isopropylidène exocyclique et à des produits polaires qui n'ont pas été isolés.

Schéma 60. Hydrogénolyse de **80**

Cette méthode n'est donc pas applicable à tous les nitro-esters et les conditions de réaction employées ne permettent pas de protéger l'amine avec une grande variété de groupements protecteurs. En conséquence, il a été nécessaire de développer une voie de synthèse différente, consistant à diminuer le caractère électrophile de l'ester en le transformant en acide carboxylique.

Le mélange d'anomères **6 α /6 β** a d'abord été saponifié par traitement par LiOH dans un mélange THF/H₂O (Schéma 61). La séparation des deux anomères a été alors possible et le γ -amino acide majoritaire **8** a été isolé par chromatographie sur gel de silice. L'hydrogénolyse du groupement nitro du composé **8** a ensuite conduit à un γ -amino acide dont l'amine a été protégée sous forme de benzyloxycarbonyle.¹⁰⁵ Avec cette méthodologie, il est tout à fait envisageable de protéger l'amine avec un autre groupe protecteur (Boc ou Fmoc par exemple).

Schéma 61. Synthèse du γ -glycoamino acide **82**.

L'acide aminé **82** a donc été obtenu de façon efficace et en seulement trois étapes à partir du mélange **6 α -6 β** . Cette séquence réactionnelle a été appliquée à d'autres nitro-esters préalablement synthétisés (Schéma 62). Pour les produits **2** (D-*gulo*) et **7** (D-*manno*), les composés protégés **84** et **86** sont isolés avec des rendements de 45%. Ces rendements correspondent uniquement aux anomères majoritaires, les anomères minoritaires ne sont pas isolés, ce qui explique les rendements très moyens de cette réaction. Les γ -glycoamino acides **89** et **90**, plus encombrés, sont également accessibles *via* cette stratégie.

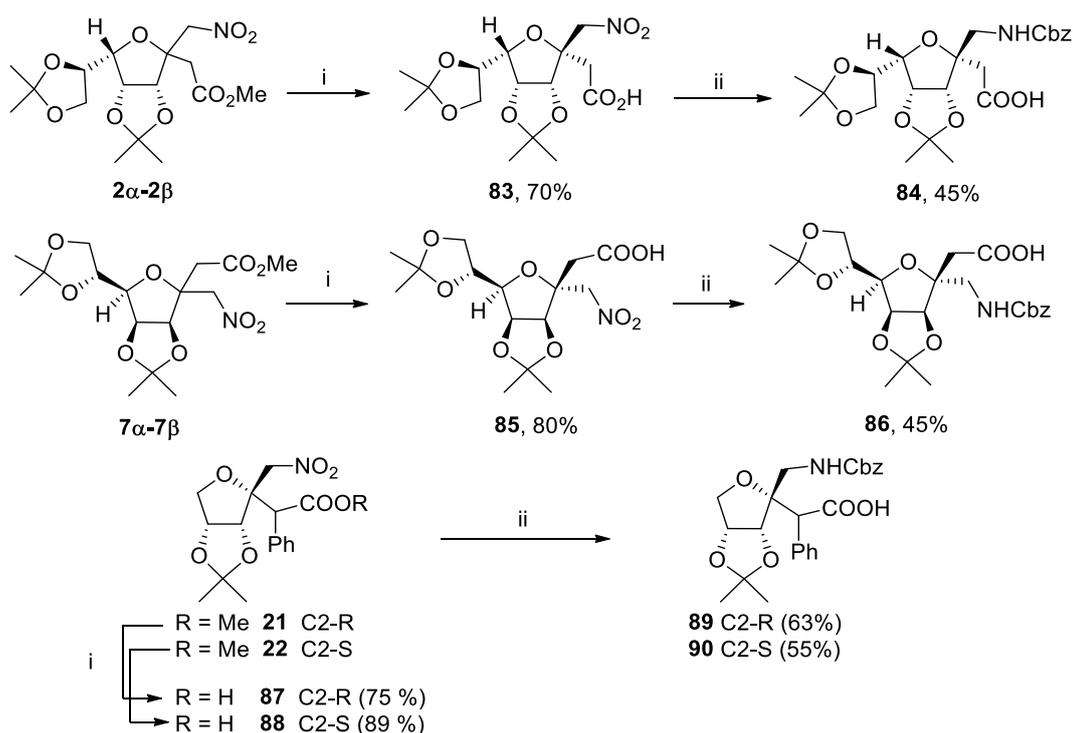


Schéma 62. Synthèse des nouveaux γ -glyco amino acides

II.2.2. Oligomérisation

Les nouvelles unités γ -amino acides préparées ont ensuite été incorporées dans des oligomères α/γ alternés. À titre d'exemple, nous avons étudié l'oligomérisation d'un dérivé simple (configuration D-*érythro*) alterné avec un acide α -aminé, la L-alanine.

a- Protection *tert*-butyloxycarbonyle

Dans un premier temps, le travail a été effectué sur le composé **81**, dont l'amine est protégée sous forme de *tert*-butyloxycarbonyle. Pour bloquer la position C-terminale, nous avons choisi

d'introduire une méthylamine. Ce groupement méthylamide, très utilisé dans le domaine des études structurales de peptides, améliore les propriétés de structuration par l'établissement de liaisons hydrogène intramoléculaires et favorise ainsi la cristallisation.¹⁰⁹

L'amide **91** a donc été préparé par couplage peptidique entre **81** et la méthylamine en présence de 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (EDC) et de triéthylamine dans le THF anhydre (Schéma 63). La déprotection de l'amine de **91** a ensuite été réalisée dans un mélange TFA/CH₂Cl₂ et le brut réactionnel obtenu a directement été mis en réaction de couplage avec la Boc-L-Ala-OH. Cependant, le produit qui a été obtenu après ces deux étapes n'est pas le dipeptide attendu mais la lactone bicyclique **92**.

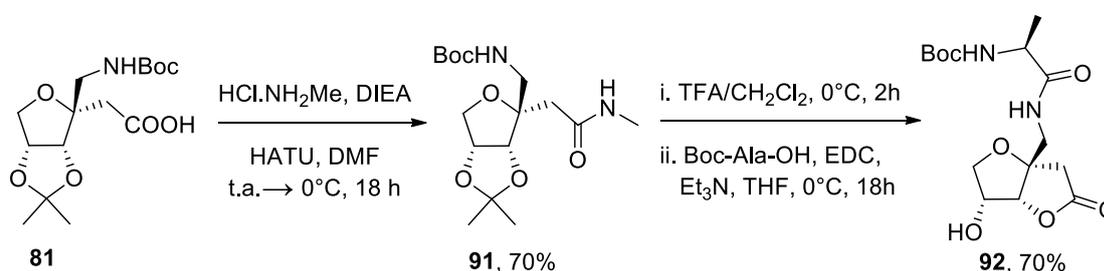


Schéma 63. Couplage peptidique sur **81**

Ce résultat peut être expliqué par la présence du groupement isopropylidène et du méthylamide sur la même face du sucre, ce qui favorise le clivage de l'isopropylidène et la lactonisation. Un mécanisme est proposé dans le schéma 64.

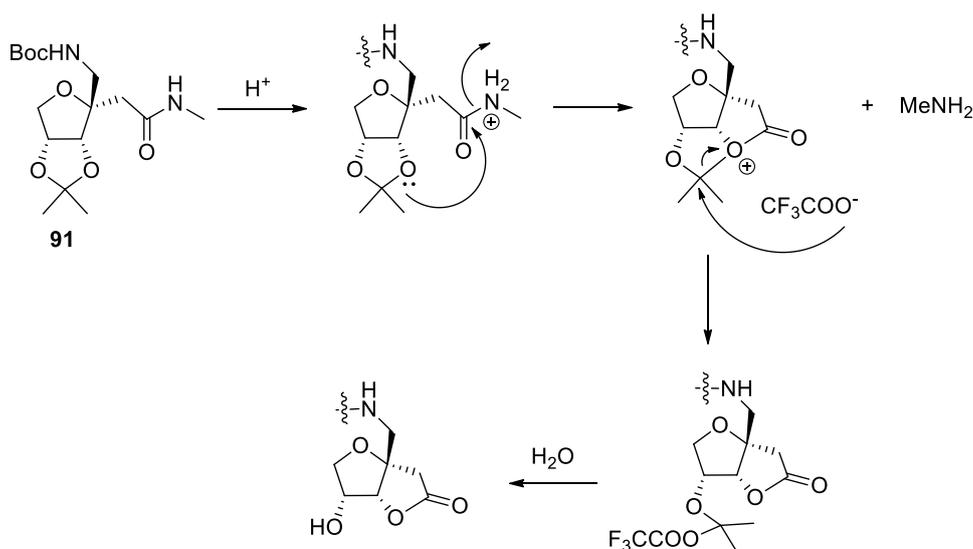


Schéma 64. Mécanisme proposé pour la déprotection de l'isopropylidène

Même en contrôlant très soigneusement les conditions de déprotection de **91**, l'hydrolyse de l'isopropylidène et la cyclisation intramoléculaire n'ont pas pu être évitées, ce qui nous a conduits à utiliser le γ -amino acide **82**, pour lequel l'amine est protégée sous forme d'un benzyloxycarbonyle.

b- Protection benzyloxycarbonyle

82 a été engagé dans deux réactions de couplage peptidiques différentes. D'une part, il a été couplé avec la méthylamine en présence de DIEA et de HATU et le produit **93** a été obtenu avec un rendement de 85% (schéma 65). D'autre part, **82** a été couplé avec l'ester méthylique de l'alanine (H-L-Ala-OMe) dans les mêmes conditions pour conduire au composé **94**. Des protocoles classiques de déprotection de **93** et **94** ont conduit respectivement à l'amine **95** et à l'acide carboxylique **96** avec des rendements quantitatifs.

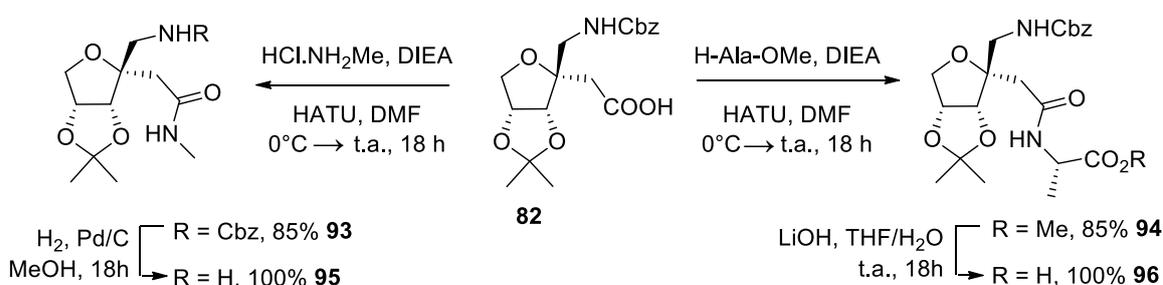


Schéma 65. Synthèse des produits **95** et **96**

Les composés **95** et **96** ont ensuite été couplés entre eux. Différents agents de couplage ont été utilisés pour ce couplage (schéma 66, tableau 10). On remarque que les couples PyBOP/Et₃N et HOBt/EDC/DIEA ont été moins efficaces que HATU/DIEA, nous conduisant à employer HATU/DIEA pour la suite de la synthèse.

Conditions	97 , rendement (%)
HOBt, EDC, DIEA, DMF, 18h	58
PyBOP, Et ₃ N, THF, 18h	70
HATU, DIEA, DMF, 18h	85

Tableau 10. Comparaison entre différents agents de couplage

Le tripeptide **97** est donc obtenu avec un bon rendement de 85%. La déprotection de l'amine de **97** a nécessité une pression en hydrogène de 45 psi. Cette amine a ensuite été couplée avec le

produit **96**, ce qui a conduit au pentapeptide **98**. Après la même séquence de déprotection/couplage, l'heptapeptide **99** a été obtenu avec un rendement de 55%.

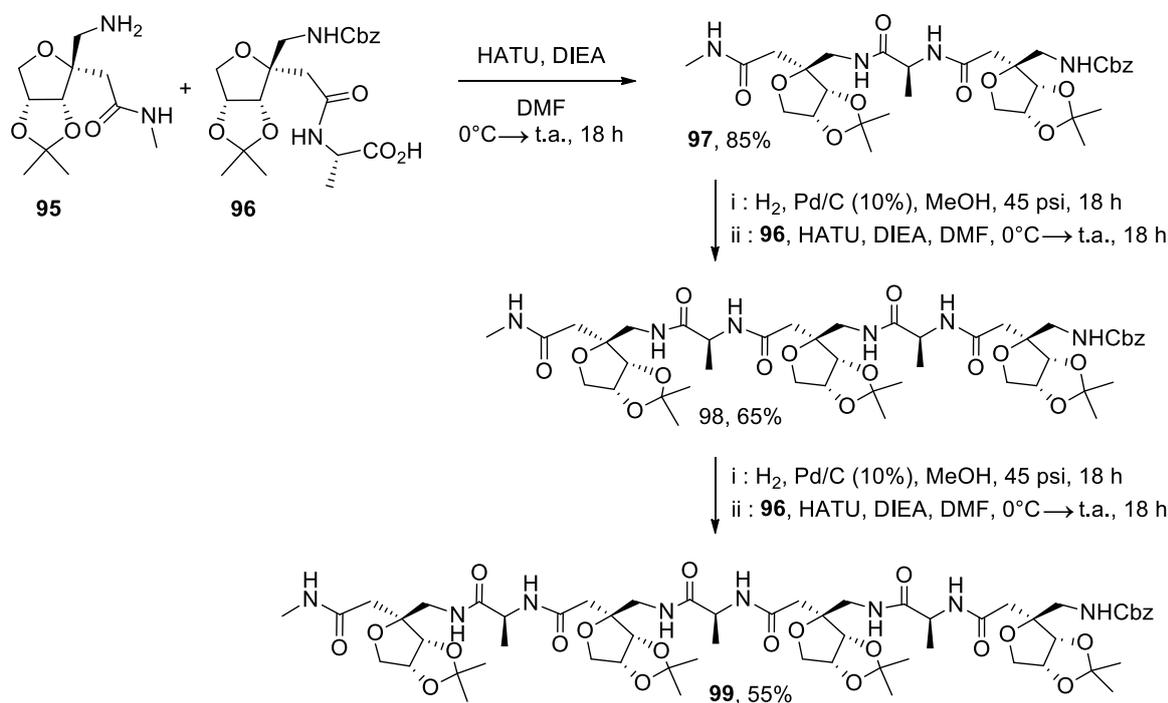


Schéma 66. Oligomérisation

Pour faciliter l'attribution de certaines bandes C=O et NH lors de l'étude infra-rouge (chapitre III.3.3), le dipeptide **100** a également été synthétisé (Schéma 67). L'amine **95** a été mise en conditions de couplage peptidique avec la Cbz-L-ala-OH et le composé **100** a ainsi été obtenu avec un rendement de 65%.

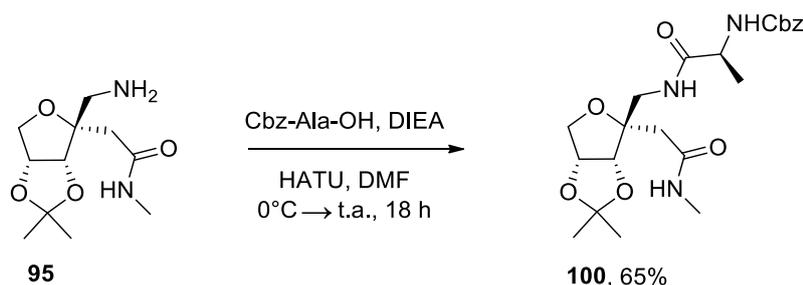


Schéma 67. Synthèse du dipeptide **100**

A partir d'un monomère γ -glycoamino acide, nous avons donc préparé un dipeptide, un tripeptide, un pentapeptide et un heptapeptide présentant une alternance α/γ . Les propriétés de structuration de ces composés en solution ont ensuite été étudiées par RMN, infra-rouge, dichroïsme circulaire et modélisation moléculaire.

II.3- Etudes des propriétés de structuration

Plusieurs techniques peuvent être mises en œuvre pour l'analyse de la structuration secondaire en solution et à l'état solide de ces peptides. Ainsi, nous avons réalisé des études RMN, de dichroïsme circulaire, d'infra-rouge en solution ou encore de modélisation moléculaire. Des essais de cristallisation ont également été menés.

II.3.1- Essais de cristallisation

L'étude de cristaux par diffraction des rayons X permet d'établir ou de comparer la structuration de composés en solution et en phase solide. Plusieurs méthodes de cristallisation ont donc été appliquées à nos composés (Figure 24).¹¹⁸

Dans un premier temps, la cristallisation par évaporation lente a été envisagée. Le peptide est solubilisé dans un solvant (CHCl_3 , CH_2Cl_2 , CH_3CN , acétone, méthanol, THF ou cyclohexane) en chauffant si nécessaire et on laisse le solvant s'évaporer lentement.

Dans un deuxième temps, une méthode de cristallisation par diffusion liquide a été employée. Cela consiste à solubiliser le peptide dans un solvant (CHCl_3 , CH_2Cl_2 , CH_3CN , acétone, méthanol, THF ou dioxane), puis un deuxième solvant dans lequel le composé est peu ou pas soluble est ajouté lentement de façon à ce que les deux phases ne se mélangent pas immédiatement. Ces deux phases se mélangent ensuite lentement par diffusion à l'interface.

Enfin, la cristallisation par diffusion de vapeur a été examinée. Pour cela, un tube contenant le peptide solubilisé (dans CHCl_3 , CH_2Cl_2 , CH_3CN , acétone, méthanol, THF ou dioxane) est placé dans une cuve fermée partiellement remplie avec un autre solvant (Et_2O dans notre cas). Ce solvant s'évapore lentement et se re-condense en partie dans le tube contenant la solution d'oligomère.

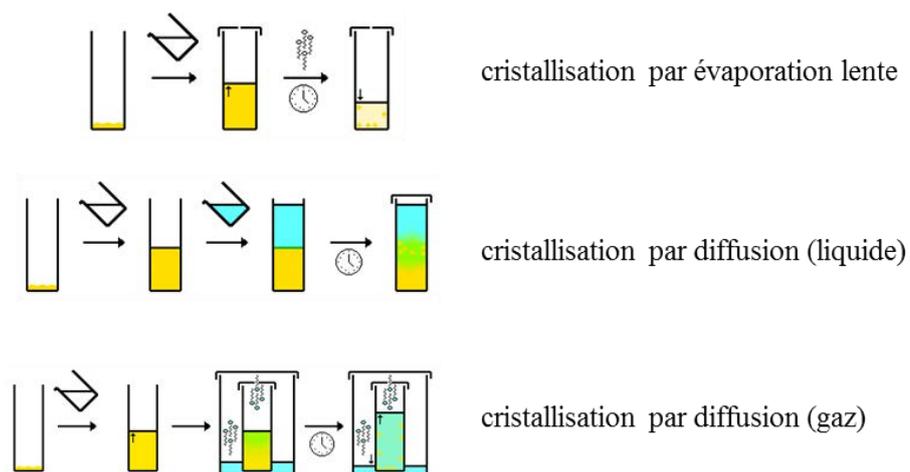


Figure 24. Les différentes techniques de cristallisation employées

Aucun cristal exploitable n'a été obtenu à ce jour. La solubilité importante des composés dans la plupart des solvants organiques peut être une explication à cette absence de cristaux.

II.3.2- Etude conformationnelle par RMN

a- Attribution des signaux

L'analyse conformationnelle des composés repose essentiellement sur les études RMN : titration des protons amides, variation de température, analyse des corrélations nOe ou encore expérience d'échange proton-deutérium des NH amides. Pour ces différentes expériences, il est nécessaire d'attribuer précisément certains signaux. Pour cette attribution, nous nous sommes basés sur des expériences RMN bidimensionnelles homo- et hétéronucléaires : HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Correlation) et HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) pour les corrélations carbone-proton, COSY (CORrelation SpectroscopY) et NOESY (Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY) pour les corrélations proton-proton. De cette façon, les protons NH, H-2, H-2' ont pu être attribués pour le dipeptide, le tripeptide et le pentapeptide.

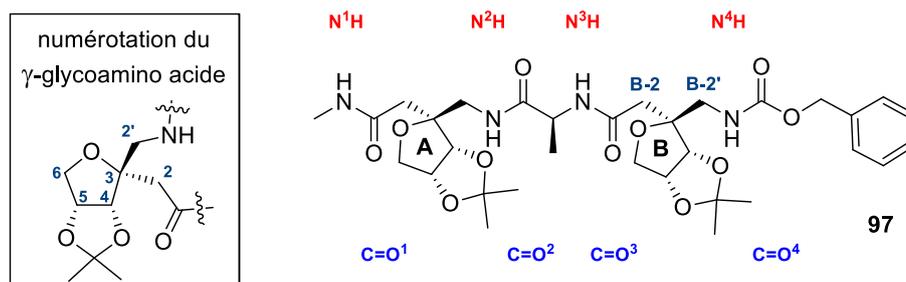


Figure 25. Tripeptide 97

Pour le tripeptide **97** par exemple, l'attribution des protons de l'unité B a débuté par le signal CH₂ du motif Cbz (Figure 25). Grâce au spectre HMBC, le carbone du carbonyle C=O⁴ a été identifié. A partir de ce carbone, les protons HB-2' adjacents ainsi que le carbone CB-2 ont été identifiés (Figure 26). Le spectre HMQC nous a ensuite permis de déterminer les signaux du carbone CB-2' et des protons HB-2. A partir du spectre HMBC et des signaux HB-2, nous avons pu attribuer le carbonyle C=O³ et le proton N³H. Enfin, l'attribution du proton N⁴H a été possible par étude du spectre COSY (corrélation HB-2'/N⁴H). Pour l'unité A, un raisonnement similaire en partant du méthyle du méthylamide a été appliqué.

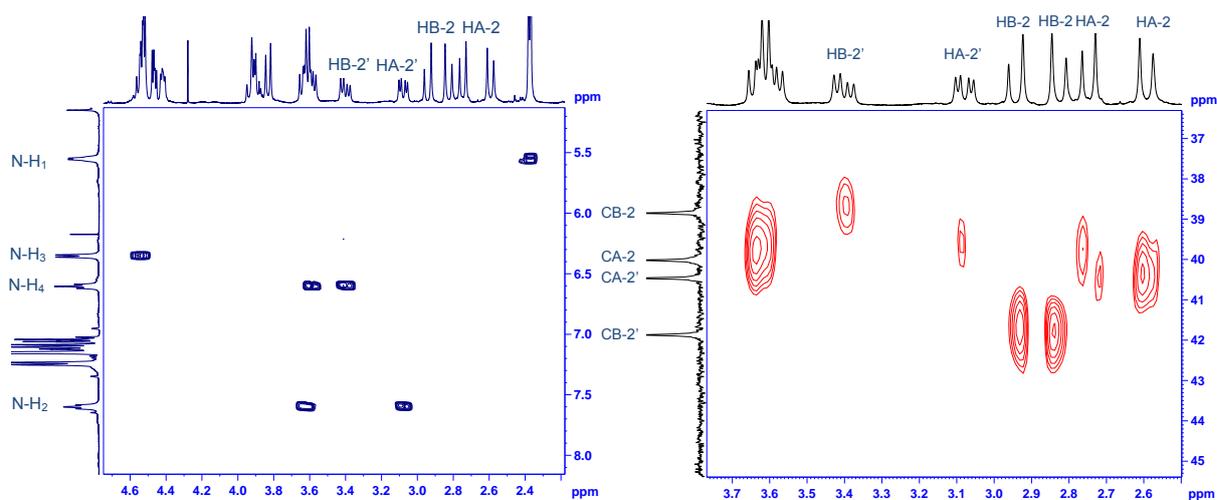


Figure 26. Agrandissements des spectres COSY (gauche) et HMBC (droite) du tripeptide **97**

Cette méthode nous a donc permis d'identifier tous les protons et les carbones de la chaîne peptidique des différents peptides, sauf dans le cas de l'heptapeptide **99** pour lequel le recouvrement trop important entre signaux a empêché cette attribution.

Les spectres des peptides ont été enregistrés dans différents solvants deutérés (CDCl₃, C₆D₆, MeOH-d₄ et CD₃CN). Un meilleur éclatement des signaux NH étant observé dans C₆D₆, le benzène deutéré a été utilisé pour la suite de l'étude.

On observe une bonne dispersion des résonances des protons amides en RMN ¹H : entre 5,55 et 7,60 ppm pour le tripeptide **97** et 5,86 et 7,85 ppm pour le pentapeptide **98** dans C₆D₆ par exemple (Figure 27). Cette dispersion suggère une structuration potentielle des composés en solution.

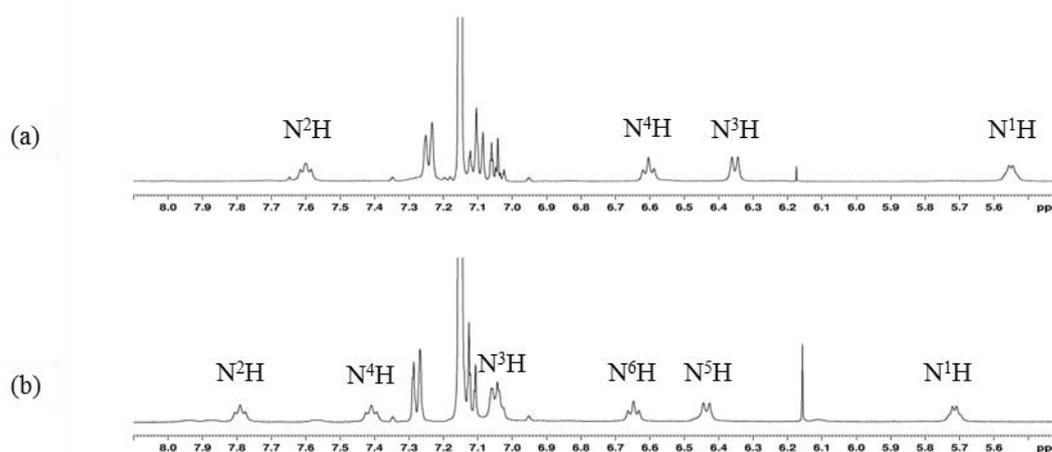


Figure 27. Région des NH du spectre RMN ^1H du tripeptide **97** (a) et du pentapeptide **98** (b) dans C_6D_6

b- Etude des nOes

L'observation des corrélations nOe peut apporter des informations essentielles pour résoudre la conformation de molécules en solution. Cependant, les briques γ -glycoamino acides étant β,β -disubstituées (carbone anomérique), le nombre de corrélations nOe potentiellement observables est limité du fait de l'absence de protons sur ce carbone. Dans notre cas, toutes les corrélations nOe observées concernaient simplement des protons voisins sur le squelette peptidique. Pour le tripeptide **97** par exemple, aucune corrélation concernant des protons non adjacents n'a été observée, excepté une faible corrélation entre le méthylamide et le proton de l'amide N_4H . Cette interaction peut provenir d'une conformation minoritaire pour laquelle la molécule est repliée et conduit ainsi à un rapprochement de ces protons. Une interaction NH-NH entre les protons N^2H et N^3H est également à noter pour **97**. Pour le pentapeptide **98**, seules les interactions entre protons voisins et des NH-NH entre les protons N^2H - N^3H et N^4H - N^5H sont observées. Ces interactions sont également visibles dans le MeOH-d_4 .

L'étude des nOes ayant fourni peu d'informations exploitables, des études de titration ont été effectuées afin d'explorer plus en détail la structuration des peptides.

c- Titration au DMSO

Les expériences de titration permettent de déterminer quels protons amides sont les plus exposés au solvant et donc peu ou pas engagés dans une liaison hydrogène (LH). Le principe consiste à enregistrer une série d'expériences en RMN ^1H d'un composé dans un mélange de 2

solvants deutérés en proportions variables (C_6D_6 et $DMSO-d_6$ dans notre cas). Pour toutes ces expériences, la concentration du composé dans le tube RMN doit être la même. Le $DMSO-d_6$ est un solvant fortement accepteur de liaisons hydrogène et va entrer en compétition avec les groupements accepteurs de LH présents sur les oligomères (carbonyles). Les NH non impliqués dans des LH vont ainsi être fortement perturbés par la présence de $DMSO-d_6$ et leur déplacement chimique va augmenter en même temps que la proportion de $DMSO-d_6$. Au contraire, les NH qui sont impliqués dans des liaisons H fortes ne vont pas être perturbés par la présence de $DMSO-d_6$ et la variation de déplacement chimique sera beaucoup plus faible. Il existe des cas intermédiaires qui correspondent à des liaisons H plus faibles ou peu stables dans le temps.

Les spectres RMN ont d'abord été enregistrés dans du benzène deutéré, ce qui a servi à attribuer les signaux. Ensuite, 9 tubes RMN ont été préparés selon un protocole bien précis pour avoir une concentration constante en peptide et une proportion de $DMSO-d_6$ qui varie de 0 à 100%. La concentration en peptide dans chaque tube est de 0,5 mM, ces conditions diluées permettent d'éviter des interactions intermoléculaires qui fausseraient les résultats. Pour tous les peptides étudiés, un plateau a été atteint aux alentours de 20% de $DMSO-d_6$, les déplacements chimiques des NH ne variant plus ou presque pour les proportions en $DMSO-d_6$ plus élevées.

- Dipeptide

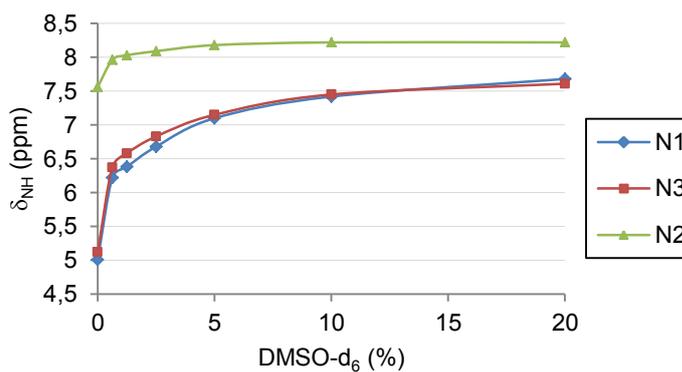
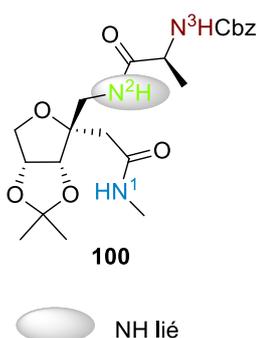


Figure 28. Courbes de titration du dipeptide entre 0 et 20% de $DMSO-d_6$

On remarque que les protons N^1H et N^3H sont très exposés au solvant, leur déplacement chimique croît en effet très rapidement quand on augmente la proportion de $DMSO-d_6$ avec $\Delta(\delta_{NH}) = 2,67$ et $2,49$ ppm respectivement pour une proportion qui varie entre 0 et 20% de

DMSO-d₆. Au contraire, le déplacement chimique de N²H ne varie que de 0,66 ppm, indiquant l'implication de ce proton dans une liaison H.

- **Tripeptide**

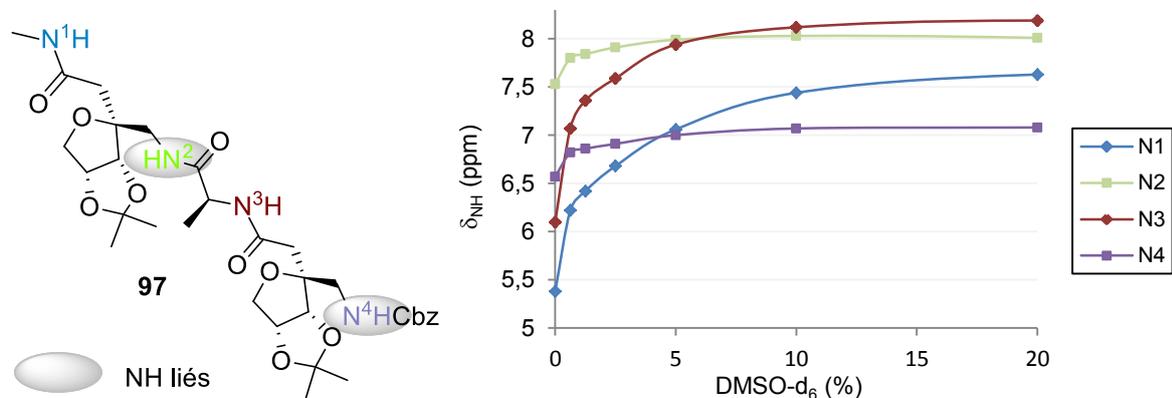


Figure 29. Courbes de titration du tripeptide **97** entre 0 et 20% de DMSO-d₆

Cette expérience a été menée sur le tripeptide et les résultats obtenus sont assez similaires, deux protons amide N¹H et N³H semblent peu ou pas impliqués dans une liaison H avec $\Delta(\delta_{\text{NH}}) = 2,25$ et $2,09$ ppm respectivement pour une proportion qui varie entre 0 et 20% de DMSO-d₆. Les protons N²H et N⁴H qui présentent une variation de déplacement chimique aux alentours de 0,50 ppm semblent plutôt impliqués dans une liaison H forte.

- **Pentapeptide**

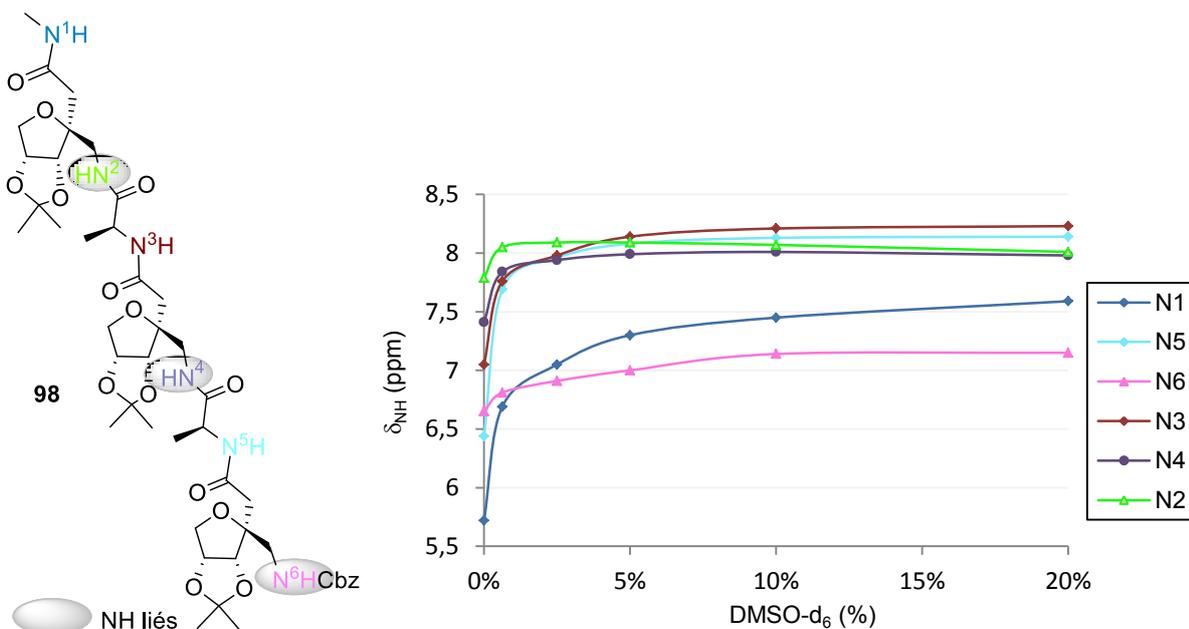


Figure 30. Courbes de titration du pentapeptide **98** entre 0 et 20% de DMSO-d₆

Pour ce composé, les résultats sont similaires aux deux précédents. On observe que trois protons amides ne sont pas impliqués dans les liaisons H : N¹H, N³H et N⁵H avec $\Delta(\delta_{\text{NH}}) = 1,87, 1,18$ et $1,709$ ppm respectivement pour une proportion qui varie entre 0 et 20% de DMSO-d₆. N⁴H et N⁶H ont tous deux une variation de déplacement chimique aux alentours de 0,5 ppm, ils forment une liaison H avec un carbonyle. Le proton N²H semble impliqué dans une liaison H particulièrement forte, le déplacement chimique observé n'est que de 0,22 ppm.

En résumé, d'après ces différentes expériences, les NH qui semblent impliqués dans des liaisons H sont ceux des unités γ -amino acides, c'est-à-dire les protons des entités saccharidiques. Au contraire, les protons amides du (des) α -amino acide(s) et le proton du méthylamide semblent peu ou pas engagés dans des liaisons H.

II.3.3- Infra-rouge en solution

L'infra-rouge (IR) en solution est également une technique utilisée pour étudier la structuration de composés. En effet, cette spectroscopie est très sensible et permet de détecter de faibles changements structuraux tels que l'établissement de liaisons hydrogène. Contrairement à la RMN, qui ne permet d'observer qu'une conformation moyenne des composés en solution, l'infra-rouge donne accès à l'ensemble des conformations adoptées par une molécule à un instant donné.

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes focalisés sur les bandes de vibration des C=O entre 1600 et 1800 cm^{-1} et les bandes de vibration des NH amides entre 3200 et 3500 cm^{-1} (Figure 31). Dans un premier temps, nous avons limité l'étude au monomère **93**, au dipeptide **100** et au tripeptide **97**. Les spectres des différents composés **93**, **97** et **100** ont été enregistrés dans une cellule en CaF₂ à une concentration de 10^{-2} M dans trois solvants différents, le chloroforme, l'acétonitrile et le DMSO. Les résultats les plus intéressants sont observés dans le chloroforme, la figure 31 montre donc les agrandissements des zones concernées dans ce solvant. Les nombres d'onde indiqués sur les spectres ont été déterminés grâce au calcul de la dérivée seconde des spectres.

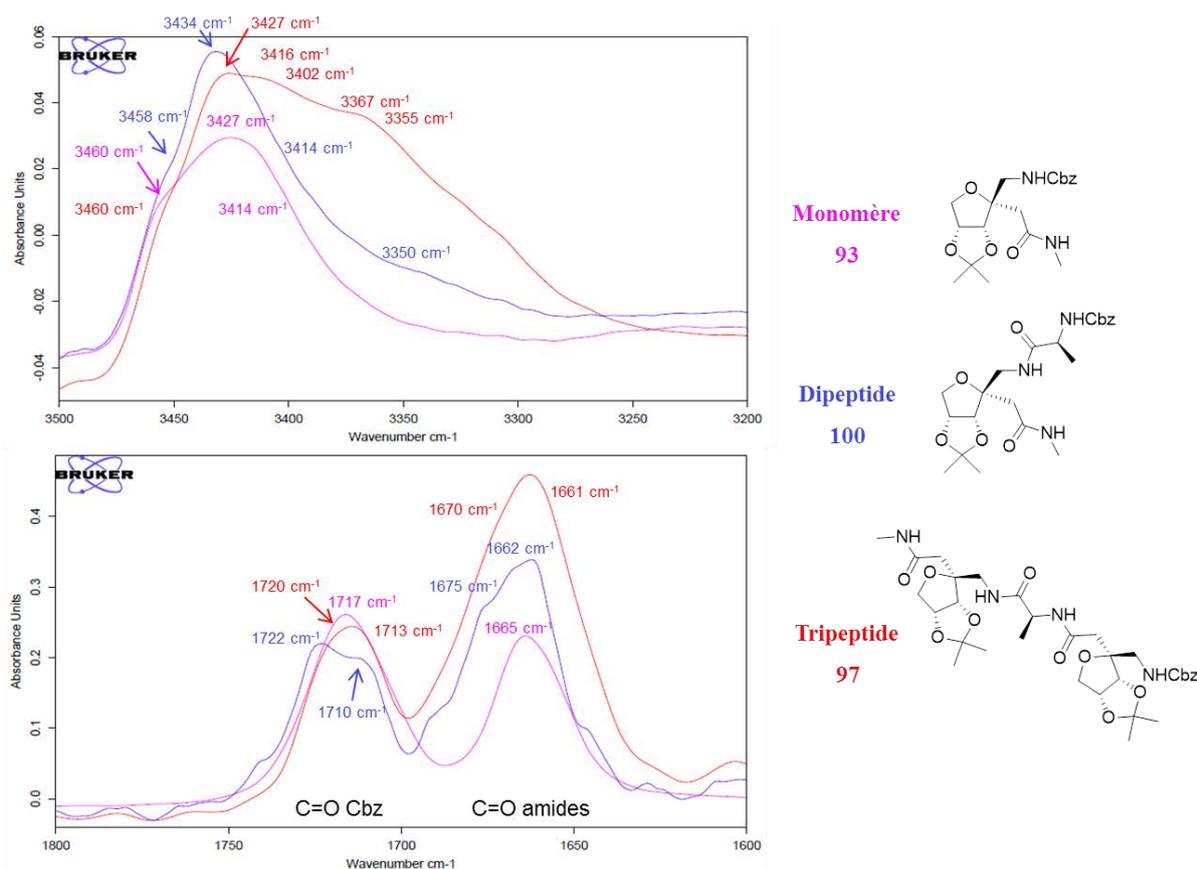


Figure 31. Spectres IR en solution (10 mM dans le chloroforme) des composés **93**, **97** et **100**.

De manière générale, pour la région des NH, les bandes supérieures à 3400 cm^{-1} correspondent à des NH non liés et les bandes en dessous de 3400 cm^{-1} correspondent à des NH liés. On observe pour le monomère **93** trois bandes à 3460 , 3427 et 3414 cm^{-1} qui nous informent qu'il n'y a pas de NH lié pour ce composé. Pour le dipeptide, des bandes à 3414 , 3434 et 3458 cm^{-1} sont observées, ce qui indique qu'il y a des NH non liés et on remarque également une bande de faible intensité à 3350 cm^{-1} , prouvant l'existence d'une conformation comportant une liaison hydrogène intramoléculaire. Dans le cas du tripeptide, on observe la présence de deux bandes NH à 3355 et 3367 cm^{-1} qui correspondent à des NH liés par liaison hydrogène. D'autre part, les bandes à 3457 , 3432 , 3416 et 3402 cm^{-1} indiquent la présence de NH non liés.

En ce qui concerne la zone des C=O, les bandes autour de 1710 - 1720 cm^{-1} correspondent au motif Cbz et les bandes entre 1650 et 1680 cm^{-1} aux amides. Pour le monomère **93**, on observe une bande à 1717 cm^{-1} pour le motif Cbz et une bande à 1665 cm^{-1} pour le motif amide. Le spectre IR du dipeptide **100** montre la présence de deux bandes dans la zone du motif Cbz à 1722 et 1710 cm^{-1} , indiquant l'existence de deux conformations en solution pour ce composé. La bande à 1710 cm^{-1} correspond à une conformation pour laquelle ce C=O est impliqué dans

une liaison H. Deux bandes amides sont également observées à 1675 et 1662 cm^{-1} , elles correspondent aux deux amides du peptide. Dans le cas du tripeptide **97**, le motif Cbz donne une bande large à 1713 cm^{-1} avec un épaulement à 1720 cm^{-1} . Ces bandes correspondent à deux conformations différentes dont une avec liaison H intramoléculaire. Pour les amides, deux bandes à 1661 cm^{-1} et à 1670 cm^{-1} sont obtenues.

L'ensemble de cette étude IR montre qu'il existe plusieurs conformations en solution compte tenu des signaux observés dans la zone des carbonyles pour le motif Cbz. Par ailleurs, dans la zone des NH, on peut noter que seuls le dipeptide et le tripeptide semblent contenir une liaison H intramoléculaire, ce qui est tout à fait en accord avec les données recueillies en RMN. L'attribution de chaque bande à la fonction NH ou C=O correspondante s'est révélée difficile compte tenu de l'existence de plusieurs conformations en solution. Par conséquent, les spectres IR en solution du pentapeptide et de l'heptapeptide n'ont pas été enregistrés et cette technique ne nous a pas apporté d'informations complémentaires par rapport à la titration RMN.

II.3.4- Dichroïsme circulaire

Le dichroïsme circulaire (DC) est une technique spectroscopique basée sur la différence d'absorption entre la lumière polarisée droite et la lumière polarisée gauche d'une molécule optiquement active. Le DC dépend donc de la longueur d'onde et donne, dans le domaine des ultraviolets (UV), des informations importantes sur la structuration secondaire des composés. Pour les protéines par exemple, c'est l'absorption liée aux liaisons peptidiques qui est observée. Cette absorption est classiquement observée entre 190 et 220 nm.

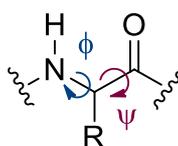


Figure 32. Lien amide

Différentes transitions sont possibles ($n \rightarrow \pi^*$ ou $\pi \rightarrow \pi^*$), l'intensité et l'énergie de ces transitions dépendent des angles ϕ et ψ et donc de la structure du composé (Figure 32). Cette technique est couramment utilisée dans le domaine des foldamères pour déterminer leur structure secondaire en solution.

L'étude de la structuration secondaire par DC a été réalisée sur les composés **93**, **97**, **98**, **99** et **100**, c'est-à-dire du monomère à l'heptapeptide. Le solvant utilisé pour ces expériences doit être de bonne qualité spectroscopique, c'est-à-dire être le plus transparent possible dans l'UV lointain. L'acétonitrile, couramment utilisé pour ce type d'étude, a une longueur d'onde de coupure de 191 nm (Carlo Erba – gold ultragradiant pour HPLC et UPLC) alors que l'acétonitrile classique n'est transparent que jusqu'à 205 nm environ. Pour normaliser les spectres en fonction du nombre de liens amides, nous avons choisi de travailler avec une concentration rapportée au nombre de liens amides dans les composés (sans prendre en compte le lien amide du groupement protecteur Cbz). Par exemple, pour le tripeptide **97** (3 liens amides + lien CONHCbz), la concentration pour l'expérience est de 33 μM . Ces concentrations sont données dans le tableau 11.

nom du composé	nombre total de CONH	CONH de Cbz	liens amides	concentration choisie pour l'expérience (μM)
monomère	2	1	1	100
dipeptide	3	1	2	50
tripeptide	4	1	3	33
pentapeptide	6	1	5	20
heptapeptide	8	1	7	14,3

Tableau 11. Concentrations choisies pour les expériences

Cette méthode permet d'obtenir 3 types de courbes normalisées en fonction soit de la concentration du composé, soit de la concentration en liens amides ou soit de la concentration en liens NH. On peut ainsi suivre l'évolution des courbes indépendamment de la taille du peptide.

Dans notre cas, les courbes sont tracées en fonction du nombre de liens amides dans les molécules (Figure 33). Les courbes obtenues et reproduites ici représentent l'évolution de $[\theta]$ en fonction de la longueur d'onde (nm).

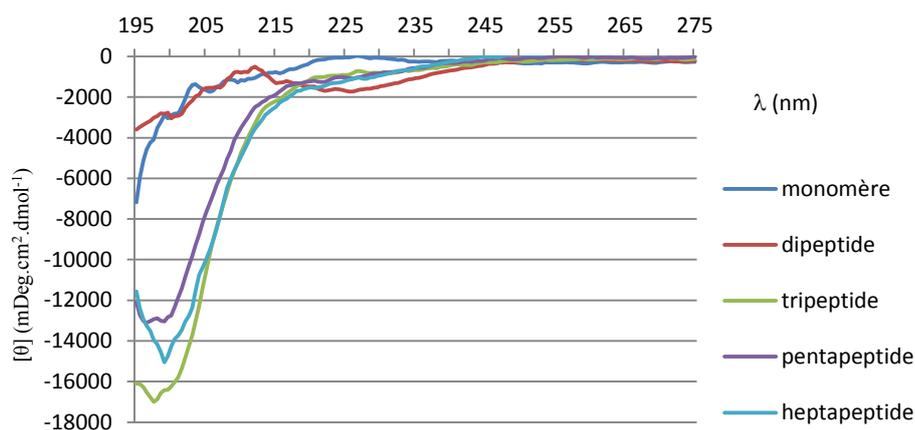


Figure 33. Courbes de dichroïsme circulaire dans l'acétonitrile

On remarque une absence de signal pour la région entre 245 et 280 nm, ce qui démontre que le groupement Cbz (chromophore absorbant autour de 270 nm) n'apporte pas de contributions au spectre DC.

Dans le domaine des UV lointains (180-250 nm), on remarque que le monomère ne donne aucun signal caractéristique, ce qui indique que le groupement Cbz ne donne également pas de réponse dans cette partie du spectre. Le dipeptide présente un minimum vers 225 nm et cette bande se retrouve pour le tripeptide, le pentapeptide et l'heptapeptide. Elle est en partie « cachée » par une autre bande d'intensité supérieure observée pour le tripeptide, le pentapeptide et l'heptapeptide. Cette bande plus intense a un minimum aux alentours de 200 nm. Les courbes du tripeptide, du pentapeptide et de l'heptapeptide sont très similaires, ce qui implique que ces composés présentent une structuration similaire en solution. On peut noter un léger déplacement du minima pour ces trois composés, de 197,5 nm pour le tripeptide à 199 nm pour l'heptapeptide.

Les courbes DC semblent indiquer que le tripeptide, le pentapeptide et l'heptapeptide ont une structuration similaire en solution, contrairement au monomère et au dipeptide, certainement à cause de leur squelette peptidique plus court. En corrélant ces résultats avec ceux obtenus en RMN et en infra-rouge, on peut penser que cette structuration est due à l'établissement d'un réseau de liaisons hydrogène.

II.3.5- Modélisation moléculaire

Une étude de dynamique moléculaire (DM) a été menée en collaboration avec le Dr. Marie-Christine Averlant-Petit (UMR 7375 LCPM, Université de Lorraine) pour le tripeptide **97**, le

pentapeptide **98** et l'heptapeptide **99**. Cette dynamique a été réalisée avec le logiciel Amber (10) en conditions périodiques sans contraintes dans le chloroforme (boîte de solvant de 10 Å de côté) et pendant une période de 5 μ s. Dans chaque cas, environ 65000 structures sont générées pour les composés. À ce jour, seuls les résultats obtenus pour l'heptapeptide **99** sont présentés (Figure 34). En ce qui concerne le tripeptide et le pentapeptide, les résultats des études de modélisation sont en cours d'interprétation.

Pour le composé **99**, les liaisons hydrogène les plus probables sont représentées sur la figure 34. On observe donc l'établissement de 3 LH potentielles différentes, deux d'entre elles conduisent à des cycles à 15 ou à 18 chaînons et la troisième est une LH bifide qui conduit à des cycles à 9 ou 12 chaînons. Ces LH entraînent la structuration de l'heptapeptide sous forme d'une hélice lâche.

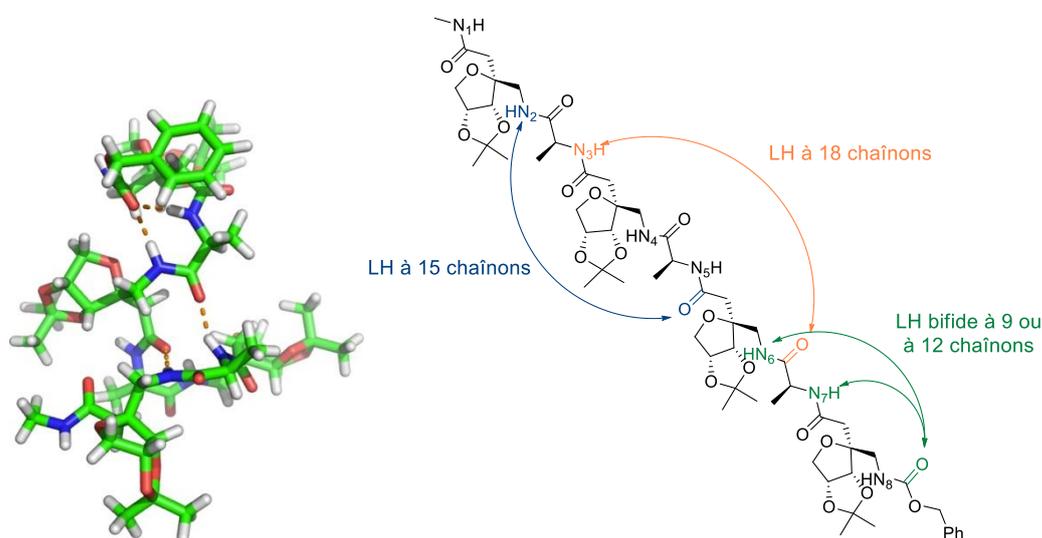


Figure 34. Les différentes LH observées en DM pour l'heptapeptide **99**

II.3.6- Discussion

La littérature concernant la structuration des γ -peptides alternés ou non avec des α ou β -amino acides est vaste étant donné le grand intérêt de ce sujet en chimie. Pour cette famille de composés, de nombreuses conformations ont été observées, des hélices, des feuilletts β , des coudes ou encore des structures plus étendues.^{104a} De plus, il est à noter une grande disparité au niveau de la taille des cycles formés par liaison hydrogène intramoléculaire (C_7 , C_9 , C_{12} , C_{13} ou encore C_{11}/C_{13}) en fonction de l'alternance des résidus dans la chaîne peptidique. On peut néanmoins s'appuyer sur les travaux concernant la gabapentine, un γ -amino acide β,β -disubstitué présentant une contrainte cyclique, ce qui est également le cas de nos systèmes γ -

glycoamino acides. Par exemple, des peptides issus de la gabapentine et présentant une alternance de type α - γ - α , identique à celle des peptides que nous avons préparés, ont montré des structures de type hélice C_9 , C_{12} ou encore C_9/C_{12} .¹¹¹

Dans notre cas, les résultats obtenus en RMN et plus particulièrement en expériences NOESY ne donnent pas assez d'informations pour permettre de proposer une structuration. Néanmoins, les expériences de titration au DMSO nous indiquent clairement que certains NH amides sont impliqués dans des liaisons hydrogène intramoléculaires. Cette observation a également été confirmée par Infra-rouge. Le dichroïsme circulaire nous montre que le tripeptide, le pentapeptide et l'heptapeptide adoptent la même conformation en solution. Cette conformation n'est pas adoptée par les composés plus petits (monomère et dipeptide), certainement parce qu'ils sont trop courts pour permettre l'établissement du réseau de liaisons hydrogène nécessaire.

Les études de modélisation moléculaire menées sur l'heptapeptide **99** confirment ces résultats expérimentaux. On peut ainsi proposer un mode de structuration de ces composés sous forme d'une hélice lâche via l'établissement de cycles à 12, 15 et/ou 18 chaînons. Ce type de structure présente des brins comprenant au moins 2 voire 3 résidus, ce qui est potentiellement intéressant pour mimer des interactions protéines/protéines. La superposition des structures du tripeptide, du pentapeptide et de l'heptapeptide devrait nous permettre de déterminer prochainement si la structuration observée pour l'heptapeptide s'établit pour des séquences plus courtes (tripeptide ou pentapeptide).

III- Glycopeptides cycliques

Il existe de nombreuses familles de composés décrites comme plates-formes multivalentes. Du fait de leurs structures particulières, ces composés ont des applications diverses en biologie ou en médecine par exemple. Les cyclopeptides, de par leurs propriétés intrinsèques, constituent l'une de ces familles.

Les nouveaux γ -GAA obtenus pourraient également être intégrés dans des systèmes peptidiques cycliques. À titre d'exemple, nous proposons la préparation de glycocyclopeptides alternant γ -GAA et α -amino acides en utilisant une stratégie de déprotection/couplage similaire à celle employée pour la synthèse des oligomères linéaires. Ces édifices cycliques constituent des plates-formes fonctionnalisables à façon et pourraient présenter une meilleure résistance face aux enzymes et une hydrosolubilité modulable grâce aux hydroxyles des sucres. La préparation de ces cyclopeptides a nécessité la mise au point d'un jeu de protections orthogonales élaboré permettant une conjugaison ultérieure avec divers groupes fonctionnels d'intérêt, des ligands ciblant un récepteur ou des sondes pour l'imagerie par exemple.

III.1- Rappels bibliographiques

Quelques types de plates-formes existantes dans la littérature sont brièvement décrits et un focus est ensuite fait sur les cyclopeptides dans une seconde partie. En effet, certains cyclopeptides sont connus pour leurs propriétés thérapeutiques intrinsèques et d'autres ont été préparés pour une utilisation comme plates-formes multivalentes.

III.1.1- Les différents types de plates-formes multivalentes

Différentes familles de molécules peuvent être employées comme plates-formes multivalentes (Figure 35). Ainsi, l'emploi en ce sens de protéines,¹¹⁹ de calixarènes,¹²⁰ de polymères,¹²¹ de dendrimères,¹²² de cyclodextrines,¹²³ de fullerènes,¹²⁴ de nanoparticules d'or¹²⁵ ou encore de quantum dots¹²⁶ a été rapporté.

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux cyclopeptides et à leurs caractéristiques en tant que plates-formes multivalentes.

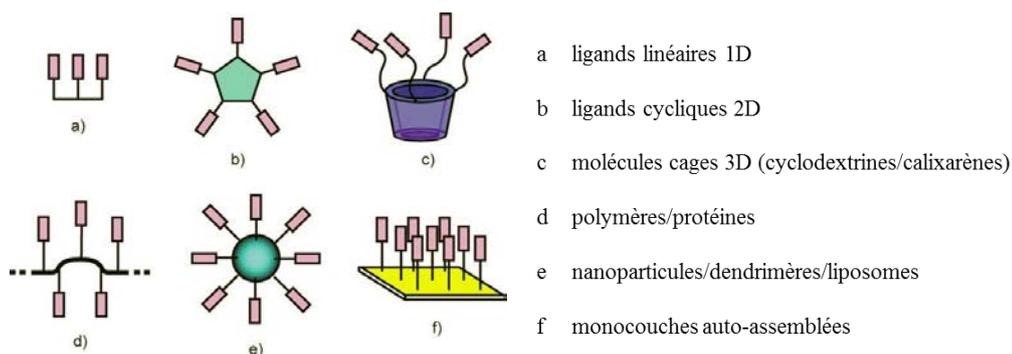


Figure 35. Les différentes topologies des ligands multivalents¹²⁰

III.1.2- Les cyclopeptides : propriétés et utilisation comme plates-formes multifonctionnelles

Les cyclopeptides sont des composés d'intérêt du fait de leurs propriétés biologiques, mais également parce qu'ils peuvent être utilisés en tant que plates-formes multivalentes. Ainsi, selon les groupes fonctionnels présents sur les acides aminés constituant le cyclopeptide, diverses fonctionnalisations sont envisageables.

a- Propriétés intrinsèques

Les peptides cycliques, généralement plus résistants aux *exo*- et aux *endo*-protéases que leurs analogues linéaires, sont donc des agents thérapeutiques intéressants. Ainsi, il existe de nombreux peptides cycliques naturels ou de synthèse utilisés pour leurs activités biologiques,¹²⁷ quelques exemples sont détaillés dans ce chapitre.

L'étude de ces composés s'est développée après la découverte de la Gramicidine S en 1944 par Gause et Brazhnikova.¹²⁸ Ce cyclodécapeptide (Figure 36, a) a une action contre les bactéries à Gram positif ou à Gram négatif et était utilisé pour traiter les infections. Depuis, de nombreux peptides cycliques ont été développés.¹²⁷ On peut citer par exemple un peptide de la famille des polymixines, la colistine, découvert dans les années 1950 et utilisé comme antibiotique pour traiter des infections (Figure 36, b).¹²⁹ Actuellement, ce médicament n'est utilisé qu'en traitement de dernier recours du fait de sa haute néphrotoxicité. Un autre peptide d'utilisation thérapeutique, la ciclosporine a (Figure 36, c), possède des propriétés immunosuppressives.¹³⁰ Ce cyclopeptide de 11 acides aminés, développé par le laboratoire Sandoz en 1972, est encore utilisé pour les transplantations d'organes ou pour certaines applications dermatologiques. L'octréotide est un octapeptide développé en 1982 et imitant la somatostatine (Figure 36, d).¹³¹

Il inhibe la sécrétion de nombreuses hormones, comme l'hormone de croissance, la gastrine ou l'insuline par exemple.

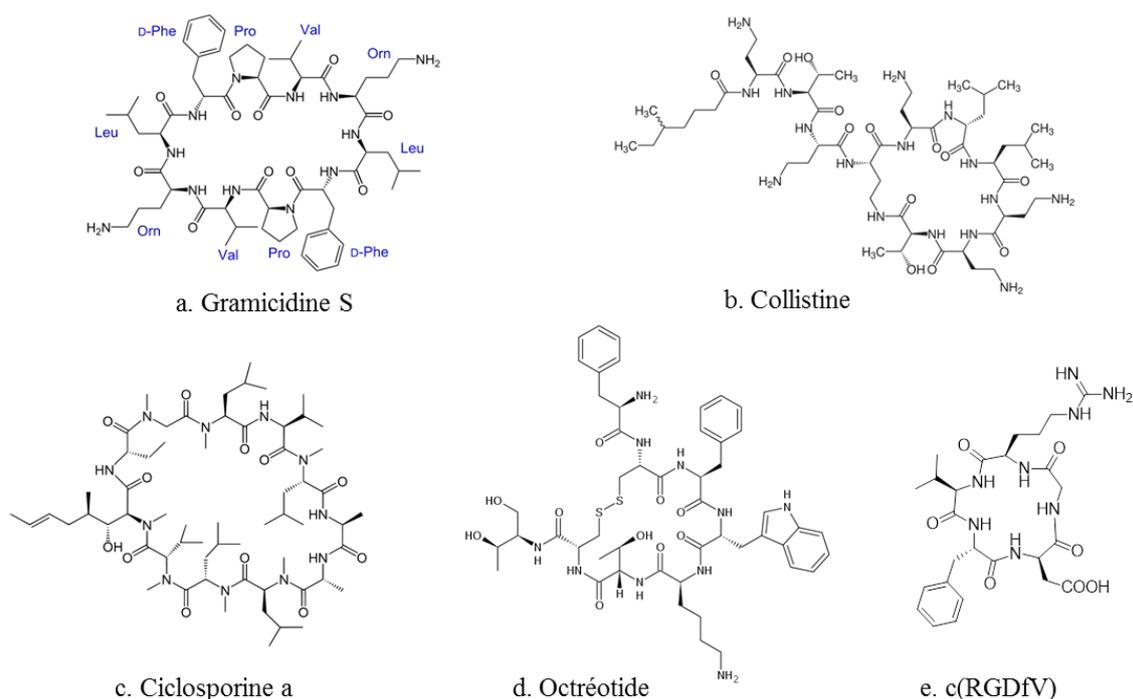


Figure 36. Différents peptides cycliques d'intérêt thérapeutique

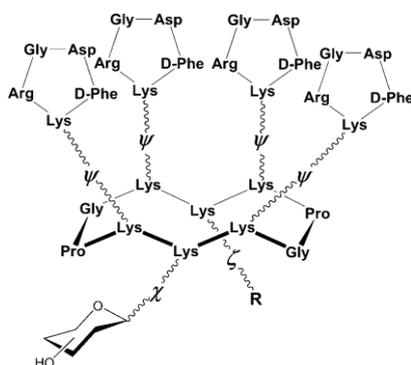
La structure cyclique de ces composés induit une disposition spatiale particulière des chaînes latérales des acides aminés. Il est donc possible de moduler très finement la conformation des cyclopeptides pour permettre une meilleure reconnaissance avec une cible biologique par exemple. On peut ainsi faire varier de façon significative les propriétés d'un composé.¹³² Par exemple, Haubner *et al.* ont préparé une série de cyclopeptides basés sur la séquence RGD (arginine-glycine-acide aspartique, figure 36, e) ciblant le récepteur $\alpha_v\beta_3$ appartenant à la famille des intégrines. Cette équipe a montré que la sélectivité du peptide était dépendante de la taille du macrocycle et des autres résidus du cycle dans lequel ils étaient intégrés.¹³³

b- Plates-formes multifonctionnelles

Au-delà de propriétés biologiques intrinsèques, ces structures cycliques peuvent également être considérées comme des plates-formes multivalentes. La multivalence, c'est-à-dire la répétition du même motif (ligand) sur une plate-forme centrale, permet souvent d'améliorer l'affinité de la liaison entre le ligand et le récepteur visé.¹³⁴ Ce phénomène a été décrit par Lee *et al.*¹³⁵

Les groupements fonctionnels naturellement présents sur les acides aminés permettent également d'envisager des couplages multiples de différentes entités chimiques d'intérêt sur la plate-forme centrale. De nombreux exemples de peptides cycliques utilisés comme plates-formes multifonctionnelles ont été rapportés.

Dumy *et al.* ont rapporté en 1995 la préparation d'un cyclodécapeptide fonctionnalisable de façon régiosélective grâce à des groupes protecteurs orthogonaux sur les chaînes latérales des acides aminés.¹³⁶ Ces molécules sont communément désignées sous le terme RAFT (Regioselectively Adressable Functionalized Templates). L'introduction de différents groupements est possible grâce à cette fonctionnalisation orthogonale des chaînes latérales des acides aminés du cyclopeptide. Ainsi, il est possible d'introduire des fonctions aldéhyde, alcyne, maléimide, thiol ou azide de façon sélective sur la plate-forme cyclique. Ces fonctions chimiques permettent des couplages rapides, simples et efficaces avec divers groupements d'intérêt. Par exemple, des systèmes biomoléculaires comportant la séquence RGD (sous forme RGDfK cyclique) répétée 4 fois, un sucre et une sonde fluorescente ou un acide nucléique ont été développés (Figure 37, **R**).¹³⁷ La séquence RGD permet de cibler des tumeurs, le sucre permet de moduler l'hydrosolubilité du composé, la sonde est introduite dans une optique de diagnostic et une action thérapeutique est envisageable grâce à l'acide nucléique.



χ : oxime, thioéther, ψ : triazole, oxime, ζ : thioéther, triazole, R : peptide, acide nucléique ou sonde fluorescente

Figure 37. Cyclopeptide fonctionnalisé développé par Dumy *et al.*¹³⁷

D'autres molécules fonctionnalisées avec des sucres ont été préparées selon cette méthodologie pour la préparation de vaccins¹³⁸ ou d'inhibiteurs de l'hémagglutinine.¹³⁹ Dans le même esprit, des chélatants intracellulaires du cuivre ont été synthétisés.¹⁴⁰ Ces composés comportent des cystéines capables de fixer du cuivre (I), des sucres pour la reconnaissance avec les cellules ciblées (hépatocytes) et un fluorophore organique qui permet de suivre l'évolution de l'assimilation du composé dans les cellules.

III.2- Préparation des cyclo(glyco)peptides

Les glycoamino acides que nous avons développés pourraient donc présenter un intérêt dans le développement de glycocyclopeptides originaux ainsi que dans la préparation de plates-formes fonctionnalisables. Des tels systèmes possèdent de nombreux intérêts, notamment une hydrosolubilité modulable due à la présence des dérivés saccharidiques. Dumy *et al.* utilisent d'ailleurs un sucre pour augmenter l'hydrosolubilité de leurs décapeptides.¹³⁷ Ainsi, la chimie mise au point pour la synthèse des peptides linéaires a été exploitée pour préparer des analogues cyclisés.

Dans un premier temps, un modèle simple de peptide cyclique à 24 chaînons a été préparé (Schéma 68, 1^{ère} génération). Comme pour les peptides linéaires, il présente une alternance entre un γ -glycoamino acide (*D*-érythro) et une L-alanine. Dans un second temps et dans l'optique d'obtenir des plates-formes multifonctionnelles, la préparation de peptides plus élaborés a été examinée en introduisant des acides aminés porteurs d'un groupe fonctionnel supplémentaire sur l'unité saccharidique ou sur la chaîne latérale de l' α -amino acide. Ainsi, la deuxième génération de cyclopeptides présente un bras hydroxyle supplémentaire porté sur le γ -GAA et la troisième génération dispose d'une fonction amine additionnelle apportée par une L-lysine. Des essais de déprotection des isopropylidènes ont également été mis en œuvre.

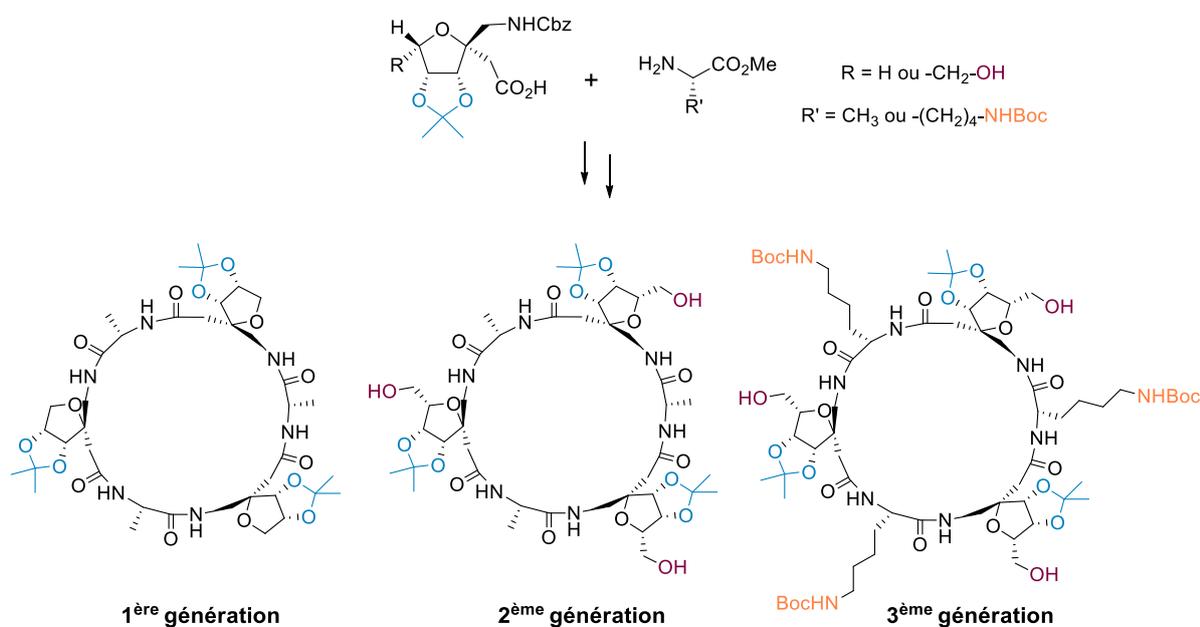
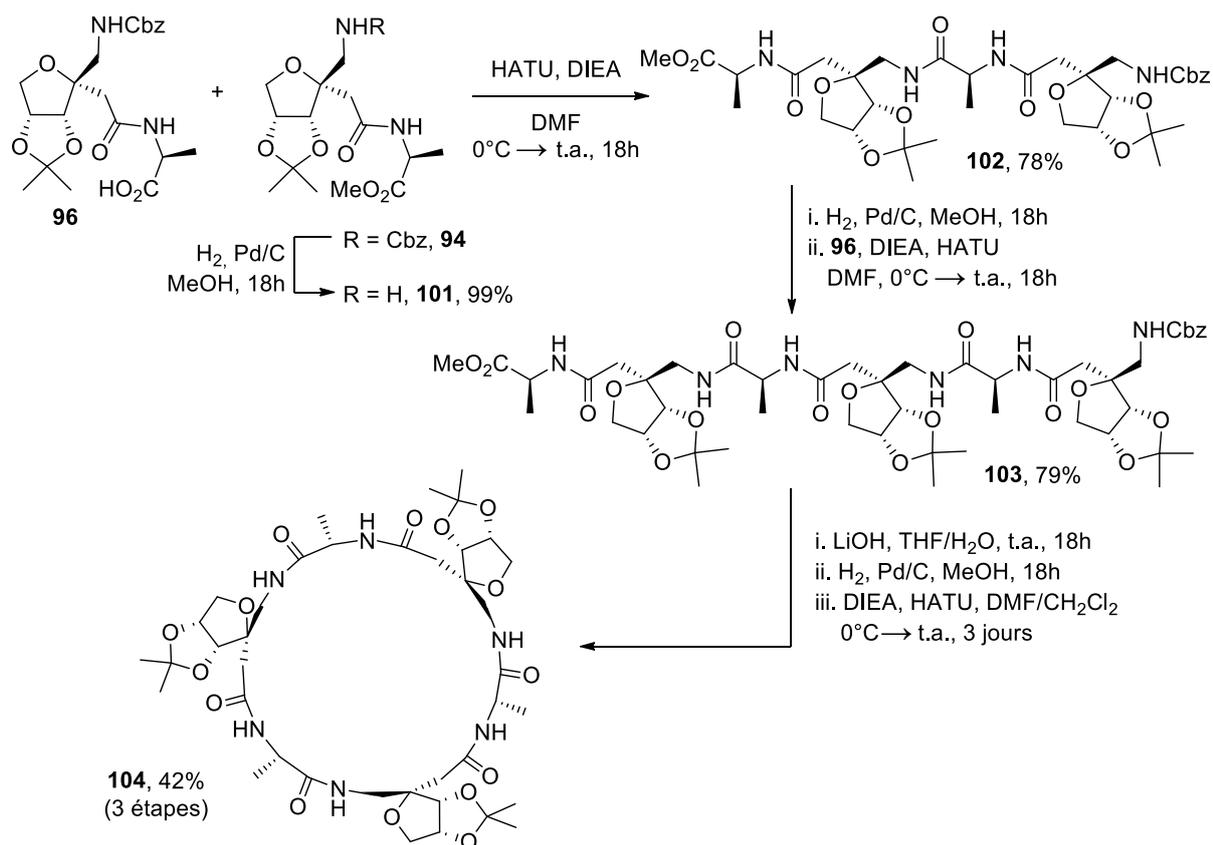


Schéma 68. Les trois générations de cycloglycopeptides envisagées

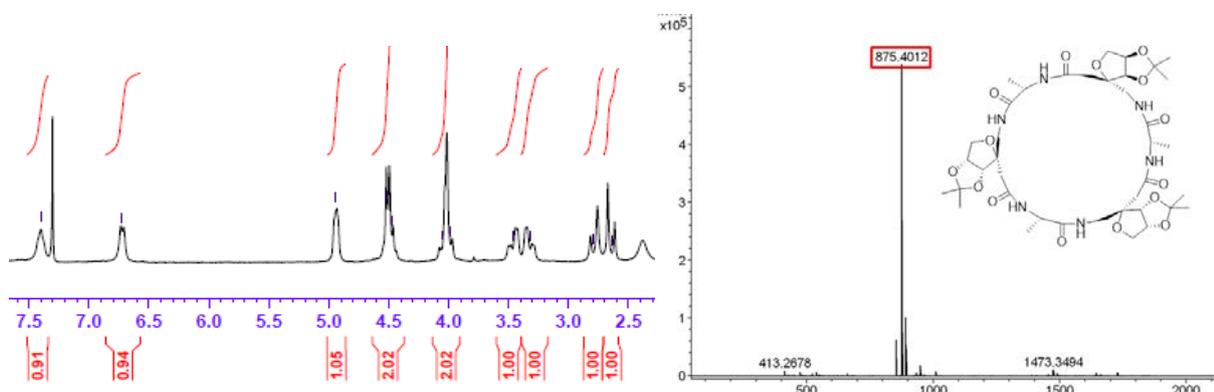
Pour chaque génération de cycloglycopeptides un dipeptide constitué du γ -GAA et de l' α -amino acide choisis a été préparé et ensuite couplé avec lui-même afin d'obtenir le tétrapeptide puis l'hexapeptide correspondants. Cet hexapeptide a ensuite été déprotégé puis cyclisé. Les structures cycliques obtenues comportent ainsi trois unités γ -GAA et trois α -amino acides, chaque groupe fonctionnel est donc répété trois fois.

III.2.1- 1^{ère} génération

Les premiers essais de cyclisation ont été effectués avec un peptide présentant une alternance entre γ -GAA *D-érythro* et L-alanine (Schéma 69). Pour préparer ces composés, la fonction amine du composé **94** a tout d'abord été déprotégée par hydrogénolyse avec Pd/C dans le méthanol, puis l'amine **101** obtenue a été couplée avec **96** par activation avec HATU en présence de DIEA dans le DMF. Le tétrapeptide **102** a été obtenu avec un rendement de 78%. Une hydrogénolyse de **102** suivie d'un couplage avec **96** a ensuite conduit à l'hexapeptide **103** avec un rendement de 79%. Les fonctions acide carboxylique et amine de cet hexapeptide ont été déprotégées par des procédures classiques. La cyclisation du peptide α/γ ainsi obtenu a été réalisée avec HATU/DIEA dans un mélange DMF:CH₂Cl₂ (1:4). Cette dernière réaction a eu lieu en conditions très diluées (4 mM) pour éviter les interactions entre molécules et favoriser la cyclisation intramoléculaire.

Schéma 69. Synthèse du cycloglycopeptide **104**

Après purification sur silice, le composé **104** a été obtenu avec un rendement de 42% sur trois étapes. Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ne montrent qu'un seul jeu de signaux correspondant à un enchaînement $-\text{[NH-CH}_2\text{-}i\text{é}r\text{y}t\text{h}r\text{o-CH}_2\text{-CO-alanine]-}$, ce qui indique que le composé est symétrique (Figure 38). L'analyse HRMS du composé nous permet de confirmer que le produit obtenu est le peptide cyclique. On voit en effet un unique pic moléculaire correspondant à l'hexapeptide ($[\text{M}+\text{Na}]^+ = 875.4012$, attendu = 875.4009).

Figure 38. Spectres RMN ^1H et HRMS du composé **104**

III.2.2- 2^{ème} génération

Pour obtenir une plate-forme moléculaire plus fonctionnalisée, nous avons choisi d'alterner un sucre portant un bras hydroxyméthyle et une alanine, afin de disposer d'un point de fonctionnalisation supplémentaire. L'addition du nitrométhane n'étant pas possible sur les *exo*-glycals de configuration *D-ribo*, nous avons sélectionné le nitro-ester **2** pour cette génération de peptides. Comme pour la première génération, un dipeptide γ -GAA/alanine a été préparé. Trois manières différentes d'intégrer le bras hydroxyméthyle ont été examinées lors de la préparation de ce dipeptide (Figure 39).

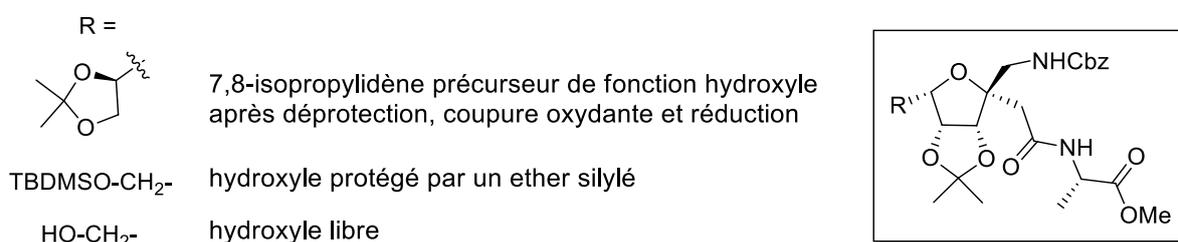


Figure 39. Le dipeptide γ -GAA/alanine

Pour obtenir un γ -GAA portant un hydroxyle supplémentaire, le nitro-ester **2**, de configuration *D-gulo* a été choisi comme synthon de départ. Pour construire le dipeptide, une stratégie similaire à celle employée pour la première génération a d'abord été envisagée. Le composé **83** est obtenu par saponification à partir du mélange **2 α /2 β** (*D-gulo*), puis le γ -amino acide **84** est préparé à partir de **83** (schéma 62, chapitre II.2.1). Cependant, le rendement de l'étape de protection est très moyen (45%) et la purification des deux anomères **83 α /83 β** est fastidieuse et chronophage, ce qui est limitant pour une synthèse multi-étapes. Il a donc fallu imaginer une voie de synthèse permettant de contourner ces problèmes.

Pour cela, l'isopropylidène exocyclique a d'abord été hydrolysé dans un milieu MeOH/HCl 1N, ce qui a permis une séparation aisée des anomères **3 α** et **3 β** . Dans un premier temps, seul l'anomère majoritaire **3 β** a été utilisé (schéma 70). Une coupure oxydante a été réalisée sur ce diol et l'aldéhyde obtenu a été réduit en alcool **105**. Après protection de cet alcool sous forme d'éther silylé **106**, une saponification avec LiOH dans THF/H₂O a conduit à l'acide carboxylique **107**.

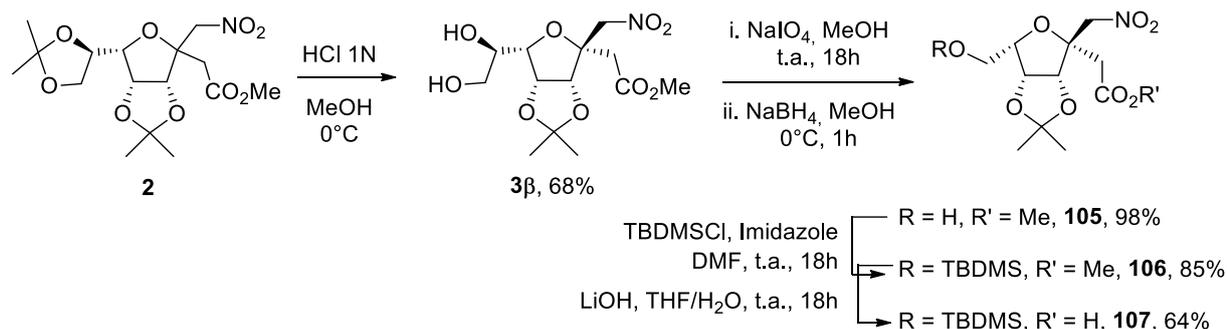


Schéma 70. Préparation du synthon **107**

Le couplage peptidique entre l'acide carboxylique **107** et la H-L-Ala-OMe commerciale a conduit au produit couplé **108** (Schéma 71). La réduction du groupement nitro de ce composé suivie de la protection de l'amine obtenue par un benzyloxycarbonyle a conduit au produit **109** attendu avec un rendement de 20%. Ce faible rendement peut être expliqué par une déprotection partielle de l'éther silylé lors de l'hydrogénolyse. Il n'était donc pas judicieux de travailler avec une protection *tert*-butyldiméthylsilyl sur cet alcool.

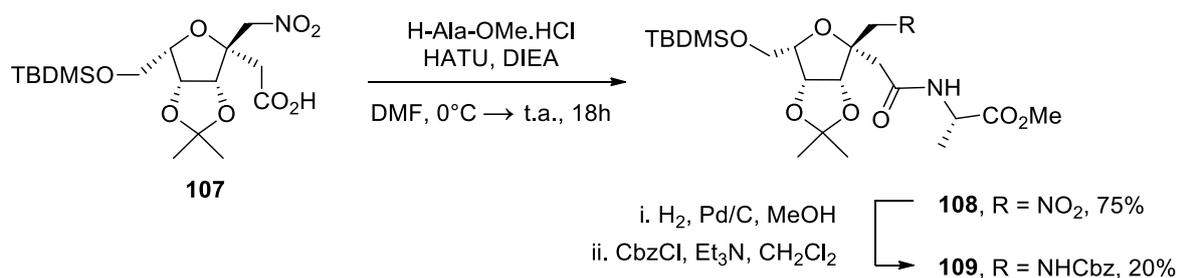
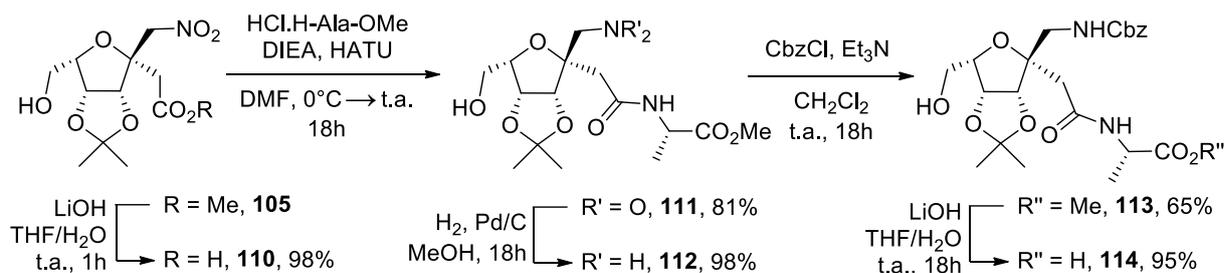
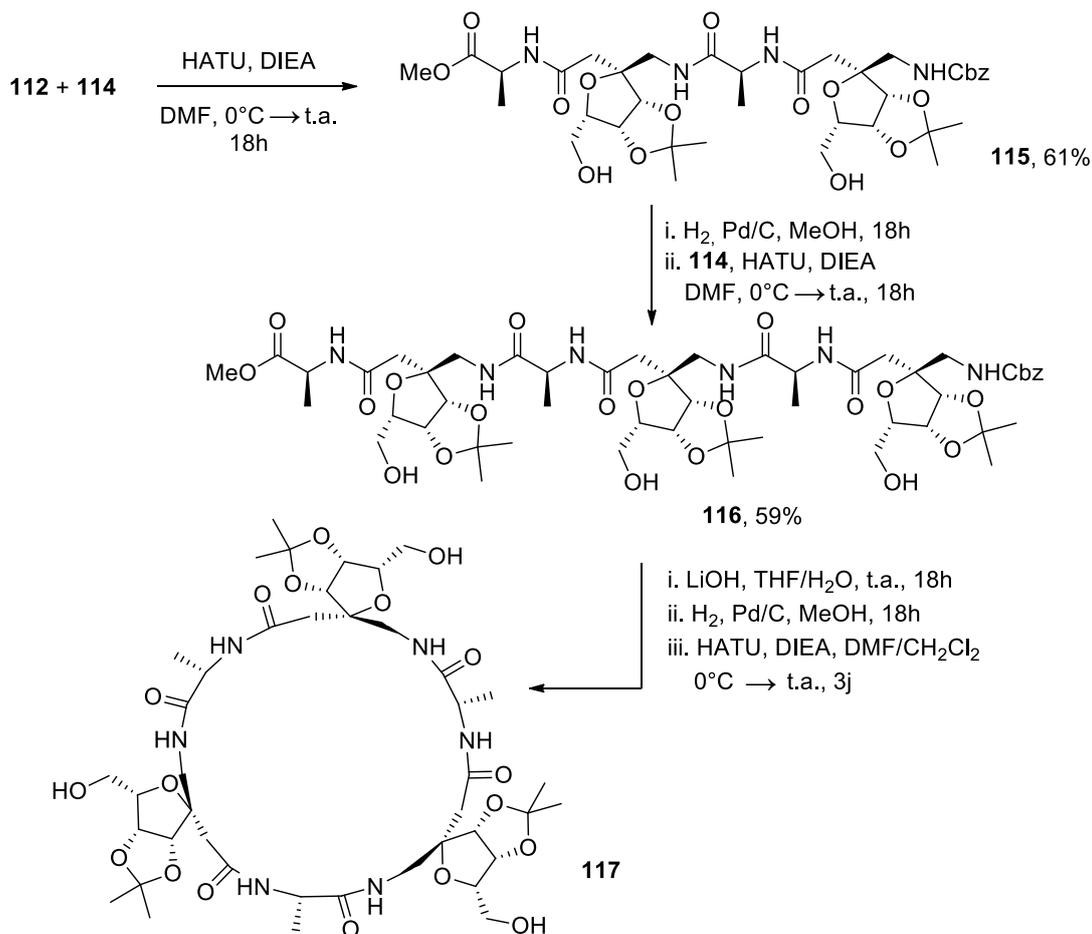


Schéma 71. Préparation de **109**

Ces observations nous ont conduits à modifier légèrement la synthèse et à utiliser un sucre dont l'hydroxyle en C7 n'était pas protégé. Dans cette optique, le composé **105** a été saponifié et l'acide **110** obtenu a été couplé avec la H-L-Ala-OMe par HATU/DIEA dans le DMF (schéma 72). L'hydrogénolyse du groupement nitro de **111** a conduit à l'amine **112**, protégée ensuite par un groupe benzyloxycarbonyle. Le dipeptide **113**, obtenu avec un rendement de 65%, a été saponifié et a conduit à l'acide carboxylique **114** avec un rendement quantitatif.

Schéma 72. Préparation du composé **113**

Ensuite, l'amine **112** et l'acide carboxylique **114** ont été couplés entre eux pour conduire au térapeptide **115** avec un rendement de 61% (Schéma 73). Après hydrogénolyse de la fonction Cbz de **115**, un deuxième couplage peptidique avec **114** a conduit à l'hexapeptide **116**. Après saponification et hydrogénolyse, l'acide aminé obtenu a été cyclisé dans les conditions établies pour la première génération de cyclopeptides. En raison de la forte polarité des produits, la purification du composé cyclique n'a pas pu être réalisée, cependant, la présence de ce produit dans le brut réactionnel est attestée par spectroscopie de masse (Figure 40).

Schéma 73. Synthèse du cyclopeptide **117**

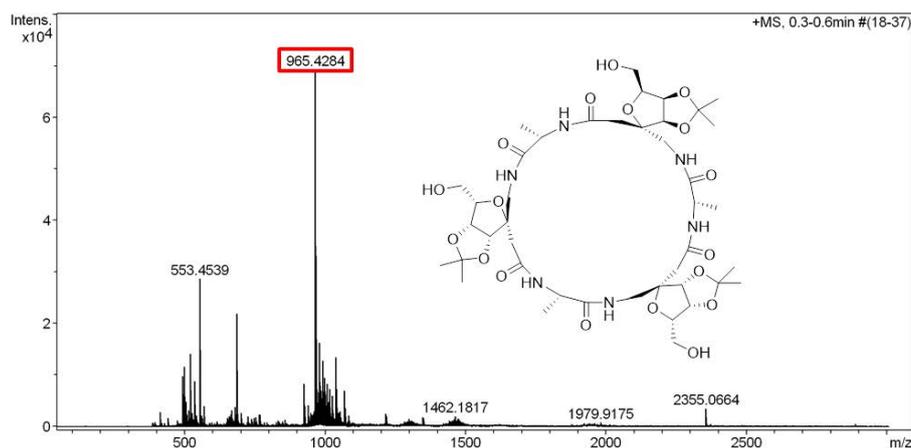
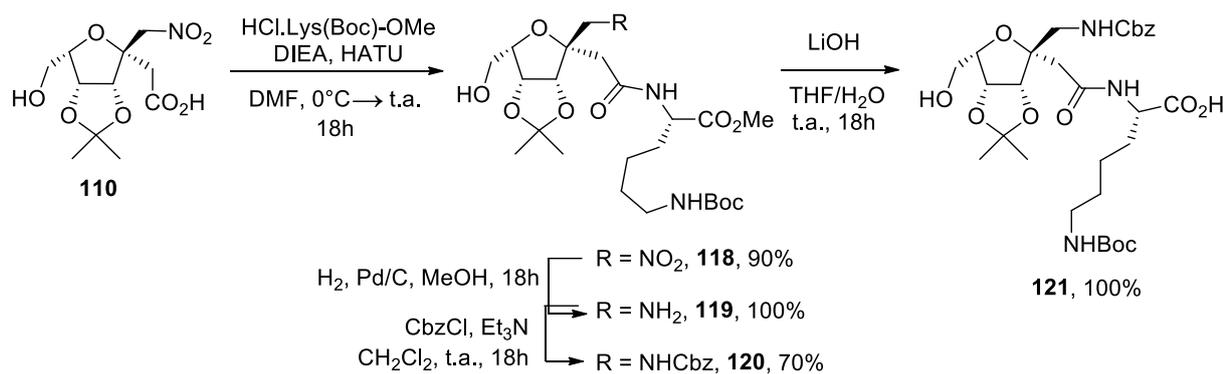


Figure 40. Spectre HRMS du brut réactionnel de cyclisation

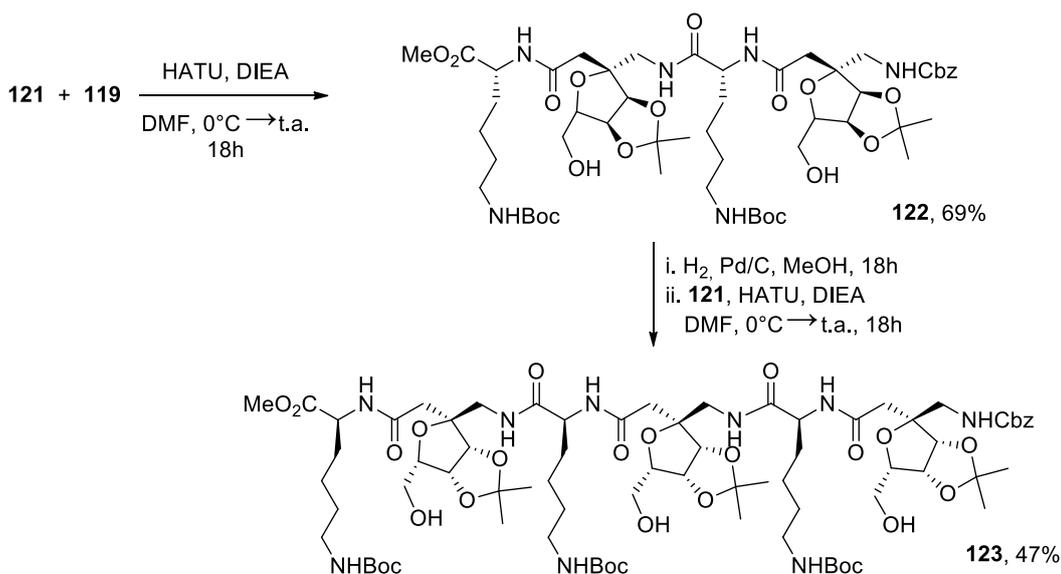
III.2.3- 3^{ème} génération

Les conditions définies pour la deuxième génération de cyclopeptides ont été appliquées à la synthèse d'un troisième type de cyclopeptides comportant un groupe fonctionnel additionnel grâce à la présence d'une L-lysine.

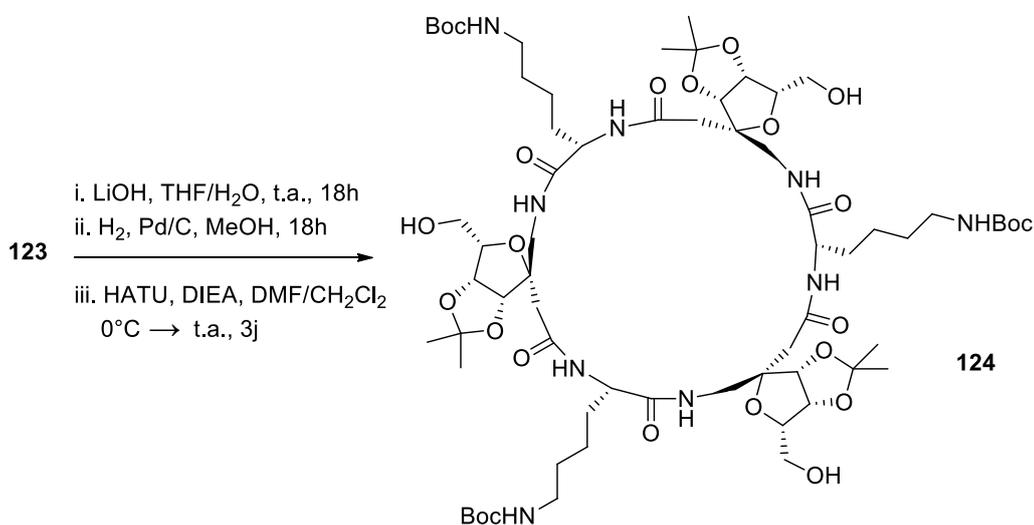
L'acide carboxylique **110** a été couplé avec H-L-Lys(Boc)-OMe par HATU/DIEA dans le DMF (schéma 74). L'hydrogénolyse du groupement nitro a conduit au composé **119** et la protection de l'amine nouvellement formée par un groupe benzyloxycarbonyle nous a permis d'obtenir le dipeptide **120** avec un bon rendement de 70%. L'ester méthylique de ce composé a ensuite été saponifié et l'acide carboxylique **121** a été obtenu avec un rendement quantitatif.

Schéma 74. Préparation des intermédiaires **119** et **121**

Ayant en main les deux intermédiaires **119** et **121**, l'oligomérisation a été effectuée via une série de couplages peptidiques et de déprotections successifs (Schéma 75). Les peptides **122** et **123** ont finalement été obtenus avec des rendements de 69 et 47% respectivement.

Schéma 75. Synthèse de l'hexapeptide **123**

Le cyclopeptide **123** a ensuite été cyclisé en conditions diluées (Schéma 76). La polarité trop importante du composé cyclique n'a pas permis sa purification mais la formation du cyclopeptide **124** a été attestée par spectroscopie de masse (Figure 41, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1436,7594$, attendu = 1436,7634).

Schéma 76. Cyclisation de l'hexapeptide **123**

Pour faciliter la purification, un essai de protection des hydroxyles en acétate a été envisagé par l'emploi d'anhydride acétique dans la pyridine mais le composé protégé souhaité n'a pas été obtenu.

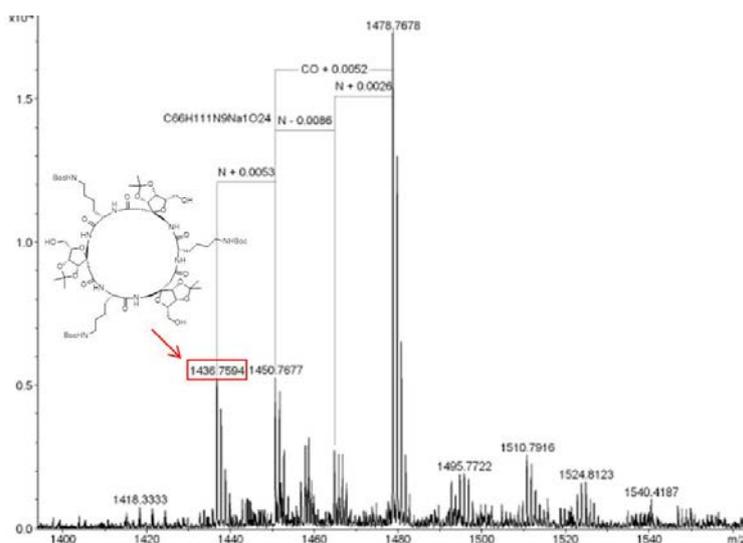


Figure 41. Spectre de masse du brut réactionnel de cyclisation

III.2.3- Déprotection des structures cycliques

En dernier lieu, nous avons examiné la déprotection de l'isopropylidène du résidu γ . Un mélange TFA/eau a été utilisé pour cette déprotection mais seul le produit **125** a été obtenu (Schéma 77). Ce composé résulte du clivage du composé **104** en trois parties identiques, permis par la présence sur la même face du sucre de l'hydroxyle en C-4 et du carbonyle en C-1.

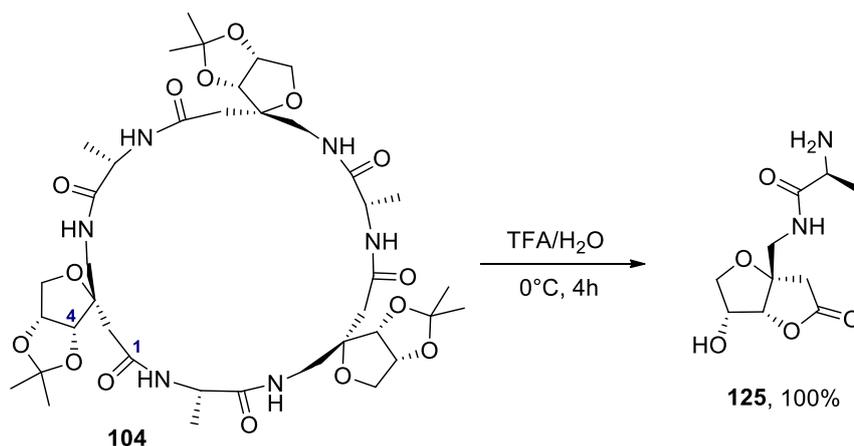


Schéma 77. Déprotection du cyclopeptide **104**

Pour éviter ce problème, nous avons envisagé deux solutions, soit le travail sur une autre structure pour laquelle le carbone anomérique du γ -GAA présenterait une configuration α , soit l'optimisation des conditions de déprotection pour éviter la coupure du composé cyclique.

L'optimisation des conditions de déprotection n'a pas été réalisée à ce jour en raison des trop faibles quantités de composé **104** disponibles.

Une autre solution envisagée pour pallier ce problème est de travailler avec un anomère pour lequel le groupement isopropylidène n'est pas sur la même face que l'ester méthylique, c'est-à-dire l'anomère α . Pour valider cette solution, le composé **3 α** a été choisi à titre d'exemple. La stratégie de synthèse employée pour la préparation du cyclopeptide **132** est la même que pour la préparation de **117** (Schéma 78). Le dipeptide **129** a été préparé en 5 étapes à partir du diol **3 α** , puis **132** a été obtenu après plusieurs séquences alternant déprotections et couplages peptidiques. Ce composé a été purifié par chromatographie sur silice mais les essais de déprotection sur ce composés n'ont pas été réalisés à ce jour.

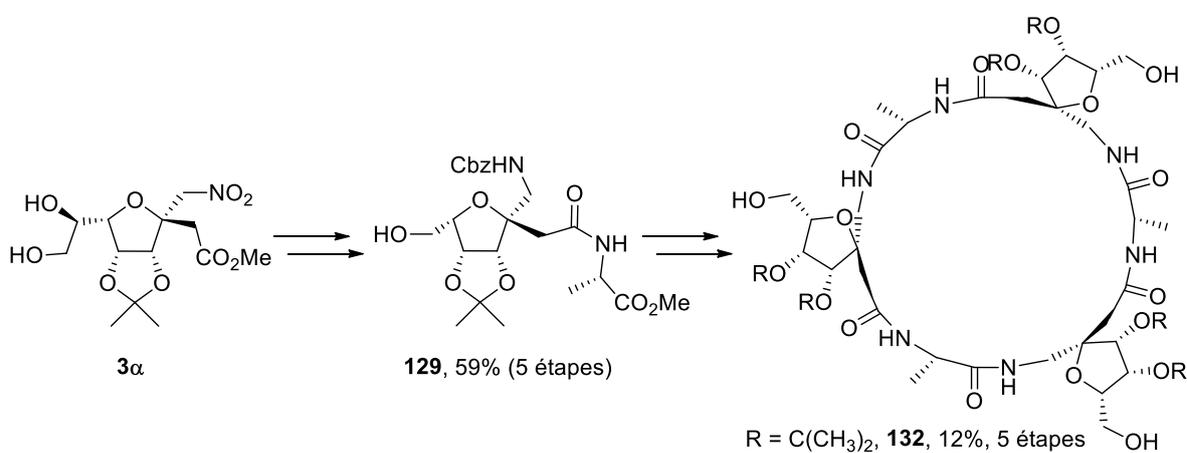


Schéma 78. Synthèse du cyclopeptide **132**

III.3- Conclusion

La chimie mise au point pour la synthèse des peptides linéaires a été utilisée pour préparer des cyclopeptides α/γ -alternés. Un premier composé basé sur un γ GAA D-érythro et sur la L-alanine a été synthétisé. Néanmoins, lorsqu'un γ GAA plus complexe présentant un hydroxyle libre est utilisé, le produit cyclique est très polaire et donc très difficile à purifier. De plus, de nombreux sous-produits de réactions sont visibles en CCM. La formation de ces produits a toutefois été prouvée par HRMS des bruts réactionnels. Pour compléter ce travail, la déprotection du premier cyclopeptide obtenu a été tentée, mais une réaction de cyclisation intramolécule a conduit à la dégradation du macrocycle.

Les perspectives de ce travail sont donc multiples. Nous avons préparé un composé présentant une stéréochimie inversée au niveau du carbone anomérique (**132**), et il serait intéressant d'observer le comportement de ce cyclopeptide dans les mêmes conditions de déprotection. De plus, la mise au point de conditions de déprotection permettant d'éviter la coupure du cycle est également en cours.

Partie II - C-glycosides ciblant le récepteur NRP-1 : conception, synthèse et évaluation biologique

I- Introduction

Les *exo*-glycals, par leur réactivité, leur stéréodiversité et leurs multiples fonctionnalités, sont donc des précurseurs intéressants pour la préparation de plates-formes chimiques élaborées. A titre d'exemple, ce sont des composés idéaux pour la préparation de peptidomimétiques ciblant un récepteur biologique. Ce concept a été démontré il y a quelques années au laboratoire, dans le cadre de la synthèse de ligands de la neuropiline-1, un récepteur impliqué dans l'angiogenèse tumorale.¹⁴¹ Dans la deuxième partie de ce manuscrit, nous proposons de poursuivre ces travaux de ciblage avec de nouveaux objectifs.

Une première partie de ce chapitre introductif sera consacrée à la description du récepteur NRP-1 et à son rôle dans l'angiogenèse tumorale. Dans une deuxième partie, les ligands peptidiques et non-peptidiques du récepteur NRP-1 seront décrits et la troisième partie, nous nous intéresserons à l'utilisation potentielle de ce récepteur en thérapie et pour le diagnostic.

I.1- Le récepteur NRP-1

I.1.1- Le phénomène d'angiogenèse

La formation de nouveaux vaisseaux sanguins dans l'organisme s'effectue par deux mécanismes, la vasculogenèse et l'angiogenèse. La vasculogenèse est la formation embryonnaire des premiers vaisseaux sanguins et lymphatiques chez l'embryon, elle n'intervient jamais durant la vie adulte. L'angiogenèse correspond à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir du réseau de vaisseaux existants. C'est un processus qui intervient essentiellement au stade embryonnaire et quelquefois lors de la vie adulte.

La régulation de l'angiogenèse dépend de différents facteurs d'inhibition et d'activation, et notamment du facteur de croissance vasculaire endothéliale A (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF-A).¹⁴² Parmi les isoformes existantes du VEGF-A, le VEGF-A₁₆₅ est le plus présent et le plus important du processus d'angiogenèse.¹⁴³ Des perturbations de ce processus complexe sont à l'origine de nombreuses pathologies, notamment certains cancers,¹⁴⁴ l'arthrite rhumatoïde¹⁴⁵ ou encore des rétinopathies.¹⁴⁶

Le développement d'une tumeur nécessite la création d'une vascularisation adaptée. L'angiogenèse tumorale est un phénomène qui fait intervenir la tumeur et le réseau vasculaire existant autour de cette tumeur, les cellules cancéreuses étant elles-mêmes à l'origine de la

formation de nouveaux vaisseaux. Avant que la tumeur n'atteigne une taille comprise entre 1 et 2 mm³, sa croissance est assurée par diffusion simple (apport d'oxygène et de nutriments).¹⁴⁷ Une fois cette taille atteinte, la diffusion ne suffit plus à la croissance de la tumeur. Cette dernière va alors libérer VEGF qui va aller se lier avec ses récepteurs (VEGFR ou neuropilines), présents sur les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins qui sont dans l'environnement de la tumeur. Cette interaction permet aux cellules endothéliales d'acquiescer de nouvelles propriétés de prolifération et d'invasion tissulaire. De nouveaux vaisseaux sont alors créés, la tumeur est à nouveau alimentée et sa croissance peut reprendre (Figure 42). Des cellules cancéreuses pourront ainsi être libérées dans les vaisseaux sanguins pour aller métastaser d'autres organes.

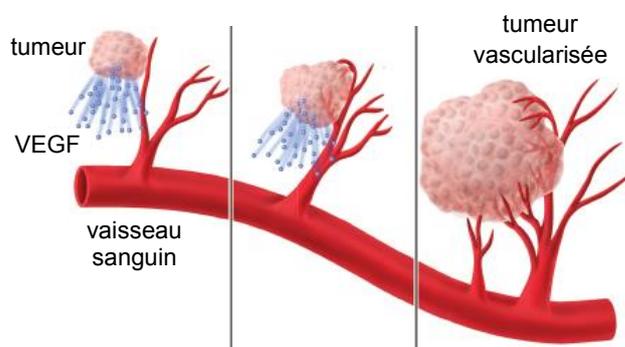
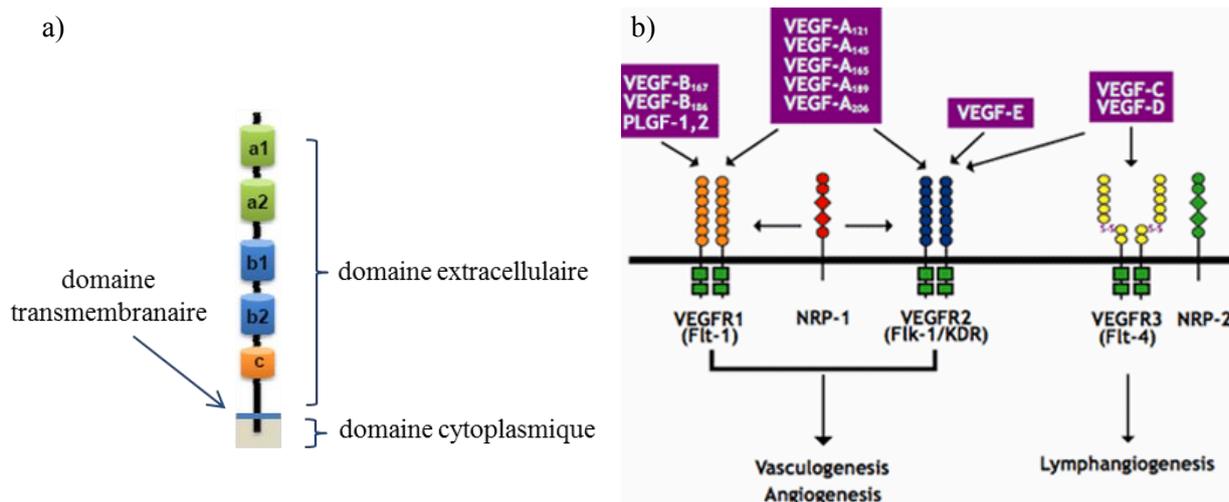


Figure 42. Le phénomène d'angiogenèse

I.1.2- Fonction et potentiel thérapeutique de NRP-1

Les neuropilines (NRP) sont des récepteurs transmembranaires à activité non tyrosine kinase d'environ 120-140 kDa. Ce sont des glycoprotéines d'abord décrites pour leur rôle dans la régulation de la guidance axonale et donc dans le développement du système nerveux.¹⁴⁸ Deux homologues (NRP-1 et NRP-2) de structures assez proches ont été identifiés. Leur structure comporte 5 domaines différents : 3 domaines extracellulaires (a1a2, b1b2 et c), un domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique (Figure 43, a).¹⁴⁹ Il a été montré que VEGF-A₁₆₅ se lie à NRP-1 sur le domaine b1b2 et qu'un complexe ternaire se forme avec VEGFR-2. La formation de ce complexe renforce la liaison entre VEGF-A et le domaine extracellulaire de VEGFR-2.¹⁵⁰



- a) les différents domaines des récepteurs NRP (issu de <http://www.mdpi.com>)
 b) les VEGF et leurs récepteurs¹⁵¹

Figure 43

NRP-1 est donc fortement impliqué dans le processus de l'angiogénèse. Par exemple, le développement vasculaire d'embryons de souris déficients en gène codant pour le récepteur NRP-1 est fortement perturbé et les embryons ne sont pas viables.¹⁵² D'autre part, la surexpression de ce récepteur dans des embryons conduit à un excès de capillaires et à des phénomènes hémorragiques.¹⁵³ Le rôle du récepteur NRP-1 dans l'angiogénèse tumorale est confirmé par sa surexpression sur les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins irriguant les tumeurs malignes.^{149,154} Cette surexpression de NRP-1 a également été observée pour des cancers du côlon,¹⁵⁵ de la prostate,¹⁵⁶ du poumon,¹⁵⁷ du sein,¹⁵⁸ et des astrocytomes¹⁵⁹ et pour des leucémies myéloïdes aiguës et des leucémies lymphoblastiques aiguës.¹⁶⁰

Ce récepteur est donc une cible pharmacologique potentielle pour le ciblage sélectif et le traitement des tumeurs cancéreuses.¹⁵⁰ Un ligand spécifique de ce récepteur peut inhiber la liaison VEGF₁₆₅/NRP-1 et empêcher ainsi la formation du complexe ternaire VEGF₁₆₅/VEGFR-2/NRP-1. Etant donné sa surexpression sur un grand nombre de cellules cancéreuses, NRP-1 pourrait être une cible de choix pour le traitement et le diagnostic de certains cancers.

I.2- Les ligands connus de NRP-1

Le ligand endogène de NRP-1 est VEGF₁₆₅, un peptide constitué de 165 acides aminés. Pour parvenir à cibler NRP-1, il faut donc réussir à mimer une interaction protéine/protéine avec des petites molécules. Cet axe de recherche est assez peu développé et seules quelques équipes travaillent dans ce domaine. Ainsi, des peptides basés sur la structure terminale de l'exon 8 ou

7 du VEGF-A, des peptidomimétiques ou encore des molécules non peptidiques ont été développés pour inhiber l'interaction protéine/protéine entre VEGF-A₁₆₅ et NRP-1.

I.2.1- Les ligands peptidiques

Plusieurs peptides présentant une bonne affinité avec NRP-1 ont été décrits durant ces dernières années et les bases structurales pour l'élaboration de ligands de ce récepteur ont ainsi pu être posées.

En 2000, l'heptapeptide ATWLPPR (Figure 44), issu du criblage d'une chimiothèque de peptides, a été décrit par Binétruy-Tournaire *et al.* comme fortement affiné pour le récepteur NRP-1 (CI₅₀ = 19 μM).¹⁶¹ L'importance de chaque acide aminé et de l'ordre qu'ils occupent dans le peptide a été étudiée par « alanin scanning » (on prépare des peptides en remplaçant successivement chaque acide aminé du peptide par une alanine) et par délétion successive des différents acides aminés. Les résultats obtenus ont démontré l'importance de la séquence LPPR et de la présence de l'arginine en position C-terminale. Différentes équipes ont depuis utilisé ce peptide pour des expérimentations en thérapie photodynamique, en scintigraphie ou encore en IRM (chapitre I.3.3).¹⁶²

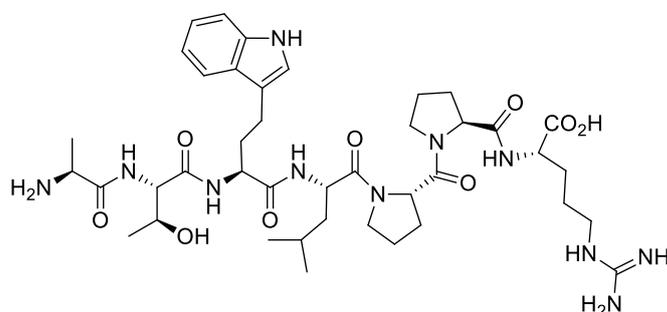


Figure 44. Le peptide ATWLPPR

Giordano *et al.* ont décrit en 2001 un cyclopeptide CPQPRPLC issu du criblage d'une banque de peptides comme étant affiné pour NRP-1.¹⁶³ Ils ont également démontré par des études RMN en variation de température que la liaison entre ligand et récepteur est établie par les acides aminés arginine (R), proline (P) et leucine (L) du ligand. A partir de ces résultats, la même équipe a développé un tripeptide peptidomimétique de cette séquence, _D(LPR), constitué de D-amino acides pour une meilleure stabilité *in vivo* du composé.¹⁶⁴

Barr *et al.* ont développé des peptides de 24 acides aminés basés sur la séquence de l'exon 7 du VEGF pour inhiber la liaison NRP-1/VEGF-A₁₆₅.¹⁶⁵ Jia *et al.* ont également rapporté la

synthèse d'un peptide bicyclique EG3287 ($CI_{50} = 2,8 \mu M$) et ont mis en évidence l'importance de la séquence C-terminale CDKPRR, très proche de la séquence encodée par l'exon 8 du VEGF-A₁₆₅.¹⁶⁶

Simultanément, Von Wronski *et al.* ont décrit la Tuftsine (TKPR, Figure 45) ainsi qu'un homologue (TKPPR) comme inhibiteurs de la liaison NRP-1/VEGF-A ($CI_{50} = 100$ et $46 \mu M$ respectivement).¹⁶⁷ L'homologie de ces deux peptides avec le peptide EG3287 décrit par Jia *et al.* a à nouveau mis en évidence l'importance de la séquence terminale encodée par l'exon 8 du VEGF. Par ailleurs, une structure cristallographique de la Tuftsine complexée avec NRP-1 a été publiée en 2007 par Vander Kooi *et al.*¹⁶⁸ On voit clairement que l'interaction se fait entre la guanidine de l'arginine C-terminale (R4) et les acides aminés W301 et D320 du récepteur, entre le carbonyle de cette arginine et les résidus T349, Y353 et S346 et entre le carbonyle de la lysine et le résidu Y297.

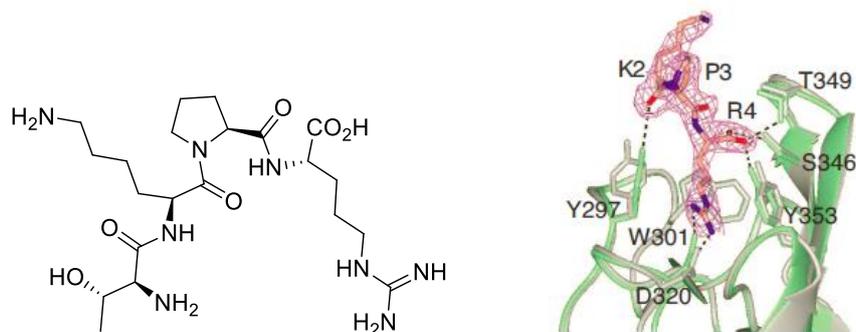


Figure 45. Tuftsine TKPR et sa structure cristallographique dans le récepteur NRP-1¹⁶⁸

En 2009, après criblage d'une banque de peptides, Teesalu *et al.* ont montré que la grande majorité des peptides montrant une affinité pour NRP-1 présentent quasiment tous une arginine (très rarement une lysine) en position C-terminale et plus généralement une séquence terminale de 4 acides aminés de type (R ou K)-X-X-(R ou K), où R est une arginine, K une lysine et X n'importe quel acide aminé.¹⁶⁹ La présence systématique de ce motif, appelée « C-end rule » ou CendR, a été confirmée par la perte d'activité de composés analogues pour lesquels ce motif est modifié (ajout d'un autre acide aminé ou amidation de l'acide carboxylique). Des peptides possédant cette séquence CendR présentent des capacités d'internalisation cellulaire et s'apparentent ainsi à une catégorie de composés appelés CPP (peptides pénétrant les cellules), étudiés dans le cadre du ciblage sélectif de tumeurs.¹⁷⁰ Des études de modélisation moléculaire ont confirmé ces observations et ont permis d'affiner les résultats obtenus, notamment au niveau des deux acides aminés au centre de la séquence (X-X).¹⁷¹

Getz *et al.* ont criblé une banque de peptides riches en ponts disulfure pour identifier des composés affins avec NRP-1 et NRP-2.¹⁷² L'un de ces composés présentant une structure cyclique (cyclotide, figure 46) a montré une bonne affinité pour NRP-1, une résistance accrue envers les protéases et une capacité d'inhibition de la migration des cellules endothéliales ($CE_{50} \approx 100$ nM).

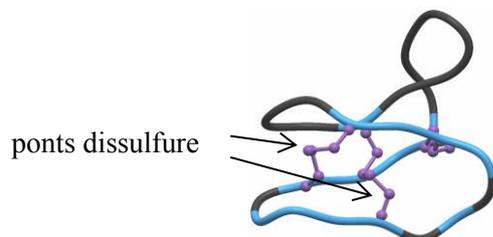


Figure 46. Structure d'un cyclotide

Dernièrement, Liu *et al.* ont rapporté des résultats préliminaires concernant le design et les activités biologiques de petits peptides polymériques antagonistes de la liaison VEGF- A_{165} /NRP-1 ou VEGF-R1.¹⁷³ La structure de ces peptides est similaire aux exons 7 et 8 du VEGF- A_{165} .

I.2.2- Peptidomimétiques et ligands non-peptidiques

Certains peptides ayant montré une instabilité *in vivo*, il semblait intéressant de développer de nouveaux ligands non peptidiques du récepteur NRP-1. Les ligands non peptidiques présentent plusieurs avantages par rapport aux peptides : une meilleure stabilité métabolique et donc une durée d'action plus longue et une structure rigide qui, si elle est en adéquation avec la structure spatiale du récepteur visé, peut être un avantage pour la reconnaissance ligand-récepteur.¹⁷⁴

a- EG00229 et analogues

En 2010, Jarvis *et al.* ont décrit la synthèse de ligands non peptidiques de NRP-1.^{175,176} Plusieurs séries de molécules comportant une arginine C-terminale ancrée à une plate-forme aromatique ont été élaborées. Les plates-formes diphényles, phényles couplés à des cyclohexanes ou furanes n'ont pas montré de bonnes capacités à inhiber la liaison VEGF- A /NRP-1. Par contre, lorsque l'arginine est couplée à un dérivé de thiophène, une inhibition est observée. L'importance de l'arginine pour la reconnaissance avec le récepteur a également été examinée en remplaçant l'arginine *S* par une arginine *R*, ce qui a conduit à une diminution de l'affinité pour le récepteur. Le meilleur composé obtenu, EG00229 (Figure 47), est un dérivé de thiophène portant un groupement benzothiadiazole et fonctionnalisé par l'acide aminé

arginine *via* un lien amide. Ce composé a été conçu par modélisation moléculaire et inhibe la liaison VEGF/NRP-1 avec une CI_{50} de 8 μ M. La co-cristallisation de ce ligand avec NRP-1 montre que l'interaction principale a lieu dans une « poche » où l'arginine est ancrée *via* des liaisons hydrogène et des ponts salins avec les résidus Y297, Y353, T349 et E348 du récepteur (Figure F38). On retrouve deux interactions déjà observées dans la structure cristallographique du complexe NRP-1/tuftsine (Tableau 12).

Tuftsine	W301	D320	T349	Y353	S346
EG00229	Y297	E348	T349	Y353	

Tableau 12. Résidus de NRP-1 impliqués dans la liaison avec la Tuftsine et EG00229

D'autre part, la structure cristallographique a également mis en évidence une rigidification de la structure par l'établissement d'une liaison hydrogène intramoléculaire. Les auteurs considèrent cette rigidification comme essentielle pour l'affinité de ce ligand avec NRP-1.

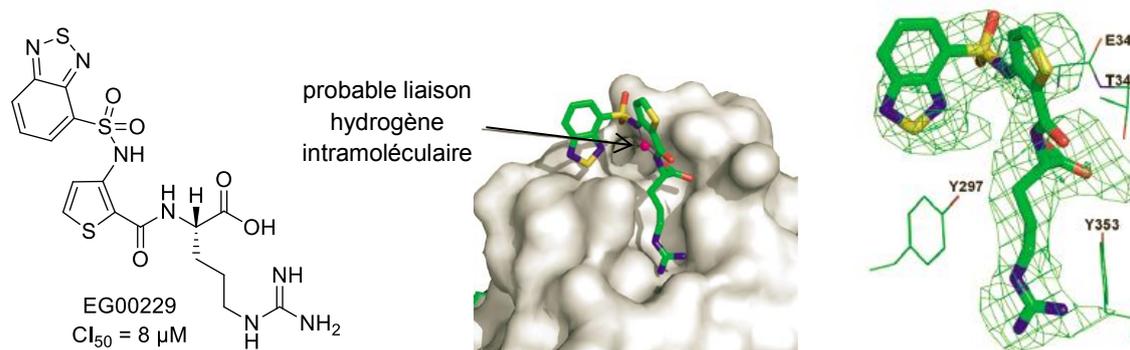


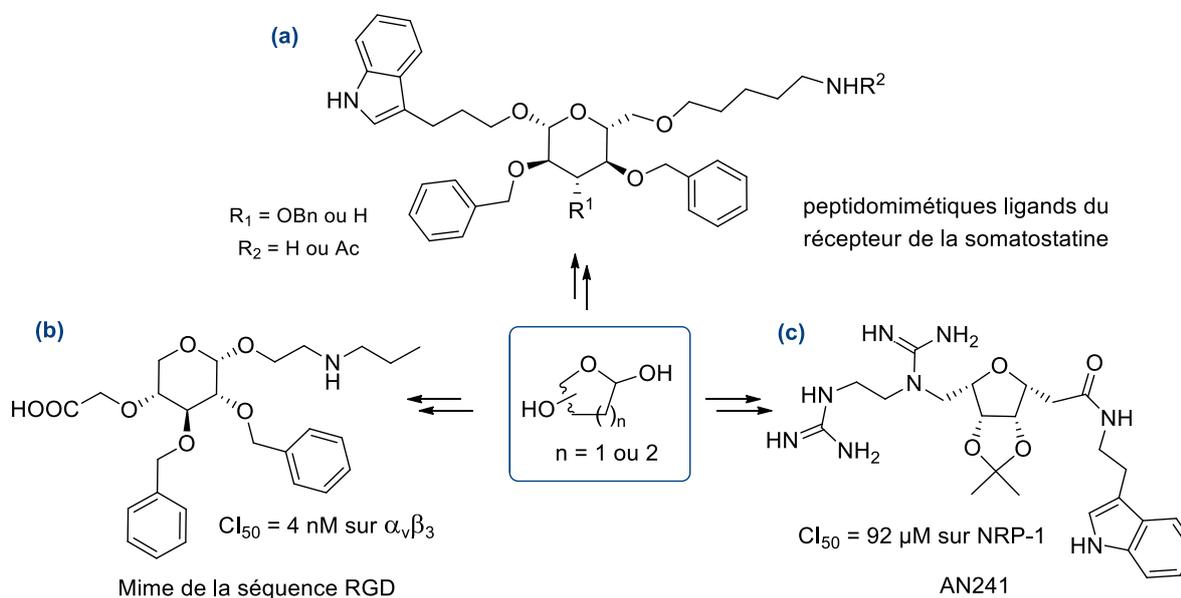
Figure 47. Structure cristalline de EG00229 et NRP-1¹⁷⁵

b- Peptidomimétiques basés sur une plate-forme glucidique

Les dérivés saccharidiques sont des plates-formes intéressantes du fait de leur rigidité, de leur stabilité due à l'absence de liaison peptidique et de leur multifonctionnalité due aux fonctions hydroxyles. Ces hydroxyles peuvent servir à répartir différentes fonctions dans l'espace selon une direction bien précise et à moduler, si nécessaire, la biodisponibilité du ligand.

Les premiers exemples de l'utilisation de dérivés saccharidiques pour la conception de peptidomimétiques et de molécules bioactives en général datent de 1992, lorsque Hirschmann *et al.* ont développé des ligands du récepteur de la somatostatine.¹⁷⁷ Les composés synthétisés présentaient une bonne affinité pour le récepteur (Figure 48, a).

Chapleur *et al.* ont également développé des mimes de peptides basés sur des plate-formes saccharidiques, notamment des mimes de la séquence RGD (b). Une librairie de composés présentant des activités inhibitrices sur les intégrines $\alpha_v\beta_3$ a ainsi été élaborée.¹⁷⁸ Plus récemment, le groupe s'est intéressé à la conception de peptidomimétiques du récepteur NRP-1. Le choix des bras ancrés sur le ligand a été fait à partir de la structure de l'heptapeptide ATWLPPR, et notamment en étudiant les substituants des chaînes latérales. Ainsi, l'arginine a été remplacée par différents mimes de fonction guanidine, le tryptophane par un indole et la leucine par un isopropylidène (c). Le composé AN241, construit sur une plate-forme centrale de type C-glycoside (D-gulo) présentant un 4,5-isopropylidène, un bras tryptamine et un autre bras di-guanidinylé a montré une bonne affinité pour NRP-1 ($CI_{50} = 92 \mu M$).²⁸



- (a) peptidomimétiques de la somatostatine développés par Hirschmann *et al.*¹⁷⁷
 (b) peptidomimétiques de la séquence RGD^{178a}
 (c) peptidomimétiques du VEGF-A₁₆₅²⁸

Figure 48. Peptidomimétiques saccharidiques

Si l'on compare les structures des produits AN241 et EG00229, on remarque des similitudes. Les deux composés sont structurés autour d'une plate-forme centrale présentant un groupement aromatique et une arginine ou un mime d'arginine (Figure 49). Ces deux molécules étaient les premiers composés peptidomimétiques ligands du récepteur NRP-1 décrits dans la littérature.

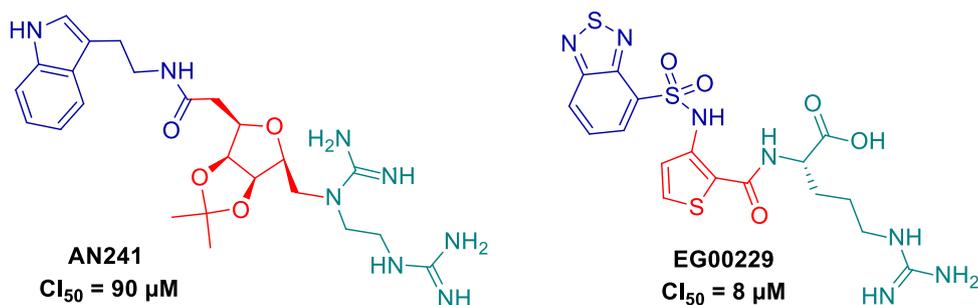


Figure 49. AN241 et EG00229

c- Ligands totalement non peptidiques

Plus récemment, Garbay *et al.* ont développé une nouvelle approche pour la conception de ligands de NRP-1.¹⁷⁹ La première étape consiste à cribler une chimiothèque de composés (Chembridge) pour sélectionner des molécules potentiellement affines avec le récepteur. Dans un deuxième temps, des tests d'inhibition de la liaison NRP-1/VEGF-A₁₆₅ pour une concentration de 10 μM en ligand ont été réalisés. Les CI_{50} des meilleurs composés ont ensuite été évaluées *in vitro* sur des cellules HUVEC et MDA-MB-231 pour isoler le meilleur composé. Cette méthodologie a ainsi permis l'identification d'un nouveau composé « hit » (composé G1, Figure 50).

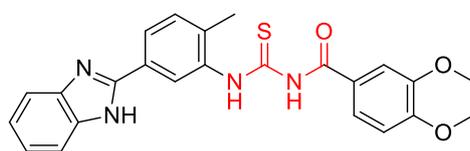


Figure 50. Molécule « hit » isolée par Garbay *et al.*¹⁷⁹ (composé G1)

Cette molécule a été comparée au composé EG00229 par différents tests biologiques (Tableau 13). Les calculs de CI_{50} et les tests de prolifération et de viabilité des cellules HUVEC et MDA-MB-231 montrent une meilleure affinité du composé G1, on remarque cependant que les valeurs obtenues pour les tests d'inhibition de la liaison VEGF-A/NRP-1 ou NRP-2 montrent une meilleure affinité du composé EG00229. En ce qui concerne l'inhibition de la liaison VEGF-A/NRP-1, la CI_{50} est de 34 μM pour le composé G1 et de 16 μM pour EG00229.

	EG00229	G1
HUVEC	160	0,2
MDA-MB-231	162	0,6
btVEGF-A ₁₆₅ /NRP-1	16	34
btVEGF-A ₁₆₅ /NRP-2	18	35

Tableau 13. Les différents CI₅₀ pour EG00229 et G1 (valeurs en µM)

Contrairement à tous les ligands décrits jusqu'à présent, ce nouveau composé ne présente pas d'arginine ou de mime d'arginine. Néanmoins, après docking de cette molécule à la surface de NRP-1, il a été mis en évidence que les interactions entre le ligand et le récepteur sont similaires à celles observées sur la structure cristallographique du complexe EG00229/NRP-1. En effet, le ligand G1 est ancré par les résidus Y297, Y353 et T349 du récepteur (Figure 51), comme c'est le cas pour EG00229. Une interaction additionnelle avec D320 est aussi observée mais les deux molécules ont globalement un mode de liaison similaire avec NRP-1.

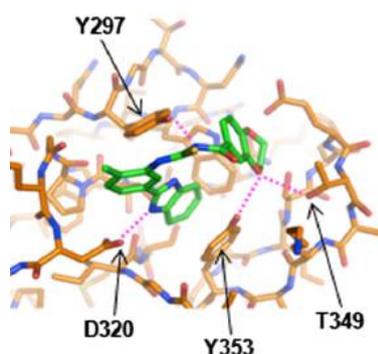


Figure 51. Composé G1 docké à la surface de NRP-1¹⁷⁹

Pour aller plus loin dans l'étude des relations structure-activité, l'équipe de Garbay a synthétisé et testé des dérivés du composé G1 (Figure 52).¹⁸⁰ Pour la série a, le groupe central carboxy-thiourée a été conservé et des modulations ont été apportées au niveau des groupements aromatiques de la molécule. Les séries b et c présentent un groupement central modifié, une thiourée pour les molécules de la série b et une carboxy-urée pour les molécules de la série c. Parmi ces nouvelles séries, seuls les composés de la série a se sont montrés intéressants pour la reconnaissance avec NRP-1, ce qui montre l'importance de la liaison centrale carboxythiourée. L'importance de ce groupement central a également été étudiée par des méthodes de calcul *ab initio* de chimie quantique.¹⁸¹

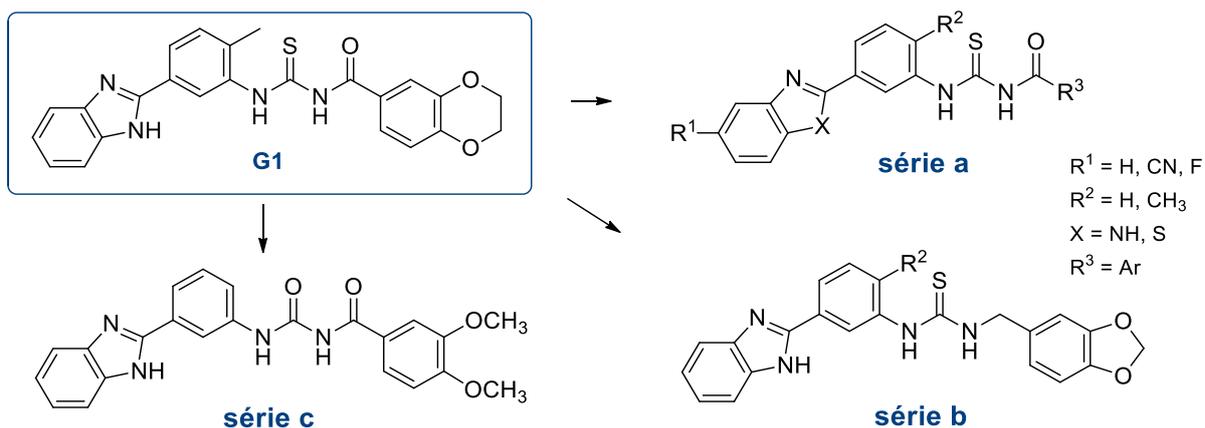


Figure 52. Dérivés du composé G1

En criblant la même banque de composés (Chembridge), Starzec *et al.* ont récemment identifié d'autres composés totalement non peptidiques et inhibant la liaison VEGF-A₁₆₅/NRP-1.¹⁸² Le ligand le plus affiné (composé 3.10, figure 53) possède une affinité similaire à ATWLPPR ($K_i = 7,3 \mu\text{M}$ contre $5,2 \mu\text{M}$ pour ATWLPPR). Les études de docking réalisées sur ce composé ont montré que l'interaction entre ligand et récepteur impliquait notamment les résidus Y353, D320 et W301, également observés pour la tuftsine, EG00229 ou les composés de Garbay *et al.*

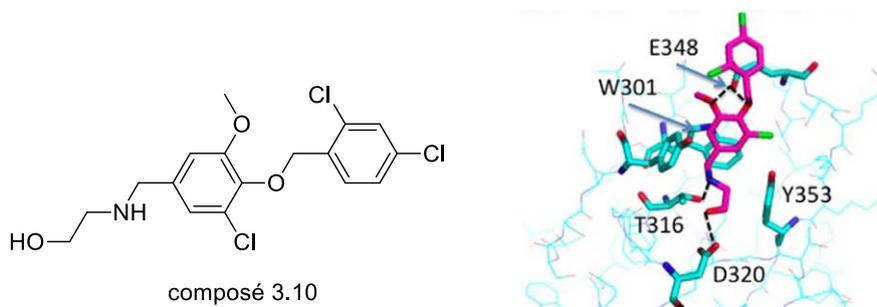


Figure 53. Le composé 3.10 identifié par Starzec *et al.*¹⁸²

I.3- Rôle potentiel de NRP-1 dans la thérapie et le diagnostic du cancer

NRP-1 présente un potentiel thérapeutique intéressant lié à sa surexpression dans l'environnement des tumeurs. Dans ce contexte, des essais cliniques exploitent actuellement des approches anti-angiogéniques visant à inhiber la liaison VEGF-A/NRP-1.¹⁸³

Au-delà d'une action anti-angiogénique directe, des ligands de NRP-1 peuvent également être utilisés en tant que ligands d'adressage de photosensibilisants, de molécules actives ou de sondes pour l'imagerie moléculaire. Le ligand a alors pour rôle de conduire ces sondes vers les

zones tumorales où NRP-1 est surexprimé (Figure 54). Par exemple, si le ligand est lié à une sonde moléculaire, cibler NRP-1 devient un outil de diagnostic.

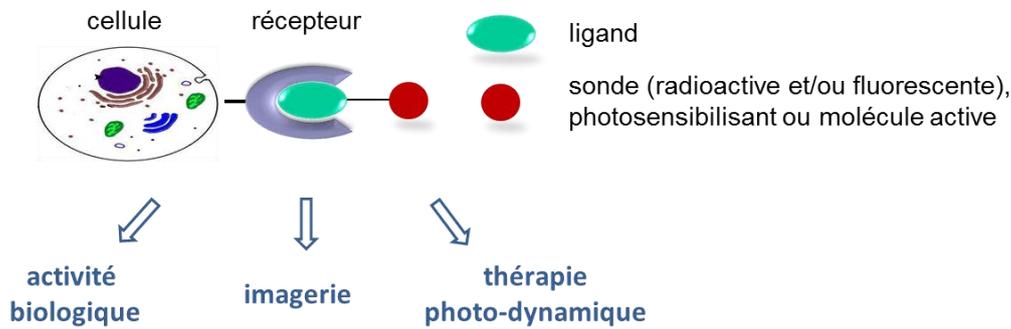


Figure 54. Les différentes finalités du ciblage de NRP-1

Des anticorps monoclonaux et des peptides sont actuellement étudiés dans le cadre de l'utilisation de NRP-1 pour traiter ou diagnostiquer des cancers.

I.3.1- Anticorps anti-NRP-1

Des anticorps monoclonaux ont été développés pour cibler les trois domaines extra-cellulaires de NRP-1, permettant ainsi de bloquer des fonctions spécifiques du récepteur.¹⁸⁴ Par exemple, associés à une chimiothérapie anti-VEGF conventionnelle, des anticorps anti-NRP-1 spécifiques au domaine b1/b2 ont démontré chez des souris des propriétés d'inhibition de l'angiogenèse et de la croissance tumorale, comme le montrent les images de microscope confocal de la vascularisation des tumeurs obtenues avec ou sans ces anticorps (Figure 55).¹⁸⁵ L'un d'entre eux, MNRP1685A, est en cours d'essais cliniques (phase I) et a notamment montré des capacités à bloquer l'interaction VEGF/NRP-1 et à améliorer l'action du bevacizumab, un anticorps anti-VEGF.¹⁸³

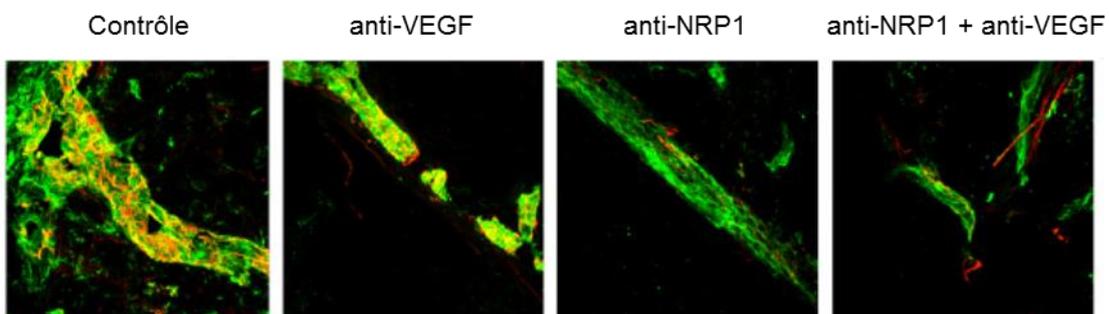


Figure 55. Images de microscope confocal de vaisseaux dans des tumeurs traitées avec des anticorps (anti-NRP1, anti-VEGF) par rapport au contrôle^{185a}

I.3.2- Peptides pénétrant les cellules

Actuellement, une autre voie d'utilisation de NRP-1 pour la thérapie est le développement de peptides affins avec NRP-1 et pouvant pénétrer dans les cellules (cell-penetrating peptides ou CPP).¹⁷⁰

Teesalu *et al.* ont montré que le peptide RPARPAR fixé sur des quantum dots (QD) permettait aux QD de se fixer et d'être internalisés par des cellules cancéreuses (cancer de la prostate).¹⁶⁹ Plus récemment, la même équipe a décrit le peptide CGNKRTR et ses propriétés pour délivrer spécifiquement des agents thérapeutiques et de diagnostic dans des cellules cancéreuses.¹⁸⁶ Karjalainen *et al.* ont également utilisé des CPP en tant qu'agents permettant d'amener des molécules actives à l'intérieur de cellules spécifiques, impliquées dans des leucémies. Testé sur une lignée cellulaire de leucémie, un peptide composé d'un agent de ciblage de NRP-1 (le peptide CGFYWLRSC) couplé à une séquence pro-apoptotique $D(KLAKLAK)_2$ a ainsi conduit à une forte diminution de la viabilité des cellules cibles.¹⁶⁰

Dans le même esprit, Liang *et al.* ont décrit l'emploi de nanoparticules d'or couplées à deux types de peptides différents, l'un d'entre eux ayant un rôle thérapeutique (p12) et l'autre un rôle de ciblage sélectif de NRP-1 (CRGDK).¹⁸⁷ Ils ont montré que l'interaction entre NRP-1 et le ligand de ciblage augmentait l'internalisation des nanoparticules et améliorait la distribution des peptides thérapeutiques dans la cellule (Figure 56).

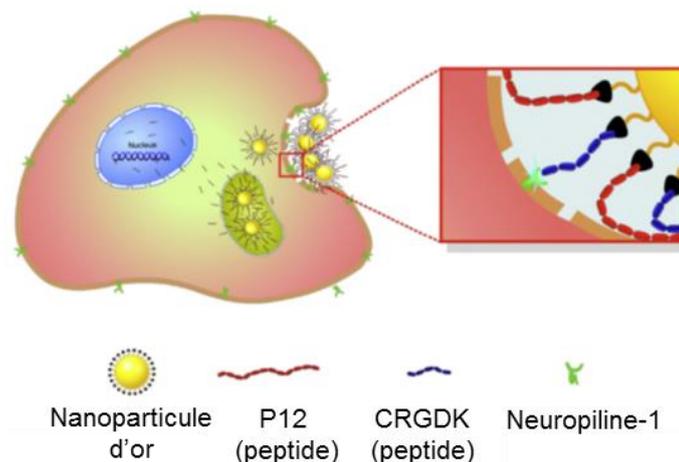


Figure 56. Représentation schématique du mode d'action des nanoparticules fonctionnalisées

Très récemment, une publication a rapporté la fonctionnalisation de la surface de micelles par un CPP de séquence CRPPR.¹⁸⁸ L'effet de ces composés sur l'angiogenèse dans le cas d'une tumeur du sein a ainsi pu être suivie par imagerie moléculaire par ultrasons.

I.3.3- ATWLPPR

L'équipe de biologistes du Pr. Muriel Barberi-Heyob avec laquelle nous collaborons a rapporté un essai de ciblage de NRP-1 pour une utilisation en thérapie photodynamique (TPD).¹⁸⁹ Les traitements anti-cancéreux par TPD reposent sur la génération localisée de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO), cytotoxiques par irradiation. En 2007, cette équipe a publié une étude *in vivo* et *in vitro* du ligand peptidique ATWLPPR couplé à un photosensibilisant (TPC) *via* un espaceur (Ahx, Figure 57). L'étude *in vivo* ayant montré une hydrolyse de la liaison peptidique entre l'alanine et la thréonine, ATWLPPR a été remplacé par un pseudopeptide pour lequel ce lien est remplacé par une liaison amine plus stable.¹⁹⁰ Avec ce composé, aucune dégradation *in vivo* n'a été constatée. Les auteurs ont également démontré que l'internalisation des conjugués dans la cellule était meilleure par rapport à l'internalisation de la chlorine non couplée au pseudopeptide, mettant ainsi en avant le rôle essentiel de NRP-1.

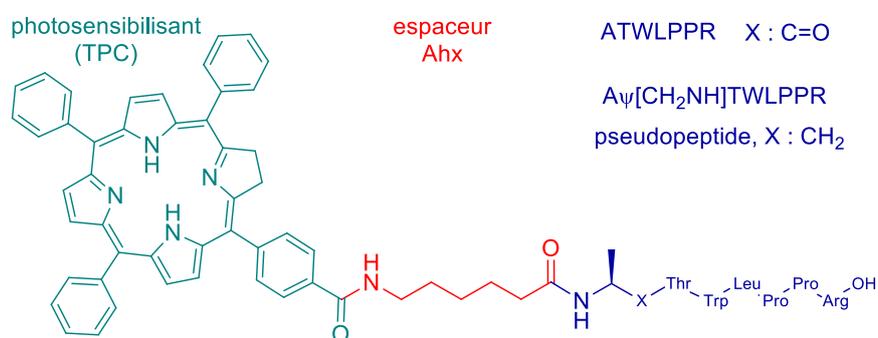


Figure 57. ATWLPPR ou analogue couplé à une chlorine (TPC)

Un système constitué d'un ligand de NRP-1 et d'une sonde médicale forme une sonde moléculaire spécifique. Ainsi, coupler un ligand affiné à NRP-1 avec une sonde utilisable en TEP, en IRM ou en imagerie de fluorescence permet de détecter et de localiser des tumeurs de façon précoce ou de suivre l'évolution de ces tumeurs durant un traitement. Dans ce cadre, en 2004, une étude a fait état du marquage d'ATWLPPR au Technétium 99m. Ce marquage est permis par le couplage d'un groupement S-benzoyle-mercaptoacétyle sur l'alanine d'ATWLPPR et la formation du complexe tétradentate SNNN a ensuite lieu par ajout de ⁹⁹TcO₄Na en milieu basique (Schéma 79). Cependant, la trop faible affinité du complexe pour

le récepteur n'a pas permis d'obtenir des images de qualité suffisante pour être exploitées en scintigraphie.^{161b}

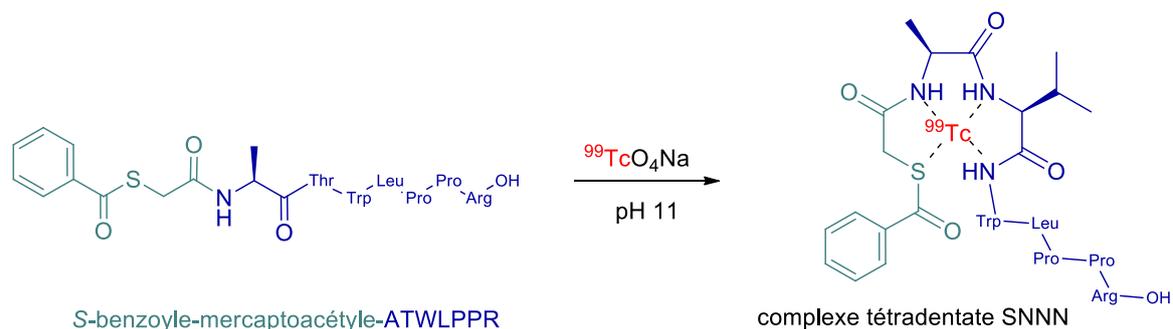


Schéma 79. Formation du complexe ^{99}Tc -mercaptopéptide-ATWLPPR

Plus récemment, Barberi *et al.* ont décrit la synthèse et l'évaluation biologique d'un autre système hybride.¹⁹¹ Il était composé de nanoparticules fonctionnalisées par le peptide ATWLPPR, un photosensibilisant (chlorine) et des groupes DOTA (macrocyces azotés chélatants du Gadolinium) pour une utilisation en thérapie photodynamique couplée à l'IRM.

II- Objectifs

Le ciblage de NRP-1 pour traiter et diagnostiquer certains cancers est expérimenté à l'heure actuelle. Dans cette optique, l'objectif de notre travail est double : il s'agira tout d'abord de poursuivre le développement de ligands capables de se lier à NRP-1 de façon spécifique, et dans un second temps de coupler le ou les meilleurs ligands à une sonde utilisable en imagerie moléculaire.

Pour atteindre le premier objectif, nous nous sommes dans un premier temps inspirés des travaux développés lors de la thèse d'A. Novoa et nous avons envisagé une génération de molécules analogues à AN241. Ensuite, en s'appuyant sur le savoir-faire du laboratoire concernant l'utilisation de sucres comme plates-formes fonctionnalisables, nous proposons d'élaborer de nouvelles plates-formes d'accès aisé comportant une structure plus ou moins rigide.

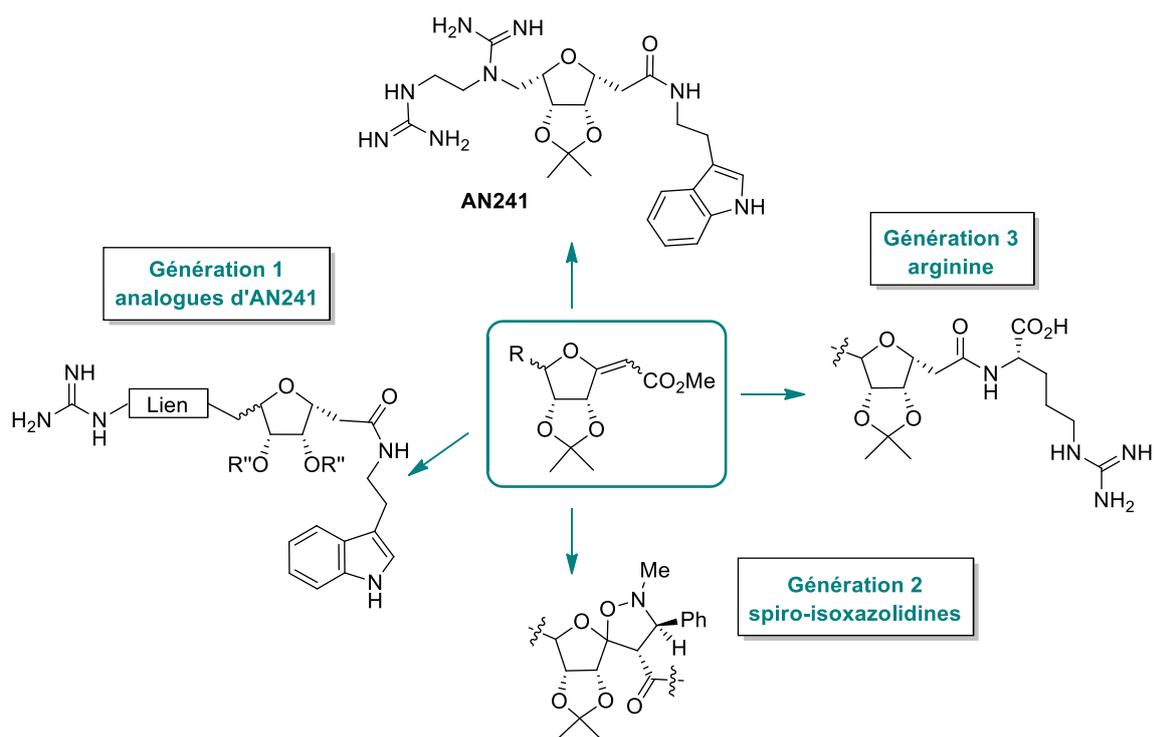


Schéma 80. Les différentes générations de ligands envisagées

Pour étudier l'influence de la disposition spatiale des groupements ancrés sur le sucre, deux configurations différentes de l'entité saccharidique seront étudiées. La configuration *trans* obtenue à partir d'un précurseur *D-ribo* présente les groupements portés par les carbones C-3 et C-6 dans des directions opposées alors que la configuration *cis* obtenue à partir d'un précurseur

D-*gulo* présente ces groupements dans la même direction de l'espace (Schéma 81). Nous garderons cette dénomination dans la suite du manuscrit.

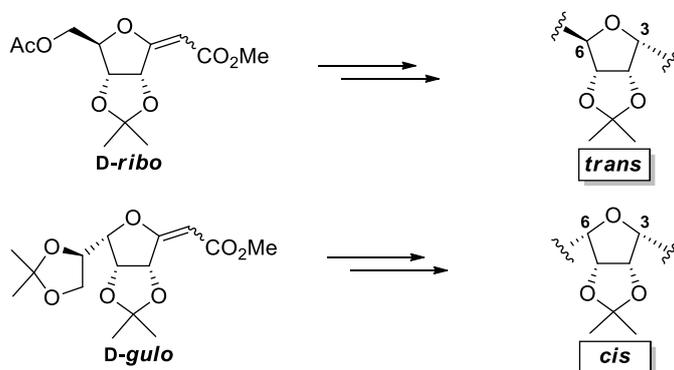


Schéma 81. Les deux configurations de la plate-forme saccharidique

Le développement des ligands sera en partie guidé par des études de modélisation moléculaire menées en amont pour l'élaboration de composés plus affins. Les propriétés biologiques de tous les composés synthétisés seront évaluées par des tests ELISA. La CI_{50} , la sélectivité vis-à-vis de NRP-1 ainsi que les propriétés anti-angiogéniques seront évaluées par des tests complémentaires pour les composés les plus affins.

Le deuxième objectif de cette étude sera de coupler le(s) ligand(s) le(s) plus affin(s) avec une sonde utilisable en imagerie moléculaire et en particulier avec un émetteur de positons détectable en TEP. L'idée est de valider le concept d'utilisation de nos ligands en tant que traceurs pour l'imagerie médicale.

III- 1^{ère} génération : analogues d'AN41

Pour cette première génération de molécules, nous nous sommes basés sur la structure d'AN241 et des ligands présentant des variations à partir de cette structure ont été élaborés (Schéma 82). Dans un premier temps, l'espacement entre les deux guanidines a été modulé de 3 à 5 carbones. Ensuite, le remplacement d'une des guanidines par un triazole a été étudié. De plus, l'importance du groupement 4,5-isopropylidène a été examinée en préparant des produits portant un diol en 4,5. Enfin, un analogue d'AN241 de configuration *trans* a été synthétisé. Tous ces changements devraient permettre de rationaliser l'importance de la configuration de la plate-forme centrale et des différents groupements pour la reconnaissance avec le récepteur.

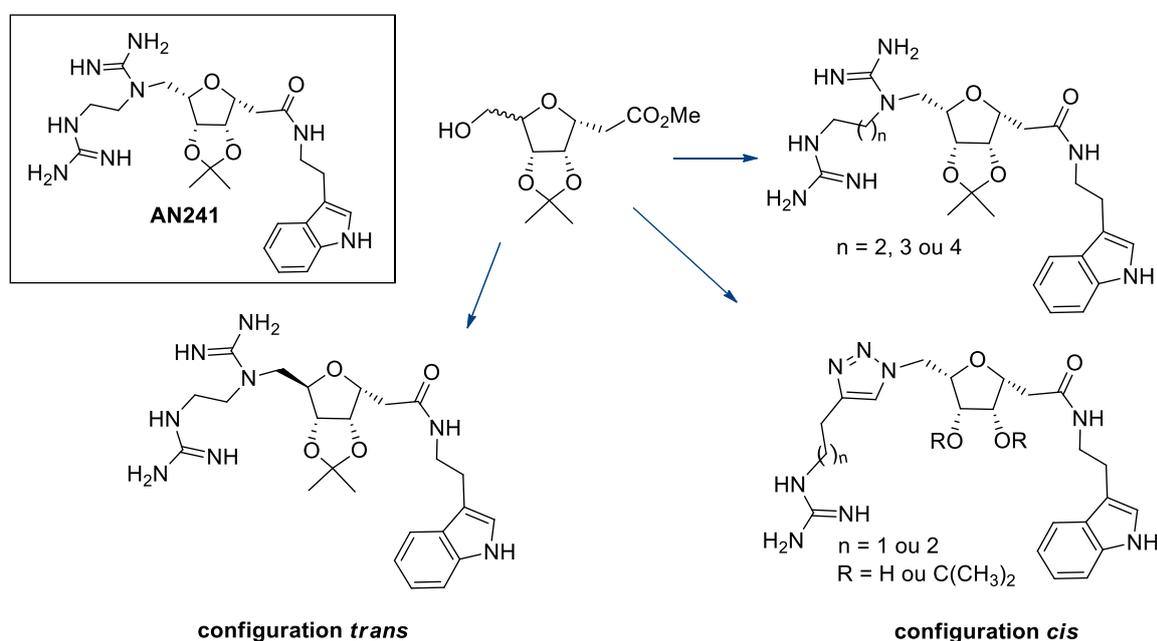


Schéma 82. Les variations envisagées à partir d'AN241

III.1- Plate-forme saccharidique de configuration *cis*

III.1.1- Conservation du bras di-guanidinylé

Les premières étapes de synthèse, communes avec la synthèse d'AN241, sont développées dans la thèse d'Alexandre Novoa.¹⁴¹ L'*exo*-glycal **1** de configuration D-*gulo* (*E* et *Z*) a été réduit par emploi de palladium sur charbon (10% w/w), le rendement de la réaction est dépendant de la configuration de la double liaison du produit de départ (Schéma 83) et un seul anomère de configuration α est obtenu. Cette sélectivité de la réduction de la double liaison est due à l'encombrement stérique très important sur la face α qui empêche le catalyseur de

s'approcher de cette face et qui conduit à la formation de l' α -glycoside **133**. L'ester méthylique du produit **133** a ensuite été saponifié par traitement avec LiOH dans un mélange THF/H₂O et l'acide **134** obtenu a été couplé avec la tryptamine selon un mode opératoire classique pour conduire au composé **135** avec un excellent rendement. L'isopropylidène exocyclique a été clivé par action de l'acide chlorhydrique (1N) dans le méthanol, le diol obtenu a ensuite été traité par NaIO₄ dans le méthanol et l'aldéhyde correspondant a été réduit par NaBH₄ dans le méthanol à 0°C. L'alcool primaire obtenu a ensuite été transformé en tosylate par action du chlorure de tosyloyle et de triéthylamine en présence de 4-diméthylamino-pyridine (DMAP). Le tosylate **136** souhaité est finalement obtenu avec un bon rendement de 65% en 4 étapes.

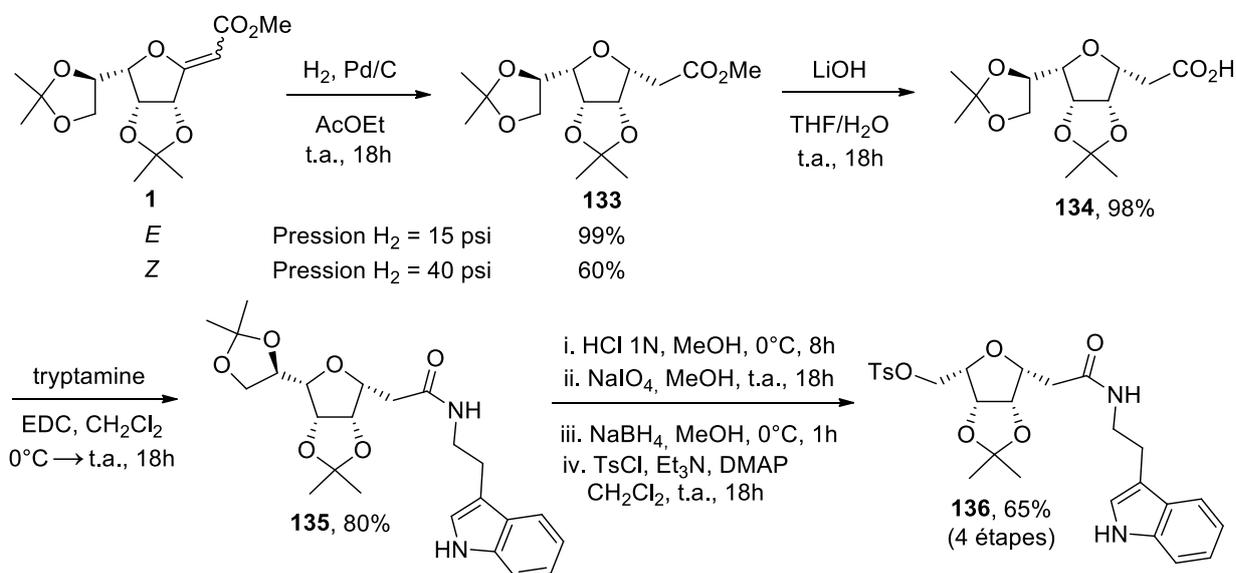


Schéma 83. Préparation du tosylate **136**

L'introduction du bras aminé avait été précédemment décrite par une réaction d'amination réductrice,^{28,141} mais nous avons choisi ici de passer par une réaction de substitution nucléophile afin d'améliorer les rendements et faciliter la purification de ces produits. Pour cela, le composé **136** a été mis en réaction avec différentes diamines commerciales dans l'éthanol en réacteur scellé (Schéma 84). Les trois amines choisies présentent une chaîne carbonée variable de 3 à 5 carbones entre les deux fonctions amines et l'une des deux fonctions amine est protégée par un benzyloxycarbonate. La substitution nucléophile a conduit aux 3 produits **137-139** souhaités avec de bons rendements et l'amine primaire de ces composés a ensuite été déprotégée par Pd/C sous atmosphère d'hydrogène.

Pour éviter l'emploi du sel de mercure HgCl_2 décrit pour la synthèse d'AN241, la guanidinylation a été tentée avec la *N,N'*-di-benzyloxycarbonyl-*N''*-triflylguanidine, mais seul le produit de guanidylation de l'amine primaire a été obtenu. Les diamines obtenues ont donc été traitées avec la *N,N'*-di-cbz-*S*-methylisothiourée en présence de HgCl_2 et de triéthylamine dans le DMF. Les composés di-guanidinylés **140-142** ont été obtenus avec des rendements très moyens et ont ensuite été déprotégés par un protocole classique pour conduire aux produits finaux **143-145** avec de bons rendements. La déprotection de l'isopropylidène en 4,5 de ces composés a été tentée mais les diols correspondants n'ont pas été obtenus.

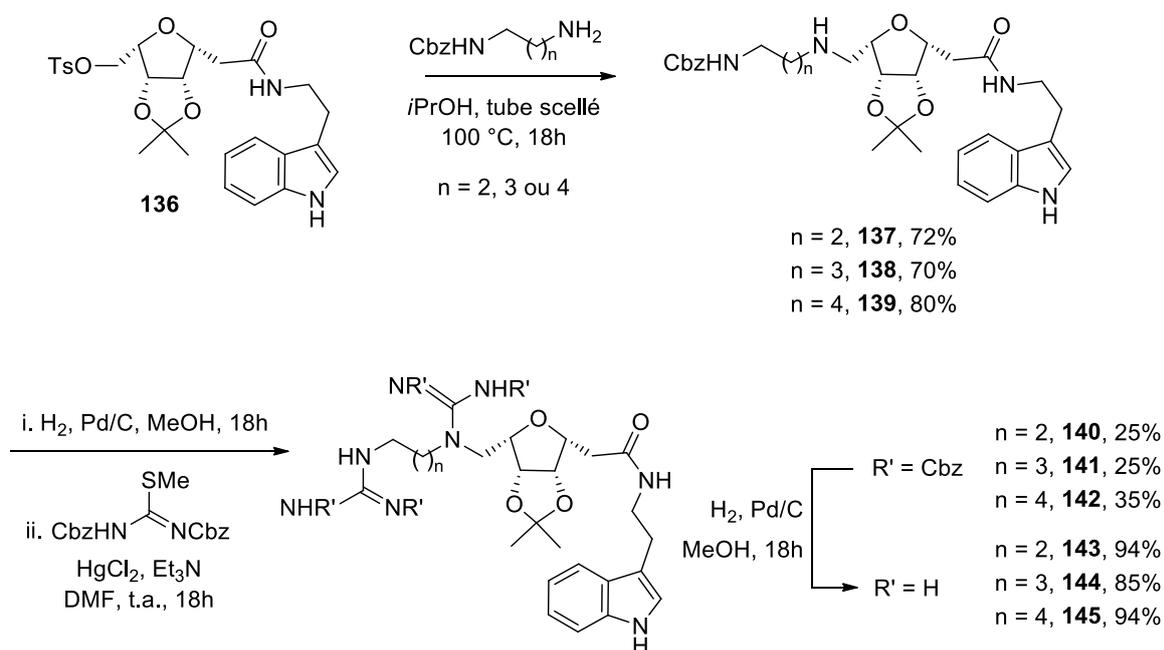


Schéma 84. Substitution nucléophile et guanidinylation

Nous avons obtenu 3 nouveaux produits présentant un bras porteur d'un groupement indole et un bras di-guanidinylé pour lequel l'espacement entre les guanidines varie entre 3 et 5 carbones. La comparaison de l'affinité de ces produits avec celle d'AN241 devrait donc nous apporter des informations sur l'importance de l'espacement entre les deux guanidines pour la reconnaissance avec le récepteur NRP-1.

III.1.2- Lien triazole

La formation de triazole par réaction de click-chemistry pour la préparation de composés actifs est particulièrement développée du fait des nombreux avantages de ce lien chimique.¹⁹² En effet, les triazoles sont des fonctions rigides et bioisostères de fonctions amides qui peuvent former des interactions dipôle-dipôle ou des liaisons hydrogène, ce qui est potentiellement

intéressant pour l'établissement d'interactions avec une cible biologique d'intérêt. De plus, ces fonctions sont plus stables que les liens amides et sont presque impossibles à oxyder ou à réduire. Il semblait donc intéressant de préparer des ligands comportant cette fonction.

Pour la préparation des dérivés comportant une unité triazole, les alcynes guanidinylés partenaires, protégées sous forme benzyloxycarbone, ont tout d'abord été synthétisés par réaction de Mitsunobu (Schéma 85). Les composés **146** et **147** ont été obtenus avec des rendements de 92 et 89%.

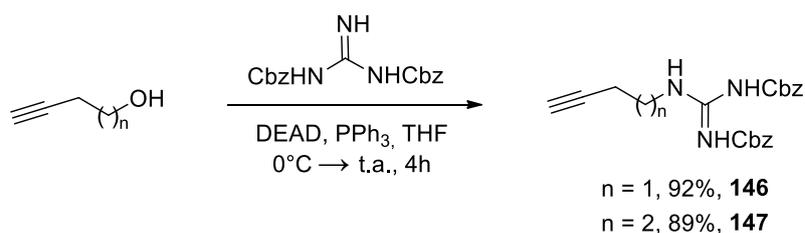


Schéma 85. Synthèse des alcynes **146** et **147**

Le composé **148** portant un azide en position C-7 a été obtenu *via* substitution du tosyle par NaN_3 (Schéma 86) et mis en réaction de cycloaddition type Huisgen avec des alcynes guanidinylés préalablement synthétisés. Les solvants classiques (eau, alcools) utilisés pour cette réaction ne permettaient pas une bonne solubilisation des deux partenaires azide et alcyne, un mélange dichlorométhane/eau a donc été employé.¹⁹³ Les triazoles **149** et **150** ont été obtenus avec de bons rendements et les guanidines ont été déprotégées par emploi de Pd/C sous atmosphère d'hydrogène. Les composés **151** et **152** ont ainsi été obtenus avec d'excellents rendements.

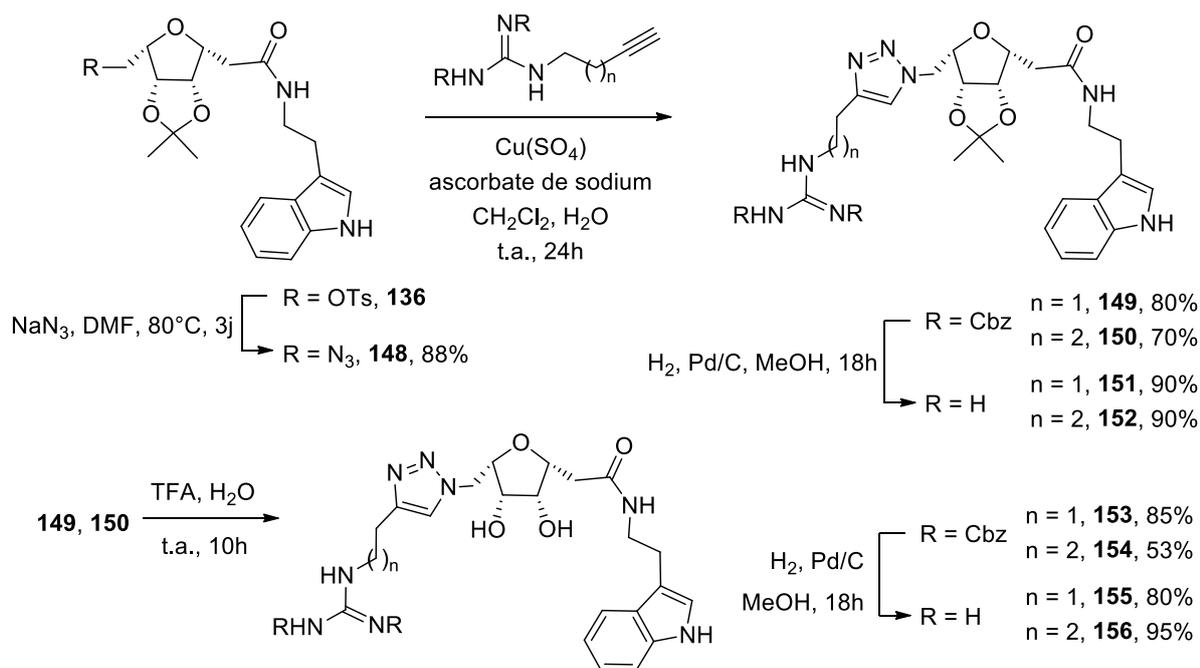


Schéma 86. Préparation des dérivés triazoles

Enfin, pour étudier l'influence de l'isopropylidène en 4,5 nous avons choisi de synthétiser les homologues déprotégés des composés **151** et **152**. Pour cela, l'isopropylidène a d'abord été clivé par un traitement avec l'acide trifluoroacétique dans l'eau, et les guanidines des diols **153** et **154** ont ensuite été déprotégées par Pd/C sous atmosphère d'hydrogène dans le méthanol. Les composés **155** et **156** complètement déprotégés ont été obtenus avec de très bons rendements.

III.2- Plate-forme saccharidique de configuration *trans*

Un stéréoisomère de AN241 basé sur une plate-forme centrale de configuration *trans* a également été synthétisé. Des essais préliminaires pour réaliser la synthèse de ce composé à partir d'un sucre protégé sous forme de méthoxyméthyle (MOM) ont été réalisés. Cependant, il n'a pas été possible de cliver sélectivement le groupement MOM, l'isopropylidène étant également déprotégé. Pour pallier ce problème, une protection acétate a été choisie.

Dans un premier temps, la double liaison de l'*exo*-glycal **9-Z** a été réduite par hydrogénation catalytique selon le protocole mis au point précédemment, le C-glycoside **157** a été obtenu avec un rendement de 85% (Schéma 87). L'hydroxyle en C-7 a ensuite été déprotégé par réaction de Zemplén puis protégé sous forme d'éther silylé, **158** a été obtenu avec un excellent rendement de 97% sur ces deux étapes. L'ester méthylique de ce produit a été saponifié et

l'acide carboxylique **159** obtenu a ensuite été couplé à la tryptamine avec EDC dans le dichlorométhane. Le produit couplé **160** a été obtenu avec un rendement de 80%. L'éther silylé en C-7 a ensuite été clivé par emploi de fluorure de tétra-*n*-butylammonium (TBAF) et d'imidazole dans le DMF. L'alcool **161** a été tosylé et une réaction de substitution nucléophile avec l'amine appropriée dans l'éthanol a conduit au produit **163** avec un rendement de 82%. L'amine primaire de ce composé a été déprotégée par Pd/C sous atmosphère d'hydrogène et les 2 amines du composé obtenu ont été guanidinylées. Enfin, la déprotection des 2 fonctions guanidines a conduit au composé attendu **165**, stéréoisomère de AN241.

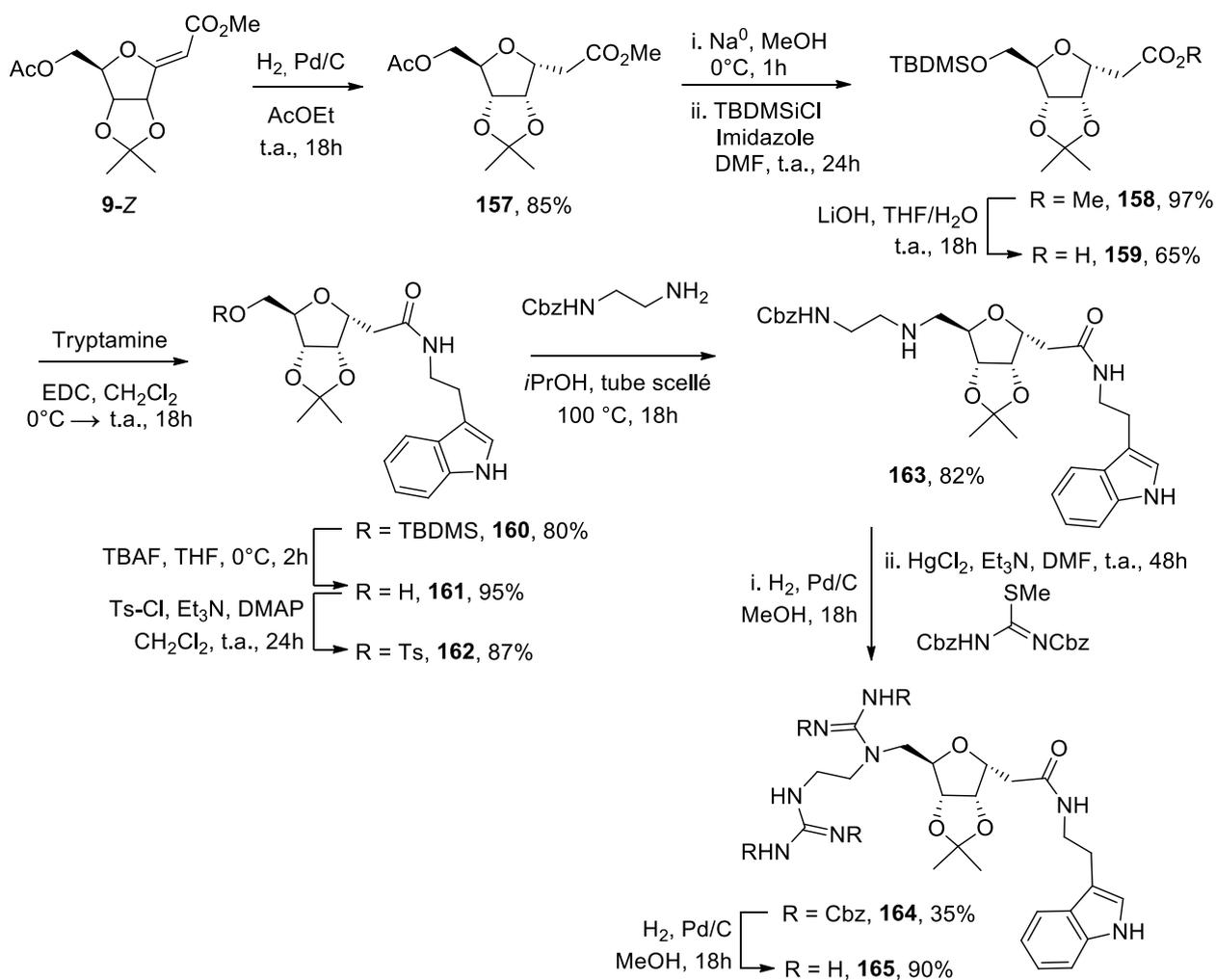


Schéma 87. Préparation de **165**, stéréoisomère de AN241

III.3- Conclusion

Des analogues d'AN241 ont été préparés en modulant l'espacement entre fonctions guanidines, la nature du lien chimique entre unité saccharidique centrale et bras guanidinylé et la configuration de la plate-forme centrale. 8 nouvelles molécules présentant un bras porteur d'un

groupement indole et un bras mono- ou diguanidinylé ont été obtenues. L'affinité de ces nouvelles molécules pour le récepteur NRP-1 a été évaluée et les résultats sont donnés en détail dans le paragraphe VI.

IV- 2^{ème} génération de ligands : spiro-isoxazolidines

Pour cibler le récepteur NRP-1, l'emploi d'une plate-forme plus rigide a également été envisagé. Cette plate-forme doit disposer de points de diversité moléculaire et être d'accès aisé. A ce titre, les réactions de cycloadditions avec des nitrones sont particulièrement adaptées aux *exo*-glycols, comme cela a été montré antérieurement au laboratoire. Les intérêts de cette plate-forme sont multiples. Pour commencer, divers points de fonctionnalisation peuvent être apportés par la partie saccharidique de la plate-forme, *via* l'ester méthylique et les différents hydroxyles. De plus, on peut utiliser des sucres de différentes configurations et des nitrones portant différents types de groupes chimiques afin d'apporter de la diversité moléculaire.

Le premier objectif a donc été de mettre au point des méthodes chimiques permettant de fonctionnaliser la plate-forme saccharidique. Ces méthodes de synthèse ont ensuite été appliquées à la préparation molécules potentiellement affines avec le récepteur NRP-1.

IV.1- Synthèse de la plate-forme spiro-isoxazolidine

La réaction de cycloaddition nitrone/*exo*-glycol a été développée dans le groupe au cours de la thèse de G. Enderlin.^{32,194} Dans notre cas, nous avons choisi de travailler avec les sucres *D-ribo* et *D-gulo* pour explorer deux dispositions spatiales différentes (partie I, Schéma 88). La cycloaddition a uniquement été réalisée à partir des *exo*-glycols de configuration *Z*. En effet, on ne peut pas isoler l'*exo*-glycol **9-E** après la réaction de Wittig et la réaction à partir de l'*exo*-glycol **1-E** conduit à deux spiro-isoxazolidines inséparables.

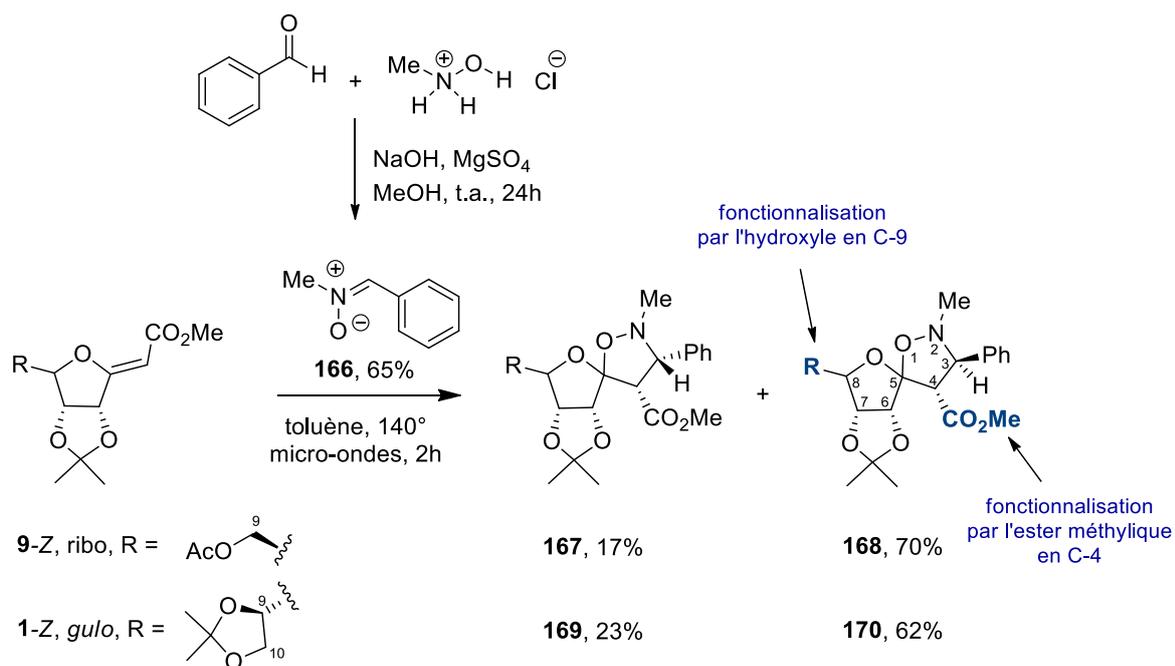


Schéma 88. Synthèse des isoxazolidines **167-170**

On retrouve un groupement aromatique dans tous les ligands connus du récepteur NRP-1, la nitron **166** a donc été choisie car elle présente un groupement aromatique (phényle). Cette nitron a été préalablement synthétisée à partir du benzaldéhyde et du chlorhydrate de méthylhydroxylamine.¹⁹⁵ La réaction de cycloaddition avec les *exo*-glycals a ensuite lieu dans le toluène à 140°C pendant 2h sous activation micro-onde. Pour chaque oléfine **9-Z** et **1-Z**, la cycloaddition se fait uniquement sur la face β , peu ou pas encombrée, et donne deux isomères *anti* (**168** et **170**) et *syn* (**167** et **169**). Pour les isomères *syn* **167** et **169** minoritaires, le phényle et l'ester méthylique se trouvent du même côté, alors que dans le cas des isomères majoritaires **168** et **170** ces deux groupements encombrants sont en position *anti* l'un par rapport à l'autre. Pour des raisons de simplification des schémas, les deux cycles spiraniques sont représentés dans le même plan, ils sont en réalité dans deux plans perpendiculaires entre eux.

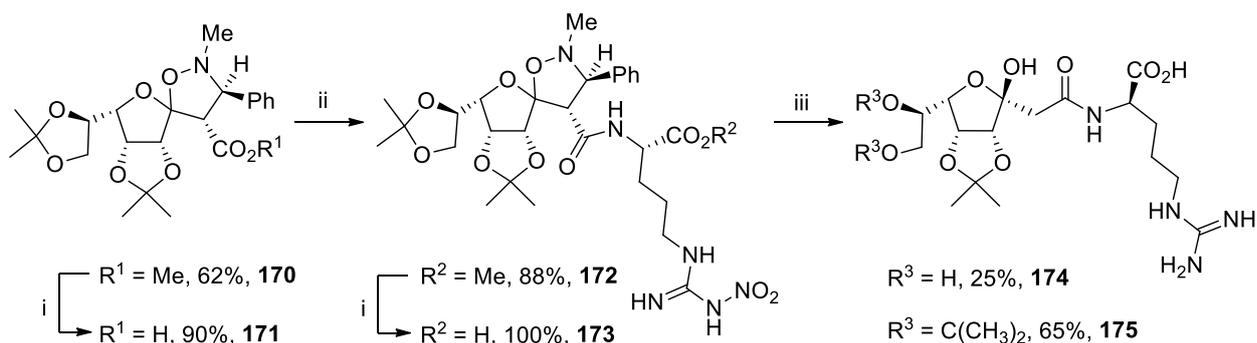
La poursuite de ces travaux a été menée avec les composés majoritaires **168** et **170** uniquement. Deux fonctionnalisations différentes au niveau de l'ester méthylique et au niveau de l'hydroxyle en C-9 ont été envisagées.

IV.2- Fonctionnalisation par l'ester en C-4

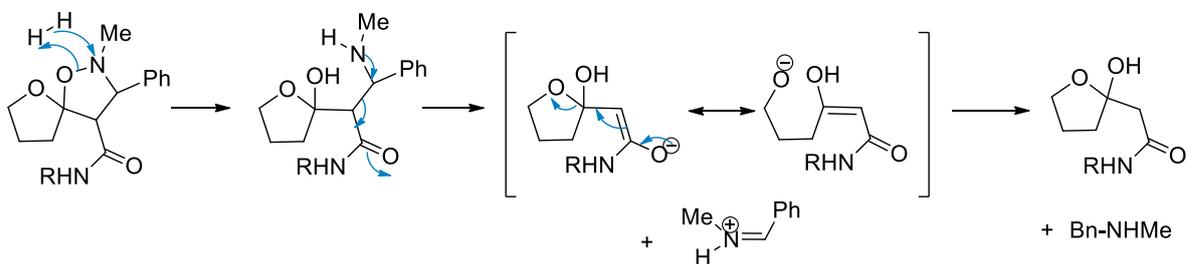
Dans un premier temps, nous avons fonctionnalisé ces structures bicycliques *via* l'ester méthylique porté par le carbone C-4. Cette fonctionnalisation a été réalisée sur le composé **170**,

pour lequel les hydroxyles en position 9,10 sont protégés par un isopropylidène qui n'est pas clivé lors d'une saponification, contrairement à l'acétate présent sur **168**.

170 a été traité par LiOH dans un mélange TFH/H₂O (3/1), ce qui a conduit à l'acide **171** avec un rendement de 90% (Schéma 89). Cet acide carboxylique a ensuite été mis en réaction avec la N_ω-NO₂-L-arg-OMe. Le couplage peptidique réalisé en présence de HATU et de N,N-diisopropyléthylamine (DIEA) dans le DMF a conduit au produit **172** avec un bon rendement. Dans un premier temps, ce produit a été traité avec LiOH dans un mélange THF/H₂O pour déprotéger l'acide carboxylique. La dernière étape consiste à hydrogénélyser la liaison NH-NO₂ de **173**. Cependant, les conditions employées ont conduit à la coupure de la liaison N-O de l'oxazolidine du composé **173** et à la déprotection partielle du 9,10-diol. Un mécanisme expliquant cette coupure est proposé dans le schéma 89. Des ouvertures de cycles isoxazolidines en milieu basique ou par activation thermique ont été rapportées par Coşkun *et al.*¹⁹⁶ On a donc obtenu simultanément les deux produits **174** et **175** avec des rendements de 25 et 65% respectivement.



Mécanisme proposé pour le clivage de l'isoxazolidine :



i. LiOH, THF/H₂O (3/1), t.a., 18h; ii. H-Arg(NO₂)-OMe.HCl, HATU, DIEA, DMF, 0°C → t.a., 18h; iii. H₂, Pd/C, MeOH, 18h

Schéma 89. Fonctionnalisation par couplage peptidique avec H-Arg(NO₂)-OMe

Pour éviter ce problème de coupure de la liaison N-O lors de la déprotection de la guanidine, **171** a été couplé avec la L-arg-OMe pour laquelle la fonction guanidine n'est pas protégée (Schéma 90). Le couplage a été réalisé avec HATU/DIEA dans le DMF et, après évaporation du solvant, le brut réactionnel a été directement traité avec LiOH dans un mélange THF/H₂O. Cette séquence réactionnelle a nécessité une purification en phase inverse après ces deux étapes. Le composé attendu **176** a été obtenu avec un rendement de 68% en deux étapes, le produit partiellement déprotégé **177** a également été obtenu à hauteur de 19%.

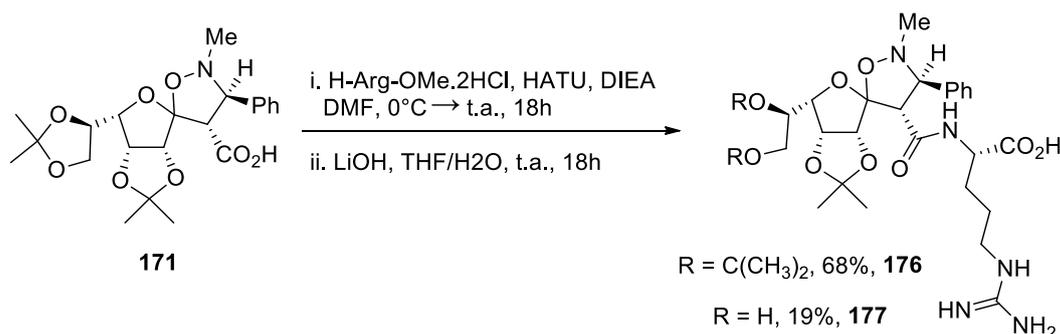


Schéma 90. Couplage peptidique avec H-Arg-OMe

Les voies de synthèse développées nous ont donc permis d'obtenir 4 composés **174**, **175**, **176** et **177** sur lesquels une arginine est couplée *via* la fonction acide portée par le carbone C-4. Parmi ces composés, 2 comportent une structure centrale bicyclique spiranique.

IV.3- Fonctionnalisation en C-9

La fonctionnalisation et l'introduction d'une arginine ou d'un mime d'arginine sont également possibles *via* l'hydroxyle en C-9. Dans cette optique, la spiro-isoxazolidine **168** de configuration *trans*, pour laquelle l'hydroxyle en C-9 est très facilement accessible en une étape par réaction de Zemplén a été choisie. Trois méthodes de couplage conduisant à trois liens différents ont été explorées (Schéma 91) : cycloaddition conduisant à un lien triazole, amination réductrice conduisant à un lien amine et couplage peptidique conduisant à un lien amide. La mise au point de ces méthodes a ensuite permis d'insérer une arginine ou un mime d'arginine sur la plate-forme pour conduire à des ligands potentiellement affins avec NRP-1. L'influence de chaque lien pour la liaison avec NRP-1 a ainsi pu être évaluée.

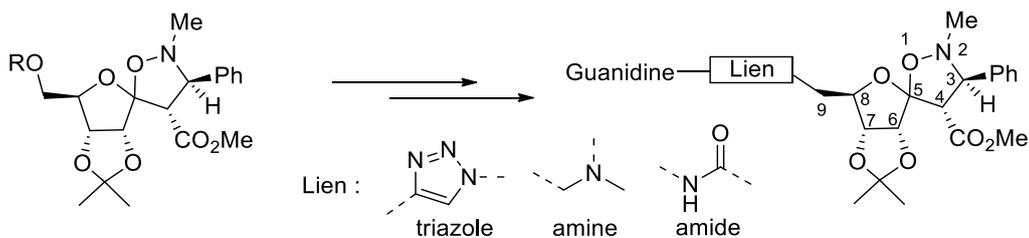


Schéma 91. Les trois méthodes de fonctionnalisation envisagées

IV.3.1- Formation d'un triazole

Pour introduire une arginine ou un mime d'arginine, une réaction de « click-chemistry » entre la plate-forme et un bras portant une guanidine a été envisagée. Cette cycloaddition de type Huisgen entre un azide et un alcyne, catalysée par le cuivre(I), est très largement utilisée et présente l'avantage de ne former qu'un seul produit de cycloaddition dans des conditions choisies.

Les partenaires alcynes guanidinylés de longueur variable ($n = 1$ ou 2) ont d'abord été synthétisés par réaction de Mitsunobu entre des alcools commerciaux portant une fonction alcyne et la guanidine diBoc **178**, préalablement préparée à partir du chlorure de guanidinium (Schéma 92). La réaction de Mitsunobu a conduit aux alcynes attendus **179** et **180** avec de très bons rendements. Pour cette génération, la fonction benzyloxycarbonyle n'a pas pu être utilisée pour protéger la guanidine en raison de l'instabilité de la plate-forme spiranique dans les conditions de clivage de ce groupement protecteur.

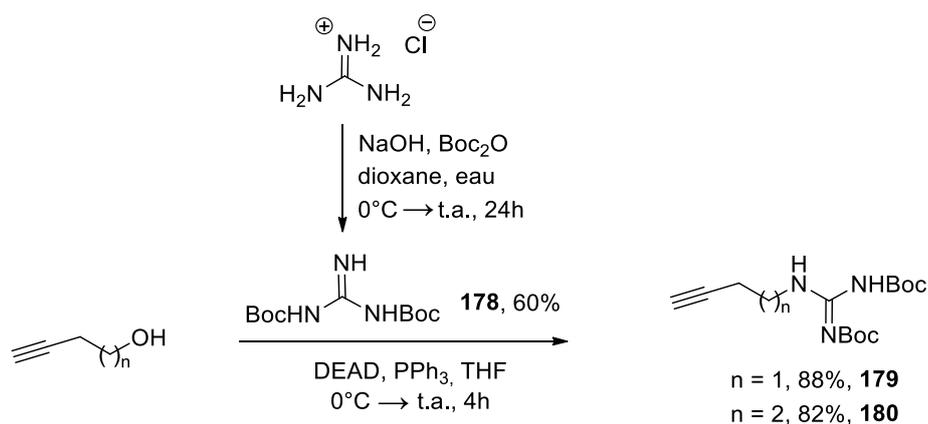


Schéma 92. Synthèse des alcynes **179** et **180**

D'autre part, la plate-forme saccharidique a été fonctionnalisée par un azide (Schéma 93). Pour cela, l'hydroxyle en C-9 de **168** a été déprotégé par réaction de Zemplén dans le méthanolate

de sodium, puis l'alcool formé **181** a été tosylé, ce qui a permis la substitution par un azide. On a ainsi obtenu la molécule **183** qui porte un azide en position C-9. Les molécules **184** et **185** ont ensuite été synthétisées par cycloaddition avec les alcynes **179** et **180** respectivement en présence d'acétate de cuivre (II) et d'ascorbate de sodium en quantités catalytiques dans un mélange eau/*tert*-butanol. La fonction guanidine de **184** et **185** a ensuite été déprotégée par action de l'acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane pour conduire aux molécules finales **186** et **187**.

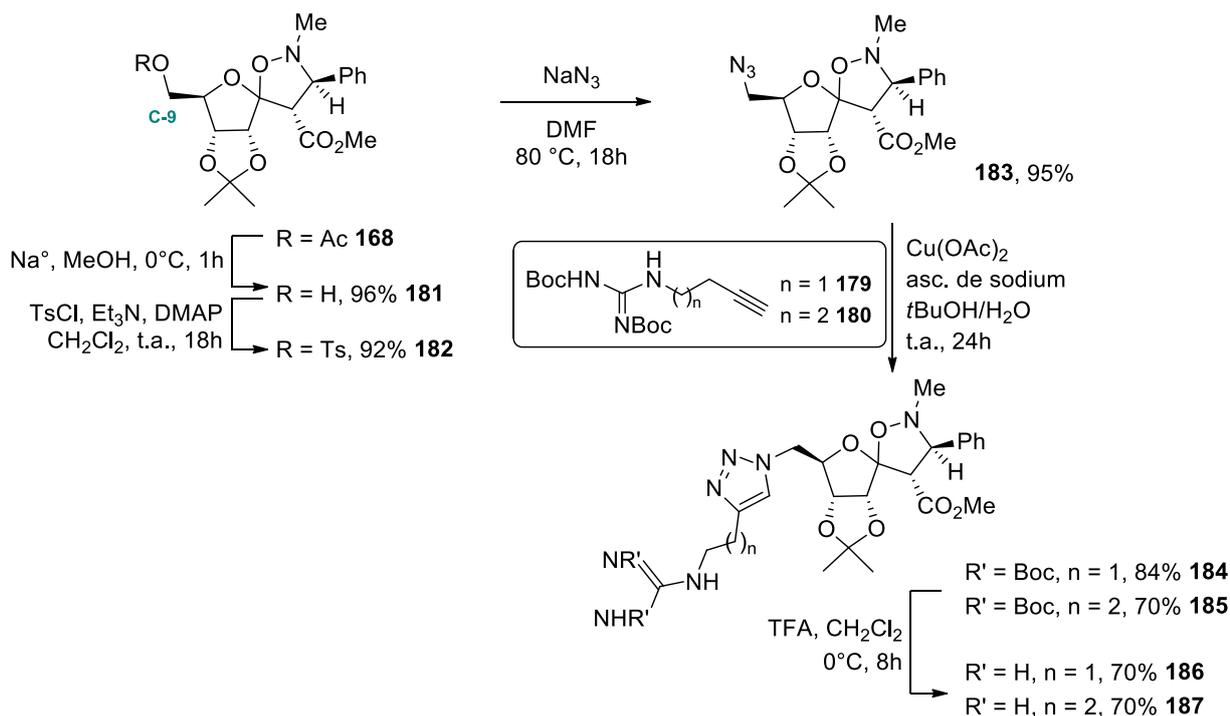


Schéma 93. Synthèse des dérivés **186** et **187**

Nous avons également envisagé d'introduire une arginine sur ce triazole *via* un couplage peptidique. Dans cette optique, le triazole doit présenter une fonction acide carboxylique. Cependant, lorsque l'on a appliqué les mêmes conditions de cycloaddition (acétate de cuivre(II), ascorbate de sodium) à l'acide propiolique, on a observé une décarboxylation de l'acide ancré sur le triazole, ce qui a conduit au composé **188**. Ce phénomène de décarboxylation avait déjà été rapporté par quelques équipes lorsqu'une base est présente dans le milieu réactionnel.¹⁹⁷ Cette décarboxylation a pu être évitée en utilisant le sulfate de cuivre pentahydraté CuSO₄.5H₂O et l'acide **189** a été obtenu (Schéma 94). Le produit **189** a ensuite été engagé dans un couplage peptidique avec une arginine (Schéma 95).

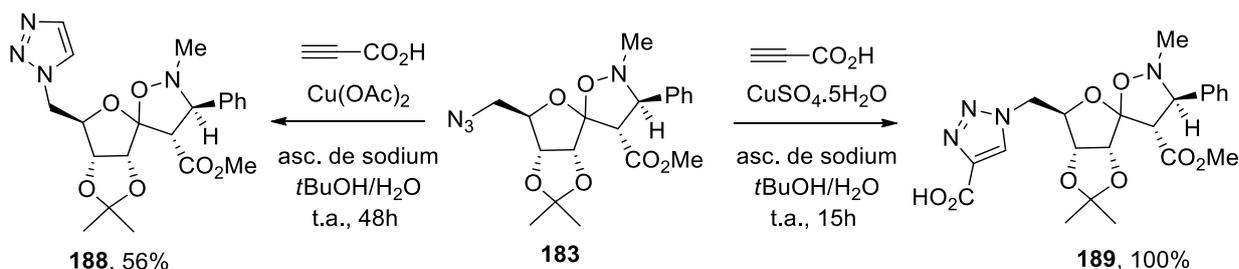
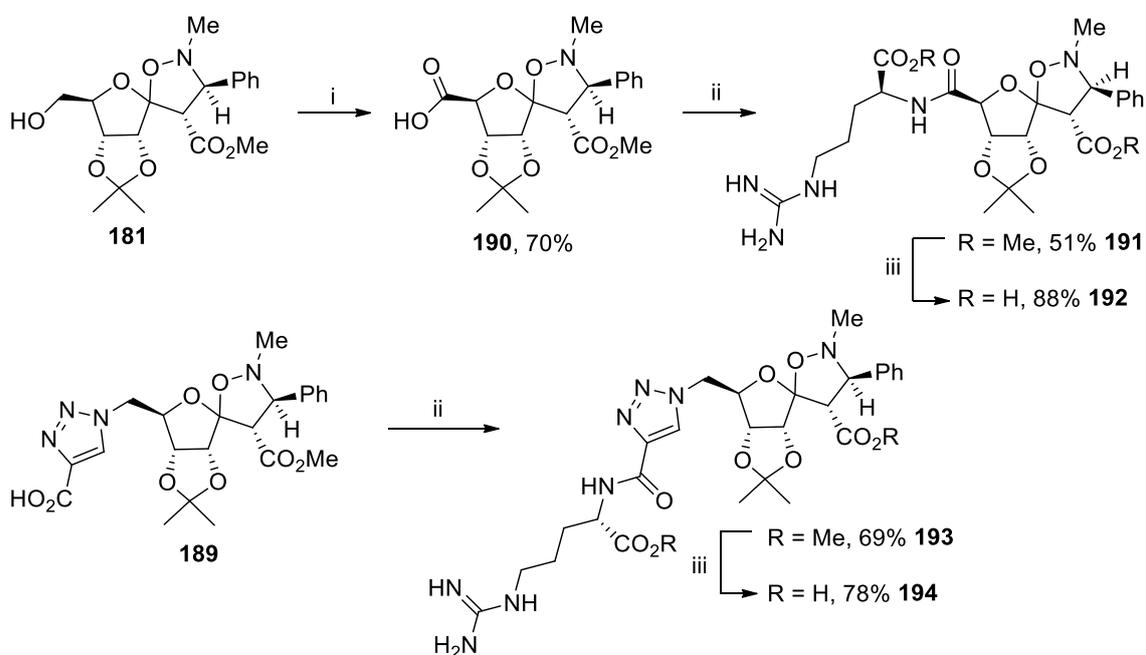


Schéma 94. Cycloaddition avec l'acide propiolique

IV.3.2- Formation d'un lien amide

Dans un second temps, nous avons envisagé de fonctionnaliser la plate-forme par un couplage peptidique (Schéma 95). Pour cela, la synthèse de l'acide carboxylique **190** a été réalisée par action de TEMPO/NaBr/NaOCl 13% dans un mélange acétonitrile/eau. L'acide a été obtenu avec un rendement de 70% et a été mis en réaction avec H-L-Arg-OMe en présence de HATU et DIEA dans le DMF. Les fonctions acides carboxyliques du produit de couplage **191** ont été déprotégées par saponification avec LiOH. Les mêmes procédures de couplage et déprotection ont été appliquées à l'acide **189** préalablement synthétisé. Les produits finaux **192** et **194** présentant tous deux une arginine déprotégée ont été obtenus avec de bons rendements (78 et 88% respectivement).



i. TEMPO, NaBr, NaOCl, H₂O/CH₃CN, 8h; ii. H-Arg-OMe.HCl, HATU, DIEA, DMF, 0°C → t.a., 18h; iii. LiOH, THF/H₂O, t.a., 18h.

Schéma 95. Synthèse de **192** et **194**

IV.3.3- Formation d'un lien amine

Enfin, nous avons envisagé de fonctionnaliser cette plate-forme saccharidique par la formation d'un lien amine. Cette méthode permet d'envisager la préparation d'une molécule portant deux guanidines sur le même bras, ce qui est le cas de AN241.

La réaction d'amination réductrice est un moyen efficace pour la formation de ce lien. Dans cette optique, nous avons préparé différentes amines permettant l'introduction d'une ou deux fonctions guanidines par condensation sur l'aldéhyde **195** (Schémas 96 et 97).

L'amine mono-protégée commerciale a d'abord été guanidinylée par le triflate **196**, préalablement préparé à partir du produit **178**.¹⁹⁸ Le composé **197** a ainsi été obtenu avec un rendement quantitatif et une déprotection classique nous a permis d'accéder à l'amine **198** avec un rendement de 90%.

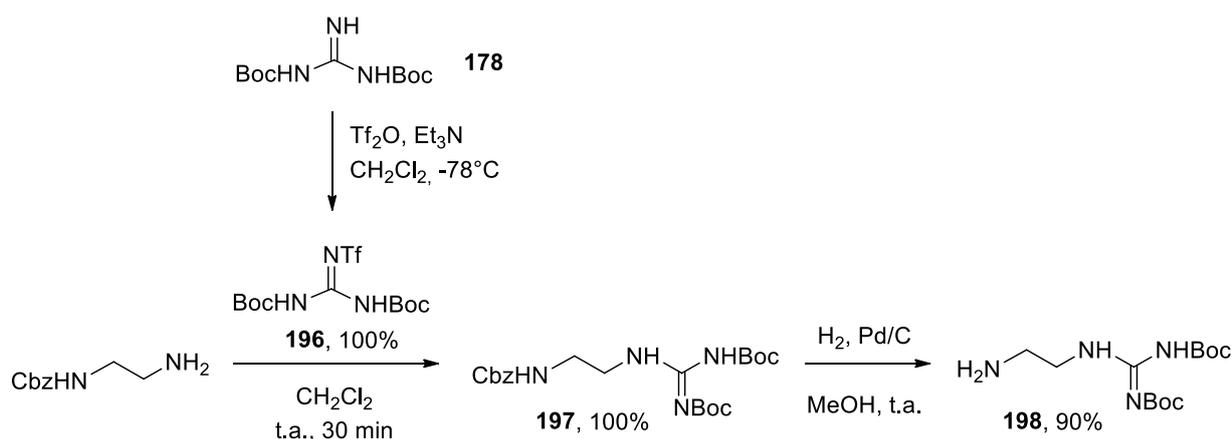
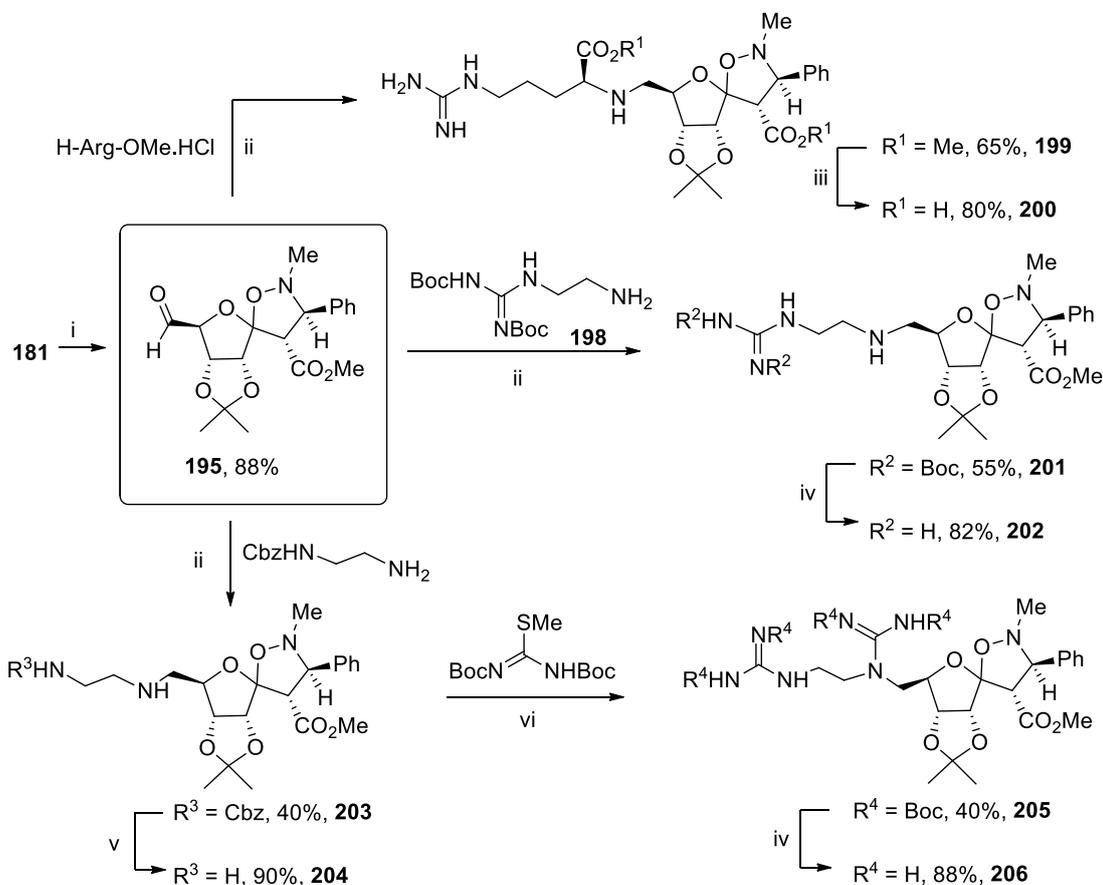


Schéma 96. Préparation du partenaire aminé **198**

D'autre part, l'aldéhyde **195** a été obtenu par oxydation de Swern de l'alcool **181** (Schéma 97). Les différents partenaires aminés ont ensuite été mis en réaction avec cet aldéhyde en présence de cyanoborohydrure de sodium et d'acide acétique dans le méthanol à 0°C. La réaction de l'aldéhyde avec l'ester méthylique de l'arginine a conduit au composé **199** qui a ensuite été saponifié pour donner le produit final **200**. L'amination réductrice avec **198** nous a permis d'obtenir **201** dont les groupements *tert*-butyloxycarbonyles ont été déprotégés par action de TFA dans le dichlorométhane pour conduire à **202**. Avec le 1,2-diaminoéthane monoprotégé, l'amination réductrice a conduit au produit **203**. L'amine primaire de ce composé a ensuite été déprotégée par hydrogénation catalytique et les deux amines présentes sur **204** ont été

guanidinylées par l'amidine di-boc-*S*-méthylisothiourée. Le composé **205** obtenu a finalement été traité par un mélange TFA/dichlorométhane pour conduire au composé di-guanidinylé **206**.



i. DMSO, Cl₂(CO)₂, Et₃N, CH₂Cl₂, -78°C, 2h; ii. AcOH, NaBH₃CN, MeOH, 0°C → t.a., 18h; iii. LiOH, THF/H₂O, t.a., 18h; iv. TFA, CH₂Cl₂, 0°C, 8h; v. H₂, Pd/C, MeOH, 18h; vi. HgCl₂, Et₃N, DMF, 18h.

Schéma 97. Synthèse de **200**, **202** et **206**

IV.4- Conclusion

Des plates-formes saccharidiques bicycliques de configuration *trans* et *cis* ont été fonctionnalisées par formation de fonctions acide carboxylique, aldéhyde et azide. Il a ainsi été possible de modifier ces plates-formes spiro-isoxazolidines au niveau du carbone C-9 de trois façons différentes et au niveau de l'ester porté par le carbone C-4 par couplage peptidique. Le couplage de ces composés avec une arginine ou différents partenaires guanidinylés a conduit à des composés présentant à la fois une ou plusieurs fonctions guanidines et un groupement aromatique. Du fait de cette double fonctionnalisation, l'affinité de ces molécules pour le récepteur NRP-1 a été testée. Les propriétés biologiques de ces différents composés ont donc été évaluées et les résultats sont exposés dans le chapitre VI de cette partie.

V- 3^{ème} génération : arginine en position C-terminale

La majorité des composés affins avec NRP-1 décrits dans la littérature présentent une arginine en position C-terminale. Lors de la thèse d'A. Novoa, un dérivé d'AN241 présentant une arginine ancrée par amination réductrice avait été préparé (Figure 58), mais ce composé avait montré une faible affinité pour NRP-1, certainement parce que l'arginine n'était pas couplée *via* un lien amide.

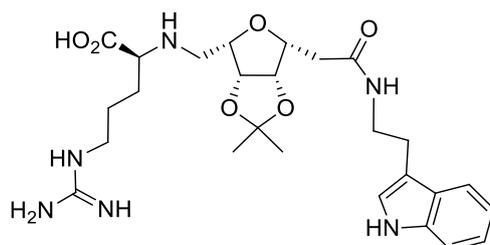


Figure 58. Dérivé de AN241 présentant une arginine²⁸

Pour la 3^{ème} génération de composés, des molécules comportant une arginine ancrée par couplage peptidique en C1 de la plate-forme saccharidique ainsi qu'un groupement aromatique ont été préparées (Schéma 98). Les ligands de cette génération sont basés sur des plates-formes centrales de configurations *trans* ou *cis*.

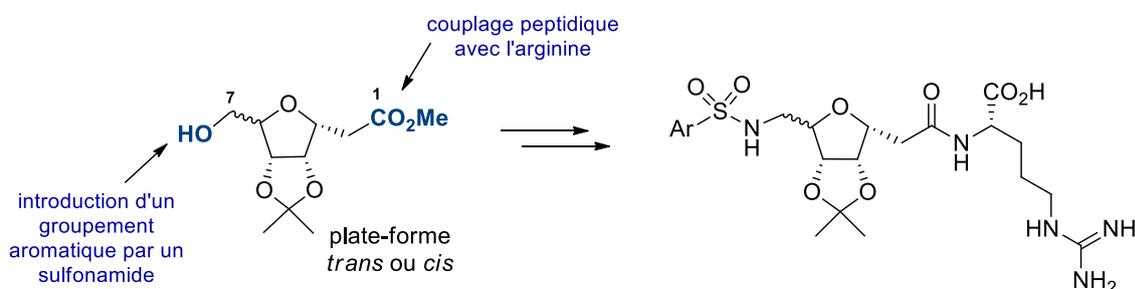


Schéma 98. 3^{ème} génération de ligands

V.1- Synthèse

Pour la synthèse de ces composés, le carbone C-1 a d'abord été fonctionnalisé *via* un couplage peptidique avec une arginine puis le carbone C-7 a été fonctionnalisé par un couplage avec différents chlorures de sulfonyle. Deux dérivés saccharidiques différents ont été employés pour cette troisième génération de ligands, permettant de travailler avec une plate-forme de configuration *trans* ou de configuration *cis*.

V.1.1- Dérivés de configuration *cis*

a- Fonctionnalisation en C-1

Pour cette 3^{ème} génération de composés, nous avons choisi de faire le couplage peptidique avec l'acide carboxylique **134**, issu de la saponification de l'ester méthylique (Schéma 99).

La N_ω-NO₂-L-arg-OMe a été couplée à l'acide carboxylique **134** par HATU/DIEA dans le DMF. Le produit de couplage **207**, obtenu avec un rendement moyen de 50%, a ensuite été déprotégé par des traitements classiques pour conduire au produit totalement déprotégé **209**. De cette façon, nous avons obtenu un C-glycoside comportant une arginine ancrée par couplage peptidique sur le sucre.

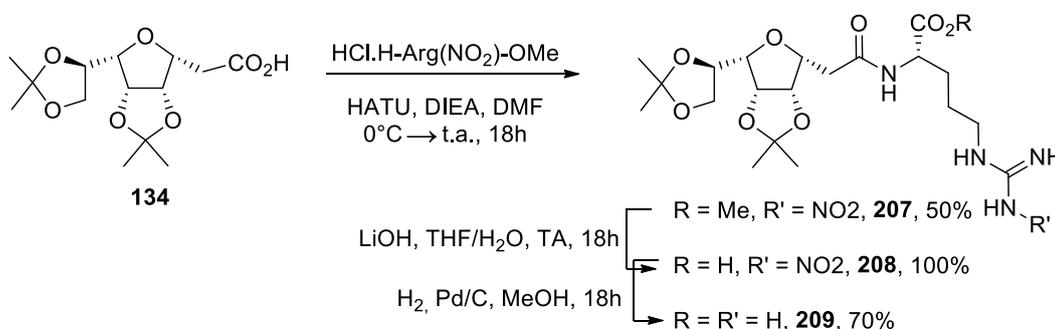


Schéma 99. Synthèse du composé **209**

Il nous a semblé intéressant de pouvoir comparer une molécule type C-glycoside et une molécule plus rigide type C-glycosilydène. Pour obtenir ce composé, une méthode de saponification ne modifiant pas la double liaison a été employée. Il avait été mis en évidence antérieurement au laboratoire que la saponification en milieu aqueux des *exo*-glycals conduit à une addition d'hydroxyle au niveau du carbone anomérique et à une décarboxylation. Pour éviter ce phénomène, LiI a été employé dans la pyridine à reflux et a permis la formation de l'acide **210** (Schéma 100). Cet acide a ensuite été couplé avec l'ester méthylique de l'arginine. L'analyse RMN du produit **211** a montré qu'une isomérisation de la double liaison avait eu lieu au cours de ce couplage peptidique. On a observé un ratio *E/Z* de 57/43 pour ce mélange, déterminé par étude du déplacement chimique du proton H-4, plus déblindé dans le cas de l'isomère *E*. Enfin, la déprotection de l'ester méthylique par saponification a permis d'isoler uniquement le produit final **212** de configuration *Z*. L'isomère *E* est en effet toujours récupéré en mélange avec l'isomère *Z*, quelles que soient les conditions de purification utilisées.

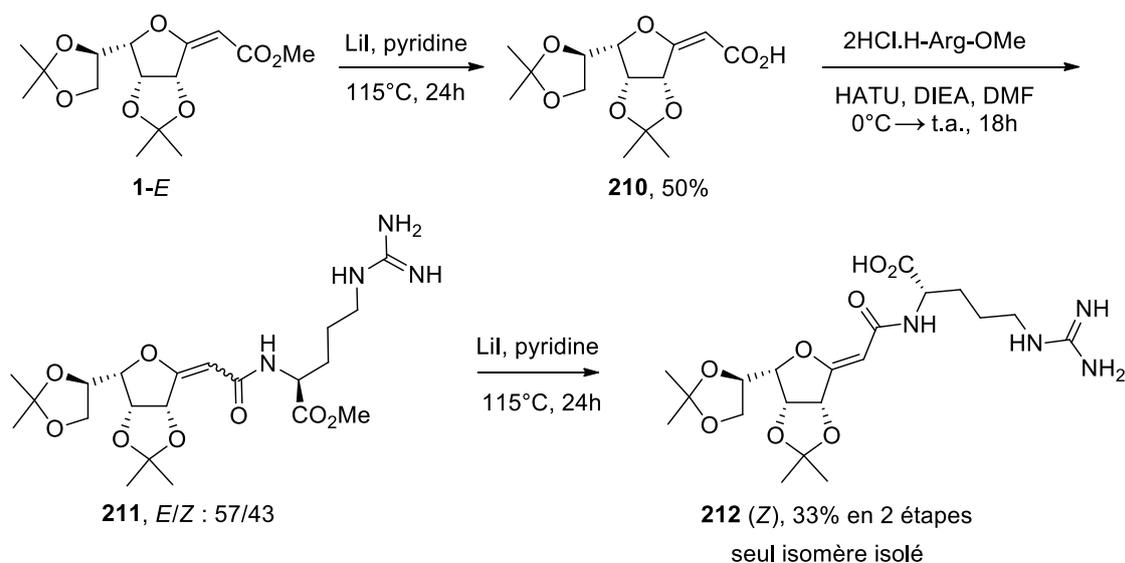


Schéma 100. Synthèse du composé insaturé **212**

Pour expliquer ce phénomène d'isomérisation, une addition réversible du sous-produit hydroxybenzotriazole (HOBt) sur la double liaison conjuguée est tout à fait envisageable (Schéma 101). Une rotation est alors possible, ce qui conduit au mélange obtenu.

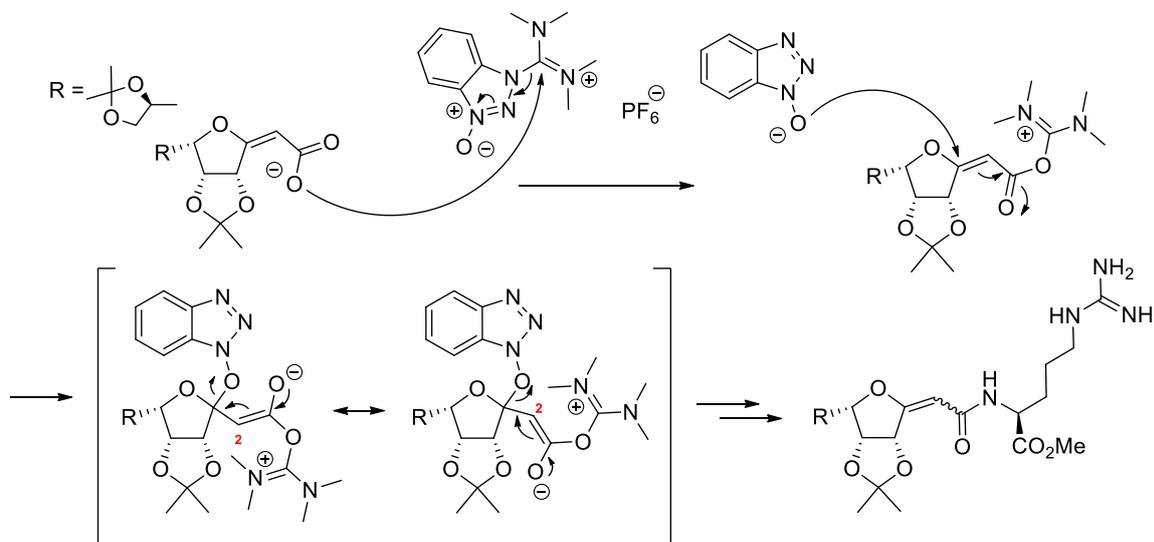


Schéma 101. Mécanisme proposé pour l'isomérisation du produit **211**

b- Fonctionnalisation en C-7

Dans un second temps, nous avons examiné l'introduction d'un groupement aromatique sur cette plate-forme par formation d'un lien sulfonamide, en nous inspirant des travaux de Jarvis *et al.*¹⁷⁵ Pour cela, il faut que la plate-forme centrale dispose d'une fonction amine. Dans ce but, l'isopropylidène *exo*-cyclique a été clivé par traitement avec HCl (1N) dans le méthanol

(Schéma 102). Le diol **213** a été obtenu avec un rendement de 92% et une coupure oxydante avec NaIO_4 dans le méthanol suivi d'une réduction avec NaBH_4 a conduit à l'alcool **214** avec un rendement global de 76% pour les 2 étapes. Le produit **214** a été tosylé avec le chlorure de tosyloxy dans le dichlorométhane, puis le tosyloxy a été déplacé par l'azoture de sodium dans le DMF à 80°C . L'hydrogénation catalytique du composé **216** a conduit à l'amine **217** avec un rendement quantitatif.

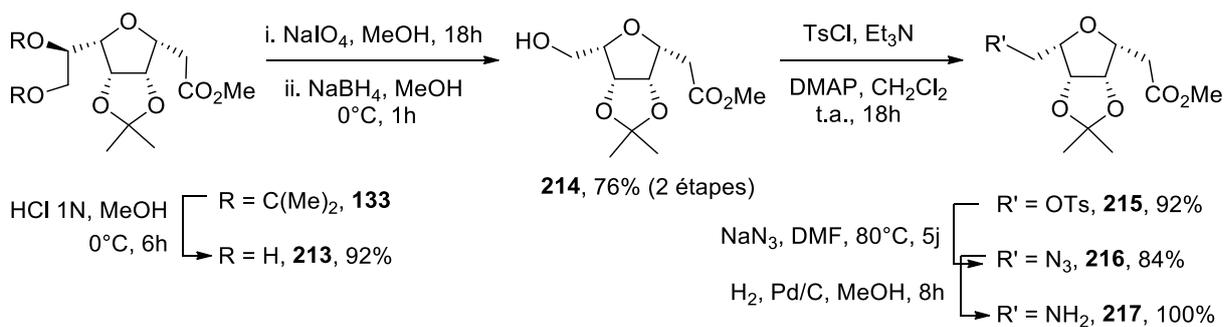


Schéma 102. Préparation de l'amine **217**

L'amine **217** a ensuite été couplée avec différents chlorures de sulfonyle aromatiques commerciaux dans la pyridine pour conduire aux sulfonamides **218**, **220** et **219** avec des rendements compris entre 80 et 85% (Schéma 103). Pour finir, les esters méthyliques de ces composés ont été saponifiés par traitement avec LiOH dans $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ et ont conduit aux acides carboxyliques **221**, **222** et **223** avec de très bons rendements.

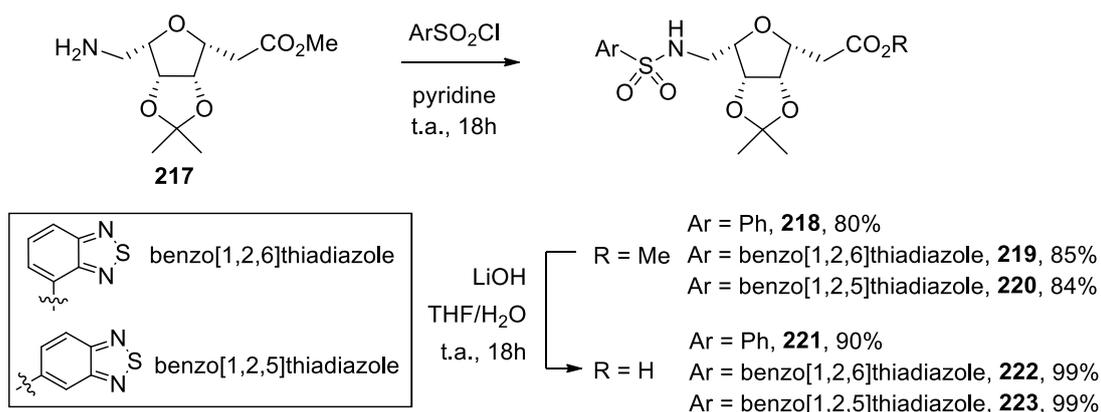


Schéma 103. Préparation des sulfonamides **221**, **222** et **223**

Le composé **221**, pour lequel le groupement aromatique est un phényle a ensuite été couplé à la $\text{N}_\omega\text{-NO}_2\text{-L-arg-OMe}$ (Schéma 104). Le produit de couplage **224** a été obtenu avec un rendement de 84% et a été déprotégé suivant des protocoles classiques (saponification puis

hydrogénation) pour conduire au composé totalement déprotégé **225** avec un rendement global de 82%.

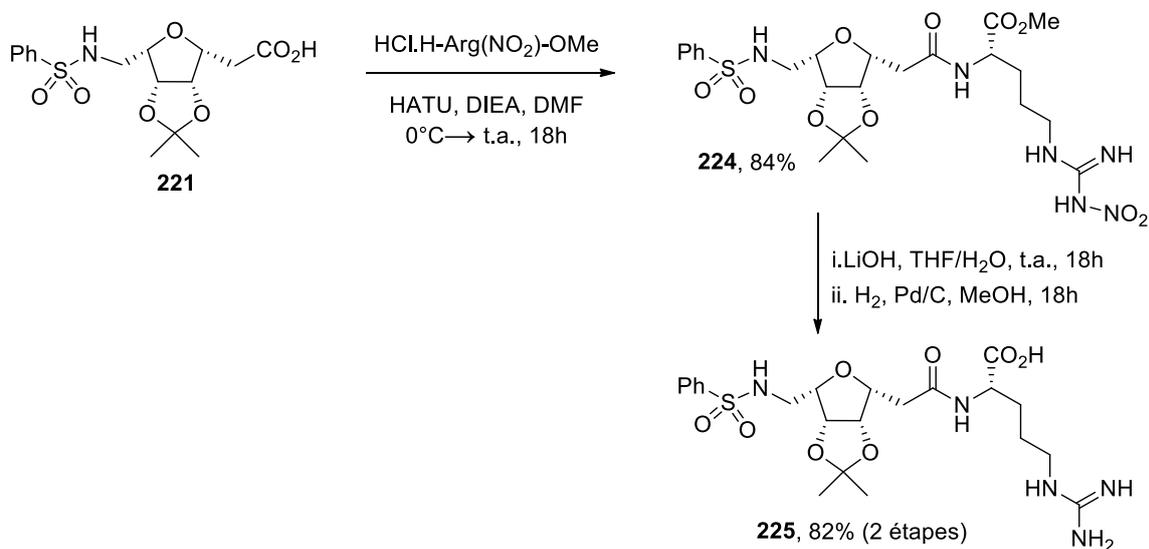
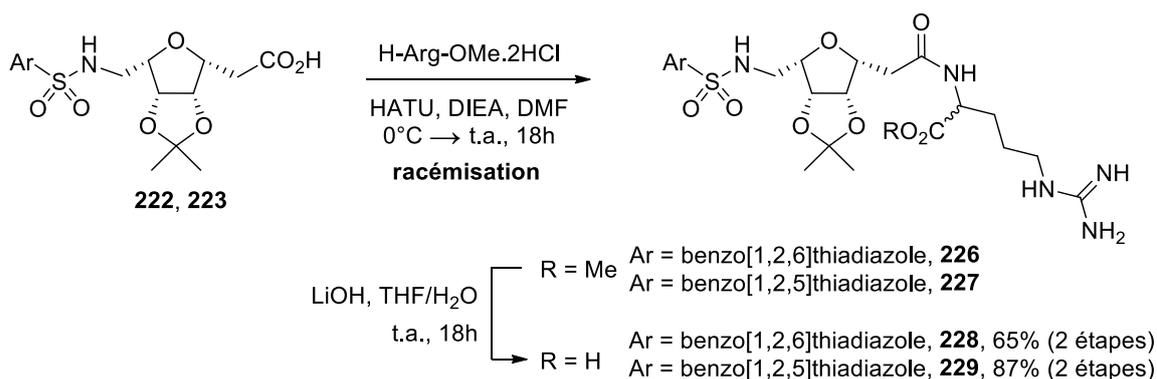


Schéma 104. Préparation du produit **225**

Pour les autres sulfonamides de type benzothiadiazole, il a été nécessaire de coupler les acides **222** et **223** avec la L-arg-OMe pour laquelle la guanidine n'est pas protégée (Schéma 105). En effet, l'hydrogénation catalytique n'est pas possible avec ces composés, le soufre du groupement aromatique empoisonnant le catalyseur palladié. Les produits de couplage **226** et **227** ont été obtenus après un couplage avec HATU et DIEA dans le DMF. La disparition du produit de départ ainsi que la formation des composés **226** et **227** ont été contrôlées par analyse RMN du brut réactionnel. La purification des produits couplés n'a pas été possible lors de cette étape en raison de la trop grande polarité des composés. La RMN ^1H et ^{13}C des bruts réactionnels des produits de couplage montre un dédoublement de certains protons et de certains carbones, ce qui laisse présager qu'une isomérisation a eu lieu pendant le couplage peptidique. Enfin, la fonction acide carboxylique des composés **226** et **227** a été déprotégée par un traitement classique et les produits totalement déprotégés **228** et **229** ont été obtenus avec de bons rendements.

Schéma 105. Synthèse des composés **228** et **229**

L'obtention de deux diastéréoisomères a été confirmée après purification et analyse RMN des produits **228** et **229**. Le ratio de diastéréoisomères est d'environ 55/45 et 53/47 pour **228** et **229** respectivement. La séparation de ces composés n'ayant pas été possible en raison de leur polarité trop similaire, l'évaluation biologique a été réalisée sur les mélanges **228** et **229**. L'étude des spectres RMN 1D et 2D n'a pas permis de déterminer à quel niveau l'isomérisation avait eu lieu, mais il est certain que l'isomérisation est liée à la présence du groupement thiadiazole, puisqu'elle n'est pas observée avec un phényle.

V.1.2- Dérivés de configuration *trans*

D'après les indications de modélisation moléculaire (cf chapitre V.2), des composés de configuration *trans* couplés à une arginine et à une sulfonamide ont également été préparés. A partir de la molécule **230**, une réaction de tosylation a conduit à **231** avec un rendement de 98% puis un traitement par l'azoture de sodium dans le DMF à 80°C a conduit à **232** (Schéma 106). L'amine **233** a ensuite été obtenue avec un rendement quantitatif par hydrogénation catalytique. Dans un deuxième temps, cette amine a été couplée avec le chlorure de phénylsulfonyle dans la pyridine pour conduire au composé **234**. Après saponification, le couplage avec l'arginine a mené au produit **236** avec un rendement de 71%. Des déprotections classiques de l'acide carboxylique et de la guanidine portés par l'arginine ont conduit au produit déprotégé **238** avec un rendement de 70% sur deux étapes.

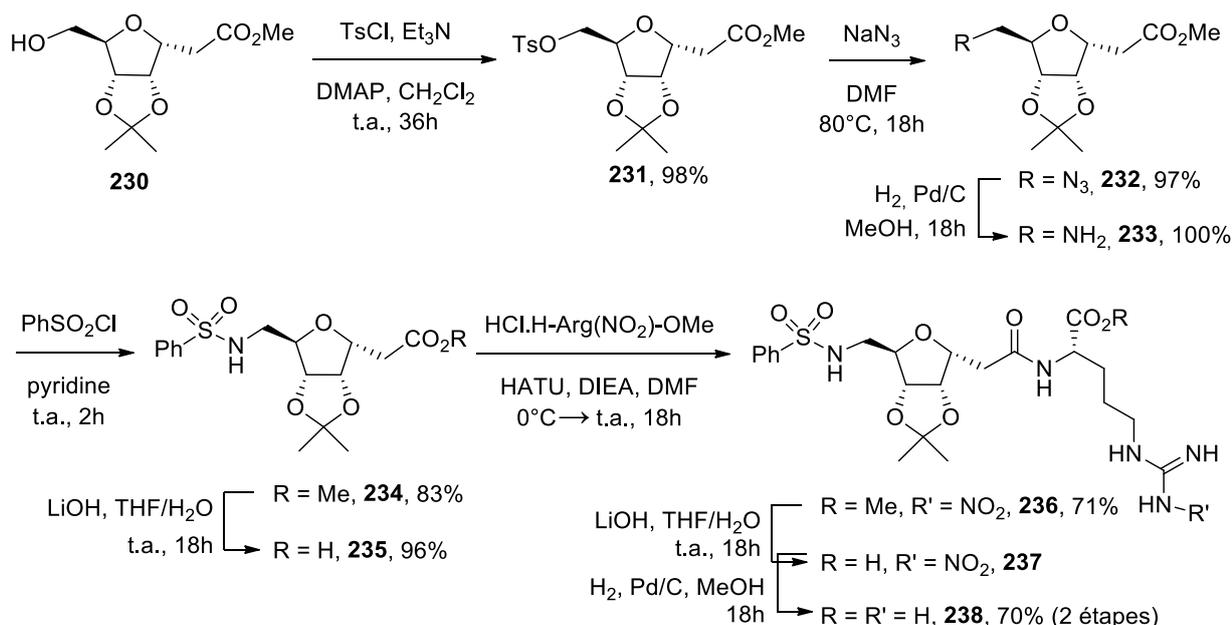
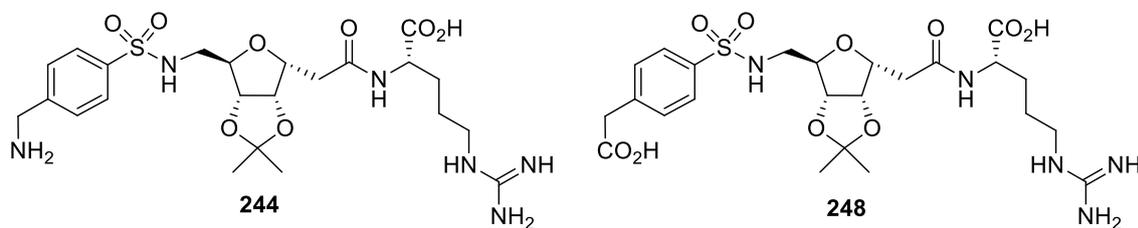


Schéma 106. Synthèse de 238

Ces études de modélisation moléculaire (chapitre V.2) ont également mis en évidence la possibilité d'apporter des interactions additionnelles avec le récepteur en introduisant des groupements chargés. Nous avons donc opté pour la synthèse des composés **244** et **248** disposant d'un groupement amine ou acide carboxylique sur le phényle (Figure 59).


 Figure 59. Les deux molécules cibles **244** et **248**

En ce qui concerne la synthèse de la molécule **244**, l'un des synthons de départ est le chlorure de 4-bromométhylphénylsulfonyl commercial (Schéma 107). Le couplage de ce composé avec l'amine **233** a été réalisé dans le dichlorométhane en présence de triéthylamine,¹⁹⁹ puis le brome du produit **239** a été substitué par un azide *via* un traitement avec l'azoture de sodium dans le DMF à 60°C. Le composé **240** a ensuite été saponifié et l'acide carboxylique **241** a été obtenu avec un rendement quantitatif. L'acide **241** a été couplé avec la L-arg-OMe et le produit de couplage **242** a finalement été déprotégé par des protocoles classiques pour conduire au composé **244** avec de bons rendements.

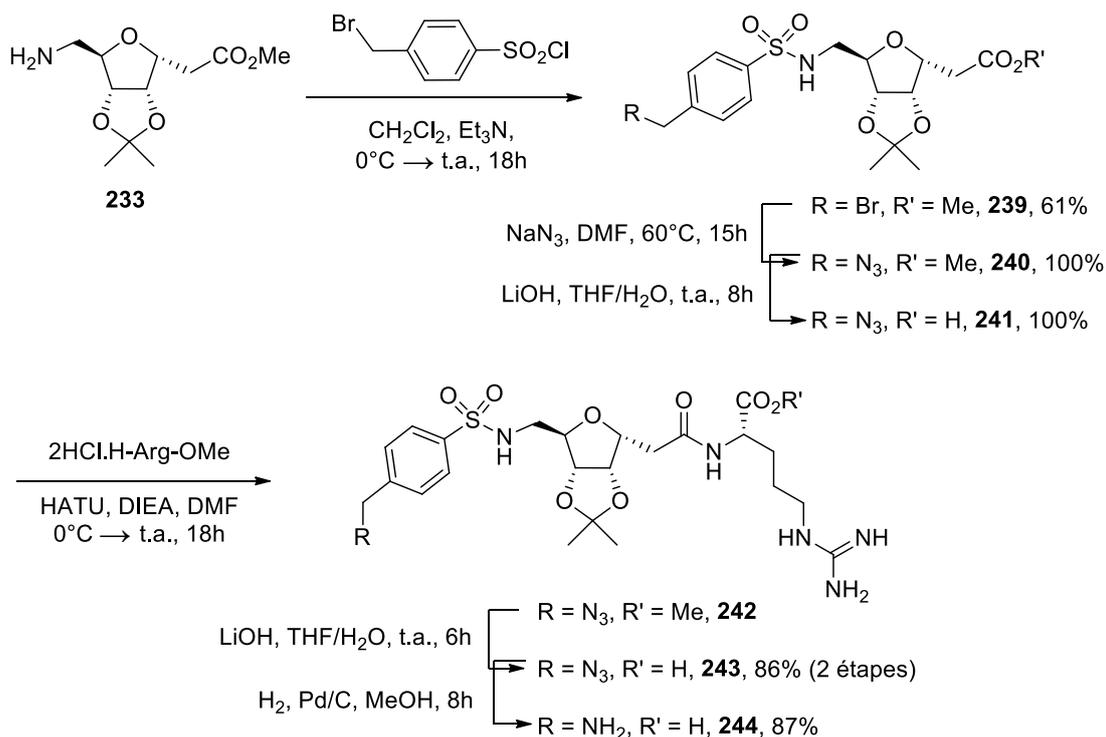


Schéma 107. Synthèse de **244**

La synthèse a été légèrement modifiée pour la préparation du produit **248**. En effet, la saponification de l'ester méthylique du sucre doit avoir lieu avant le couplage avec le 3-[4-(chlorosulfonyl)-phényl]propanoate de méthyle. Ainsi, **232** a été préalablement traité avec LiOH dans THF/H₂O avant l'étape d'hydrogénolyse (Schéma 108). L'acide aminé **245** a ainsi été obtenu en 2 étapes avec un rendement quantitatif. Le couplage avec le chlorure de sulfonyle a conduit au produit **246** avec un rendement très moyen de 30%, puis l'arginine a été introduite par couplage peptidique. Enfin, les 2 fonctions acides carboxyliques du produit de couplage **247** ont été déprotégées et le produit cible **248** a été obtenu avec un rendement global de 54% sur ces 2 étapes.

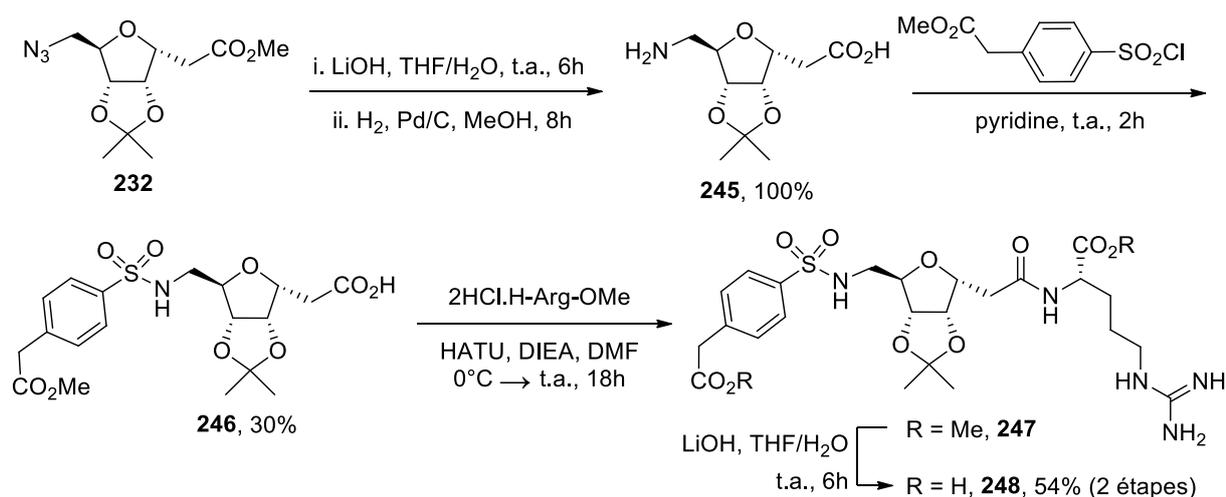


Schéma 108. Synthèse de 248

Nous avons donc préparé 3 molécules **238**, **244** et **248** de configuration *trans* et l'évaluation de leurs propriétés biologiques est reportée dans le chapitre VI.

V.1.3- Conjugaison avec un groupe fluoré

L'imagerie médicale est une technique très sensible qui a connu un fort développement ces dernières années dans le domaine de la recherche biomédicale.²⁰⁰ D'ailleurs, il existe déjà des ligands développés pour le diagnostic de cancers. Le plus utilisé est le fluorodésoxyglucose (FDG) qui est un dérivé saccharidique utilisé comme traceur dans l'imagerie médicale par Tomographie par Emission de Positons (TEP). Le FDG est métabolisé par les cellules très consommatrices de glucose comme les cellules du cerveau, du foie ou les cellules cancéreuses. L'emploi de FDG ne permet donc pas de cibler sélectivement les cellules cancéreuses. De plus, il n'apporte pas d'informations sur la nature de la tumeur. Il est donc intéressant de disposer de ligands capables de cibler sélectivement des récepteurs biologiques d'intérêt, NRP-1 par exemple.

Le deuxième objectif de cette étude a donc été le couplage d'un ligand avec une sonde détectable en imagerie moléculaire. Une thématique de recherche de notre groupe concerne le développement de groupes prosthétiques saccharidiques pour une utilisation en imagerie TEP.²⁰¹ Les groupes prosthétiques sont des molécules radiomarquées et conjuguées à des biomolécules (peptides, protéines, anticorps) qui ne peuvent pas être radiomarquées directement compte tenu de leur fragilité. Nous avons donc envisagé le couplage entre le ligand le plus affiné et un dérivé *glucopyranose* fluoré **249** développé dans le groupe et utilisé pour la préparation de radiotraceurs (Schéma 109).^{44,45,201} Ce composé est un dérivé de glucose

comportant un fluor en position 6 et un bras portant un azide en position anomérique. Il est utilisé pour préparer la référence froide, c'est-à-dire non radioactive, du composé portant un fluor radioactif. Le composé radioactif est obtenu à partir d'un précurseur de marquage portant un groupe partant (GP). Dans notre cas, la synthèse radiochimique n'a pas été mise au point sur nos composés et seule la synthèse de la référence froide est décrite dans ce manuscrit.

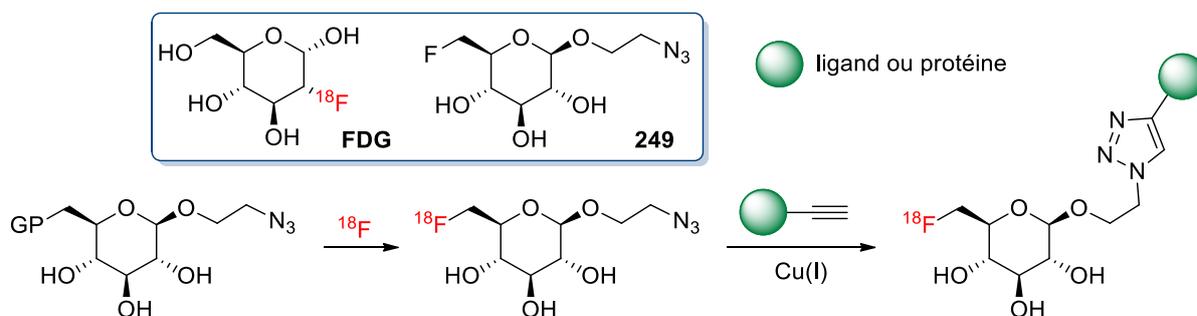
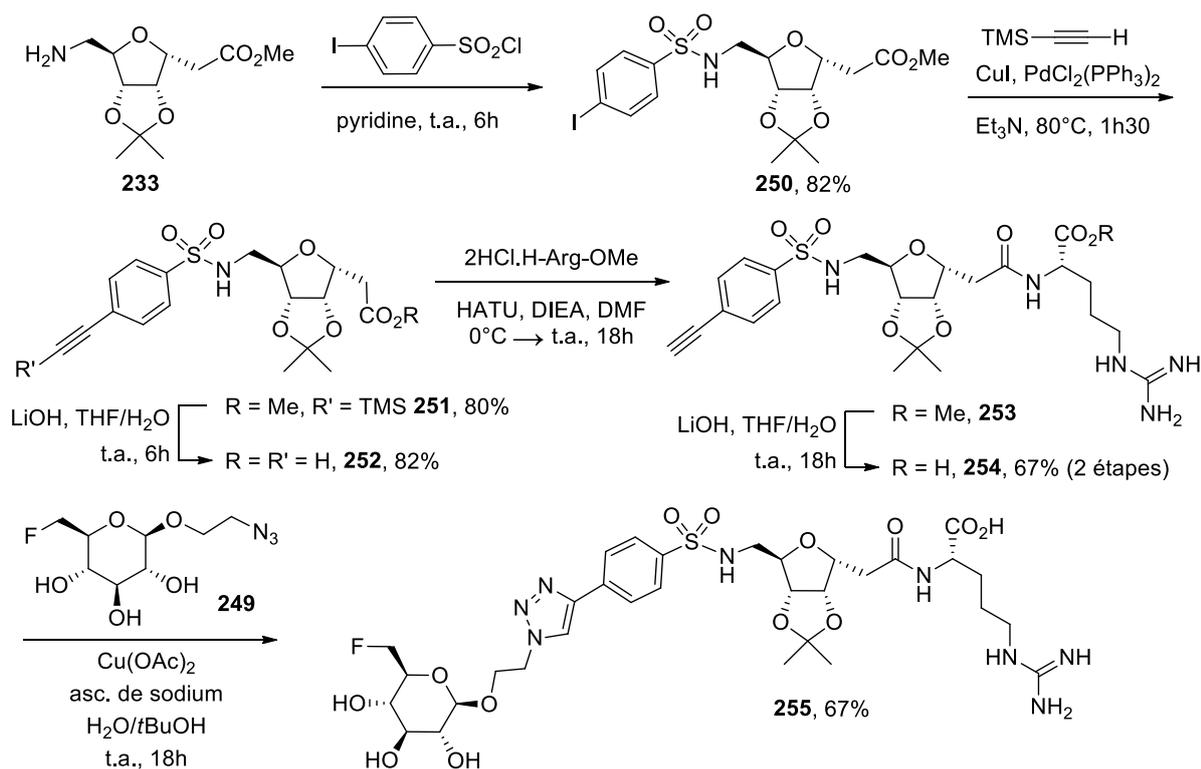


Schéma 109. Préparation de radiotraceurs avec des sucres fluorés⁴⁴

Le composé **238** ayant montré les meilleures propriétés biologiques (chapitre VI), nous avons cherché à modifier sa structure pour y introduire une fonction alcyne, permettant la conjugaison avec **249** *via* la formation d'un triazole. Les études de docking ont par ailleurs montré que la liaison ligand/récepteur se faisait principalement *via* l'arginine, le groupement alcyne ne pouvait donc pas être ancré sur la partie arginine de **238**. Par conséquent, nous avons choisi d'introduire l'alcyne sur le phényle.

Dans cette optique, le chlorure de 4-iodobenzènesulfonyl commercial a été couplé à l'amine **233** et le produit de couplage **250** a été obtenu avec un rendement de 82% (Schéma 110). Une réaction de Sonogashira avec le triméthylsilylacétylène a ensuite conduit à l'alcyne **251**. Le traitement de **251** avec LiOH dans THF/H₂O a donné l'acide **252**, ces conditions ont également conduit à l'hydrolyse du groupement protecteur silylé. Enfin, le couplage peptidique avec l'arginine suivi d'une saponification nous ont permis d'obtenir le composé acétylénique **254** avec un rendement de 67% en 2 étapes. Pour terminer, les composés **249** et **254** ont été couplés l'un à l'autre par une réaction de click-chemistry de type Huisgen. Le composé fluoré **255** a été obtenu avec un rendement de 67%. L'affinité de **255** pour le récepteur NRP-1 a également été évaluée.


 Schéma 110. Synthèse de l'alcyne **254** et cycloaddition avec **249**

V.2- Modélisation moléculaire

Les études de modélisation moléculaire concernant les peptidomimétiques ont été réalisées par le Dr Bernard Maignet (LORIA, Université de Lorraine). Les ligands ont été dockés en utilisant le logiciel GOLD. La structure utilisée pour cette étude est issue de la structure cristallographique 3D du domaine b1 de NRP-1 lorsqu'il est lié à EG00229 (cf Figure 47, chapitre I.2.2.a, code PDB 3I97). Pour chaque expérience, 50 poses de départ différentes ont été utilisées et optimisées d'après la fonction de docking goldscore. Il est à noter que le docking a été réalisé avec EG00229 lui-même et la pose obtenue pour ce dernier est la même que celle de la structure cristallographique, ce qui permet de valider la procédure de docking.

Les résultats des tests d'affinité ont montré que les ligands de la 3^{ème} génération sont les plus affins pour NRP-1 (chapitre IV), le travail de modélisation moléculaire a donc été entrepris sur ces composés uniquement. Le composé **209** a été choisi comme point de départ pour les études *in silico*. D'après les premiers résultats, il est apparu que le composé **209** était ancré sur le récepteur de la même façon que EG00229, notamment par des interactions ioniques fortes entre la fonction guanidine de **209** et l'acide carboxylique de la chaîne latérale du résidu Asp320 d'une part et entre l'acide carboxylique du ligand et le résidu Lys351 d'autre part.

Les meilleures poses obtenues pour **209** et EG00229 ont ensuite été affinées à l'aide de courtes expériences de dynamique moléculaire (20 ns). La distance entre la guanidine et l'acide carboxylique ne varie pas au cours du temps, ce qui confirme la robustesse de la liaison guanidinium-Asp320 et de la liaison acide carboxylique terminal-Lys351 (Figure 60). La comparaison du comportement de ces deux composés a mis en évidence la possibilité de créer des interactions additionnelles en introduisant un noyau aromatique en position C-7 et en utilisant un stéréoisomère de configuration inversée au niveau du carbone C-6.

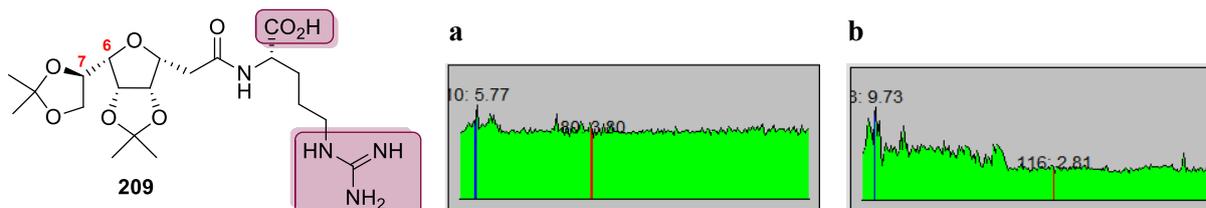


Figure 60. a) Dynamique moléculaire montrant la robustesse de la liaison guanidine-Asp320. **b)** Dynamique moléculaire montrant la robustesse de la liaison acide carboxylique terminal-Lys351

Pour tester cette hypothèse, les composés **225** et **238** ont été soumis au même protocole (Figure 61). En comparant les résultats de dynamique moléculaire obtenus avec ces deux ligands, il est apparu que le composé **238** présentait potentiellement le plus d'affinité avec le récepteur, notamment grâce à des interactions additionnelles de type π - π ou π -cation avec les noyaux aromatiques des résidus Tyr297 ou Lys347 (Figure 62). Cette hypothèse a ensuite été confirmée par les résultats obtenus lors des tests biologiques (cf Chapitre VI).

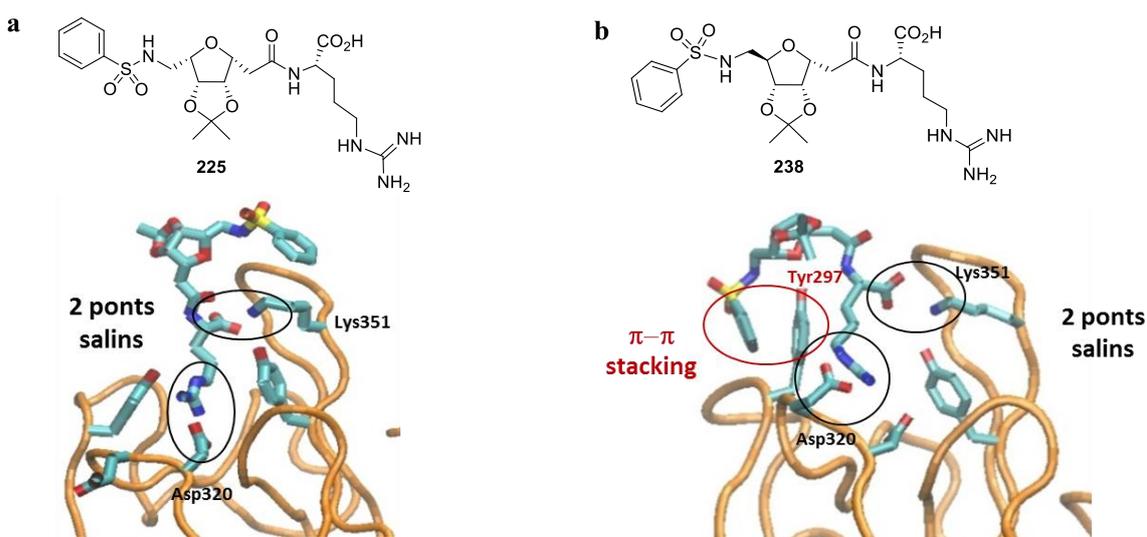


Figure 61. Docking de **225** (a) et **238** (b) montrant les interactions avec NRP-1

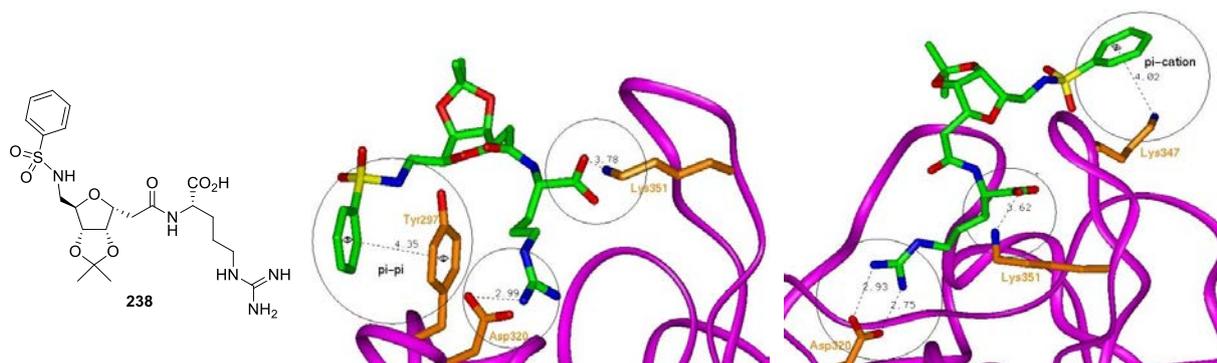


Figure 62. Docking de **238** montrant les interactions supplémentaires π - π ou π -cation

Ces résultats nous ont également conduits à envisager des interactions additionnelles avec les chaînes latérales des résidus Lys347, Glu348 ou Glu312 par l'introduction d'un groupe chargé négativement ou positivement sur le noyau aromatique. Les composés **244** et **248** ont été préparés en ce sens (Figure 63a), mais ils n'ont pas conduit à l'amélioration d'affinité attendue (cf Chapitre VI). Par contre, pour le composé fluoré **255** porteur d'un sucre supplémentaire, les études de docking ont mis en évidence une interaction additionnelle entre certains hydroxyles du sucre et le résidu Glu348 (Figure 63b). Les tests biologiques confirment que ce composé a une meilleure affinité pour le récepteur que **244** et **248**.

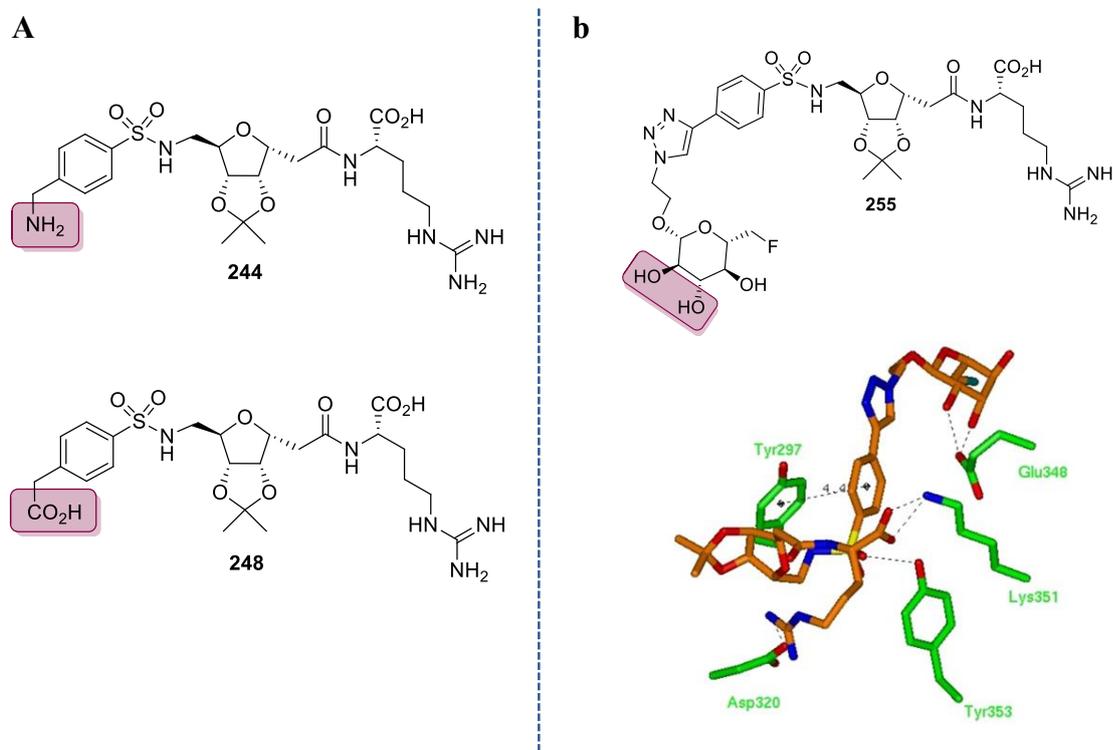


Figure 63. Structures des ligands **244** et **248** (a) et docking du composé **255** (b)

VI- Evaluation biologique

L'évaluation des propriétés biologiques des différents composés synthétisés a été effectuée au Centre de Recherche en Automatique de Nancy (CRAN, UMR 7039), dans le département Santé-Biologie-Signal (SBS). J'ai réalisé certains tests biologiques basés sur la méthode ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Les tests cellulaires sur les cellules endothéliales (tests de viabilité et de prolifération sur cellules HUVEC, tests d'invasion cellulaire et de formation de capillaires) ont été réalisés par les biologistes du CRAN.

VI.1- Test ELISA et calcul d'affinité

Le test biologique ELISA est une technique simple reposant sur l'affinité entre 2 espèces (anticorps/antigène ou ligand/récepteur) et dont le résultat est obtenu par lecture optique. Il existe 3 variantes de ce test :

- ELISA en sandwich pour détecter la présence d'un antigène dans un échantillon
- ELISA indirect pour déterminer une concentration d'anticorps dans un sérum
- ELISA par compétition pour évaluer l'affinité d'un anticorps ou d'un ligand pour un antigène ou un récepteur

Ici, nous avons utilisé le test ELISA par compétition afin d'évaluer l'affinité de nos composés par rapport au VEGF₁₆₅, ligand naturel de NRP-1. Le VEGF₁₆₅ utilisé dans le cadre de ce test est conjugué à une biotine (VEGFbt), ce qui le rendra détectable par ajout de streptavidine-HRP (Horseradish Peroxidase).

Les tests sont effectués par triplicats sur des plaques de 96 micropuits. Le récepteur NRP-1 est tout d'abord fixé au fond des micropuits par dépôt d'une solution diluée de NRP-1 dans le PBS pendant 18h. Après un lavage pour éliminer le surplus de NRP-1 qui ne s'est pas fixé, le ligand (dont la concentration est prédéfinie) et le VEGFbt sont introduits dans les puits. Après 2h de compétition, le surplus de solution est éliminé et la streptavidine-HRP est ajoutée et va se lier à la biotine du VEGFbt. La présence de HRP est ensuite mise en évidence par ajout successif d'un mélange d'eau oxygénée et de TMB (tétraméthylbenzidine) puis d'une solution diluée d'acide sulfurique. Une coloration jaune due à la réaction enzymatique apparaît alors et le résultat est représenté par l'absorbance à 450 nm (Schéma 111).

Ainsi, plus la réponse lumineuse d'un puit est intense, plus la concentration en VEGFbt dans ce puit est élevée et moins le ligand compétiteur est affiné avec NRP-1. Les résultats donnés ci-

dessous ont été déterminés pour une concentration en ligands compétiteurs de 100 μ M, sauf indications contraires.

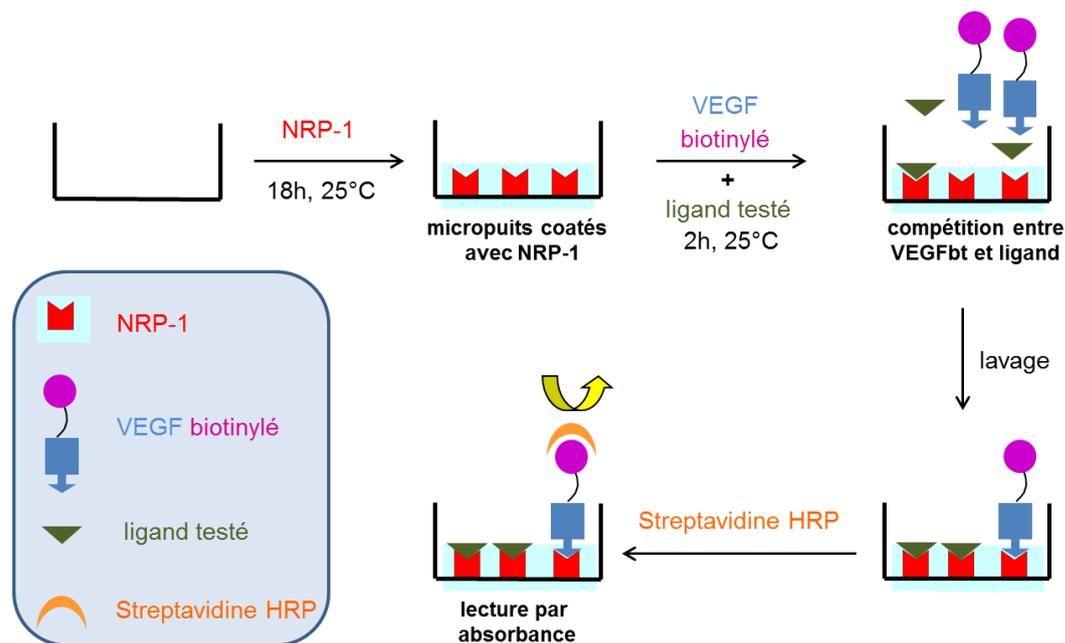


Schéma 111. Représentation schématique du protocole ELISA

VI.2- Résultats

Trois générations de molécules présentant une plate-forme centrale saccharidique ont été développées. La première génération est composée d'analogues d'AN241 pour lesquels on a fait varier différents paramètres structuraux (configuration de la plate-forme centrale, type de liens). La deuxième génération est basée sur une plate-forme centrale bicyclique de type spiroisoxazolidine. Enfin, la dernière génération est construite par couplage peptidique d'une arginine en C1 de la plate-forme centrale. Pour chaque génération, les résultats d'affinité sont présentés sous forme d'un tableau indiquant le pourcentage de VEGF biotinylé lié à NRP-1, l'affinité des ligands déduite de cette valeur ainsi que l'écart-type de la mesure (réalisée en triplicats).

VI.2.1- 1^{ère} génération : analogues de AN241

Les résultats obtenus pour cette génération de composés sont présentés dans le tableau 14.

composé	%VEGFbt lié sur NRP-1	écart- type	affinité des ligands (%)
VEGFbt	100	2,80	-
VEGF-A ₁₆₅	0	0,98	-
AN241	43	3,04	67
143	95	8,16	5
144	60	7,62	40
145	48	0,35	52
151	95	15,36	5
152	82	5,00	18
155	63	4,75	37
156	96	20,82	4
165	74	11,01	26

Tableau 14. Affinité des ligands de la 1^{ère} génération pour NRP-1 (concentration en ligand de 100 μ M)

La structure des composés de configuration *cis* **143**, **144** et **145** ne varie que par la longueur du bras carboné espaçant les deux fonctions guanidines. Ainsi, ce bras présente respectivement 1, 2 ou 3 carbones de plus qu'AN241. On voit d'après les résultats du tableau T11 que l'influence de ce bras est difficile à rationaliser, **143** et **144** (bras espaceur de 3 ou 4 carbones) présentent une moins bonne affinité qu'AN241 pour le récepteur alors que le composé **145** qui possède un bras espaceur à 5 carbones a une affinité assez proche d'AN241. Le composé **165**, analogue de AN241 de configuration *trans* montre une moins bonne affinité pour NRP-1. Concernant les produits **152**, **151**, **156** et **155**, il semble que la présence du triazole n'est pas favorable et diminue l'affinité des ligands pour le récepteur.

VI.2.2- 2^{ème} génération : spiro-isoxazolidines

Les résultats obtenus pour cette génération de molécules sont présentés dans le tableau 15.

composé	%VEGFbt lié à NRP-1	écart- type	affinité des ligands (%)
VEGFbt	100	2,80	-
VEGF-A ₁₆₅	5	1,35	95
174	63	2,05	37
175	50	2,26	50
176	81	3,91	19
177	100	4,06	0
184	101	15,90	0
185	104	16,72	0
186	103	7,98	0
187	100	0,09	0
192	96	15,95	4
199	92	6,66	8
200	103	9,15	0
201	105	7,13	0
202	101	2,60	0
205	102	9,74	0
206	100	3,50	0

Tableau 15. Affinité des ligands de la 2^{ème} génération pour NRP-1 (concentration en ligand de 100 μ M)

Globalement, l'affinité des ligands de cette série pour le récepteur NRP-1 est très faible. Seuls les composés **174** et **175** pour lesquels la plate-forme spiranique a été clivée présentent une bonne affinité pour le récepteur. Il semble donc que la plate-forme bicyclique spiranique ne soit pas adaptée pour cibler le récepteur NRP-1. L'interaction majoritaire entre le ligand et le récepteur NRP-1 ayant lieu dans une « poche », il est probable que la structure centrale des composés soit trop encombrante et empêche cette interaction.

VI.2.3- 3^{ème} génération : arginine en position C-terminale

a- Résultats

Les résultats obtenus pour cette génération sont présentés dans le tableau 16.

composés	%VEGFbt lié sur NRP-1	écart- type	affinité des ligands (%)
Témoin	100,00	2,80	-
VEGF-A ₁₆₅	8	0,61	92
209	57	3,00	43
212	56	2,96	44
225	45	3,49	55
228	54	1,30	46
229	45	0,95	55
238	33	1,62	67
244	60	3,83	40
248	82	1,61	18
255	43	3,91	57

Tableau 16. Affinité des ligands de la troisième génération pour le récepteur NRP-1 (pour une concentration en ligand de 100 µM)

On remarque que les composés de cette série sont globalement plus affins pour NRP-1 que ceux des séries précédentes. Les composés **228** et **229** sont intéressants mais étant donné qu'ils ont été testés sous forme de mélange, leur CI₅₀ n'a pas été calculée. Trois composés semblent se détacher : **225**, **238** et **255**. Pour confirmer ce premier test de liaison, les CI₅₀ de **209**, **212**, **225**, **238**, **244** et **255** ont été mesurées.

b- Calculs des IC₅₀

La troisième génération de composés s'est révélée particulièrement intéressante pour la liaison avec NRP-1 et les valeurs de concentration inhibitrice à 50% (CI₅₀) de certains de ces ligands ont été calculées. La méthode employée pour calculer les valeurs de CI₅₀ est décrite ci-dessous pour le ligand **255** à titre d'exemple.

Le test ELISA est réalisé en triplicats avec des concentrations variables de 200 à 10 μ M. Les résultats indiquent donc une augmentation du pourcentage de VEGFbt lié à NRP-1 lorsque la concentration en ligand diminue (Tableau 17). Les logarithmes de la concentration et du rapport $\frac{\text{affinité du ligand en \%}}{\text{VEGFbt lié en \%}}$ sont ensuite calculés. Ils serviront pour la linéarisation des résultats et la détermination des CI_{50} , selon une méthode décrite par Chou et Talalay en 1984.²⁰²

Concentration (μ M)	% VEGFbt lié à NRP-1	Affinité du ligand pour NRP-1 (%)	Log (C)	Log (affinité en %/VEGFbt en %)
200	23,7	76,3	2,30	0,51
150	32,2	67,8	2,18	0,32
100	42,7	57,3	2,00	0,13
75	48,5	51,5	1,88	0,03
50	61,1	38,9	1,70	-0,20
25	73,6	26,4	1,40	-0,45
10	86,0	14,0	1,00	-0,79

Tableau 17. Résultats obtenus pour 255

Les courbes réponse en fonction de la concentration et $\log \frac{\text{affinité du ligand en \%}}{\text{VEGFbt lié en \%}}$ en fonction de $\log(C)$ sont ensuite tracées (Figure 64).

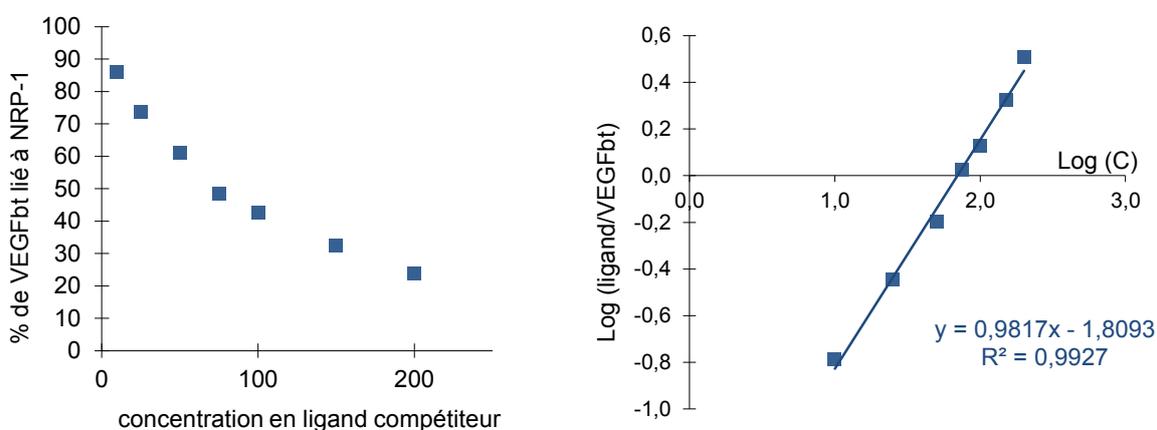


Figure 64. Courbe réponse/concentration et droite obtenue après linéarisation

Cette méthode permet ainsi de déterminer l'équation de la droite de régression. Dans notre cas :

$$\log(\text{ligand}/\text{VEGFbt}) = 0,9817\log(C) - 1,8093$$

Or, si l'on veut déterminer la CI_{50} , c'est-à-dire la concentration en ligand nécessaire pour inhiber 50% de la liaison VEGF-A/NRP-1, on doit considérer que le pourcentage de VEGFbt lié à NRP-1 est égal au pourcentage de ligand lié à NRP-1, c'est-à-dire 50%. Cela revient à déterminer la valeur de concentration pour laquelle $0,9817\log(C) - 1,8093 = 0$. On obtient ainsi une CI_{50} de 70 μM .

La même méthodologie a été employée pour les composés **209**, **212**, **225**, **238** et **244** et les résultats sont donnés dans le tableau 18.

composé	IC_{50} (μM)
209	187,3 \pm 19,9
212	181,3 \pm 22,4
225	88,3 \pm 8,03
238	39,1 \pm 0,66
244	134,4 \pm 1,93
255	69,7 \pm 2,26

Tableau 18. Valeurs de CI_{50} de quelques ligands

Les composés **209** et **212** montrent une affinité moyenne pour le récepteur avec une CI_{50} de 186 et 172 μM respectivement. Pour **225**, on a une affinité quasiment identique à celle d'AN241. En ce qui concerne son stéréoisomère **238**, on voit que l'affinité pour le récepteur est meilleure (CI_{50} de 39 μM), comme l'avaient prédit les études de modélisation moléculaire. Par contre, l'ajout d'une amine sur le phényle (**244**) n'apporte probablement pas l'interaction supplémentaire souhaitée puisque la CI_{50} mesurée pour ce ligand est de 133 μM . Le composé couplé avec un sucre fluoré (**255**) montre une bonne affinité de 70 μM pour NRP-1. Ce couplage n'a donc pas conduit à une perte notable d'affinité du ligand pour le récepteur et la valeur de CI_{50} mesurée est tout à fait acceptable pour une utilisation en imagerie moléculaire.

VI.3- Test de sélectivité

Le VEGF-A₁₆₅ possède plusieurs récepteurs naturels, NRP-1 et 2, VEGFR-1 (Flt-1) et VEGFR-2 (KDR). VEGF-A formant un complexe ternaire avec NRP-1 et VEGFR-2, il est intéressant

de comparer l'affinité des ligands préparés pour ces deux récepteurs afin de montrer que nos ligands sont sélectifs du récepteur NRP-1. Pour étudier cette sélectivité, le protocole ELISA a également été effectué sur le récepteur VEGFR-2. Ce test n'a été réalisé que pour les 4 meilleurs ligands **225**, **238**, **244** et **255**. Le tableau 19 réunit les résultats obtenus, c'est-à-dire le pourcentage de VEGFbt lié à VEGFR-2 pour une concentration en ligand de 100 μM et les valeurs de CI_{50} lorsqu'elles ont pu être calculées.

Composé	% de VEGFbt lié à VEGFR-2	CI_{50} (μM)
225	98	n.c.
238	85	> 500
244	102	n.c.
255	75	300

n.c. = non calculé

Tableau 19. Evaluation biologique sur VEGFR-2

On remarque que l'affinité de ces 4 ligands pour VEGFR-2 n'est pas très élevée voire inexistante dans le cas des composés **225** et **244**. Si l'on compare les récepteurs NRP-1 et VEGFR-2, nos ligands sont donc particulièrement sélectifs du récepteur neuropiline-1.

VI.4- Tests sur cellules HUVEC

Les tests ELISA réalisés donnent des informations sur l'affinité des composés pour le récepteur NRP-1. Pour aller plus loin dans la compréhension du mécanisme d'action des ligands, des tests cellulaires sur des cellules endothéliales peuvent également être mis en œuvre. Les cellules HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) sont des cellules issues de l'endothélium vasculaire de veines de cordon ombilical et expriment les récepteurs VEGF-R1, VEGF-R2 et NRP-1. Elles sont utilisées en laboratoire comme un système modèle pour l'étude des cellules endothéliales et du phénomène d'angiogenèse notamment.

L'angiogenèse se caractérise par différentes phases, représentées sur la figure 65. La première étape est l'activation des cellules endothéliales par des facteurs de croissance comme VEGF (1). Cette activation entraîne la dégradation locale de la matrice extracellulaire (2) et permet la migration et la prolifération des cellules endothéliales (3). Les nouvelles cellules endothéliales se réorganisent ensuite en structures tubulaires et des néovaisseaux sont ainsi créés (4).

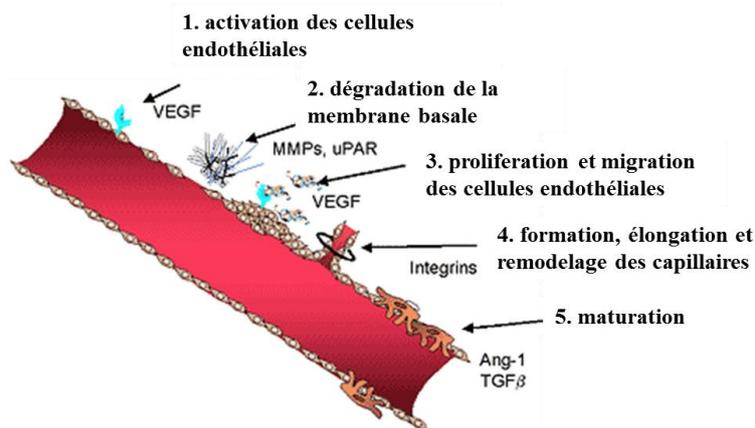


Figure 65. Les différentes phases de l'angiogenèse (image de www.medscape.org, modifiée)

Ainsi, pour compléter l'évaluation des propriétés biologiques des ligands, leur effet sur l'activation des cellules endothéliales (phase 1), sur la viabilité et la prolifération des cellules endothéliales (phase 3) ainsi que sur la formation de tubules (phase 4) a été étudié pour les composés les plus affins (225, 238, 244 et 255). Pour évaluer et comparer le potentiel anti-angiogénique de nos composés, les propriétés de la tuftsine, un peptide possédant une CI_{50} de 25 μ M, ont également été étudiées. Les tests ont été effectués par les biologistes du CRAN et le détail des méthodes utilisées est disponible dans la partie expérimentale de ce manuscrit.

VI.4.1- Effet sur l'activation des voies de signalisation de NRP-1

L'interaction entre VEGF- A_{165} et ses récepteurs, VEGFR-2 et NRP-1 notamment, provoque l'auto-phosphorylation des différents résidus tyrosine situés dans le domaine cytoplasmique du récepteur VEGF-R2, même si l'on ne connaît pas d'activité tyrosine kinase propre à NRP-1.²⁰³ Cette interaction entre VEGF-A, NRP-1 et VEGF-R2 a pour conséquences (Figure 66):

- la migration des cellules endothéliales
- la prolifération cellulaire par activation de la voie ERK1/2
- la survie cellulaire et l'inhibition de l'apoptose par activation de la voie Akt

Des dérèglements des voies ERK1/2 et Akt ont été reliés à un certain nombre de pathologies et notamment des cancers.²⁰⁴

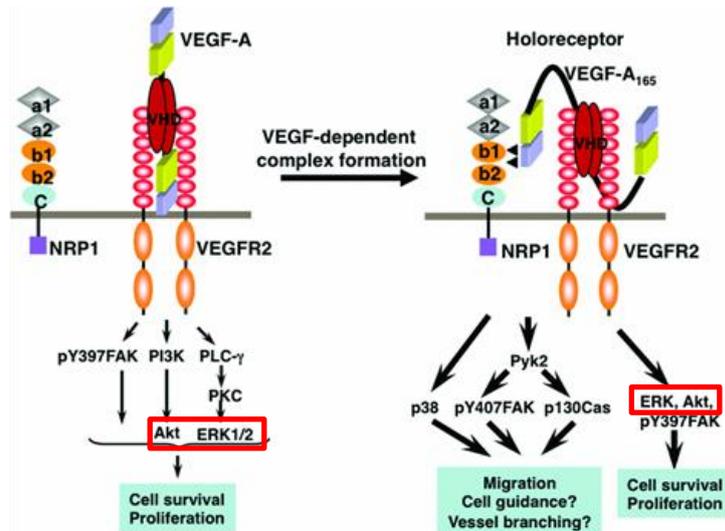


Figure 66. Les voies de signalisation cellulaires *via* VEGFR-2 et NRP-1²⁰¹

Dans un premier temps, l'effet des ligands sur l'activation des voies de signalisation ERK1/2 et Akt a été déterminé par Western-Blot. Cette technique repose sur la séparation sur gel de polyacrylamide de protéines d'intérêt (ici Akt ou ERK) en fonction de leur taille, ces protéines étant ensuite quantifiées en mesurant l'intensité de la bande obtenue (Figures F86 et F87). Pour déterminer l'effet d'un composé, le ratio protéines phosphorylées par rapport au total de protéines est calculé et comparé au ratio obtenu dans le cas de cellules non traitées.

En ce qui concerne la voie ERK1/2, le test a mis en évidence une inhibition d'environ 40% de la signalisation (Figure 67) et l'effet des 4 ligands testés est globalement identique. Pour la voie Akt, on a plutôt observé une augmentation de la signalisation en présence des ligands (Figure 68). Ainsi, concernant la tuftsine et le ligand **225**, la signalisation induite par la voie Akt est 1,5 fois plus élevée que dans le cas des cellules non traitées. Pour les ligands **244** et **255**, l'activation de la voie Akt est multipliée par 2 et c'est pour le ligand **238** que l'augmentation est la plus importante, la signalisation induite étant multipliée par 2,5.

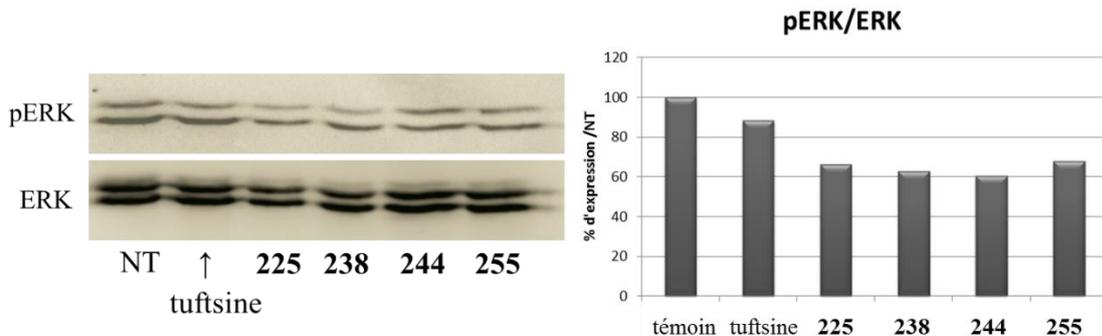


Figure 67. Analyse de l'effet des composés sur la voie ERK1/2 par western blot (c = 50 μ M)

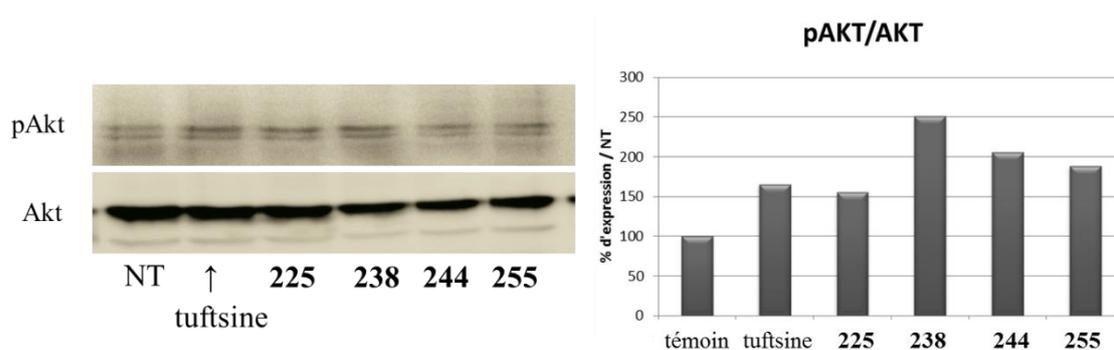


Figure 68. Analyse de l'effet des composés sur la voie Akt par western blot (c = 50 μ M)

Les ligands sont donc inhibiteurs de l'une des voies de signalisation étudiée (ERK1/2) et ont un effet activateur sur l'autre voie (Akt).

VI.4.2- Effets sur la survie et la prolifération des cellules endothéliales

Dans un second temps, pour déterminer l'effet des composés sur la viabilité et la prolifération des cellules HUVEC, un test WST1 a été réalisé. Les cellules ont été incubées avec les ligands ou la tuftsine à différentes concentrations allant de 10 à 200 μ M (Figure 69), puis un sel de tétrazolium (WST1) a été ajouté dans le milieu. Les enzymes des cellules viables vont alors réduire le sel de tétrazolium et conduire à la formation d'un formazan, détectable par spectrophotométrie à 450 nm. L'absorbance obtenue est donc directement liée au nombre de cellules viables et à l'activité métabolique des cellules. Sur la large gamme de concentrations étudiées, aucun effet sur la viabilité et l'activité métabolique cellulaire n'a été observé avec nos composés. Le même résultat a été obtenu avec un autre test basé sur une technique de mesure d'impédance en temps réel (Xcelligence).

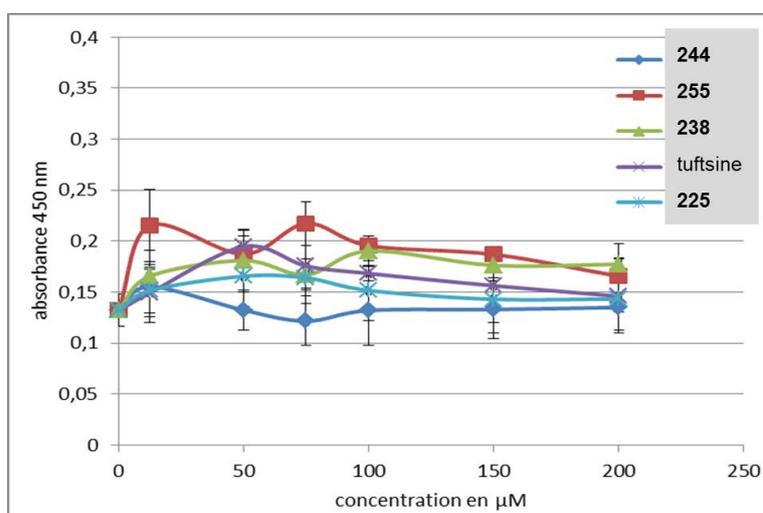


Figure 69. Effet des ligands sur la viabilité des cellules HUVEC

Les résultats obtenus avec ce test peuvent être expliqués par les différences observées sur l'activation des voies ERK et Akt. En effet, l'une des voies étant inhibée et l'autre stimulée par les composés, il n'y a globalement pas d'effet sur la viabilité et la prolifération des cellules endothéliales. Il a déjà été rapporté par différentes équipes que des composés inhibant la liaison NRP-1/VEGF-A₁₆₅ ne montraient aucun effet cytotoxique sur des cellules endothéliales ou cancéreuses.^{166,173}

VI.4.3- Effets sur l'invasion et le remodelage des cellules endothéliales en capillaires

La formation de capillaires par réorganisation des cellules endothéliales peut être induite *in vitro* en mettant en présence des cellules endothéliales des composants de la matrice extra-cellulaire (MEC). Pour mimer cet environnement extra-cellulaire, les biologistes utilisent le Matrigel[®]. Les cellules endothéliales cultivées sur Matrigel[®] peuvent former un réseau de capillaires en moins de 6 heures, sauf si un inhibiteur est présent dans le milieu. Il est ainsi possible d'évaluer l'activité anti-angiogénique d'un composé. Les ligands **225**, **238**, **244**, **255**, la tuftsine et le bévacizumab, un anticorps anti-VEGF, ont été introduits dans le milieu de culture et l'effet des composés sur la formation de capillaires a été étudié. Les images obtenues au microscope à contraste de phase montrent les réseaux formés après 24 heures d'incubation à 37°C (Figure 70). En présence de tuftsine, le réseau formé est similaire au réseau obtenu en absence d'inhibiteur (NT). Dans le cas du ligand **225**, on remarque qu'il n'y a pas de réseau formé, contrairement aux ligands **238** et **244**. Dans le cas du composé **255**, on observe que le réseau de capillaires formé est moins important que dans le cas du témoin, mais plus important qu'avec **225**. En présence de bévacizumab, la formation du réseau a été totalement inhibée.

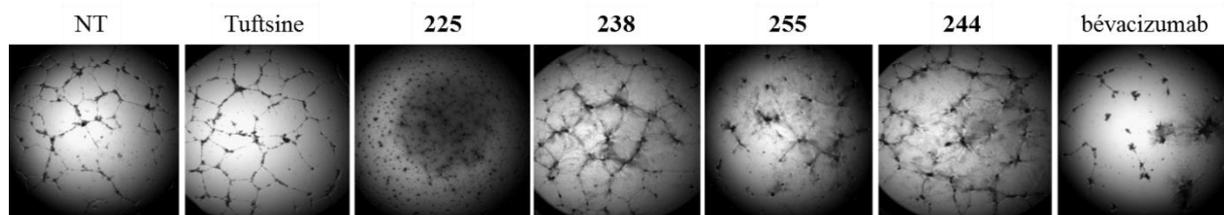


Figure 70. Formation de tubules sur Matrigel[®] (microscope à contraste de phase, c = 50 µM)

Le ligand **225** semble donc être le plus intéressant pour inhiber le phénomène d'angiogénèse. Pour le confirmer, un test d'invasion en chambre de Boyden a été réalisé. Ce test biologique permet d'évaluer l'effet d'un composé sur la migration des cellules endothéliales et sur la dégradation de la matrice extra-cellulaire par ces cellules. En effet, pour que la migration des

cellules endothéliales ait lieu, ces dernières libèrent des enzymes appelées métalloprotéinases qui dégradent les composants de la MEC (ou du Matrigel[®] dans le cas des tests *in vitro*).

Pour ce test, deux compartiments sont séparés par un filtre recouvert d'une faible épaisseur de Matrigel[®] au travers duquel des cellules peuvent migrer (Figure 71). Dans le compartiment supérieur se trouvent les cellules endothéliales ainsi que les différents ligands étudiés. Si le ligand empêche la libération des enzymes, le Matrigel[®] n'est pas dégradé et la migration des cellules endothéliales est empêchée, dans le cas contraire, le passage des cellules dans le compartiment inférieur est possible. Dans notre cas, le test a été réalisé pour les ligands **225**, **238**, **244** et **255**, la tuftsine et le bévacicumab avec une concentration en composés de 50 µM. Après une période d'incubation de 16h à 37 °C, les cellules qui ont migré dans le compartiment inférieur sont quantifiées par lecture de l'absorbance à 540 nm après ajout de cristal violet.

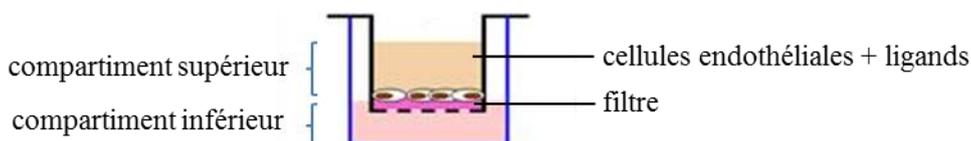


Figure 71. Représentation schématique d'une chambre de Boyden

Les résultats de ce test sont donnés sous forme de graphique (Figure 72). Pour la tuftsine, le bévacicumab et les ligands **255** et **238**, on voit qu'il n'y a pas d'inhibition de l'invasion cellulaire. On observe une légère inhibition en présence du composé **244**, mais c'est avec le ligand **225** que l'effet est le plus important, l'invasion étant divisée par deux par rapport aux cellules non traitées.

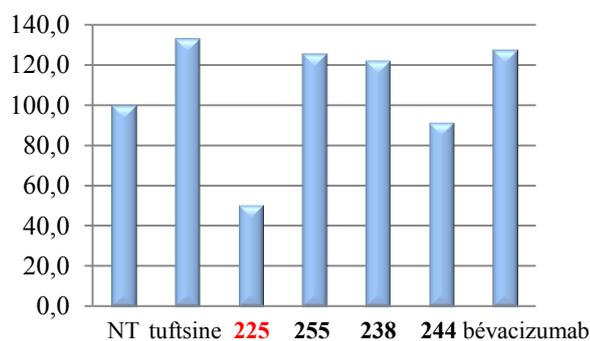


Figure 72. Résultats des tests de migration en chambre de Boyden (c = 50 µM)

D'après ces résultats, il semble que **225** empêche la libération d'enzymes et donc la dégradation du Matrigel[®]. Le Matrigel[®] n'étant pas dégradé, les cellules endothéliales ne peuvent pas migrer et l'invasion est inhibée.

VI.4.4- Discussion

Ces tests cellulaires ont mis en évidence des différences sur l'inhibition des deux voies de signalisation étudiées. Pour la voie ERK1/2, les ligands diminuent la signalisation de 40% alors qu'une activation de la voie Akt est observée. Ces résultats peuvent expliquer que les ligands n'affectent pas la viabilité et la prolifération des cellules HUVEC. L'activation de certaines voies de signalisation et de certaines fonctions cellulaires clés comme la survie et la prolifération des cellules endothéliales ne résulte donc pas nécessairement de l'interaction VEGF-A/NRP-1. En ce qui concerne les tests d'inhibition de l'angiogenèse, des résultats intéressants ont été obtenus pour le composé **225**, qui possède la capacité d'empêcher la réorganisation des cellules endothéliales en tubules et inhibe l'invasion cellulaire. Ces résultats mettent en avant le rôle essentiel de NRP-1 et du complexe ternaire qu'il forme avec VEGFR-2 et VEGF-A dans les phénomènes de migration cellulaire et de formation des capillaires.

Le composé qui démontre les meilleures propriétés anti-angiogéniques (**225**, $CI_{50} = 88 \mu\text{M}$) n'est pas le composé le plus affiné (**238**, $CI_{50} = 39 \mu\text{M}$). Cela peut s'expliquer avec les résultats obtenus sur la voie de signalisation Akt, **225** étant le composé qui active le moins cette voie alors que **238** est celui qui l'active le plus (Figure 68). On remarque également que la tufstine ne démontre pas de propriétés anti-angiogéniques alors qu'elle a une CI_{50} de $25 \mu\text{M}$. Cela peut être dû à une instabilité du peptide dans les conditions des tests biologiques, ce qui souligne à nouveau l'intérêt de développer des composés non peptidiques.

VII- Conclusion

Dans l'optique de cibler le récepteur NRP-1, trois générations de molécules présentant une plate-forme centrale saccharidique ont été développées. La première génération, composée d'analogues d'AN241 pour lesquels différents paramètres structuraux ont été modifiés, n'a pas conduit à une amélioration de l'affinité par rapport à AN241. Il a également été mis en évidence que la plate-forme centrale bicyclique spiranique, sur laquelle sont basés les composés de la deuxième génération, n'était pas adaptée pour le ciblage de ce récepteur. La dernière génération, construite par couplage peptidique d'une arginine sur la plate-forme centrale, a globalement montré une meilleure affinité pour NRP-1. En se basant sur des études de modélisation moléculaire, des modifications structurales ont été mises en œuvre pour augmenter l'affinité des composés envers le récepteur. Ainsi, un ligand de configuration *cis* comportant une sulfonamide aromatique et une arginine en position C-terminale possède une affinité similaire à AN241 (CI_{50} de 88 μ M, **225**) et un ligand présentant les mêmes fonctions chimiques en configuration *trans* a montré une affinité améliorée avec une CI_{50} de 39 μ M (**238**), en accord avec les observations de modélisation moléculaire. Des tests de sélectivité pour les 4 ligands les plus affins ont montré que ces composés sont particulièrement sélectifs du récepteur neuropiline-1. Les tests cellulaires complémentaires menés sur ces composés ont mis en évidence un effet anti-angiogénique intéressant pour le ligand **225** qui inhibe de moitié l'invasion cellulaire et empêche la réorganisation *in vitro* des cellules endothéliales en capillaires.

En accord avec une thématique de recherche développée dans notre groupe concernant la préparation de groupes prosthétiques saccharidiques pour une utilisation en imagerie TEP, l'une des perspectives de ce projet est l'utilisation de ligands en tant que sondes pour l'imagerie moléculaire. Dans ce but, le ligand le plus afffin (**238**) a été conjugué à un sucre fluoré *via* un triazole. Le composé **255** obtenu a montré une affinité légèrement diminuée (CI_{50} = 70 μ M), cette valeur est toutefois suffisante pour l'utilisation que nous souhaitons en faire. Ce travail doit être poursuivi par la synthèse du composé radiomarqué (collaboration avec Nancyclotep, CHU de Brabois) et par l'injection du radiotraceur obtenu sur des modèles animaux adaptés. Nous pourrions ainsi valider le concept d'utilisation du récepteur NRP-1 pour le diagnostic de certains cancers.

Une deuxième perspective à ce travail est l'étude de l'effet des composés sur des tumeurs cérébrales cancéreuses de l'enfant appelées médulloblastomes. Les traitements actuels sont

plutôt efficaces mais ils sont agressifs et les risques de métastases et de récurrences sont élevés.²⁰⁵ Pour améliorer la qualité de vie des patients, il est nécessaire de développer des thérapies plus sélectives et moins agressives. Dans ce but, il faut prendre en compte les mécanismes de résistance et de récurrence liés notamment à la présence de cellules particulières, les cellules souches cancéreuses (CSC). Récemment, il a été démontré que certaines cellules souches cancéreuses peuvent exprimer NRP-1²⁰⁶ et que la voie de signalisation impliquant NRP-1 joue un rôle important dans la progression du médulloblastome.²⁰⁷ Les biologistes du CRAN vont réaliser des tests pour mieux comprendre l'implication du récepteur NRP-1 et des cellules souches cancéreuses dans la progression de ces tumeurs. Les tests préliminaires réalisés en ce sens indiquent que le composé **225** serait le plus intéressant pour cette étude.

Conclusion générale

Ce travail, basé sur la réactivité des *exo*-glycals, présentait un double objectif, l'étude de la réactivité des *exo*-glycals vis-à-vis de la réaction d'addition 1,4 et l'utilisation de *C*-glycosides issus de ces *exo*-glycals pour la préparation de molécules à activité biologique.

Dans un premier temps, la mise au point de méthodes d'addition de Michael d'un nucléophile carboné a permis de préparer une série de composés bis *C,C*-glycosidiques. Cette réaction, particulièrement efficace pour les isomères *E*, s'est révélée inefficace pour les pyrano-*exo*-glycals. Les adduits obtenus sont des intermédiaires intéressants pour la préparation de γ -glycoamino acides anomériques. Ces derniers ont ensuite été introduits dans des chaînes peptidiques linéaires α/γ alternées et les propriétés de structuration en solution de ces entités ont été étudiées par différentes techniques (RMN, IR, DC, modélisation moléculaire). Après cyclisation, ces peptides originaux nous ont également permis de préparer des structures cycliques présentant différents points de fonctionnalisation. L'ancrage de divers groupements d'intérêt sur ces structures cycliques est une perspective de ce travail, cela nécessite néanmoins d'optimiser les conditions de purification et de déprotection de ces composés.

L'addition de composés soufrés a également été mise au point en conditions basiques et radicalaires et a permis la préparation de *C,S*-glycosides à 5 ou 6 chaînons. L'addition, catalytique et stéréospécifique, a conduit au même adduit dans les deux conditions expérimentales utilisées. De plus, cette méthode ne nécessite pas de protéger les thiols ajoutés et permet le couplage entre sucres et peptides à SH de façon efficace.

Dans un second temps, deux *exo*-glycals de configuration *gulo* et *ribo*, présentant une fonction méthoxycarbonylméthyl et une fonction hydroxyle ou diol (protégées) ont été utilisés comme plates-formes centrales pour la construction de ligands du récepteur NRP-1, impliqué dans le processus de l'angiogenèse tumorale. Trois générations de ligands ont ainsi été préparées. La première est constituée d'analogues de AN241, une molécule « hit » basée sur une plate-forme de type *C*-glycoside synthétisée il y a quelques années au laboratoire. La seconde génération de molécules présente une structure spiranique rigide sur laquelle est ancrée un bras guanidinylé. Globalement, les résultats obtenus avec ces composés n'ont pas permis une amélioration de l'affinité par rapport à AN241. Une troisième génération, constituée de *C*-glycosides portant une arginine en position C-1 ainsi que divers aromatiques en position C-7 a été élaborée en s'appuyant sur des données de modélisation moléculaire. De façon générale, ces composés ont montré une meilleure affinité pour le récepteur NRP-1 et un ligand avec une

CI₅₀ de 39 μ M (ligand **238**) a été préparé. Des tests biologiques complémentaires ont également mis en évidence le caractère anti-angiogénique du composé **225**. Enfin, dans une optique de radiomarquage de ces ligands, une molécule présentant une triple liaison a été préparée et, *via* une cycloaddition de type Huisgen, un sucre fluoré a été ancré sur le ligand **238**. Le composé obtenu (**255**) présente une bonne affinité pour le récepteur (CI₅₀ de 70 μ M) et des essais de radiomarquage sont envisagés afin d'obtenir l'équivalent de **255** marqué au Fluor-18.

Partie expérimentale

Sommaire

I- Indications générales.....	183
II- Synthesis and characterization of compounds.....	186
II.1- <i>Exo</i> -glycals.....	186
II.2- Michael addition.....	193
II.2.1- Nitromethane addition.....	193
II.2.2- Thiols addition.....	203
II.3- Linear and cyclic glycopeptides.....	220
II.4- Synthesis of peptidomimetic compounds.....	246
II.4.1- AN241 analogues.....	246
II.4.2- Spiro-isoxazolidines.....	265
II.4.3- Arginine at C-terminal end.....	281
III- Biological testings.....	301
III.1- ELISA test with NRP-1 or VEGFR-2.....	301
III.2- Endothelial cells (HUVEC).....	301
III.2.1- General procedure for HUVECs culture and treatment.....	301
III.2.2- General procedure for Western Blots.....	301
III.2.3- General procedure for cell viability assays.....	302
III.2.4- General procedure for angiogenesis and invasion assays.....	302
IV- Molecular modelling.....	302

I- Indications générales

Les différents réactifs et solvants commerciaux (Acros, Alfa Aesar, Bachem, Carlo Erba, Carbosynth, Chem-Impex et Sigma-Aldrich) ont été utilisés sans purification préalable. Le dichlorométhane a été distillé sur P_2O_5 et certains solvants anhydres (THF, toluène, MeOH) ont été récoltés en sortie d'un purificateur de solvants (MBRAUN, MB-SPS-800).

Les points de fusion (Mp) ont été mesurés en tube capillaire à l'aide d'un appareil Tottoli, et sont exprimés en degrés Celsius ($^{\circ}C$).

Les pouvoirs rotatoires ($[\alpha]_D$) ont été déterminés grâce à un polarimètre Anton Paar MC300 avec une cuve de 100 mm à $25^{\circ}C$ et sont exprimés en $deg.mL.g^{-1}.dm^{-1}$.

Les spectres infra-rouges (IR) ont été enregistrés sur un appareil Perkin-Elmer Spectrum 1000, soit en film sur pastille de NaCl, soit en pastille de KBr. Les maxima d'absorption sont donnés en cm^{-1} .

Les spectres RMN 1H , ^{13}C et ^{19}F ont été enregistrés sur un appareil Bruker DPX250 à 250 MHz pour le proton 1H , à 62,9 MHz pour le carbone ^{13}C et à 235,2 MHz pour le fluor ^{19}F . Certains spectres ont été enregistrés sur un appareil Bruker Avance III à 400 MHz pour le proton 1H et à 100,6 MHz pour le carbone ^{13}C . Les déplacements chimiques (δ) sont donnés en partie par million (ppm) par rapport au pic résiduel du solvant et les constantes de couplage sont données en Hertz (Hz). En fonction de la solubilité et de la stabilité des produits, les spectres ont été enregistrés dans les solvants deutérés suivants : $CDCl_3$, D_2O , CD_3OD , C_6D_6 , CD_3CN , $(CD_3)_2CO$ et $(CD_3)_2SO$. La multiplicité des signaux est notée avec les désignations : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet), app (apparent). L'attribution 1H et ^{13}C de certains composés a nécessité l'enregistrement de spectres bidimensionnels (COSY, NOESY, HMQC, HMBC).

Les spectres de masse basse ou haute résolution (BR ou HRMS) ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker micrOTOF-Q et sont obtenus par ionisation par électrospray (ESI) en mode positif ou négatif.

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur des plaques de silice Kieselgel 60 F_{254} (Merck). Les plaques ont été révélées sous lumière U.V. (254 nm) et par pulvérisation d'une solution variant selon les composés (une solution d'acide sulfurique (30%) dans le méthanol pour les dérivés saccharidiques en général et une solution de ninhydrine dans le méthanol pour les amines).

Les purifications par chromatographie flash ont été réalisées avec un système Combiflash Rf (Teledyne-Isco) ou avec une pompe ISMATEC associée à un collecteur LKB (Helirac, modèle 2212) sur du gel de silice SI 60 (35-70 μm , Merck). Les purifications en phase inverse ont été réalisées avec de la silice Lichroprep RP-18 (40-63 μm , Merck). Certaines purifications difficiles ont été réalisées sur colonnes HPLC (diamètre 20 mm, comprimées à 8 bars et diamètre 50 mm comprimées à 80 bars, Separex-Novasep).

Les irradiations micro-onde ont été effectuées sur l'appareil CEM Discover dont la température est contrôlée par une sonde infra-rouge externe.

Les produits sont décrits dans l'ordre d'apparition du manuscrit. Pour les produits déjà décrits dans des thèses ou des publications précédentes, seul la description RMN ^1H est donnée ici.

Pour plus de clarté, la structuration de la partie expérimentale ainsi que les numéros des produits décrits dans chaque sous-partie sont rappelés ici :

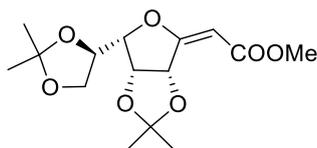
II.1- Exo-glycals	1, 4, 5, 9, 11-16, 27, 28, 36, 61
<hr/>	
II.2- Michael addition	
<hr/>	
II.2.1- Nitromethane addition	2, 3, 6, 7, 10, 17-26, 29-32
<hr/>	
II.2.2- Thiols addition	33-35, 37-43, 48-54, 57-60, 62-72
<hr/>	
II.3- Linear and cyclic glycopeptides	8, 75-94, 97-100, 102-111, 113, 115, 116, 118, 120, 122, 123, 125-132
<hr/>	
II.4- Synthesis of peptidomimetic compounds	
<hr/>	
II.4.1- AN241 analogues	133-165, 230
<hr/>	
II.4.2- Spiro-isoxazolidines	166-172, 174-187, 189, 192, 194, 196-203, 205, 206
<hr/>	
II.4.3- Arginine at C-terminal end	207, 209, 210, 212-216, 218-225, 228, 229, 231, 232, 234-236, 238-241, 243, 244, 246, 248, 250-252, 254, 255

II- Synthesis and characterization of compounds

II.1- Exo-glycols

Exo-glycols were prepared according to literature procedures.^{8,22b}

(2E) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-gulo-oct-2-enoic acid methyl ester 1-E



Yield 41 % as a yellow solid

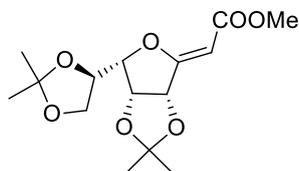
C₁₅H₂₂O₇

M.W. = 314.33 g.mol⁻¹

R_f = 0.30 (cH/EA: 7/3)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.40 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.41 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.44 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.48 (s, 3H, C(CH₃)₂), 3.71 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.77 (dd, 1H, J_{gem} = 9.0, J_{7,8} = 7.0 Hz, H-8), 4.19 (dd, 1H, J_{5,6} = 4.5, J_{6,7} = 8.0 Hz, H-6), 4.25 (dd, 1H, J_{7,8'} = 7.0 Hz, H-8'), 4.44 (m, 1H, H-7), 4.76 (dd, 1H, J_{4,5} = 6.5 Hz, H-5), 5.55 (d, 1H, J_{2,4} = 1.0 Hz, H-2), 5.79 (dd, 1H, H-4).

(2Z) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-gulo-oct-2-enoic acid methyl ester 1-Z



Yield 40 % as a yellow solid

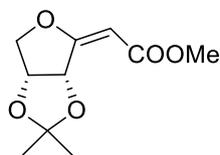
C₁₅H₂₂O₇

M.W. = 314.33 g.mol⁻¹

R_f = 0.21 (cH/EA: 7/3)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.34, 1.38, 1.43, 1.45 (4s, 12 H, 4 C(CH₃)₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (dd, 1H, J_{gem} = 8.5, J_{7,8} = 6.0 Hz, H-8), 4.21 (dd, 1H, J_{7,8'} = 8.0 Hz, H-8'), 4.40-4.52 (m, 2H, H-6, H-7), 4.64 (dd, 1H, J_{4,5} = 6.0, J_{5,6} = 3.5 Hz, H-5), 5.10 (d, 1H, J_{2,4} = 1.5 Hz, H-2), 5.13 (dd, 1H, H-4).

(2E) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-erythro-hex-2-enoic acid methyl ester 4-E



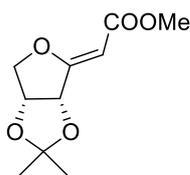
Yield 45 % as a yellow powder

C₁₀H₁₄O₅

Mol. Wt.: 214.22 g/mol

R_f = 0.33 (cH/EA: 7/3)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.40 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.43 (s, 3H, C(CH₃)₂), 3.69 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.17 (dd, 1H, J_{gem} = 10.5, J_{5,6} = 4.5 Hz, H-6), 4.37 (d, 1H, H-6'), 4.87 (m, 1H, H-5), 5.42 (d, 1H, J_{2,4} = 1.0 Hz, H-2), 5.71 (dd, 1H, J_{4,5} = 6.5 Hz, H-4).

(2Z) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-erythro-hex-2-enoic acid methyl ester 4-Z

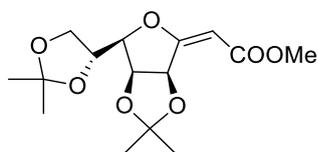
Yield 41 % as a yellow powder

C₁₀H₁₄O₅

Mol. Wt.: 214.22 g/mol

R_f = 0.15 (cH/EA: 7/3)

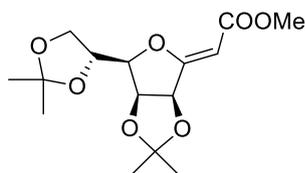
¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.24 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.31 (s, 3H, C(CH₃)₂), 3.54 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.29 (dd, 1H, J_{gem} = 11.0, J_{5,6} = 4.0 Hz, H-6), 4.46 (d, 1H, H-6'), 4.67 (m, 1H, H-5), 4.96 (d, 1H, J_{4,5} = 6.5 Hz, H-4), 4.98 (s, 1H, H-2).

(2E) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-manno-oct-2-enoic acid methyl ester 5-E

Yellow solid

C₁₅H₂₂O₇M.W. = 314.33 g.mol⁻¹R_f = 0.35 (cH/EA: 7/3)

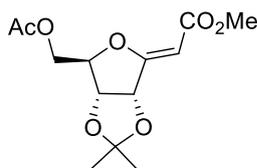
¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.39 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.43 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.45 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.46 (s, 3H, C(CH₃)₂), 3.72 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.06 (dd, 1H, J_{gem} = 9.0, J_{7,8} = 4.5 Hz, H-8), 4.11-4.19 (m, 2H, H-6, H-8'), 4.47 (m, 1H, H-7), 4.86 (dd, 1H, J_{4,5} = 6.0, J_{5,6} = 4.0 Hz, H-5), 5.44 (s, 1H, J_{2,4} = 1.0 Hz, H-2), 5.76 (dd, 1H, H-4).

(2Z) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-manno-oct-2-enoic acid methyl ester 5-Z

Yellow solid

C₁₅H₂₂O₇M.W. = 314.33 g.mol⁻¹R_f = 0.25 (cH/EA: 7/3)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.40 (s, 6H, 2 C(CH₃)₂), 1.46 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.48 (s, 3H, C(CH₃)₂), 3.68 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.18-4.20 (m, 2H, H-8, H-8'), 4.40 (dd, 1H, J_{6,7} = 8.0, J_{5,6} = 3.5 Hz, H-6), 4.50 (m, 1H, H-7), 4.77 (dd, 1H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-5), 5.12 (s, 1H, H-2), 5.79 (d, 1H, H-4).

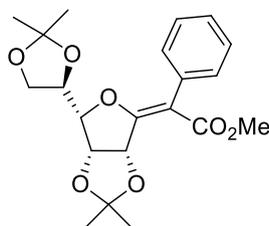
(2Z) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-acetyl-D-ribo-hept-2-enoic acid methyl ester 9-Z

Yellow gum

C₁₃H₁₈O₇M.W. = 286.11 g.mol⁻¹R_f = 0.41 (cH/EA: 1/1)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.38 (s, 3H, CH₃), 1.46 (s, 3H, CH₃), 2.05 (s, 3H, OCH₃), 3.70 (s, 3H, COOCH₃), 4.23 (dd, 1H, $J_{7,7'}$ = 12.5, $J_{6,7}$ = 3.0 Hz, H-7), 4.34 (dd, 1H, $J_{6,7}$ = 3.5 Hz, H-7'), 4.62 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 5.5 Hz, H-5), 4.93 (t, 1H H-6), 5.10-5.12 (m, 2H, H-4, H-2).

(2E) 3,6-anhydro-2-deoxy-2-phenyl-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-gulo-oct-2-enoic acid methyl ester 11-E



Yield: 71% as a colorless oil

C₂₁H₂₆O₇

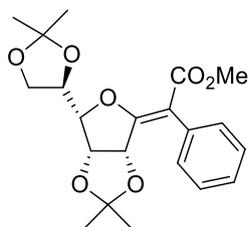
M.W.: 390.43 g/mol

R_f: 0.50 (cH/Ea: 1/1)

$[\alpha]_D^{20}$ = -180.0° (c = 1.15, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.38 (s, 3H, CH₃), 1.40 (s, 3H, CH₃), 1.44 (s, 3H, CH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (dd, 1H, J_{gem} = 9.0, $J_{7,8}$ = 7.0 Hz, H-8), 4.19 (dd, 1H, $J_{6,7}$ = 8.0, $J_{5,6}$ = 4.0 Hz, H-6), 4.23 (dd, 1H, $J_{7,8'}$ = 7.0 Hz, H-8'), 4.41 (td, 1H, H-7), 4.75 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, H-5), 5.96 (d, 1H, H-4), 7.27-7.40 (m, 5H, 5 H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** δ = 25.8 (CH₃), 26.4 (CH₃), 27.1 (CH₃), 27.2 (CH₃), 52.2 (OCH₃), 66.3 (C-8), 76.0 (C-7), 78.2 (C-5), 81.4 (C-4), 86.3 (C-6), 109.3, 110.4 (C-2, C(CH₃)₂), 113.7 (C(CH₃)₂), 127.4 (C-Ar), 128.2 (2 C-Ar), 130.3 (2 C-Ar), 134.5 (C-Ar), 166.2 (C-3), 168.4 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 413.1579 (calculated for C₂₁H₂₆O₇Na: 413.1571). **IR** (NaCl) ν = 2989, 2938, 1708, 1637, 1602 cm⁻¹

(2Z) 3,6-anhydro-2-deoxy-2-phenyl-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-gulo-oct-2-enoic acid methyl ester 11-Z



Yield: 70 % as a colorless oil

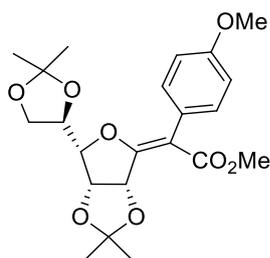
C₂₁H₂₆O₇

M.W.: 390.43 g/mol

R_f: 0.45 (cH/Ea: 1/1)

$[\alpha]_D^{20}$ = -275.0° (c = 1.07, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.24 (s, 3H, CH₃), 1.42 (s, 3H, CH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (dd, 1H, J_{gem} = 9.0, $J_{7,8}$ = 7.0 Hz, H-8), 4.24 (dd, 1H, $J_{7,8'}$ = 7.0 Hz, H-8'), 4.30 (dd, 1H, $J_{6,7}$ = 8.0, $J_{5,6}$ = 4.0 Hz, H-6), 4.41 (td, 1H, H-7), 4.64 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, H-5), 4.98 (d, 1H, H-4), 7.27-7.40 (m, 5H, 5 H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** δ = 25.8 (CH₃), 25.9 (CH₃), 26.8 (CH₃), 27.2 (CH₃), 52.2 (OCH₃), 66.3 (C-8), 76.0 (C-7), 77.7 (C-5), 81.2 (C-4), 87.2 (C-6), 110.5, 110.8 (C-2, C(CH₃)₂), 113.9 (C(CH₃)₂), 127.8 (C-Ar), 128.3 (2 C-Ar), 131.0 (2 C-Ar), 134.9 (C-Ar), 163.0 (C-3), 167.1 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 413.1591 (calculated for C₂₁H₂₆O₇Na: 413.1571). **IR** (NaCl) ν = 2986, 2940, 1714, 1636, 1602 cm⁻¹

(2E) 3,6-anhydro-2-deoxy-2-(4-methoxyphenyl)-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-gulo-oct-2-enoic acid methyl ester 12-E

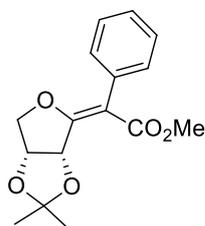
Yield: 64% as a white solid

C₂₂H₂₈O₈

M.W.: 420.18 g/mol

R_f: 0.54 (cH/EA: 1/1)[α]_D = -102.0° (c = 0.5, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.39 (s, 3H, CH₃), 1.41 (s, 3H, CH₃), 1.46 (s, 3H, CH₃), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.77 (m, 1H, H-8), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 4.16 (dd, 1H, J_{6,7} = 8.0, J_{5,6} = 4.5 Hz, H-6), 4.22 (dd, 1H, J_{gem} = 8.5, J_{7,8} = 6.5 Hz, H-8'), 4.40 (m, 1H, H-7), 4.73 (dd, 1H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-5), 5.92 (d, 1H, H-4), 6.88 (d, 2H, J = 9.0 Hz, 2 H-Ar), 7.26 (d, 2H, J = 9.0 Hz, 2 H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 25.4 (CH₃), 26.0 (CH₃), 26.7 (CH₃), 26.8 (CH₃), 51.8 (OCH₃), 55.2 (OCH₃), 65.9 (C-8), 75.6 (C-7), 77.8 (C-5), 80.9 (C-4), 85.7 (C-6), 108.6, 110.0 (C-2, C(CH₃)₂), 113.2, 113.3 (2 C-Ar, C(CH₃)₂), 126.3 (C-Ar), 131.0 (2 C-Ar), 158.4 (C-Ar), 165.1 (C-3), 168.2 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺** m/z = 443.1668 (calculated for C₂₂H₂₈O₈Na: 443.1676). **IR (NaCl)** ν = 2986, 2938, 1712, 1637, 1610, 1513 cm⁻¹

(2E) 3,6-anhydro-2-deoxy-2-phenyl-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-erythro-hex-2-enoic acid methyl ester 13-E

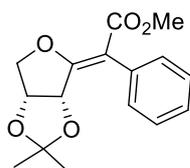
Yield: 83% as a colorless gum

C₁₆H₁₈O₅

M.W.: 290.12 g/mol

R_f: 0.51 (cH/EA: 7/3)[α]_D = -188.3° (c = 1, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.47 (s, 3H, CH₃), 1.51 (s, 3H, CH₃), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 4.15 (dd, 1H, J_{gem} = 10.5, J_{5,6} = 4.5 Hz, H-6), 4.38 (dd, 1H, J_{5,6} = 1.0 Hz, H-6'), 4.90 (ddd, 1H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-5), 5.93 (d, 1H, H-4), 7.25-7.39 (m, 5H, H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 26.1 (CH₃), 27.2 (CH₃), 51.8 (OCH₃), 75.5 (C-6), 77.7, 80.5 (C-5, C-4), 108.8 (C-2), 113.0 (C(CH₃)₂), 127.3 (C-Ar), 128.0 (2 C-Ar), 130.1 (2 C-Ar), 134.6 (C-Ar), 167.6, 167.7 (C-3, C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺** m/z = 313.1058 (calculated for C₁₆H₁₈O₅Na: 313.1046). **IR (NaCl)** ν = 2990, 2952, 1711, 1638, 1600 cm⁻¹

(2Z) 3,6-anhydro-2-deoxy-2-phenyl-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-erythro-hex-2-enoic acid methyl ester 13-Z

Yield: 45 % as a colorless gum

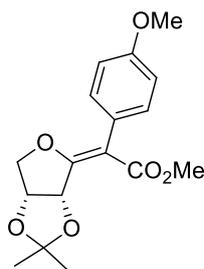
C₁₆H₁₈O₅

M.W.: 290.12 g/mol

R_f: 0.46 (cH/EA: 7/3)[α]_D = -297.2° (c = 0.5, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.26 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 4.36 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 10.5$, $J_{5,6} = 4.5$ Hz, *H*-6), 4.54 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 1.0$ Hz, *H*-6'), 4.76 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-5), 5.92 (d, 1H, *H*-4), 7.29-7.38 (m, 5H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 25.7 (CH₃), 26.9 (CH₃), 51.7 (OCH₃), 76.7 (*C*-6), 77.0, 80.4 (*C*-5, *C*-4), 109.7 (*C*-2), 113.2 (*C*(CH₃)₂), 127.3 (*C*-Ar), 127.8 (2 *C*-Ar), 130.7 (2 *C*-Ar), 134.6 (*C*-Ar), 164.2 (*C*-3), 166.9 (*C*=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 313.1068 (calculated for C₁₆H₁₈O₅Na: 313.1046). **IR (NaCl)** ν = 2990, 2949, 1715, 1637 cm⁻¹

(2E) 3,6-anhydro-2-deoxy-2-(4-methoxyphenyl)-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-erythro-hex-2-enoic acid methyl ester 14-E



Yield: 97% as a pale yellow solid

C₁₇H₂₀O₆

M.W.: 320.13 g/mol

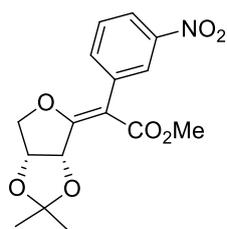
R_f: 0.34 (cH/Ea: 7/3)

[α]_D = -167.0° (c = 1, CHCl₃)

Mp = 106-108 °C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.45 (s, 3H, CH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 4.12 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 10.5$, $J_{5,6} = 4.5$ Hz, *H*-6), 4.36 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 1.0$ Hz, *H*-6'), 4.86 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-5), 5.90 (d, 1H, *H*-4), 6.86-6.92 (m, 2H, *H*-Ar), 7.19-7.26 (m, 2H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 25.9 (CH₃), 27.1 (CH₃), 51.6 (OCH₃), 55.1 (OCH₃), 75.3 (*C*-6), 77.6, 80.3 (*C*-5, *C*-4), 108.2 (*C*-2), 112.7 (*C*(CH₃)₂), 113.3 (2 *C*-Ar), 126.6 (*C*-Ar), 131.0 (2 *C*-Ar), 158.5 (*C*-Ar), 167.1, 167.8 (*C*-3, *C*=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 343.1178 (calculated for C₁₇H₂₀O₆Na: 343.1152). **IR (NaCl)** ν = 2990, 2947, 1709, 1633, 1607, 1513 cm⁻¹

(2E) 3,6-anhydro-2-deoxy-2-(3-nitrophenyl)-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-erythro-hex-2-enoic acid methyl ester 15-E



Yield: 68% as a white solid

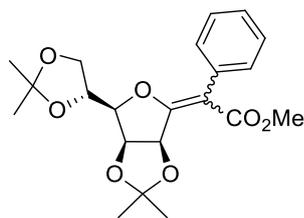
C₁₆H₁₇NO₇

M.W.: 335.10 g/mol

R_f: 0.24 (cH/Ea: 7/3)

[α]_D = -154.0° (c = 1, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.45 (s, 3H, CH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 4.21 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 10.5$, $J_{5,6} = 4.5$ Hz, *H*-6), 4.42 (d, 1H, *H*-6'), 4.93 (m, 1H, *H*-5), 5.92 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-4), 7.49 (m, 1H, *H*-Ar), 7.61 (m, 1H, *H*-Ar), 8.10-8.17 (m, 2H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 25.9 (CH₃), 27.2 (CH₃), 52.0 (OCH₃), 75.9 (*C*-6), 77.6, 80.6 (*C*-5, *C*-4), 106.6 (*C*-2), 113.2 (*C*(CH₃)₂), 122.1 (*C*-Ar), 125.3 (*C*-Ar), 128.7 (*C*-Ar), 136.5 (2 *C*-Ar), 148.1 (*C*-Ar), 166.7, 169.1 (*C*-3, *C*=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 358.0918 (calculated for C₁₆H₁₇NO₇Na: 358.0897). **IR (NaCl)** ν = 2990, 2952, 1714, 1636, 1529 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-2-phenyl-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-*D*-manno-oct-2-enoic acid methyl ester 16, *Z* & *E* mixture

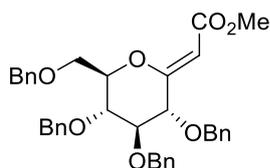
Yield: 40% as a colorless oil

 $C_{21}H_{26}O_7$

M.W.: 390.43 g/mol

R_f: 0.48 (cH/EA: 1/1)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.28 (s, 0.72 H, 2 CH₃-*Z*), 1.33 (s, 2.64 H, CH₃-*E*), 1.35 (s, 2.64 H, CH₃-*E*), 1.41 (s, 2.64 H, CH₃-*E*), 1.45 (s, 0.36 H, CH₃-*Z*), 1.49 (s, 3H, CH₃), 3.70 (s, 0.36 H, OCH₃-*Z*), 3.74 (s, 2.64 H, OCH₃-*E*), 3.92 (dd, 0.88 H, *J*_{gem} = 9.0, *J*_{7,8} = 4.5 Hz, *H*-8-*E*), 4.04 (dd, 0.88 H, *J*_{7,8} = 6.0 Hz, *H*-8'-*E*), 4.15-4.27 (m, 1.24 H, *H*-6, *H*-8-*E*, *H*-8'-*E*), 4.44 (m, 1H, *H*-7-*E*), 4.54 (m, 1H, *H*-7-*Z*), 4.74 (dd, 0.12 H, *J*_{4,5} = 6.0, *J*_{4,5} = 4.0 Hz, *H*-5-*Z*), 4.86 (dd, 0.88 H, *J*_{4,5} = 6.0, *J*_{4,5} = 4.0 Hz, *H*-5-*E*), 5.02 (d, 0.12 H, *H*-4-*Z*), 5.93 (d, 0.88 H, *H*-4-*E*), 7.21-7.35 (m, 5H, 5 *H*-Ar).

(*Z*) 3,7-anhydro-2-deoxy-4,5,6,8-tetra-*O*-benzyl-*D*-gluco-oct-2-enoic acid methyl ester 27-*Z*

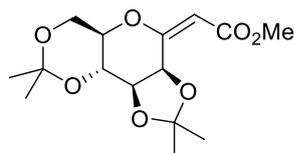
Colorless gum

 $C_{37}H_{38}O_7$

M.W.: 594.26 g/mol

R_f = 0.20 (cH/EA: 9/1)

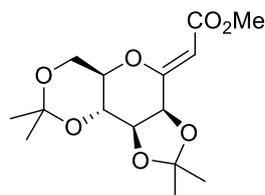
¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.80-3.94 (m, 5H, *H*-5, *H*-6, *H*-7, *H*-8, *H*-8'), 4.35 (m, 1H, *H*-4), 4.49-4.80 (m, 8H, 4 CH₂-Ph), 5.20 (s, 1H, *H*-2), 7.18-7.41 (m, 20H, *H*-Ar).

(*E*) 3,7-anhydro-2-deoxy-4,5:6,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-*D*-manno-oct-2-enoic acid methyl ester 28-*E*

White solid

 $C_{15}H_{22}O_7$ M.W. = 314.33 g.mol⁻¹R_f = 0.19 (cH/EA: 85/15)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.42 (s, 3H, CH₃), 1.46 (s, 3H, CH₃), 1.54 (s, 3H, CH₃), 1.55 (s, 3H, CH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.86-3.97 (m, 3H, *H*-6, *H*-8, *H*-8'), 4.19 (m, 1H, *H*-7), 4.48 (m, 1H, *H*-5), 4.80 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 8.0, *J*_{2,4} = 1.5 Hz, *H*-4), 5.41 (d, 1H, *H*-2). ¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz): δ = 19.0 (CH₃), 25.5 (CH₃), 27.3 (CH₃), 28.8 (CH₃), 50.9 (OCH₃), 62.2 (*C*-8), 67.1, 72.0, 72.7, 77.2 (*C*-4, *C*-5, *C*-6, *C*-7), 95.0 (*C*-2), 99.8 (*C*(CH₃)₂), 112.6 (*C*(CH₃)₂), 164.4 (*C*-3), 165.4 (*C*=O). ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 337.1228 (calculated for C₁₅H₂₂O₇Na: 337.1258). IR (NaCl) ν = 1709, 1652 cm⁻¹

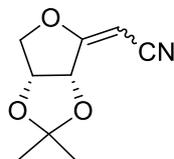
(2Z) 3,7-anhydro-2-deoxy-4,5:6,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-manno-oct-2-enoic acid methyl ester 28-Z

White solid

 $C_{15}H_{22}O_7$ M.W. = 314.33 g.mol⁻¹R_f = 0.27 (cH/EA: 85/15)[α]_D = +180.5° (c = 0.2, CHCl₃)

Mp = 140-142 °C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.45 (s, 3H, CH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 1.54 (s, 3H, CH₃), 1.57 (s, 3H, CH₃), 3.44 (td, 1H, J_{7,8} = 6.5, J_{7,8'} = 11.0, J_{6,7} = 11.0 Hz, H-7), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (t, 1H, J_{gem} = 8.0 Hz, H-8), 3.90 (dd, 1H, J_{5,6} = 8.5 Hz, H-6), 4.01 (dd, 1H, H-8'), 4.14 (dd, 1H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-5), 5.69 (s, 1H, H-2), 5.71 (dd, 1H, H-4). ¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz): δ = 18.9 (CH₃), 25.9 (CH₃), 28.3 (CH₃), 29.0 (CH₃), 51.6 (OCH₃), 61.6 (C-8), 69.8, 71.3, 75.4 (C-4, C-5, C-6, C-7), 100.1 (C(CH₃)₂), 106.1 (C-2), 110.4 (C(CH₃)₂), 163.3 (C-3), 166.4 (C=O). ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 337.1228 (calculated for C₁₅H₂₂O₇Na: 337.1258). IR (NaCl) ν = 2989, 2933, 1721, 1653 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-cyano-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-erythro-hex-2-enitol, Z and E mixture 36

Yield 90 % as a colorless gum

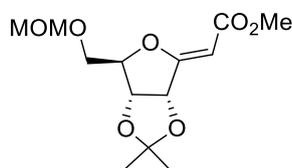
 $C_9H_{11}NO_3$

Mol. Wt.: 181.19 g/mol

R_f = 0.32 (cH/EA: 7/3)

E/Z = 65/35

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.38 (s, 1.05H, C(CH₃)₂-Z), 1.42 (s, 1.95H, C(CH₃)₂-E), 1.47 (s, 1.05H, C(CH₃)₂-Z), 1.50 (s, 1.95H, C(CH₃)₂-E), 4.30-4.60 (m, 2H, H-6, H-6'), 4.83-4.91 (m, 2H, H-5, H-2), 5.11 (d, 0.35H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-4-Z), 5.34 (dd, 0.65H, J_{4,5} = 6.0, J_{4,2} = 1.5 Hz, H-4-E).

(2Z) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-methoxymethyl-D-ribo-hept-2-enoic acid methyl ester 61-Z

Yellow gum

 $C_{13}H_{20}O_7$ M.W. = 288.29 g.mol⁻¹R_f = 0.31 (cH/EA: 1/1)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.38 (s, 3H, CH₃), 1.45 (s, 3H, CH₃), 3.31 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (s, 3H, COOCH₃), 3.71 (dd, 1H, J_{7,7'} = 11.0, J_{6,7} = 2.0 Hz, H-7), 3.82 (dd, 1H, J_{6,7} = 2.5 Hz, H-7'), 4.56 (d, 2H, OCH₂O), 4.68 (d, 1H, J_{4,5} = 5.5 Hz, H-5), 4.88 (m, 1H, H-6), 5.07 (s, 1H, H-2), 5.12 (d, 1H, H-4).

II.2- Michael additions

II.2.1- Nitromethane addition

A - General procedure for nitromethane addition with DBU:

A solution of *exo*-glycal and DBU (2, 4 or 10 eq. depending on starting *exo*-glycal) in CH₃NO₂ (1 mL/1mmol of *exo*-glycal) was stirred at room temperature (*E* isomers) or at 60°C (*Z* isomers) until completion of the reaction (monitored by TLC). The reaction mixture was then diluted with CH₂Cl₂ (30 mL) and washed with water (2x20 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and evaporated. The crude residue was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA).

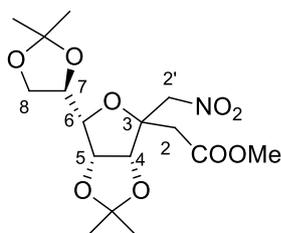
B - General procedure for nitromethane addition with TBAF•3H₂O:

A solution of *exo*-glycal (0.5 mmol) and TBAF.3H₂O (630 mg, 2 mmol, 4 eq.) in CH₃NO₂ (1 mL) was stirred at room temperature (*E* isomers) or at 60°C (*Z* isomers) until completion of the reaction. The reaction mixture was then diluted with CH₂Cl₂ (10 mL) and washed with water (2x50 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and evaporated. The crude residue was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA).

For yields obtained according to general procedure **B**, see Table 1 p. 27 and Table 2 p. 31.

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-nitromethyl-*D*-glycero-*L*-galactooctanoic acid methyl ester + 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-nitromethyl-*D*-glycero-*L*-talooctanoic acid methyl ester 2β + 2α

Prepared using general procedure **A** starting from **1**.



Yield 92% as a colorless gum

C₁₆H₂₅NO₉

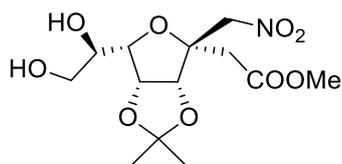
M.W. = 375.37 g.mol⁻¹

R_f = 0.43 (cH/EA: 6/4)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 1.26 (s, 0.45H, CH₃α), 1.29 (s, 2.55H, CH₃β), 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.44 (s, 0.90H, CH₃α), 1.46 (s, 5.1H, CH₃β), 2.80 (d, 0.15H, *J* = 15.5 Hz, *H*-2α), 2.91 (d, 0.15H, *H*-2α), 2.96 (d, 0.85H, *J* = 18.0 Hz, *H*-2β), 3.13 (d, 0.85H, *H*-2β), 3.68-3.80 (m, 4H, *H*-8 and COOCH₃), 4.00 (dd, 1H, *J*_{6,7} = 8.0, *J*_{5,6} = 3.5 Hz, *H*-6), 4.17 (m, 1H, *H*-8'), 4.33 (m, 1H, *H*-7), 4.64 (d, 0.85H, *J* = 11.5 Hz, *H*-2'β), 4.74-4.85 (m, 2.15H, *H*-4, *H*-5, *H*-2'α), 4.98 (d, 0.15H, *J* = 14.5 Hz, *H*-2'α), 5.02 (d, 0.85H, *H*-2'β). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): 24.3 (CH₃α), 24.5 (CH₃β), 25.3 (CH₃α), 25.3 (CH₃β), 25.7, 26.8 (2 CH₃ acetal), 36.7 (*C*-2β), 37.5 (*C*-2α), 51.8 (OCH₃β), 52.1 (OCH₃α), 66.0 (*C*-8), 75.3 (*C*-2'α), 75.6 (*C*-7β), 75.7 (*C*-7α), 76.4 (*C*-2'β), 81.0, 81.2, 82.3, 82.6, 82.7, 83.6, 83.8, 85.2 (*C*-3, *C*-4, *C*-5, *C*-6), 109.9 (*C* acetalα), 110.1 (*C* acetalβ), 113.6 (*C* acetal), 169.6 (*C*=Oα), 171.0 (*C*=Oβ). ESI-HRMS [M+Na]⁺ *m/z* = 398.1424 (calculated for C₁₆H₂₅NO₉Na: 398.1422). IR (NaCl) ν = 2990, 2938, 1733, 1555 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-3-C-nitromethyl-D-glycero-L-galacto-octanoic acid methyl ester 3 β

To a stirred solution of protected compound **2** (375 mg, 1.0 mmol) in methanol (20 mL) at 0°C was added an aqueous solution of 1N HCl (7mL). After stirring at room temperature until completion of the reaction, a solution of sat. NaHCO₃ was added until pH = 7. Half of the solvent was removed *in vacuo* and the product was extracted with CH₂Cl₂ (3 x 30 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was evaporated. The crude residue was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA).



Yield 68% as a white solid

C₁₃H₂₁NO₉

M.W. = 335.12 g.mol⁻¹

R_f = 0.25 (cH/EA: 1/2)

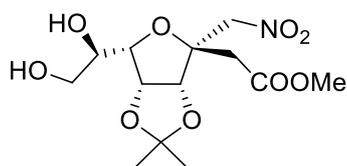
[α]_D = -10.0° (c = 0.6, CHCl₃)

Mp = 136-138°C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.33 (s, 3H, CH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 2.47 (br s, 1H, OH), 2.93 (d, 1H, J_{gem} = 17.5 Hz, H-2), 2.94 (br s, 1H, OH), 3.13 (d, 1H, H-2), 3.70-3.83 (m, 2H, H-8, H-8'), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 4.04-4.13 (m, 2H, H-6, H-7), 4.62 (d, 1H, J_{gem} = 11.5 Hz, H-2'), 4.66 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, H-4), 4.91 (dd, 1H, $J_{5,6}$ = 3.0 Hz, H-5), 5.12 (d, 1H, H-2'). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.4 (CH₃), 25.7 (CH₃), 36.2 (C-2), 52.0 (OCH₃), 63.3 (C-8), 70.9 (C-7), 75.7 (C-2'), 79.6, 81.1, 83.9 (C-4, C-5, C-6), 83.0 (C-3), 113.5 (C(CH₃)₂), 171.1 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 358.1132 (calculated for C₁₃H₂₁NO₉Na: 358.1109). **IR (NaCl)** ν = 3440, 2938, 1733, 1716, 1555 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-3-C-nitromethyl-D-glycero-L-talo-octanoic acid methyl ester 3 α

Prepared starting from **2** following procedure described for **3 β** .



Yield 16% as a white solid

C₁₃H₂₁NO₉

M.W. = 335.12 g.mol⁻¹

R_f = 0.15 (cH/EA: 1/2)

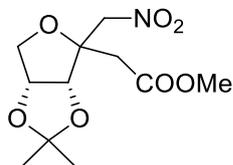
[α]_D = -1.3° (c = 0.6, CHCl₃)

Mp = 122-124°C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.29 (s, 3H, CH₃), 1.47 (s, 3H, CH₃), 2.63 (br s, 1H, OH), 2.75 (d, 1H, J_{gem} = 16.0 Hz, H-2), 2.89 (d, 1H, H-2), 3.14 (br s, 1H, OH), 3.64-3.78 (m, 5H, OCH₃, H-8, H-8'), 3.97-4.04 (m, 2H, H-6, H-7), 4.77-4.95 (m, 4H, 2 H-2', H-4, H-5). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.1 (CH₃), 25.5 (CH₃), 36.5 (C-2), 52.1 (OCH₃), 63.1 (C-8), 70.8 (C-7), 75.8 (C-2'), 79.9, 81.0, 81.7, 85.6 (C-3, C-4, C-5, C-6), 113.5 (C(CH₃)₂), 169.8 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 358.1119 (calculated for C₁₃H₂₁NO₉Na: 358.1109). **IR (NaCl)** ν = 3440, 2938, 1733, 1716, 1555 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-nitromethyl-*D*-arabino-hexanoic acid methyl ester + 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-nitromethyl-*D*-ribo-hexanoic acid methyl ester 6 β + 6 α

Prepared using general procedure A starting from 4.



Yield 86% as a colorless gum

$C_{11}H_{17}NO_7$

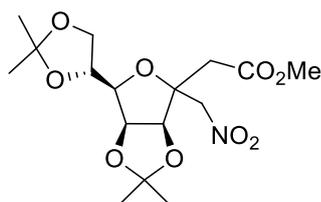
M.W. = 275.25 g.mol⁻¹

R_f = 0.42 (cH/EA: 7/3)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 1.33 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 2.55H, CH₃β), 1.50 (s, 0.45H, CH₃α), 2.73 (d, 0.15H, $J_{gem} = 16.0$ Hz, *H*-2α), 2.83 (d, 0.15H, $J_{gem} = 16.0$ Hz, *H*-2α), 2.92 (dd, 0.85H, $J_{gem} = 17.5$ Hz, $J_{2,2'} = 1.0$ Hz, *H*-2β), 3.09 (d, 0.85H, *H*-2β), 3.72 (s, 0.45H, OCH₃α), 3.74 (s, 2.55H, OCH₃β), 3.89 (dd, 0.15H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, *H*-6α), 3.92 (dd, 0.85H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, *H*-6β), 4.06 (d, 1H, *H*-6'), 4.54 (dd, 0.85H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, $J_{2,2'} = 1.0$ Hz, *H*-2'β), 4.61 (d, 0.85H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-4β), 4.74 (d, 0.15H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-4α), 4.85-4.97 (m, 1.30H, *H*-5, 2 *H*2'α), 5.03 (d, 0.85H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, β*H*2'). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** 24.5 (CH₃α), 24.7 (CH₃β), 25.8 (CH₃α), 25.9 (CH₃β), 36.0 (*C*-2β), 36.2 (*C*-2α), 51.8 (OCH₃β), 52.0 (OCH₃α), 71.4 (*C*-6β), 71.8 (*C*-6α), 75.5 (*C*-2'β), 75.7 (*C*-2'α), 81.0 (*C*-5β), 81.1 (*C*-5α), 82.7 (*C*-4α), 83.1 (*C*-4β), 83.9 (*C*-3β), 84.9 (*C*-3α), 113.1 (*C* acetalβ), 113.4 (*C* acetalα), 169.8 (*C*=Oα), 171.0 (*C*=Oβ). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 298.0905 (calculated for C₁₁H₁₇NO₇Na: 298.0897). **IR** (NaCl) $\nu = 2989, 2952, 2881, 1736, 1554$ cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-nitromethyl-*D*-glycero-*D*-galactooctanoic acid methyl ester + 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-nitromethyl-*D*-glycero-*D*-talooctanoic acid methyl ester 7α + 7β

Prepared using general procedure A starting from 5.



Yield 95% as a colorless gum

$C_{16}H_{25}NO_9$

M.W. = 375.37 g.mol⁻¹

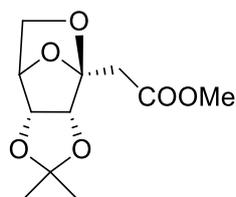
R_f = 0.55 (cH/EA: 6/4)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 1.34 (s, 3H, CH₃), 1.37 (s, 3H, CH₃), 1.43 (s, 0.8H, CH₃β), 1.45 (s, 2.2H, CH₃α), 1.50 (s, 2.2H, CH₃α), 1.56 (s, 0.8H, CH₃β), 2.77 (d, 0.27H, $J_{gem} = 16.0$ Hz, *H*-2β), 2.87 (m, 1H, *H*-2), 3.05 (d, 0.73H, $J_{gem} = 18.0$ Hz, *H*-2α), 3.72 (s, 0.8H, OCH₃β), 3.74 (s, 2.2H, OCH₃α), 3.86-3.94 (m, 2H, *H*-6, *H*-8), 4.07 (dd, 1H, $J_{gem} = 8.5$, $J_{7,8} = 6.5$ Hz, *H*-8'), 4.34 (m, 1H, *H*-7), 4.56 (d, 0.73H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, *H*-2'α), 4.60 (d, 0.73H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-4α), 4.77 (d, 0.27H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-4β), 4.81 (d, 0.27H, $J_{gem} = 14.0$ Hz, *H*-2'β), 4.88-4.94 (m, 1.27H, *H*-2'β, *H*-5), 5.11 (d, 0.73H, *H*-2'α). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** 24.2 (CH₃β), 24.4 (CH₃α), 25.2 (CH₃), 25.6 (CH₃), 26.8 (CH₃), 35.9 (*C*-2α), 36.6 (*C*-2β), 51.8 (OCH₃α), 52.0 (OCH₃β), 66.9 (*C*-8β), 67.2 (*C*-8α), 72.7 (*C*-7α), 72.9 (*C*-7β), 75.5 (*C*-2'), 80.3 (*C*-6α), 80.4 (*C*-6β), 80.7 (*C*-5α), 80.8 (*C*-5β), 82.1 (*C*-3β), 83.3 (*C*-4β), 83.5 (*C*-4α), 85.3 (*C*-3α),

109.4 ($C(\text{CH}_3)_2\beta$), 109.5 ($C(\text{CH}_3)_2\alpha$), 113.3 ($C(\text{CH}_3)_2\alpha$), 113.5 ($C(\text{CH}_3)_2\beta$), 169.7 ($C=\text{O}\beta$), 170.9 ($C=\text{O}\alpha$). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 398.1431$ (calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_9\text{Na}$: 398.1422). **IR** (NaCl) $\nu = 1735, 1558, 1440 \text{ cm}^{-1}$

3,7-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)- β -D-ribo-3-heptulofuranosonic acid methyl ester **10**

Prepared using general procedure **A** starting from **9**.



Yield 88% as a colorless oil

$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_6$

M.W. = 244.09 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

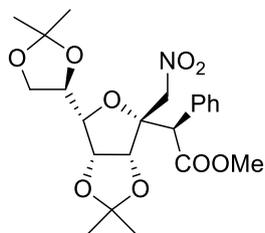
$R_f = 0.59$ (cH/EA: 50/50)

$[\alpha]_D = -57.8^\circ$ (c = 1, CHCl_3)

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz): 1.30 (s, 3H, CH_3), 1.45 (s, 3H, CH_3), 2.96 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 16.0 \text{ Hz}$, $H-2$), 3.14 (d, 1H, $H-2$), 3.42 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 7.5 \text{ Hz}$, $H-7$), 3.56 (dd, 1H, $J_{6,7} = 4.0 \text{ Hz}$, $H-6$), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 4.41 (d, 1H, $J_{4,5} = 5.5 \text{ Hz}$, $H-4$), 4.47 (d, 1H, $H-5$), 4.63 (d, 1H, $J_{5,6} = 3.5 \text{ Hz}$, $H-7'$). **^{13}C NMR** (CDCl_3 , 62.9 MHz): 25.5 (CH_3), 26.0 (CH_3), 33.9 ($C-2$), 52.0 (OCH_3), 64.7 ($C-7$), 77.9 ($C-6$), 80.2, 81.6 ($C-4$, $C-5$), 106.0 ($C-3$), 112.3 ($C(\text{CH}_3)_2$), 168.9 ($C=\text{O}$). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 267.0844$ (calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{Na}$: 267.0839). **IR** (NaCl) $\nu = 1742 \text{ cm}^{-1}$

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-nitromethyl-2-phenyl-D-threo-D-gluco-octanoic acid methyl ester **17**

Prepared using general procedure **A** starting from **11**.



Yield 50% as a colorless gum

$\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{NO}_9$

M.W.: 451.18 g/mol

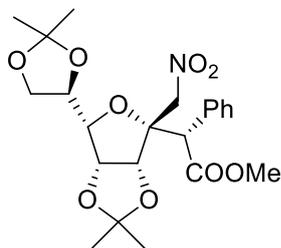
$R_f = 0.4$ (cH/EA: 9/1)

$[\alpha]_D = +121.8^\circ$ (c = 0.5, CHCl_3)

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.35$ (s, 3H, CH_3), 1.40 (s, 3H, CH_3), 1.42 (s, 3H, CH_3), 1.54 (s, 3H, CH_3), 3.63 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 8.5$, $J_{7,8} = 7.5 \text{ Hz}$, $H-8$), 3.70 (s, 3H, OCH_3), 4.10 (dd, 1H, $J_{6,7} = 8.0$, $J_{5,6} = 5.0 \text{ Hz}$, $H-6$), 4.18 (dd, 1H, $J_{7,8'} = 6.5 \text{ Hz}$, $H-8'$), 4.22 (s, 1H, $H-2$), 4.32 (m, 1H, $H-7$), 4.38 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 13.5 \text{ Hz}$, $H-2'$), 4.96 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.5$, $H-5$), 5.45 (d, 1H, $H-4$), 5.50 (d, 1H, $H-2'$), 7.22-7.24 (m, 2H, 2 $H\text{-Ar}$), 7.32-7.38 (m, 3H, 3 $H\text{-Ar}$). **^{13}C NMR** (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 24.3$ (CH_3), 25.4 (CH_3), 25.7 (CH_3), 26.8 (CH_3), 52.3 (OCH_3), 57.9 ($C-2$), 66.2 ($C-8$), 77.6 ($C-7$), 79.7 ($C-2'$), 82.4 ($C-5$), 84.8 ($C-6$), 85.0 ($C-4$), 86.5 ($C-3$), 109.8 ($C(\text{CH}_3)_2$), 113.7 ($C(\text{CH}_3)_2$), 128.4 ($C\text{-Ar}$), 129.0 (2 $C\text{-Ar}$), 129.8 (2 $C\text{-Ar}$), 133.2 ($C\text{-Ar}$), 172.4 ($C=\text{O}$). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 474.1741$ (calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{NO}_9\text{Na}$: 474.1735). **IR** (NaCl) $\nu = 2985, 2933, 1730, 1553 \text{ cm}^{-1}$

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-nitromethyl-2-phenyl-*D*-threo-*D*-manno-octanoic acid methyl ester 18

Prepared using general procedure A starting from 11.



Yield 20% as a colorless gum

$C_{22}H_{29}NO_9$

M.W.: 451.18 g/mol

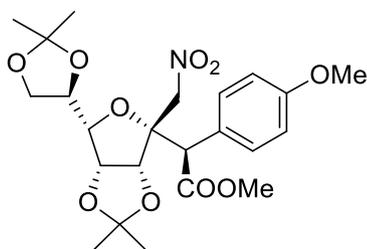
$R_f = 0.3$ (cH/EA: 7/3)

$[\alpha]_D = -47.8^\circ$ (c = 0.2, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.34$ (s, 3H, CH_3), 1.37 (s, 3H, CH_3), 1.42 (s, 3H, CH_3), 1.53 (s, 3H, CH_3), 3.62 (dd, 1H, $J_{gem} = 8.5$, $J_{7,8} = 7.0$ Hz, $H-8$), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 4.03 (dd, 1H, $J_{6,7} = 8.0$, $J_{5,6} = 5.5$ Hz, $H-6$), 4.14 (dd, 1H, $J_{7,8} = 6.5$ Hz, $H-8'$), 4.25 (m, 1H, $H-7$), 4.41 (d, 1H, $J_{gem} = 12.5$ Hz, $H-2'$), 4.64 (s, 1H, $H-2$), 4.85 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $H-5$), 5.04 (d, 1H, $H-4$), 5.32 (d, 1H, $H-2'$), 7.30-7.33 (m, 3H, 3 $H-Ar$), 7.52-7.55 (m, 2H, 2 $H-Ar$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): $\delta = 24.2$ (CH_3), 25.4 (CH_3), 25.5 (CH_3), 26.7 (CH_3), 52.1 (OCH_3), 53.3 ($C-2$), 66.1 ($C-8$), 77.8 ($C-7$), 78.8 ($C-2'$), 81.8 ($C-5$), 84.2 ($C-6$, $C-4$), 87.1 ($C-3$), 109.5 ($C(CH_3)_2$), 113.6 ($C(CH_3)_2$), 128.2 ($C-Ar$), 128.7 (2 $C-Ar$), 129.9 (2 $C-Ar$), 133.1 ($C-Ar$), 171.0 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 474.1743$ (calculated for $C_{22}H_{29}NO_9Na$: 474.1735). IR (NaCl) $\nu = 2990, 2928, 1735, 1553$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-2-(4-methoxyphenyl)-3-*C*-nitromethyl-*D*-threo-*D*-gluco-octanoic acid methyl ester 19

Prepared using general procedure A starting from 12.



Yield 60% as a colorless oil

$C_{23}H_{31}NO_{10}$

M.W.: 481.19 g/mol

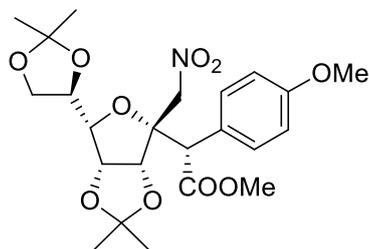
$R_f = 0.4$ (cH/EA: 7/3)

$[\alpha]_D = +72.0^\circ$ (c = 1, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.34$ (s, 3H, CH_3), 1.40 (s, 3H, CH_3), 1.42 (s, 3H, CH_3), 1.53 (s, 3H, CH_3), 3.62 (dd, 1H, $J_{gem} = 9.0$, $J_{7,8} = 7.5$ Hz, $H-8$), 3.69 (s, 3H, OCH_3), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 4.09 (dd, 1H, $J_{6,7} = 8.0$, $J_{5,6} = 5.5$ Hz, $H-6$), 4.16 (s, 1H, $H-2$), 4.17 (dd, 1H, $J_{7,8} = 6.5$ Hz, $H-8'$), 4.31 (m, 1H, $H-7$), 4.38 (d, 1H, $J_{gem} = 13.5$ Hz, $H-2'$), 4.96 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.5$, $H-5$), 5.44 (d, 1H, $H-4$), 5.47 (d, 1H, $H-2'$), 6.86-6.90 (m, 2H, 2 $H-Ar$), 7.13-7.16 (m, 2H, 2 $H-Ar$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): $\delta = 24.3$ (CH_3), 25.4 (CH_3), 25.7 (CH_3), 26.8 (CH_3), 52.2 (OCH_3), 55.4 (OCH_3), 57.1 ($C-2$), 66.2 ($C-8$), 77.6 ($C-7$), 79.7 ($C-2'$), 82.4 ($C-5$), 84.7, 84.9 ($C-6$, $C-4$), 86.6 ($C-3$), 109.8 ($C(CH_3)_2$), 113.7 ($C(CH_3)_2$), 114.5 (2 $C-Ar$), 125.0 ($C-Ar$), 130.8 (2 $C-Ar$), 159.7 ($C-Ar$), 172.7 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 504.1860$ (calculated for $C_{23}H_{31}NO_{10}Na$: 504.1840). IR (NaCl) $\nu = 2985, 2938, 1730, 1614, 1553, 1511$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-2-(4-methoxyphenyl)-3-*C*-nitromethyl-*D*-threo-*D*-manno-octanoic acid methyl ester 20

Prepared using general procedure A starting from 12.



Yield 20% as a colorless gum

 $C_{23}H_{31}NO_{10}$

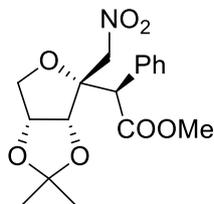
M.W.: 481.19 g/mol

 $R_f = 0.32$ (cH/EA: 7/3) $[\alpha]_D = -28.1^\circ$ (c = 0.3, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.34$ (s, 3H, CH_3), 1.38 (s, 3H, CH_3), 1.42 (s, 3H, CH_3), 1.56 (s, 3H, CH_3), 3.63 (dd, 1H, $J_{gem} = 8.5$, $J_{7,8} = 7.0$ Hz, $H-8$), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 4.03 (dd, 1H, $J_{6,7} = 7.5$, $J_{5,6} = 5.0$ Hz, $H-6$), 4.14 (dd, 1H, $J_{7,8'} = 6.5$ Hz, $H-8'$), 4.26 (m, 1H, $H-7$), 4.43 (d, 1H, $J_{gem} = 13.0$ Hz, $H-2'$), 4.58 (s, 1H, $H-2$), 4.85 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $H-5$), 5.03 (d, 1H, $H-4$), 5.33 (d, 1H, $H-2'$), 6.83-6.87 (m, 2H, 2 $H-Ar$), 7.44-7.48 (m, 2H, 2 $H-Ar$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): $\delta = 24.4$ (CH_3), 25.6 (CH_3), 25.7 (CH_3), 26.8 (CH_3), 52.2 (OCH_3), 52.7 ($C-2$), 55.4 (OCH_3), 66.2 ($C-8$), 77.0 ($C-7$), 79.0 ($C-2'$), 82.0 ($C-5$), 84.3, 84.4 ($C-6$, $C-4$), 87.3 ($C-3$), 109.6 ($C(CH_3)_2$), 113.7 ($C(CH_3)_2$), 114.2 (2 $C-Ar$), 125.0 ($C-Ar$), 131.2 (2 $C-Ar$), 159.6 ($C-Ar$), 171.3 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 504.1839$ (calculated for $C_{23}H_{31}NO_{10}Na$: 504.1840). IR (NaCl) $\nu = 2985$, 2933, 1735, 1610, 1553, 1513 cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-nitromethyl-2-phenyl-*D*-gluconic acid methyl ester 21

Prepared using general procedure A starting from 13.



Yield 45% as a colorless gum

 $C_{17}H_{21}NO_7$

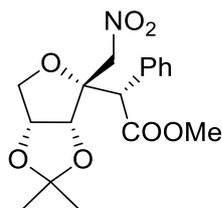
M.W.: 351.13 g/mol

 $R_f = 0.57$ (cH/EA: 7/3) $[\alpha]_D = +129.4^\circ$ (c = 1, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.39$ (s, 3H, CH_3), 1.58 (s, 3H, CH_3), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.97 (dd, 1H, $J_{gem} = 10.5$, $J_{5,6} = 4.5$ Hz, $H-6$), 4.06 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 1.5$ Hz, $H-6'$), 4.22 (s, 1H, $H-2$), 4.31 (d, 1H, $J_{gem} = 13.0$ Hz, $H-2'$), 5.01 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $H-5$), 5.45 (d, 1H, $H-2'$), 5.47 (d, 1H, $H-4$), 7.18-7.21 (m, 2H, 2 $H-Ar$), 7.31-7.38 (m, 3H, 3 $H-Ar$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 24.7$ (CH_3), 25.9 (CH_3), 52.3 (OCH_3), 56.8 ($C-2$), 73.8 ($C-6$), 79.7 ($C-2'$), 82.1 ($C-5$), 84.5 ($C-4$), 86.7 ($C-3$), 113.6 ($C(CH_3)_2$), 128.3 ($C-Ar$), 128.9 (2 $C-Ar$), 129.6 (2 $C-Ar$), 133.5 ($C-Ar$), 172.4 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 374.1239$ (calculated for $C_{17}H_{21}NO_7Na$: 374.1210). IR (NaCl) $\nu = 2985$, 2947, 1730, 1555 cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-nitromethyl-2-phenyl-*D*-mannonic acid methyl ester 22

Prepared using general procedure A starting from 13.



Yield 35% as a colorless gum

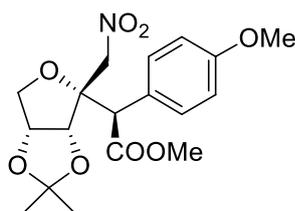
 $C_{17}H_{21}NO_7$

M.W.: 351.13 g/mol

 $R_f = 0.52$ (cH/EA: 7/3) $[\alpha]_D = -82.9^\circ$ (c = 1, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 1.41$ (s, 3H, CH₃), 1.61 (s, 3H, CH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.98 (dd, 1H, $J_{gem} = 10.5$, $J_{5,6} = 5.0$ Hz, H-6), 4.02 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 2.5$ Hz, H-6'), 4.33 (d, 1H, $J_{gem} = 12.0$ Hz, H-2'), 4.68 (s, 1H, H-2), 4.93 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, H-5), 5.02 (d, 1H, H-4), 5.36 (d, 1H, H-2'), 7.31-7.36 (m, 3H, 3 H-Ar), 7.51-7.54 (m, 2H, 2 H-Ar). **^{13}C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** $\delta = 25.1$ (CH₃), 26.5 (CH₃), 52.3 (OCH₃), 53.1 (C-2), 74.5 (C-6), 78.9 (C-2'), 81.8 (C-5), 84.0 (C-4), 88.0 (C-3), 113.5 (C(CH₃)₂), 128.4 (C-Ar), 129.0 (2 C-Ar), 129.8 (2 C-Ar), 133.1 (C-Ar), 171.3 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 374.1219** (calculated for C₁₇H₂₁NO₇Na: 374.1210). **IR (NaCl) $\nu = 2985, 2952, 1737, 1553$ cm⁻¹**

3,6-anhydro-4,5-O-(1-methylethylidene)-2-deoxy-2-(4-methoxyphenyl)-3-C-nitromethyl-D-gluconic acid methyl ester **23**

Prepared using general procedure **A** starting from **14**.

Yield 45% as a colorless gum

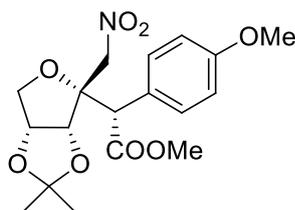
 $C_{18}H_{23}NO_8$

M.W.: 321.14 g/mol

 $R_f = 0.40$ (cH/EA: 7/3) $[\alpha]_D = +112.6^\circ$ (c = 0.5, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 1.37$ (s, 3H, CH₃), 1.56 (s, 3H, CH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.95 (dd, 1H, $J_{gem} = 10.5$, $J_{5,6} = 4.5$ Hz, H-6), 4.04 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 1.5$ Hz, H-6'), 4.16 (s, 1H, H-2), 4.31 (d, 1H, $J_{gem} = 12.5$ Hz, H-2'), 4.99 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, H-5), 5.42 (d, 1H, H-2'), 5.44 (d, 1H, H-4), 6.86-6.91 (m, 2H, 2 H-Ar), 7.09-7.14 (m, 2H, 2 H-Ar). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = 24.7$ (CH₃), 25.9 (CH₃), 52.2 (OCH₃), 55.4 (OCH₃), 56.0 (C-2), 73.7 (C-6), 79.8 (C-2'), 82.2, 84.4 (C-5, C-4), 86.8 (C-3), 113.6 (C(CH₃)₂), 114.3 (2 C-Ar), 125.3 (C-Ar), 130.7 (2 C-Ar), 159.6 (C-Ar), 172.6 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 404.1354** (calculated for C₁₈H₂₃NO₈Na: 404.1316). **IR (NaCl) $\nu = 2985, 2952, 1732, 1612, 1556, 1513$ cm⁻¹**

3,6-anhydro-4,5-O-(1-methylethylidene)-2-deoxy-2-(4-methoxyphenyl)-3-C-nitromethyl-D-mannonic acid methyl ester **24**

Prepared using general procedure **A** starting from **14**.

Yield 45% as a colorless gum

 $C_{18}H_{23}NO_8$

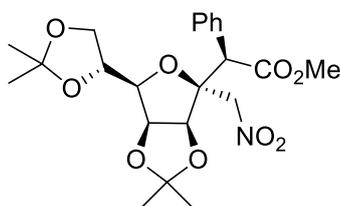
M.W.: 321.14 g/mol

 $R_f = 0.40$ (cH/EA: 7/3) $[\alpha]_D = +112.6^\circ$ (c = 0.5, $CHCl_3$)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.40 (s, 3H, CH₃), 1.62 (s, 3H, CH₃), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.94-4.04 (m, 2H, H-6), 4.35 (d, 1H, J_{gem} = 12.0 Hz, H-2'), 4.62 (s, 1H, H-2), 4.92 (m, 1H, H-5), 5.00 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0, H-4), 5.36 (d, 1H, H-2'), 6.83-6.89 (m, 2H, H-Ar), 7.42-7.47 (m, 2H, H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 25.1 (CH₃), 26.5 (CH₃), 52.4 (C-2, OCH₃), 55.4 (OCH₃), 74.5 (C-6), 79.8 (C-2'), 81.8, 84.0 (C-5, C-4), 88.1 (C-3), 113.5 (C(CH₃)₂), 114.3 (2 C-Ar), 124.9 (C-Ar), 131.0 (2 C-Ar), 159.6 (C-Ar), 171.6 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 404. 1295 (calculated for C₁₈H₂₃NO₈Na: 404.1316). **IR** (NaCl) ν = 2990, 2952, 1733, 1610, 1553, 1513 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-nitromethyl-2-phenyl-*D*-erythro-*L*-manno-octanoic acid methyl ester 25

Prepared using general procedure A starting from 16.

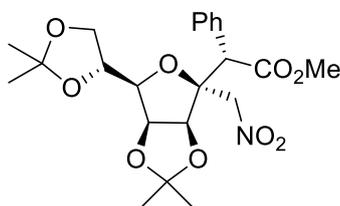


Yield 38% as a colorless gum
C₂₂H₂₉NO₉
M.W.: 451.18 g/mol
R_f = 0.33 (cH/EA: 7/3)
[α]_D = +42.4° (c = 0.4, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.37 (s, 3H, CH₃), 1.39 (s, 3H, CH₃), 1.42 (s, 3H, CH₃), 1.57 (s, 3H, CH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.01-4.08 (m, 3H, H-6, H-8, H-8'), 4.31-4.37 (m, 2H, H-2', H-7), 4.59 (s, 1H, H-2), 4.94 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0, $J_{5,6}$ = 4.5 Hz, H-5), 5.07 (d, 1H, H-4), 5.14 (d, 1H, J_{gem} = 12.5 Hz, H-2'), 7.29-7.34 (m, 3H, 3 H-Ar), 7.49-7.53 (m, 2H, 2 H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 23.9 (CH₃), 25.3 (CH₃), 25.4 (CH₃), 26.6 (CH₃), 52.0, 52.8 (OCH₃, C-2), 66.5 (C-8), 73.6 (C-7), 78.0 (C-2'), 81.4, 81.8 (C-6, C-5), 84.2 (C-4), 86.5 (C-3), 109.2 (C(CH₃)₂), 113.5 (C(CH₃)₂), 128.2 (C-Ar), 128.6 (2 C-Ar), 130.0 (2 C-Ar), 132.9 (C-Ar), 170.8 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 474.1756 (calculated for C₂₂H₂₉NO₉Na: 474.1735). **IR** (NaCl) ν = 2985, 2937, 1735, 1553 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-2-phenyl-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-nitromethyl-2-phenyl-*D*-erythro-*L*-gluco-octanoic acid methyl ester 26

Prepared using general procedure A starting from 16.



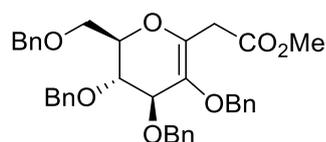
Yield 40% as a white solid
C₂₂H₂₉NO₉
M.W.: 451.18 g/mol
R_f = 0.43 (cH/EA: 7/3)
[α]_D = -112.5° (c = 0.5, CHCl₃)
Mp = 154-156°C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.38 (s, 3H, CH₃), 1.39 (s, 3H, CH₃), 1.41 (s, 3H, CH₃), 1.57 (s, 3H, CH₃), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.98 (dd, 1H, J_{gem} = 8.5 Hz, $J_{7,8}$ = 5.0 Hz, H-8), 4.04 (dd, 1H, $J_{6,7}$ = 6.5 Hz, $J_{5,6}$ = 4.5 Hz, H-6), 4.12 (dd, 1H, $J_{7,8'}$ = 6.5 Hz, H-8'), 4.15 (s, 1H, H-2), 4.30 (d, 1H, J_{gem} = 13.0 Hz, H-2'), 4.38 (m, 1H, H-7), 5.02 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.5 Hz, H-5), 5.45 (d, 1H, H-2') 5.49 (d, 1H, H-4), 7.13-7.17 (m, 2H, 2 H-Ar), 7.31-7.36 (m, 3H, 3 H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.3 (CH₃), 25.4 (2 CH₃), 26.9 (CH₃), 52.3 (OCH₃), 57.5 (C-2), 66.9 (C-8), 74.0 (C-7), 79.9 (C-2'), 82.2, 82.6 (C-6, C-5),

84.9 (C-4), 86.2 (C-3), 109.5 (C(CH₃)₂), 113.5 (C(CH₃)₂), 128.3 (C-Ar), 128.8 (2 C-Ar), 129.7 (2 C-Ar), 133.4 (C-Ar), 172.3 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 474.1756 (calculated for C₂₂H₂₉NO₉Na: 474.1735). **IR** (NaCl) ν = 2990, 2933, 1733, 1553 cm⁻¹

3,7-anhydro-2-deoxy-4,5:6,8-tetrakis-*O*-benzyl-D-arabino-oct-3-enoic acid methyl ester **29**

Prepared using general procedure **A** starting from **27**.



Yield 75% as a colorless liquid

C₃₇H₃₈O₇

M.W.: 594.26 g/mol

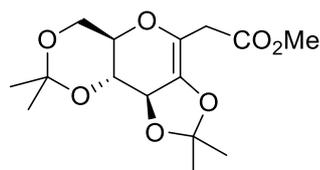
R_f = 0.20 (cH/EA: 9/1)

[α]_D = -0.6° (c = 1, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.28 (dd, 1H, $J_{2,5}$ = 1.0, J_{gem} = 16.0 Hz, H-2), 3.36 (dd, 1H, H-2'), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 3.81 (dd, 1H, J_{gem} = 11.0, $J_{7,8}$ = 4.0 Hz, H-8), 3.86 (dd, 1H, $J_{7,8}$ = 5.5 Hz, H-8'), 4.05 (dd, 1H, $J_{5,6}$ = 4.0, $J_{6,7}$ = 6.0 Hz, H-6), 4.24 (m, 1H, H-7), 4.39 (dd, 1H, H-5), 4.54-4.62 (m, 4H, 2 CH₂-Ph), 4.68-4.82 (m, 4H, 2 CH₂-Ph), 7.29-7.39 (m, 20H, 20 H-Ar). **¹³C NMR** (CDCl₃, 100 MHz): δ = 34.3 (C-2), 52.0 (OCH₃), 68.1 (C-8), 70.6, 72.5, 73.5, 74.0 (4 CH₂-Ph), 73.3 (C-6), 74.3 (C-5), 76.4 (C-7), 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.1, 128.4, 128.5, 128.6 (20 C-Ar, C-3), 132.7 (C-4), 137.6, 138.1, 138.3, 141.6 (4 C-Ar), 170.4 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 617.2503 (calculated for C₃₇H₃₈O₇Na: 617.2510). **IR** (NaCl) ν = 3033, 2952, 2867, 1740, 1496, 1454 cm⁻¹

3,7-anhydro-2-deoxy-4,5:6,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-D-arabino-oct-3-enoic acid methyl ester **30**

Prepared using general procedure **A** starting from **28**.



Yield 70% as a colorless liquid

C₁₅H₂₂O₇

M.W.: 314.14 g/mol

R_f = 0.54 (cH/AE : 7/3)

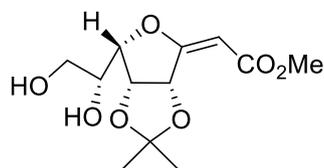
[α]_D = +71.5° (c = 1, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.46 (s, 6H, 2CH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 1.55 (s, 3H, CH₃), 3.18 (d, 1H, J_{gem} = 16.0 Hz, H-2), 3.24 (dd, 1H, $J_{2,5}$ = 0.5 Hz, H-2'), 3.67 (m, 1H, H-7), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.83-3.91 (m, 2H, H-6, H-8), 4.02 (dd, 1H, J_{gem} = 10.5, $J_{7,8}$ = 5.5 Hz, H-8'), 4.59 (d, 1H, $J_{5,6}$ = 7.5 Hz, H-5). **¹³C NMR** (CDCl₃, 100 MHz): δ = 19.1 (CH₃), 25.6 (CH₃), 27.1 (CH₃), 29.0 (CH₃), 33.5 (C-2), 52.2 (OCH₃), 62.1 (C-8), 67.6 (C-7), 71.5 (C-6), 73.6 (C-5), 99.7 (C(CH₃)₂), 113.3 (C(CH₃)₂), 126.8 (C-3), 130.8 (C-4), 170.1 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 337.1253 (calculated for C₁₅H₂₂O₇Na: 337.1258). **IR** (NaCl) ν = 3469, 2995, 2943, 2905, 1747, 1459, 1435 cm⁻¹

(2*E*) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-D-gulo-oct-2-enoic acid methyl ester **31**

Titanium tetrachloride (1.0 M in dichloromethane, 2.5 eq.) was added dropwise over 10 min to a solution of **1-E** (50 mg, 0.16 mmol, 1 eq.) in CH₂Cl₂ (3 mL) at -78 °C under argon. The reaction

mixture was stirred at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 15 min. Allyltributylstannane (100 μL , 0.32 mmol, 2 eq.) was then added, and the resulting mixture was stirred at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 3 h and then quenched with sat. aqueous NH_4Cl and warmed to room temperature. The layers were separated, and the aqueous phase was extracted with CH_2Cl_2 (3x10 mL). The combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The crude was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA).



Yield 70% as a white solid

$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_7$

M.W.: 274.27 g/mol

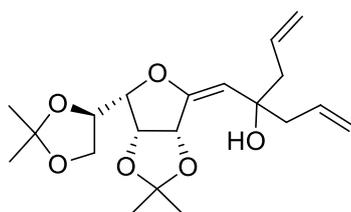
$R_f = 0.18$ ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$: 1/1)

$[\alpha]_D = -38.2^{\circ}$ ($c = 0.22$, CHCl_3)

^1H NMR (D_2O , 250 MHz): $\delta = 1.36$ (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.40 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 3.66 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.68 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 12.5$, $J_{7,8} = 5.5$ Hz, $H-8$), 3.79 (dd, 1H, $J_{7,8'} = 3.5$ Hz, $H-8'$), 4.07 (ddd, 1H, $J_{6,7} = 8.5$ Hz, $H-7$), 4.53 (dd, 1H, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-6$), 4.89 (dd, 1H, $J_{4,5} = 5.5$ Hz, $H-5$), 5.18 (d, 1H, $J_{2,4} = 0.5$ Hz, $H-2$), 5.37 (dd, 1H, $H-4$). **^{13}C NMR (D_2O , 62.9 MHz):** $\delta = 25.0$ (CH_3), 26.1 (CH_3), 51.6 (OCH_3), 62.1 ($\text{C}-8$), 70.5 ($\text{C}-7$), 76.7, 81.8, 86.6 ($\text{C}-4$, $\text{C}-5$, $\text{C}-6$), 91.0 ($\text{C}-2$), 114.6 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 168.5 ($\text{C}-3$), 170.7 ($\text{C}=\text{O}$). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 297.0953$ (calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_7\text{Na}$: 297.0945). **IR** (pellets) $\nu = 3393, 2985, 2928, 2853, 1700, 1657, 1437\text{ cm}^{-1}$

Compound 32

To a stirred suspension of CuI (20 mg, 0.1 mmol) in dry THF (2 mL) at -30°C was added a solution of allylmagnesium bromide (2.5 mL, 1 M solution in THF, 2.5 mmol, 2.5 eq.) over a period of 20 min. After stirring the reaction mixture for 30 min at -30°C , a solution of **1-E** (314 mg, 1 mmol, 1 eq.) in dry THF (3 mL) was added and stirred for 1 h at -10°C . The mixture was then quenched with saturated aqueous NH_4Cl (10 mL) and extracted with Et_2O (3x10 mL). The organic layer was washed with brine (10 mL), dried over MgSO_4 and evaporated. The crude was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA).



Yield 90% as a white solid

$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_6$

M.W.: 366.45 g/mol

$R_f = 0.42$ (cH/EA: 7/3)

$[\alpha]_D = -43.1^{\circ}$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz): $\delta = 1.36$ (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.43 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.50 (s, 6H, 2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.24-2.42 (m, 4H, 2 $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$), 2.80 (s, 1H, O-H), 3.76 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 8.5$, $J_{7,8} = 7.0$ Hz, $H-8$), 3.98 (dd, 1H, $J_{6,7} = 8.5$, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-6$), 4.25 (dd, 1H, $J_{7,8'} = 7.0$ Hz, $H-8'$), 4.45 (m, 1H, $H-7$), 4.66 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-5$), 5.07-5.19 (m, 5H, 2 $\text{CH}=\text{CH}_2$, $H-2$), 5.54 (dd, 1H, $J_{2,4} = 1.0$ Hz, $H-4$), 5.76-5.97 (m, 2H, 2 $\text{CH}=\text{CH}_2$). **^{13}C NMR (CDCl_3 , 62.9 MHz):** $\delta = 25.3$ (CH_3), 26.1 (CH_3), 26.7 (CH_3), 26.9 (CH_3), 46.0, 47.6 (2 $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$), 65.7 ($\text{C}-8$), 73.6 ($\text{C}-1$), 75.7, 78.9, 79.0, 83.2 ($\text{C}-4$, $\text{C}-5$, $\text{C}-6$, $\text{C}-7$), 108.9 ($\text{C}-2$), 110.0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 113.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 118.0, 118.9 (2 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 133.8, 133.9 (2 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 154.5 ($\text{C}-3$). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 389.1935$ (calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{Na}$: 389.1935). **IR** (pellets) $\nu = 3530, 3075, 2981, 2938, 1683, 1640\text{ cm}^{-1}$

II.2.2- Thiols addition

C - General procedure for base-mediated addition:

To a stirred solution of *exo*-glycal (1 mmol) and DBU (0.1, 0.2 or 1 eq.) in CH₃CN (2 mL) or 1/1 CH₃CN/H₂O (2 mL) for thiol **46** was added thiol derivative (1.2, 2 or 10 eq.). The reaction mixture was stirred at room temperature or at 80 °C in a sealed vessel and was monitored by TLC. After completion, the reaction mixture was diluted with CH₂Cl₂ (15 mL) and washed with 1N HCl (5 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated. The crude was purified by flash chromatography (silica gel, cyclohexane cyH/ethyl acetate EA). For compound **54**, the reactional mixture was acidified with Amberlite IR-120 until pH = 4-5. After filtration, the solvent was evaporated and the crude was purified by column chromatography (RP-18 silica gel, H₂O/CH₃CN).

D - General procedure for base-mediated addition of cysteine derivatives and glutathione:

To a stirred solution of *exo*-glycal (1 mmol) and DBU (1.9 equiv. for cysteine derivatives, 3.0 equiv. for glutathione) in acetonitrile (2 mL, for cysteine derivatives) or 1/1 acetonitrile/water (2 mL, for glutathione) was added L-cysteine, *N*-acetyl-L-cysteine or glutathione (1.1 equiv., 1.1 mmol). The reaction was stirred at room temperature and monitored by tlc. After completion of the reaction, Amberlite IR-120 was added until pH = 4-5. After filtration, the solvent was evaporated and the crude was purified by column chromatography (silica gel, cyclohexane cyH/ethyl acetate EA for *N*-Ac-L-cysteine, RP-18 silica gel, H₂O/MeOH for unprotected glycopeptides).

E - General procedure for radical-mediated addition:

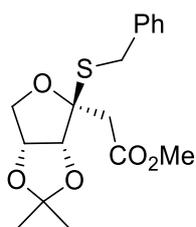
To a stirred solution of *exo*-glycal (1 mmol) and AIBN (0.1 mmol, 0.1 equiv., 16 mg) in toluene, MeOH for thiol **44** or 1/1 MeOH/H₂O for thiol **46** (5 mL) was added thiol derivative (3 or 10 equiv. depending on partner). The reaction mixture was stirred at 120°C in a sealed vessel. After completion of the reaction, the solvent was removed under reduced pressure and the crude was purified by flash chromatography (silica gel, cyclohexane cyH/ethyl acetate EA, RP-18 silica gel, H₂O/CH₃CN for compound **54**).

F - General procedure for radical-mediated addition of cysteine:

To a stirred solution of *exo*-glycal (1 mmol) and AIBN (0.1 mmol, 0.1 equiv., 16 mg) in 1/1 MeOH/H₂O (5 mL) was added L-cysteine (3.0 mmol, 3.0 equiv., 363 mg). The reaction mixture was stirred at 80°C in a sealed vessel. After completion of the reaction, the solvent was removed under reduced pressure and the crude was purified by column chromatography (RP-18 silica gel, H₂O/MeOH).

3,6-anhydro-2-deoxy-3-benzylthio-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-β-*D*-erythro-hexanoic acid methyl ester **33**

Prepared using general procedures C or E starting from **4**.



Yield 93% (gp C) or 91% (gp E) as a colorless gum

$C_{17}H_{22}O_5S$

M.W.: 338.12 g/mol

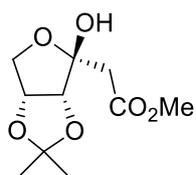
$R_f = 0.62$ (cH/EA: 7/3)

$[\alpha]_D = -111.0^\circ$ (c = 1, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.36$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.49 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.98 (d, 1H, $J_{gem} = 16.0$ Hz, $H-2$), 3.16 (d, 1H, $H-2'$), 3.66 (d, 1H, $J_{gem} = 13.0$ Hz, CH_2 -Ph), 3.71 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.79 (d, 1H, CH_2 -Ph), 3.96 (d, 2H, $J_{5,6} = 2.5$ Hz, 2 $H-6$), 4.62 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.88 (td, 1H, $H-5$), 7.22-7.32 (m, 5H, 5 H -Ar). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 25.1$ (CH_3), 26.1 (CH_3), 32.3 (CH_2 -Ph), 39.8 ($C-2$), 51.7 (CO_2CH_3), 71.4 ($C-6$), 80.8 ($C-5$), 85.4 ($C-4$), 94.4 ($C-3$), 112.4 ($C(CH_3)_2$), 127.0 (C -Ar), 128.5 (2 C -Ar), 129.0 (2 C -Ar), 138.1 (C -Ar), 169.7 (CO_2CH_3). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 361.1105$ (calculated for $C_{17}H_{22}O_5SNa$: 361.1080). **IR** (NaCl) $\nu = 2984, 2940, 1747$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-3-hydroxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)- β -D-erythro-hexanoic acid methyl ester 34

Prepared using general procedure E starting from 4.



Yield 37% as a colorless gum

$C_{10}H_{16}O_6$

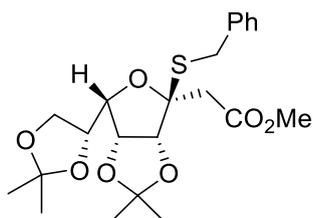
M.W.: 232.23 g/mol

$R_f = 0.48$ (cH/EA: 7/3)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, CH_3), 1.48 (s, 3H, CH_3), 2.79 (d, 1H, $J_{gem} = 16.5$ Hz, $H-2$), 2.93 (d, 1H, $H-2'$), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 3.96 (d, 1H, $J_{gem} = 10.5$ Hz, $H-6$), 4.06 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 3.5$ Hz, $H-6'$), 4.47 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.70 (br s, 1H, OH), 4.87 (dd, 1H, $H-5$). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 24.8$ (CH_3), 26.2 (CH_3), 38.2 ($C-2$), 52.1 (OCH_3), 71.4 ($C-6$), 80.6 ($C-5$), 85.2 ($C-4$), 104.5 ($C-3$), 112.7 ($C(CH_3)_2$), 172.8 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 255.0856$ (calculated for $C_{10}H_{16}O_6Na$: 255.0839). **IR** (NaCl) $\nu = 3469, 2990, 2933, 1723$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-3-benzylthio-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)- β -D-gulo-octanoic acid methyl ester 35

Prepared using general procedures C or E starting from 1.



Yield 83% (gp C) or 81% (gp E) as a white solid

$C_{22}H_{30}O_7S$

M.W.: 438.17 g/mol

$R_f = 0.56$ (cH/EA: 1/1)

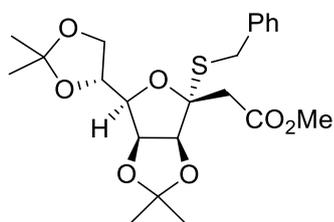
$[\alpha]_D = -47.3^\circ$ (c = 1, $CHCl_3$)

Mp = 98°C

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.32 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.44 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.48 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.53 (s, 3H, C(CH₃)₂), 3.06 (d, 1H, J_{gem} = 16.0 Hz, *H*-2), 3.21 (d, 1H, *H*-2'), 3.71 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.72 (d, 1H, J_{gem} = 12.5 Hz, CH₂-Ph), 3.80 (dd, 1H, J_{gem} = 8.5, $J_{7,8}$ = 6.5 Hz, *H*-8), 3.86 (d, 1H, CH₂-Ph), 4.13 (dd, 1H, $J_{5,6}$ = 4.0, $J_{6,7}$ = 8.5 Hz, *H*-6), 4.26 (dd, 1H, $J_{7,8}$ = 6.5 Hz, *H*-8'), 4.48 (td, 1H, *H*-7), 4.70 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, *H*-4), 4.75 (dd, 1H, *H*-5), 7.22-7.34 (m, 5H, 5 *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.9 (C(CH₃)₂), 25.3 (C(CH₃)₂), 25.9 (C(CH₃)₂), 26.9 (C(CH₃)₂), 32.0 (CH₂-Ph), 39.7 (C-2), 51.6 (CO₂CH₃), 66.2 (C-8), 75.2 (C-7), 80.6 (C-6), 82.0 (C-5), 85.7 (C-4), 93.4 (C-3), 109.9 (C(CH₃)₂), 112.9 (C(CH₃)₂), 127.0 (C-Ar), 128.5 (2 C-Ar), 129.0 (2 C-Ar), 137.7 (C-Ar), 169.6 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 461.1615 (calculated for C₂₂H₃₀O₇SNa: 461.1604). **IR** (NaCl) ν = 2985, 2938, 1747, 1606, 1497, 1455, 1439 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-3-benzylthio-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)- α -D-manno-octanoic acid methyl ester 37

Prepared using general procedures C or E starting from 5.



Yield 88% (gp C) or 77% (gp E) as a colorless gum

C₂₂H₃₀O₇S

M.W.: 438.17 g/mol

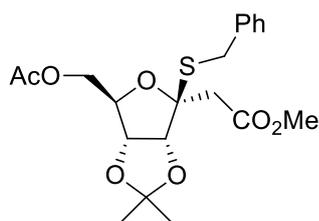
R_f = 0.39 (cH/EA: 7/3)

[α]_D = +73.7° (c = 1, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.36 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.42 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.49 (s, 6H, 2 C(CH₃)₂), 2.89 (d, 1H, J_{gem} = 16.5 Hz, *H*-2), 3.11 (d, 1H, *H*-2'), 3.66 (d, 1H, J_{gem} = 13.0 Hz, CH-Ph), 3.70 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.78 (d, 1H, CH-Ph), 3.96 (dd, 1H, J_{gem} = 8.5, $J_{8,7}$ = 5.0 Hz, *H*-8), 4.12 (dd, 1H, $J_{7,8}$ = 6.5 Hz, *H*-8'), 4.13 (dd, 1H, $J_{6,7}$ = 7.5, $J_{5,6}$ = 4.0 Hz, *H*-6), 4.48 (ddd, 1H, *H*-7), 4.66 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, *H*-4), 4.86 (dd, 1H, *H*-5), 7.23-7.32 (m, 5H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.8 (C(CH₃)₂), 25.6 (C(CH₃)₂), 26.0 (C(CH₃)₂), 27.1 (C(CH₃)₂), 32.5 (CH₂-Ph), 39.9 (C-2), 51.8 (CO₂CH₃), 67.1 (C-8), 73.1 (C-7), 79.9, 80.4 (C-5, C-6), 85.9 (C-4), 93.5 (C-3), 109.4 (C(CH₃)₂), 112.8 (C(CH₃)₂), 127.3 (C-Ar), 128.8 (2 C-Ar), 129.2 (2 C-Ar), 138.2 (C-Ar), 169.8 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 461.1598 (calculated for C₂₂H₃₀O₇SNa: 461.1604). **IR** (NaCl) ν = 2985, 2938, 1744, 1496, 1454, 1440 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-3-benzylthio-7-*O*-acetyl-4,5-*O*-(1-methylethylidene)- β -D-ribo-heptanoic acid methyl ester 38

Prepared using general procedures C or E starting from 9.



Yield 70% (gp C) or 26% (gp E) as a colorless gum

C₂₀H₂₆O₇S

M.W.: 410.14 g/mol

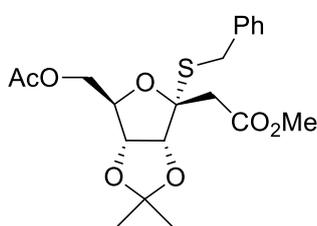
R_f = 0.41 (cH/EA: 7/3)

[α]_D = -75.2° (c = 0.5, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.39 (s, 3H, CH₃), 1.52 (s, 3H, CH₃), 2.13 (s, 3H, CH₃COO-), 3.01 (d, 1H, J_{gem} = 16.0 Hz, H-2), 3.20 (d, 1H, H-2'), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (d, 1H, J_{gem} = 12.5 Hz, CH₂-Ph), 3.94 (d, 1H, CH₂-Ph), 4.39 (m, 1H, H-6), 4.42-4.50 (m, 2H, 2 H-7), 4.76 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, H-4), 4.84 (dd, 1H, $J_{5,6}$ = 2.5 Hz, H-5), 7.22-7.33 (m, 5H, H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** δ = 20.9 (CH₃COO-), 25.7 (CH₃), 26.9 (CH₃), 32.7 (CH₂-Ph), 40.4 (C-2), 51.7 (OCH₃), 64.7 (C-7), 83.1 (C-5), 84.9 (C-6), 86.0 (C-4), 94.3 (C-3), 113.5 (C(CH₃)₂), 127.2 (C-Ar), 128.6 (2 C-Ar), 129.0 (2 C-Ar), 137.2 (C-Ar), 169.3 (C=O), 170.6 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺** m/z = 433.1287 (calculated for C₂₀H₂₆O₇SNa: 433.1291). **IR (NaCl)** ν = 2985, 2943, 1744, 1494, 1454, 1435 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-3-benzylthio-7-O-acetyl-4,5-O-(1-methylethylidene)- α -D-ribo-heptanoic acid methyl ester **39**

Prepared using general procedures **C** or **E** starting from **9**.



Yield 7% (gp **C**) or 3% (gp **E**) as a colorless gum

C₂₀H₂₆O₇S

M.W.: 410.14 g/mol

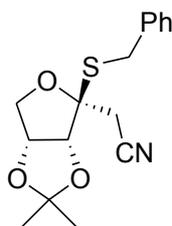
R_f = 0.33 (cH/EA: 7/3)

[α]_D = +49.4° (c = 0.1, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.35 (s, 3H, CH₃), 1.60 (s, 3H, CH₃), 2.11 (s, 3H, CH₃COO-), 2.98 (d, 1H, J_{gem} = 15.5 Hz, H-2), 3.08 (d, 1H, H-2'), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (d, 1H, J_{gem} = 12.5 Hz, CH₂-Ph), 3.83 (d, 1H, CH₂-Ph), 4.19 (dd, 1H, J_{gem} = 13.0, $J_{6,7}$ = 6.0 Hz, H-7), 4.30-4.37 (m, 2H, H-6, H-7), 4.65 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 8.0, $J_{5,6}$ = 5.0 Hz, H-5), 5.20 (d, 1H, H-4), 7.20-7.36 (m, 5H, H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 20.8 (CH₃COO-), 25.3 (CH₃), 25.6 (CH₃), 32.1 (CH₂-Ph), 43.4 (C-2), 51.8 (OCH₃), 63.1 (C-7), 79.7, 81.3, 85.5 (C-4, C-5, C-6), 94.3 (C-3), 117.3 (C(CH₃)₂), 126.8 (C-Ar), 128.4 (2 C-Ar), 129.1 (2 C-Ar), 138.3 (C-Ar), 169.2 (C=O), 170.6 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺** m/z = 433.1294 (calculated for C₂₀H₂₆O₇SNa: 433.1291). **IR (NaCl)** ν = 2985, 2924, 2848, 1742, 1496, 1456, 1435 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-3-benzylthio-4,5-O-(1-methylethylidene)- β -D-erythro-hexononitrile **40**

Prepared using general procedure **C** starting from **36**.



Yield 69% as a white solid

C₁₆H₁₉NO₃S

M.W.: 305.11 g/mol

R_f = 0.68 (cH/EA: 7/3)

[α]_D = -166.4° (c = 1, CHCl₃)

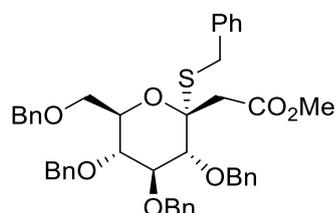
Mp = 40-42°C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.32 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.52 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.84 (d, 1H, J_{gem} = 16.5 Hz, H-2), 2.96 (d, 1H, H-2'), 3.73 (d, 1H, J_{gem} = 13.5 Hz, CH₂-Ph), 3.88 (d, 1H, CH₂-Ph), 3.94 (dd, 1H, J_{gem} = 11.0, $J_{5,6}$ = 4.0 Hz, H-6), 4.06 (d, 1H, H-6'), 4.41 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, H-4), 4.88 (dd, 1H, H-5), 7.24-7.36 (m, 5H, H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.6 (C(CH₃)₂), 25.8 (C(CH₃)₂), 26.3

(C-2), 32.7 (CH₂-Ph), 72.1 (C-6), 80.9 (C-5), 85.3 (C-4), 92.8 (C-3), 113.3 (C(CH₃)₂), 116.5 (CN), 127.4 (C-Ar), 128.7 (2 C-Ar), 128.9 (2 C-Ar), 137.4 (C-Ar). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 328.1008 (calculated for C₁₆H₁₉NO₃SNa: 328.0978). **IR** (NaCl) ν = 2990, 2928, 2253 cm⁻¹

3,7-anhydro-2-deoxy-3-benzylthio-4,5,6,8-tetra-O-benzyl- α -D-gluco-octanoic acid methyl ester 41

Prepared using general procedure C starting from 27.



Yield 52% as a colorless gum

C₄₄H₄₆O₇S

M.W.: 718.30 g/mol

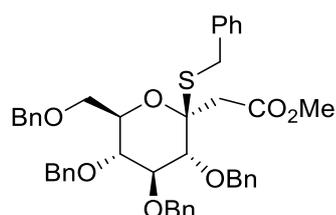
R_f = 0.51 (cH/EA: 8/2)

[α]_D = +85.4° (c = 1, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.05 (d, 1H, J_{gem} = 15.0 Hz, H-2), 3.10 (d, 1H, H-2'), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (dd, 1H, $J_{6,7}$ = 10.0, $J_{5,6}$ = 9.5 Hz, H-6), 3.70 (dd, 1H, J_{gem} = 11.5, $J_{7,8}$ = 1.5 Hz, H-8), 3.71 (d, 1H, J_{gem} = 12.0 Hz, CH-Ph), 3.77 (d, 1H, CH-Ph), 3.79 (dd, 1H, $J_{7,8'}$ = 5.0 Hz, H-8'), 4.12 (ddd, 1H, H-7), 4.23 (t, 1H, $J_{4,5}$ = 9.5 Hz, H-5), 4.44 (d, 1H, H-4), 4.58 (d, 1H, J = 12.0 Hz, CH-Ph), 4.66 (d, 1H, J = 12.0 Hz, CH-Ph), 4.67 (d, 1H, J = 11.0 Hz, CH-Ph), 4.86 (d, 1H, J = 11.0 Hz, CH-Ph), 4.89 (d, 1H, J = 11.0 Hz, CH-Ph), 4.90 (d, 1H, J = 11.0 Hz, CH-Ph), 4.93 (d, 1H, J = 11.5 Hz, CH-Ph), 5.04 (d, 1H, J = 11.5 Hz, CH-Ph), 7.23-7.40 (m, 25H, 25 H-Ar). **¹³C NMR** (CDCl₃, 100 MHz): δ = 30.8 (CH₂-Ph), 42.7 (C-2), 51.7 (OCH₃), 68.7 (C-8), 73.2, 75.2, 75.6 (4 CH₂-Ph), 74.1 (C-7), 78.2 (C-6), 80.8 (C-4), 83.9 (C-5), 90.1 (C-3), 127.0, 127.3, 127.4, 127.5, 127.6, 127.8, 128.0, 128.3, 128.4, 128.5, 129.2 (25 C-Ar), 137.5, 138.1, 138.5, 138.6 (5 C-Ar), 169.5 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 741.2888 (calculated for C₄₄H₄₆O₇SNa: 741.2856). **IR** (NaCl) ν = 3061, 3028, 2919, 2857, 1735, 1494, 1451 cm⁻¹

3,7-anhydro-2-deoxy-3-benzylthio-4,5,6,8-tetra-O-benzyl- β -D-gluco-octanoic acid methyl ester 42

Prepared using general procedure C starting from 27.



Yield 19% as a colorless gum

C₄₄H₄₆O₇S

M.W.: 718.30 g/mol

R_f = 0.46 (cH/EA: 8/2)

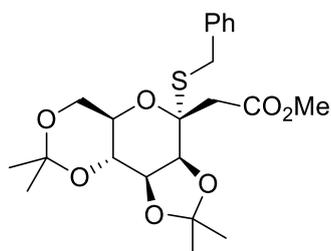
[α]_D = +43.5° (c = 0.5, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 2.94 (d, 1H, J_{gem} = 14.5 Hz, H-2), 3.03 (d, 1H, H-2'), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 9.5 Hz, H-4), 3.76 (t, 1H, $J_{5,6}$ = 9.5 Hz, H-5), 3.82 (dd, 1H, J_{gem} = 11.0, $J_{7,8}$ = 1.5 Hz, H-8), 3.88 (dd, 1H, $J_{6,7}$ = 10.0 Hz, H-6), 3.91 (dd, 1H, $J_{7,8'}$ = 3.0 Hz, H-8'), 3.97 (d, 1H, J_{gem} = 13.0 Hz, CH-Ph), 4.00 (m, 1H, H-7), 4.04 (d, 1H, CH-Ph), 4.58 (d, 1H, J = 12.0 Hz, CH-Ph), 4.63 (d, 1H, J = 10.5 Hz, CH-Ph), 4.68 (d, 1H, J = 10.5 Hz, CH-Ph), 4.69 (d, 1H, J = 12.0 Hz, CH-Ph), 4.83 (d, 1H, J = 11.0 Hz, CH-Ph), 4.86 (d, 1H, J = 10.5 Hz, CH-Ph), 4.87 (d, 1H, J = 11.0 Hz, CH-Ph), 4.89 (d, 1H, J = 10.5 Hz, CH-Ph), 7.22-7.41 (m, 25H, 25 H-Ar). **¹³C NMR** (CDCl₃, 100 MHz): δ = 32.5 (CH₂-Ph), 37.1 (C-2), 51.8 (OCH₃), 68.9 (C-8), 73.5, 75.1, 75.4, 75.7 (4 CH₂-Ph), 74.0 (C-7), 77.7 (C-6), 82.6 (C-4), 83.5 (C-5), 86.5 (C-3), 127.0, 127.6, 127.7, 127.8, 127.9, 128.1, 128.3, 128.4, 128.5, 129.5 (25

C-Ar), 138.1, 138.2, 138.4, 138.5 (5 C-Ar), 169.3 (C=O). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 741.2787$ (calculated for $C_{44}H_{46}O_7SNa$: 741.2856). **IR** (NaCl) $\nu = 3061, 3030, 2924, 2860, 1738, 1496, 1453\text{ cm}^{-1}$

3,7-anhydro-2-deoxy-3-benzylthio-4,5:6,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)- α -D-manno-octanoic acid methyl ester 43

Prepared using general procedure C starting from 28.



Yield 86% as a white solid

$C_{22}H_{30}O_7S$

M.W.: 438.17 g/mol

$R_f = 0.58$ (cH/EA: 7/3)

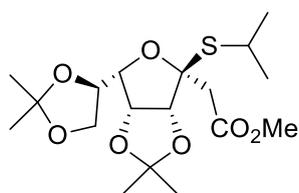
$[\alpha]_D = +24.7^\circ$ (c = 0.7, $CHCl_3$)

Mp = 125°C

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.36$ (s, 3H, CH_3), 1.44 (s, 3H, CH_3), 1.51 (s, 3H, CH_3), 1.53 (s, 3H, CH_3), 2.94 (d, 1H, $J_{gem} = 15.5$ Hz, $H-2$), 3.26 (dd, 1H, $H-2'$), 3.61-3.81 (m, 8H, OCH_3 , $H-6$, 2 $H-8$, CH_2 -Ph), 3.91 (td, 1H, $J_{6,7} = 9.5$, $J_{7,8} = 5.5$ Hz, $H-7$), 4.18 (dd, 1H, $J_{5,6} = 8.0$, $J_{4,5} = 5.0$ Hz, $H-5$), 4.37 (d, 1H, $H-4$), 7.21-7.35 (m, 5H, 5 H -Ar). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 18.8$ (CH_3), 26.1 (CH_3), 28.5 (CH_3), 29.0 (CH_3), 31.9 (CH_2 -Ph), 41.7 (C-2), 51.6 (OCH_3), 61.8 (C-8), 63.8 (C-7), 72.4 (C-6), 74.3 (C-5), 76.6 (C-4), 86.7 (C-3), 99.8 ($C(CH_3)_2$), 109.3 ($C(CH_3)_2$), 127.2 (C-Ar), 128.6 (2 C-Ar), 129.0 (2 C-Ar), 137.1 (C-Ar), 168.9 (C=O). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 461.1575$ (calculated for $C_{22}H_{30}O_7SNa$: 461.1604). **IR** (NaCl) $\nu = 2990, 2943, 1747, 1494, 1456, 1437\text{ cm}^{-1}$

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-(2-propanethio)- β -D-gulo-octanoic acid methyl ester 48

Prepared using general procedures C or E starting from 1.



Yield 77% (gp C), 44% (gp E) as a white solid

$C_{18}H_{30}O_7S$

M.W.: 390.49 g/mol

$R_f = 0.69$ (cH/EA: 7/3)

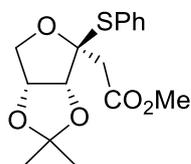
$[\alpha]_D = -77.9^\circ$ (c = 0.7, $CHCl_3$)

Mp = 48°C

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.34 (s, 6H, $S-CH(CH_3)_2$), 1.43 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.47 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.49 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 3.13-3.23 (m, 2H, $S-CH(CH_3)_2$, $H-2$), 3.31 (d, 1H, $J_{gem} = 16.0$ Hz, $H-2'$), 3.75 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.83 (m, 1H, $J_{gem} = 9.0$, $J_{7,8} = 6.5$ Hz, $H-8$), 4.13 (dd, 1H, $J_{6,7} = 9.0$, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-6$), 4.27 (dd, 1H, $J_{7,8} = 7.5$ Hz, $H-8'$), 4.45 (m, 1H, $H-7$), 4.66 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.76 (dd, 1H, $H-5$). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 24.9$ (CH_3), 25.0 (CH_3), 25.3 (CH_3), 25.8 (CH_3), 25.9 (CH_3), 26.7 (CH_3), 32.9 ($S-CH(CH_3)_2$), 40.1 (C-2), 51.7 (CO_2CH_3), 66.2 (C-8), 75.1 (C-7), 80.6 (C-6), 81.9 (C-5), 85.9 (C-4), 94.0 (C-3), 109.9 ($C(CH_3)_2$), 112.8 ($C(CH_3)_2$), 169.7 (C=O). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 413.1630$ (calculated for $C_{18}H_{30}O_7SNa$: 413.1604). **IR** (NaCl) $\nu = 2985, 2952, 2928, 2867, 1747, 1456, 1437\text{ cm}^{-1}$

3,6-anhydro-2-deoxy-3-phenylthio-4,5-*O*-(1-methylethylidene)- β -D-erythro-hexanoic acid methyl ester 49

Prepared using general procedure C starting from 4.



Yield 78% as a colorless gum

C₁₆H₂₀O₅S

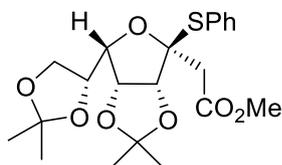
M.W.: 324.39 g/mol

R_f = 0.52 (cH/EA: 7/3)[α]_D = -144.1° (c = 0.1, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.37 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.46 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.82 (d, 1H, J_{gem} = 16.5 Hz, *H*-2), 3.03 (d, 1H, *H*-2'), 3.75 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.00 (d, 1H, J_{gem} = 10.5 Hz, *H*-6), 4.29 (dd, 1H, $J_{5,6}$ = 4.0 Hz, *H*-6'), 4.79 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, *H*-4), 4.96 (dd, 1H, *H*-5), 7.30-7.47 (m, 5H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 25.2 (CH₃), 26.1 (CH₃), 39.2 (C-2), 51.7 (CO₂CH₃), 71.5 (C-6), 80.7 (C-5), 85.5 (C-4), 96.9 (C-3), 112.4 (C(CH₃)₂), 128.8 (2 C-Ar), 128.9 (C-Ar), 129.9 (C-Ar), 136.1 (2 C-Ar), 169.6 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 347.0946 (calculated for C₁₆H₂₀O₅SNa: 347.0924). **IR** (NaCl) ν = 3061, 2985, 2928, 2853, 1744, 1581 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-phenylthio- β -D-gulo-octanoic acid methyl ester 50

Prepared using general procedure E starting from 1.



Yield 42% as a white solid

C₂₁H₂₈O₇S

M.W.: 424.51 g/mol

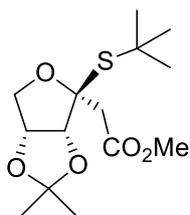
R_f = 0.49 (cH/EA: 7/3)[α]_D = -113.0° (c = 0.8, CHCl₃)

Mp = 109 °C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.37 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.42 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.47 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.55 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.88 (d, 1H, J_{gem} = 16.5 Hz, *H*-2), 3.07 (d, 1H, *H*-2'), 3.79 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.90 (m, 1H, *H*-8), 4.30 (m, 1H, *H*-8'), 4.43-4.53 (m, 2H, *H*-6, *H*-7), 4.85 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0, $J_{5,6}$ = 3.0 Hz, *H*-5), 4.90 (d, 1H, *H*-4), 7.33-7.41 (m, 3H, 3 *H*-Ar), 7.51-7.54 (m, 2H, 2 *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 25.0 (C(CH₃)₂), 25.1 (C(CH₃)₂), 25.9 (C(CH₃)₂), 26.8 (C(CH₃)₂), 39.0 (C-2), 51.7 (CO₂CH₃), 66.2 (C-8), 74.8 (C-7), 80.5 (C-6), 81.9 (C-5), 85.8 (C-4), 96.1 (C-3), 110.0 (C(CH₃)₂), 113.0 (C(CH₃)₂), 128.8 (2 C-Ar), 129.1 (C-Ar), 129.4 (C-Ar), 136.3 (2 C-Ar), 169.7 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 447.1424 (calculated for C₂₁H₂₈O₇SNa: 447.1448). **IR** (NaCl) ν = 2985, 2933, 2857, 1747, 1480, 1437 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-3-*tert*-butylthio-4,5-*O*-(1-methylethylidene)- β -D-erythro-hexanoic acid methyl ester 51

Prepared using general procedure C starting from 4.



Yield 35% as a colorless gum

 $C_{14}H_{24}O_5S$

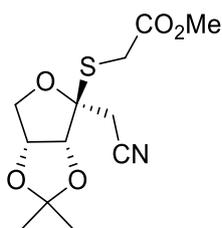
M.W.: 304.40 g/mol

 $R_f = 0.68$ (cH/EA: 7/3) $[\alpha]_D = -113.5^\circ$ (c = 0.4, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.37$ (s, 3H, CH_3), 1.44 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 1.50 (s, 3H, CH_3), 3.34 (s, 2H, 2 $H-2$), 3.76 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.96 (d, 1H, $J_{gem} = 10.5$ Hz, $H-6$), 4.21 (dd, 1H, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-6'$), 4.58 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.90 (dd, 1H, $H-5$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 25.1$ (CH_3), 26.2 (CH_3), 32.5 ($C(CH_3)_3$), 41.2 ($C-2$), 46.8 ($C(CH_3)_3$), 51.6 (CO_2CH_3), 71.5 ($C-6$), 80.7 ($C-5$), 86.5 ($C-4$), 96.3 ($C-3$), 112.0 ($C(CH_3)_2$), 169.9 (CO_2CH_3). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ m/z = 327.1249 (calculated for $C_{14}H_{24}O_5SNa$: 327.1237). IR (NaCl) $\nu = 2985, 2947, 2867, 1747$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-3-[(methoxycarbonylmethyl)thio]-4,5-O-(1-methylethylidene)- β -D-erythro-hexononitrile 52

Prepared using general procedure C starting from 36.



Yield 88% as a colorless gum

 $C_{12}H_{17}NO_5S$

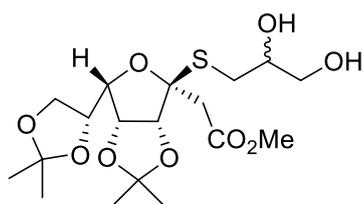
M.W.: 287.08 g/mol

 $R_f = 0.38$ (cH/EA: 7/3) $[\alpha]_D = -156.0^\circ$ (c = 1, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.51 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 3.07 (d, 1H, $J_{gem} = 16.5$ Hz, $H-2$), 3.14 (d, 1H, $H-2'$), 3.31 (d, 1H, $J_{gem} = 15.5$ Hz, CH_2-CO_2Me), 3.38 (d, 1H, CH_2-CO_2Me), 3.74 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.95 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0$, $J_{6,5} = 4.0$ Hz, $H-6$), 4.03 (d, 1H, $H-6'$), 4.43 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.89 (dd, 1H, $H-5$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 24.7$ ($C(CH_3)_2$), 25.9 ($C(CH_3)_2$), 26.4 ($C-2$), 29.9 (CH_2-CO_2Me), 52.9 (CO_2CH_3), 72.3 ($C-6$), 80.9 ($C-5$), 85.2 ($C-4$), 93.1 ($C-3$), 113.6 ($C(CH_3)_2$), 116.4 ($C=N$), 170.6 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ m/z = 310.0713 (calculated for $C_{12}H_{17}NO_5SNa$: 310.0720). IR (NaCl) $\nu = 2985, 2943, 2260, 2213, 1735$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-3-[(2,3-dihydroxypropyl)thio]-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)- β -D-gulo-octanoic acid methyl ester 53

Prepared using general procedures C or E starting from 1.



Yield 82% (gp C) or 50% (gp E) as a colorless gum

 $C_{18}H_{30}O_9S$

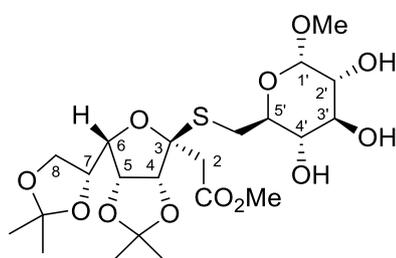
M.W.: 422.49 g/mol

 $R_f = 0.63$ (EA) $[\alpha]_D = -60.4^\circ$ (c = 0.8, $CHCl_3$)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): δ = 1.25 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.28 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.33, 1.34 (2s, 3H, C(CH₃)₂), 1.37 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.37-2.72 (m, 2H, CH₂-S), 2.98 (d, 1H, *J*_{gem} = 16.0 Hz, *H*-2), 3.06 (dd, 1H, *H*-2'), 3.24-3.37 (m, 2H, CH₂-O), 3.52 (m, 1H, CH-O), 3.61 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.80 (m, 1H, *H*-8), 3.88 (m, 1H, *H*-6), 4.04 (dd, 1H, *J*_{gem} = 8.5, *J*_{7,8'} = 6.5 Hz, *H*-8'), 4.21 (m, 1H, *H*-7), 4.55 (m, 1H, O-*H*), 4.57 (d, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-4), 4.81 (m, 1H, O-*H*), 4.85 (m, 1H, *H*-5). **¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz):** δ = 25.2 (C(CH₃)₂), 25.9 (C(CH₃)₂), 26.2 (C(CH₃)₂), 27.1 (C(CH₃)₂), 31.1, 31.3 (CH₂-S), 39.7 (C-2), 51.8 (CO₂CH₃), 65.2, 65.3 (CH₂-O), 65.8 (C-8), 71.1, 71.5 (CH-O), 74.9, 75.0 (C-7), 80.5 (C-5), 81.5 (C-6), 85.8 (C-4), 92.7 (C-3), 109.3 (C(CH₃)₂), 112.3 (C(CH₃)₂), 168.2 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 445.1520 (calculated for C₁₈H₃₀O₉SNa: 445.1503). **IR** (NaCl) ν = 3445, 2990, 2933, 2886, 1742 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-3-[(methyl 6-*S*-α-D-glucopyranosyl)-6-thio]-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-β-D-gulo-octanoic acid methyl ester 54

Prepared using general procedures C or E starting from 1.



Yield 75% (gp C) or 46% (gp E) as a colorless gum

C₂₂H₃₆O₁₂S

M.W.: 524.58 g/mol

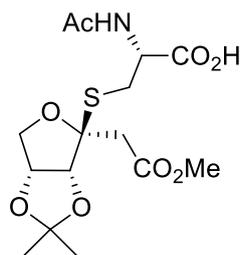
R_f = 0.58 (H₂O/AcN: 1/1)

[α]_D = +37.0° (c = 0.1, H₂O)

¹H NMR (DMSO-d₆, 250 MHz): δ = 1.22 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.25 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.32 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.35 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.50 (m, 1H, CH-S), 2.85-2.98 (m, 3H, CH-S, *H*-2, *H*-2'), 3.11 (d, 1H, *J*_{gem} = 16.5 Hz, *H*-2'), 3.16-3.36 (m, 3H, *H*-3', *H*-4', *H*-5'), 3.23 (s, 3H, OCH₃), 3.58 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.76-3.86 (m, 2H, *H*-6, *H*-8), 4.02 (dd, 1H, *J*_{gem} = 8.5, *J*_{7,8'} = 6.5 Hz, *H*-8'), 4.19 (m, 1H, *H*-7), 4.46 (d, 1H, *J* = 3.0 Hz, O-*H*), 4.58 (d, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-4), 4.71 (d, 1H, *J* = 6.0 Hz, O-*H*), 4.78 (d, 1H, *J* = 4.5 Hz, O-*H*), 4.84 (dd, 1H, *J*_{5,6} = 4.0 Hz, *H*-5), 5.02 (d, 1H, *J*_{1',2'} = 5.5 Hz, *H*-1'). **¹³C NMR (DMSO-d₆, 62.9 MHz):** δ = 24.6 (C(CH₃)₂), 25.4 (C(CH₃)₂), 25.7 (C(CH₃)₂), 26.7 (C(CH₃)₂), 28.9 (CH₂-S), 39.4 (C-2), 51.2 (CO₂CH₃), 54.3 (OCH₃), 65.3 (C-8), 71.0, 71.8, 73.0, 73.7, 74.3 (C-2', C-3', C-4', C-5', C-7), 79.9, 81.0 (C-5, C-6), 85.3 (C-4), 92.0 (C-3), 99.7 (C-1'), 108.8 (C(CH₃)₂), 111.8 (C(CH₃)₂), 168.8 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 547.1834 (calculated for C₂₂H₃₆O₁₂SNa: 547.1820). **IR** (KBr pellets) ν = 3431, 2985, 2928, 2853, 1744 cm⁻¹

***N*-acetyl-*S*-[3-[3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-β-D-erythro-hexanoic acid methyl ester]]-L-cysteine 57**

Prepared using general procedure C starting from 4.



Yield 93% as a white solid

 $C_{15}H_{23}NO_8S$

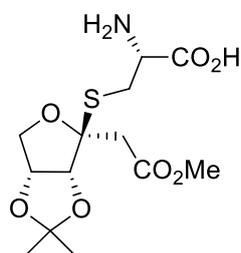
M.W.: 377.41 g/mol

 $R_f = 0.07$ ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1) $[\alpha]_D = -90.1^\circ$ ($c = 0.8$, $CHCl_3$)

Mp = 179 °C

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.33$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.46 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.09 (s, 3H, $CH_3-C=O$), 2.92 (d, 1H, $J_{gem} = 15.5$ Hz, $H-2$), 2.98 (dd, 1H, $J_{gem} = 13.0$, $J_{CH,\alpha} = 4.0$ Hz, CH_2-S), 3.06 (dd, 1H, $J_{CH,\alpha} = 4.0$ Hz, CH_2-S), 3.22 (d, 1H, $H-2'$), 3.73 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.87 (dd, 1H, $J_{gem} = 10.5$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-6$), 3.94 (d, 1H, $H-6'$), 4.56 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.80-4.88 (m, 2H, $H-5$, $H-\alpha$), 6.76 (br s, 1H, $COOH$), 6.91 (d, 1H, $J_{H-\alpha,NH} = 7.5$ Hz, NH). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 22.7$ ($CH_3-C=O$), 25.1 ($C(CH_3)_2$), 26.1 ($C(CH_3)_2$), 29.1 (CH_2-S), 40.2 ($C-2$), 51.9, 52.1 ($C-\alpha$, CO_2CH_3), 71.7 ($C-6$), 80.6 ($C-5$), 85.5 ($C-4$), 94.1 ($C-3$), 112.6 ($C(CH_3)_2$), 170.2, 171.5, 172.5 (3 $C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 400.1036$ (calculated for $C_{15}H_{23}NO_8SNa$: 400.1037). **IR** ($NaCl$) $\nu = 3350$, 2990, 2933, 1737, 1657, 1626, 1539 cm^{-1}

S-[3-[3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-β-D-erythro-hexanoic acid methyl ester]]-L-cysteine 58

Prepared using general procedure **D** starting from **4**.

Yield 73% as a white solid

 $C_{13}H_{21}NO_7S$

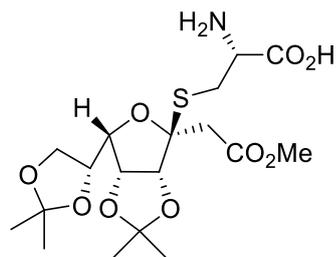
M.W.: 335.37 g/mol

 $R_f = 0.48$ ($H_2O/MeOH$: 1/1) $[\alpha]_D = -110.8^\circ$ ($c = 0.5$, H_2O)

1H NMR ($DMSO-d_6$, 250 MHz): $\delta = 1.25$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.35 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.62 (dd, 1H, $J_{gem} = 13.0$, $J_{CH,\alpha} = 8.0$ Hz, $CH-S$), 2.92-3.06 (m, 3H, 2 $H-2$, $CH-S$), 3.24 (dd, 1H, $J_{CH,\alpha} = 4.0$ Hz, $H-\alpha$), 3.60 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.78 (d, 1H, $J_{gem} = 10.5$ Hz, $H-6$), 3.88 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 4.0$ Hz, $H-6'$), 4.48 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.86 (dd, 1H, $H-5$). **^{13}C NMR ($DMSO-d_6$, 62.9 MHz):** $\delta = 25.6$ ($C(CH_3)_2$), 26.7 ($C(CH_3)_2$), 29.5 (CH_2-S), 40.5 ($C-2$), 52.1 (CO_2CH_3), 55.2 ($C-\alpha$), 71.5 ($C-6$), 80.8 ($C-5$), 85.7 ($C-4$), 94.2 ($C-3$), 112.1 ($C(CH_3)_2$), 169.1, 169.5 (2 $C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 358.0942$ (calculated for $C_{13}H_{21}NO_7SNa$: 358.0931). **IR** (KBr pellets) $\nu = 3431$, 2985, 2938, 1742, 1631, 1506 cm^{-1}

S-[3-[3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-β-D-gulo-octanoic acid methyl ester]]-L-cysteine 59

Prepared using general procedures **D** or **F** starting from **1**.



Yield 77% (gp **D**) or 53% (gp **F**) as a white solid

$C_{18}H_{29}NO_9S$

M.W.: 435.49 g/mol

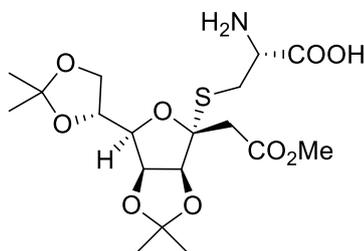
$R_f = 0.47$ ($H_2O/MeOH$: 1/1)

$[\alpha]_D = -76.0^\circ$ ($c = 0.5, H_2O$)

1H NMR (DMSO d_6 , 400 MHz): $\delta = 1.25$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.28 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.35 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.38 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.67 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5$, $J_{CH,\alpha} = 8.0$ Hz, CH-S), 3.01 (d, 1H, $J_{gem} = 16.5$ Hz, H-2), 3.03 (dd, 1H, $J_{CH,\alpha} = 4.0$ Hz, CH-S), 3.11 (d, 1H, H-2'), 3.28 (dd, 1H, H- α), 3.63 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.77 (dd, 1H, $J_{gem} = 8.5$, $J_{7,8} = 7.0$ Hz, H-8), 3.94 (dd, 1H, $J_{6,7} = 8.5$, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, H-6), 4.05 (dd, 1H, $J_{7,8} = 6.5$ Hz, H-8'), 4.21 (m, 1H, H-7), 4.58 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-4), 4.86 (dd, 1H, H-5). **^{13}C NMR (DMSO d_6 , 100 MHz):** $\delta = 24.6$ ($C(CH_3)_2$), 25.4 ($C(CH_3)_2$), 25.7 ($C(CH_3)_2$), 26.5 ($C(CH_3)_2$), 29.0 (CH_2-S), 39.7 (C-2), 51.4 (CO_2CH_3), 55.0 (C- α), 65.2 (C-8), 74.5 (C-7), 79.9 (C-5), 81.2 (C-6), 85.2 (C-4), 92.8 (C-3), 108.9 ($C(CH_3)_2$), 111.9 ($C(CH_3)_2$), 168.5, 168.6 (2 C=O). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 458.1442$ (calculated for $C_{18}H_{29}NO_9SNa$: 458.1455). **IR** (KBr pellets) $\nu = 3412, 2990, 2938, 1737, 1636, 1614\text{ cm}^{-1}$

S-[3-[3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)- α -D-manno-octanoic acid methyl ester]]-L-cysteine **60**

Prepared using general procedure **D** starting from **5**.



Yield 72% as a white solid

$C_{18}H_{29}NO_9S$

M.W.: 435.49 g/mol

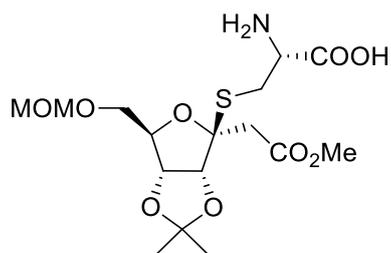
$R_f = 0.24$ ($H_2O/MeOH$: 1/1)

$[\alpha]_D = +64.5^\circ$ ($c = 0.4, H_2O$)

1H NMR (DMSO d_6 , 250 MHz): $\delta = 1.24$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.26 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.32 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.35 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.67 (dd, 1H, $J_{gem} = 13.5$, $J_{CH,\alpha} = 8.0$ Hz, CH-S), 2.93 (d, 1H, $J_{gem} = 16.5$ Hz, H-2), 2.99 (dd, 1H, $J_{CH,\alpha} = 4.0$ Hz, CH-S), 3.08 (d, 1H, H-2'), 3.21 (dd, 1H, H- α), 3.58 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.86 (dd, 1H, $J_{gem} = 8.5$, $J_{7,8} = 6.0$ Hz, H-8), 3.98 (dd, 1H, $J_{7,8} = 6.5$ Hz, H-8'), 4.02 (dd, 1H, $J_{6,7} = 6.5$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, H-6), 4.28 (m, 1H, H-7), 4.54 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-4), 4.78 (dd, 1H, H-5), 7.39 (br s, 1H, COOH). **^{13}C NMR (DMSO d_6 , 62.9 MHz):** $\delta = 24.3$ ($C(CH_3)_2$), 25.2 ($C(CH_3)_2$), 25.4 ($C(CH_3)_2$), 26.3 ($C(CH_3)_2$), 29.3 (CH_2-S), 39.1 (C-2), 51.2 (CO_2CH_3), 54.4 (C- α), 66.0 (C-8), 72.1 (C-7), 79.2, 79.6 (C-5, C-6), 85.3 (C-4), 93.1 (C-3), 108.0 ($C(CH_3)_2$), 111.5 ($C(CH_3)_2$), 168.4, 168.6 (2 C=O). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 458.1502$ (calculated for $C_{18}H_{29}NO_9SNa$: 458.1455). **IR** (KBr pellets) $\nu = 3436, 2990, 2947, 1749, 1624\text{ cm}^{-1}$

S-[3-[3,6-anhydro-2-deoxy-7-O-methoxymethyl-4,5-O-(1-methylethylidene)- β -D-ribo-heptanoic acid methyl ester]]-L-cysteine **62**

Prepared using general procedure **D** starting from **61**.

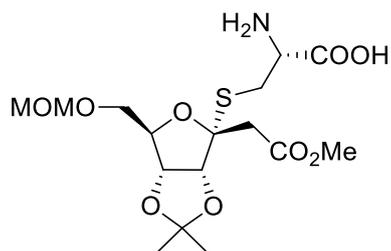


Yield 45% as a white solid
 $C_{16}H_{27}NO_9S$
 M.W.: 409.45 g/mol
 $R_f = 0.30$ (H₂O/MeOH: 1/1)
 $[\alpha]_D = -83.1^\circ$ (c = 0.16, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 250 MHz): $\delta = 1.35$ (s, 3H, CH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 3.04 (dd, 1H, $J_{gem} = 13.5$, $J_{CH,\alpha} = 7.5$ Hz, CH-S), 3.10 (d, 1H, $J_{gem} = 15.5$ Hz, H-2), 3.21 (d, 1H, H-2'), 3.22 (dd, 1H, $J_{CH,\alpha} = 4.0$ Hz, CH-S), 3.36 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (d, 2H, $J_{6,7} = 7.0$ Hz, 2 H-7), 3.91 (dd, 1H, H- α), 4.36 (td, 1H, $J_{5,6} = 2.5$ Hz, H-6), 4.67-4.70 (m, 2H, O-CH₂-O), 4.87 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-4), 4.95 (dd, 1H, H-5). **¹³C NMR (D₂O, 62.9 MHz):** $\delta = 24.4$ (CH₃), 25.5 (CH₃), 28.7 (CH₂-S), 40.5 (C-2), 52.5, 54.4, 55.3 (C- α , 2 OCH₃), 68.0 (C-7), 82.3, 85.2, 85.9 (C-4, C-5, C-6), 93.7 (C-3), 96.2 (O-CH₂-O), 114.5 (C(CH₃)₂), 171.4, 172.0 (2 C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 432.1310 (calculated for C₁₆H₂₇NO₉SNa: 432.1299). **IR** (KBr pellets) $\nu = 3426, 2985, 2943, 1737, 1638$ cm⁻¹

S-[3-[3,6-anhydro-2-deoxy-7-O-methoxymethyl-4,5-O-(1-methylethylidene)- α -D-ribo-heptanoic acid methyl ester]]-L-cysteine 63

Prepared using general procedure **D** starting from **61**.

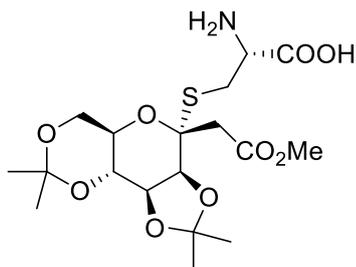


Yield 5% as a white solid
 $C_{16}H_{27}NO_9S$
 M.W.: 409.45 g/mol
 $R_f = 0.39$ (H₂O/MeOH: 1/1)
 $[\alpha]_D = +11.0^\circ$ (c = 0.01, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 250 MHz): $\delta = 1.35$ (s, 3H, CH₃), 1.57 (s, 3H, CH₃), 2.99-3.22 (m, 4H, CH₂-S, 2 H-2), 3.34 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.71 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.5$, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, H-7), 3.80 (dd, 1H, $J_{6,7} = 4.0$ Hz, H-7'), 3.92 (dd, 1H, $J = 7.5$, $J = 4.0$ Hz, H- α), 4.36 (m, 1H, H-6), 4.64-4.72 (m, 2H, O-CH₂-O), 4.80 (dd, 1H, $J_{4,5} = 7.5$, $J_{5,6} = 5.0$ Hz, H-5), 5.15 (d, 1H, H-5). **¹³C NMR (D₂O, 62.9 MHz):** $\delta = 24.0$ (CH₃), 24.4 (CH₃), 28.3 (CH₂-S), 42.9 (C-2), 52.5, 54.1, 55.2 (C- α , 2 OCH₃), 66.9 (C-7), 80.4, 80.9, 85.4 (C-4, C-5, C-6), 94.6 (C-3), 96.3 (O-CH₂-O), 117.6 (C(CH₃)₂), 170.9, 172.4 (2 C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 432.1304 (calculated for C₁₆H₂₇NO₉SNa: 432.1299). **IR** (KBr pellets) $\nu = 3425, 2985, 2942, 1737, 1638$ cm⁻¹

S-[3-[3,7-anhydro-2-deoxy-4,5:6,8-bis-O-(1-methylethylidene)- α -D-manno-octanoic acid methyl ester]]-L-cysteine 64

Prepared using general procedure **D** starting from **28**.



Yield 31% as a white solid

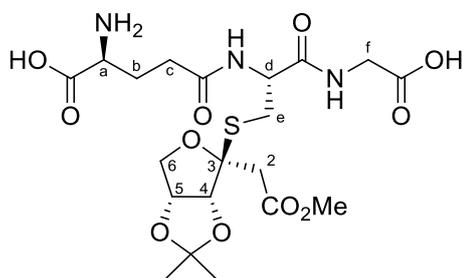
 $C_{18}H_{29}NO_9S$

M.W.: 435.49 g/mol

 $R_f = 0.27$ ($H_2O/MeOH$: 1/1) $[\alpha]_D = +18.0^\circ$ ($c = 0.05, H_2O$)

1H NMR (DMSO d_6 , 250 MHz): $\delta = 1.25$ (s, 3H, CH_3), 1.31 (s, 3H, CH_3), 1.43 (s, 6H, 2 CH_3), 2.67 (dd, 1H, $J_{gem} = 13.0$, $J_{CH,\alpha} = 8.5$ Hz, $CH-S$), 2.90 (dd, 1H, $J_{CH,\alpha} = 4.0$ Hz, $CH-S$), 2.93 (d, 1H, $J_{gem} = 16.0$ Hz, $H-2$), 3.04 (d, 1H, $H-2'$), 3.16 (m, 1H, $H-\alpha$), 3.58 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.68-3.80 (m, 4H, $H-6$, $H-7$, $H-8$, $H-8'$), 4.02 (dd, 1H, $J_{5,6} = 7.0$, $J_{4,5} = 5.0$ Hz, $H-5$), 4.29 (d, 1H, $H-4$). **^{13}C NMR (DMSO d_6 , 62.9 MHz):** $\delta = 18.8$ (CH_3), 26.0 (CH_3), 28.1 (CH_3), 28.5 (CH_2-S), 28.8 (CH_3), 41.3 ($C-2$), 51.3 (CO_2CH_3), 54.4 ($C-\alpha$), 60.7 ($C-8$), 63.5 ($C-7$), 71.7, 73.8, 76.4 ($C-4$, $C-5$, $C-6$), 85.9 ($C-3$), 99.2 ($C(CH_3)_2$), 108.5 ($C(CH_3)_2$), 163.2, 168.2 (2 $C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 458.1474$ (calculated for $C_{18}H_{29}NO_9SNa$: 458.1455). **IR** (KBr pellets) $\nu = 3426, 2990, 2938, 1721, 1626$ cm^{-1}

L- γ -Glutamyl-S-[3-[3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)- β -D-erythro-hexanoic acid methyl ester]]-L-cysteinyl-glycine 65

Prepared using general procedure **D** starting from **4**.

Yield 63% as a white solid

 $C_{20}H_{31}N_3O_{11}S$

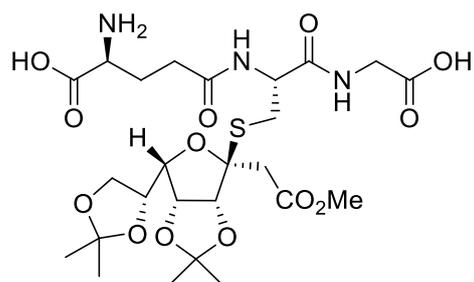
M.W.: 521.54 g/mol

 $R_f = 0.70$ ($H_2O/MeOH$: 1/1) $[\alpha]_D = -63.3^\circ$ ($c = 0.6, H_2O$)

1H NMR (DMSO d_6 , 250 MHz): $\delta = 1.24$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.35 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.78-1.98 (m, 2H, 2 $H-b$), 2.21-2.35 (m, 2H, 2 $H-c$), 2.55 (dd, 1H, $J_{gem} = 13.0$, $J_{d,e} = 9.0$ Hz, $H-e$), 2.89 (dd, 1H, $J_{d,e'} = 4.5$ Hz, $H-e'$), 2.93 (d, 1H, $J_{gem} = 16.0$ Hz, $H-2$), 3.02 (d, 1H, $H-2'$), 3.31 (t, 1H, $J_{a,b} = 6.5$ Hz, $H-a$), 3.58 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.65-3.69 (m, 2H, 2 $H-f$), 3.77 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-6$), 3.84 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 3.5$ Hz, $H-6'$), 4.36 (td, 1H, $J_{NH,d} = 9.0$ Hz, $H-d$), 4.46 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.86 (td, 1H, $H-5$), 8.39 (d, 1H, NH cyst), 8.60 (t, 1H, NH glu). **^{13}C NMR (DMSO d_6 , 62.9 MHz):** $\delta = 24.8$ ($C(CH_3)_2$), 25.9 ($C(CH_3)_2$), 26.7 ($C-b$), 29.1 ($C-e$), 31.3 ($C-c$), 39.7 ($C-2$), 41.2 ($C-f$), 51.3 (CO_2CH_3), 52.5, 53.0 ($C-a$, $C-d$), 70.7 ($C-6$), 80.1 ($C-5$), 85.0 ($C-4$), 93.2 ($C-3$), 111.3 ($C(CH_3)_2$), 168.6, 170.4, 170.5, 170.9, 171.6 (5 $C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 544.1566$ (calculated for $C_{20}H_{31}N_3O_{11}SNa$: 544.1572). **IR** (KBr pellets) $\nu = 3284, 3061, 2990, 2933, 1735, 1657, 1544$ cm^{-1}

L- γ -Glutamyl-S-[3-[3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)- β -D-gulo-octanoic acid methyl ester]]-L-cysteinyl-glycine 66

Prepared using general procedure **D** starting from **1**.



Yield 58% as a white solid

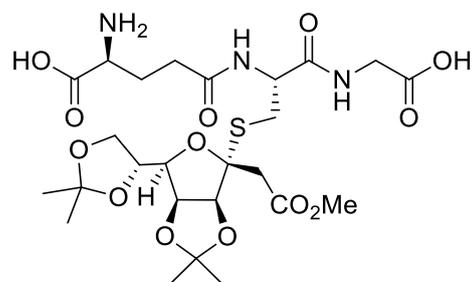
 $C_{25}H_{39}N_3O_{13}S$

M.W.: 621.65 g/mol

 $R_f = 0.45$ ($H_2O/MeOH$: 1/1) $[\alpha]_D = -51.0^\circ$ ($c = 0.2, H_2O$)

1H NMR (DMSO d_6 , 400 MHz): $\delta = 1.24$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.27 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.34 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.37 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.85 (m, 1H, $H-b$), 1.93 (m, 1H, $H-b'$), 2.24-2.36 (m, 2H, 2 $H-c$), 2.58 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.0$, $J_{d,e} = 9.0$ Hz, $H-e$), 2.92 (dd, 1H, $J_{d,e'} = 5.5$ Hz, $H-e'$), 2.97 (d, 1H, $J_{gem} = 16.5$ Hz, $H-2$), 3.07 (d, 1H, $H-2'$), 3.34 (t, 1H, $J_{a,b} = 6.5$ Hz, $H-a$), 3.60 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.65 (dd, 1H, $J_{gem} = 17.0$, $J_{NH,f} = 5.5$ Hz, $H-f$), 3.73 (dd, 1H, $J_{NH,f} = 5.5$ Hz, $H-f'$), 3.77 (dd, 1H, $J_{gem} = 8.5$, $J_{7,8} = 7.0$ Hz, $H-8$), 3.87 (dd, 1H, $J_{6,7} = 8.5$, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-6$), 4.03 (dd, 1H, $J_{7,8'} = 6.5$ Hz, $H-8'$), 4.20 (m, 1H, $H-7$), 4.40 (td, 1H, $J_{NH,d} = 9.0$ Hz, $H-d$), 4.56 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.85 (dd, 1H, $H-5$), 8.39 (d, 1H, NH cyst), 8.54 (t, 1H, NH glu). **^{13}C NMR (DMSO d_6 , 100 MHz):** $\delta = 25.2$ ($C(CH_3)_2$), 25.9 ($C(CH_3)_2$), 26.2 ($C(CH_3)_2$), 27.1 ($C(CH_3)_2$), 27.2 ($C-b$), 29.2 ($C-e$), 31.9 ($C-c$), 39.8 ($C-2$), 41.7 ($C-f$), 51.8 (CO_2CH_3), 53.6 ($C-a$, $C-d$), 65.8 ($C-8$), 75.0 ($C-7$), 80.5 ($C-5$), 81.6 ($C-6$), 85.7 ($C-4$), 92.9 ($C-3$), 109.3 ($C(CH_3)_2$), 112.4 ($C(CH_3)_2$), 169.1, 170.9, 171.4, 172.1 (5 $C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 644.2095$ (calculated for $C_{25}H_{39}N_3O_{13}SNa$: 644.2096). **IR** (KBr pellets) $\nu = 3284, 3061, 2985, 2933, 1737, 1650, 1537$ cm^{-1}

L- γ -Glutamyl-S-[3-[3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)- α -D-manno-octanoic acid methyl ester]]-L-cysteinyl-glycine 67

Prepared using general procedure **D** starting from **5**.

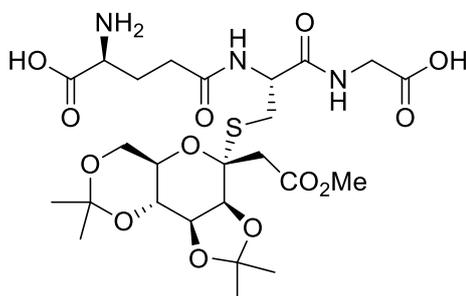
Yield 61% as a white solid

 $C_{25}H_{39}N_3O_{13}S$

M.W.: 621.65 g/mol

 $R_f = 0.41$ ($H_2O/MeOH$: 1/1) $[\alpha]_D = +39.9^\circ$ ($c = 0.5, H_2O$)

1H NMR (DMSO d_6 , 250 MHz): $\delta = 1.24$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.26 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.32 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.35 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.74-1.97 (m, 2H, 2 $H-b$), 2.22-2.37 (m, 2H, 2 $H-c$), 2.68 (dd, 1H, $J_{gem} = 13.5$, $J_{d,e} = 9.0$ Hz, $H-e$), 2.87 (dd, 1H, $J_{d,e'} = 5.0$ Hz, $H-e'$), 2.91 (d, 1H, $J_{gem} = 16.5$ Hz, $H-2$), 3.01 (d, 1H, $H-2'$), 3.29 (t, 1H, $J_{a,b} = 6.5$ Hz, $H-a$), 3.57 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.60-3.75 (m, 2H, 2 $H-f$), 3.85-3.93 (m, 2H, $H-6$, $H-8$), 3.99 (dd, 1H, $J_{gem} = 9.0$, $J_{7,8'} = 7.0$ Hz, $H-8'$), 4.25 (m, 1H, $H-7$), 4.33 (m, 1H, $H-d$), 4.50 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.77 (dd, 1H, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-5$), 8.42 (d, 1H, $J_{NH,d} = 8.5$ Hz, NH cyst), 8.54 (t, 1H, $J_{NH,f} = 5.5$ Hz, NH glu). **^{13}C NMR (DMSO d_6 , 62.9 MHz):** $\delta = 24.3$ ($C(CH_3)_2$), 25.4 ($C(CH_3)_2$), 25.5 ($C(CH_3)_2$), 26.3 ($C(CH_3)_2$), 26.7 ($C-b$), 28.8 ($C-e$), 31.3 ($C-c$), 39.5 ($C-2$), 41.3 ($C-f$), 51.2 (CO_2CH_3), 52.8, 53.0 ($C-a$, $C-d$), 66.3 ($C-8$), 71.9 ($C-7$), 79.5, 79.6 ($C-5$, $C-6$), 85.3 ($C-4$), 92.8 ($C-3$), 108.2 ($C(CH_3)_2$), 111.4 ($C(CH_3)_2$), 168.5, 170.2, 170.8, 171.7 (5 $C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 644.2131$ (calculated for $C_{25}H_{39}N_3O_{13}SNa$: 644.2096). **IR** (KBr pellets) $\nu = 3436, 3246, 3052, 2990, 2943, 1744, 1645, 1555, 1532$ cm^{-1}

L- γ -Glutamyl-S-[3-[3,7-anhydro-2-deoxy-4,5:6,8-bis-O-(1-methylethylidene)- α -D-manno-octanoic acid methyl ester]]-L-cysteinyl-glycine 68Prepared using general procedure **D** starting from **28**.

Yield 31% as a white solid

 $C_{25}H_{39}N_3O_{13}S$

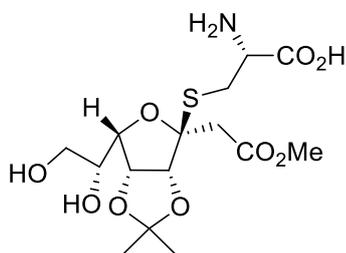
M.W.: 621.65 g/mol

 $R_f = 0.37$ ($H_2O/MeOH$: 1/1) $[\alpha]_D = +10.0^\circ$ ($c = 0.01, H_2O$)

1H NMR (DMSO d_6 , 250 MHz): $\delta = 1.24$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.30 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.42 (s, 6H, 2 $C(CH_3)_2$), 1.80-1.97 (m, 2H, 2 H -b), 2.21-2.36 (m, 2H, 2 H -c), 2.70 (dd, 1H, $J_{gem} = 12.5$, $J_{d,e} = 8.5$ Hz, H -e), 2.83-2.94 (m, 2H, H -e', H -2), 3.04 (d, 1H, $J_{gem} = 16.0$ Hz, H -2'), 3.30 (m, 1H, H -a), 3.59 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.63-3.81 (m, 6H, 2 H -f, H -6, H -7, 2 H -8), 4.00 (dd, 1H, $J_{5,6} = 7.0$, $J_{4,5} = 5.0$ Hz, H -5), 4.27 (d, 1H, H -4), 4.36 (m, 1H, H -d), 8.51-8.58 (m, 2H, 2 NH). **^{13}C NMR (DMSO d_6 , 62.9 MHz):** $\delta = 18.8$ ($C(CH_3)_2$), 26.0 ($C(CH_3)_2$), 26.8 (C -b), 28.1 ($C(CH_3)_2$), 28.3 (C -e), 28.9 ($C(CH_3)_2$), 31.4 (C -c), 41.4, 41.5 (C -2, C -f), 51.3 (CO_2CH_3), 52.8, 53.1 (C -a, C -d), 60.7 (C -8), 63.6 (C -7), 71.7, 73.7, 76.3 (C -4, C -5, C -6), 85.9 (C -3), 99.1 ($C(CH_3)_2$), 108.5 ($C(CH_3)_2$), 168.1, 170.1, 170.7, 171.9 (5 $C=O$). **ESI-HRMS** [$M+Na$] $^+$ $m/z = 644.2105$ (calculated for $C_{25}H_{39}N_3O_{13}SNa$: 644.2096). **IR** (KBr pellets) $\nu = 3407, 3260, 2990, 2933, 1747, 1645, 1598, 1548$ cm^{-1}

S-[3-[3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)- β -D-gulo-octanoic acid methyl ester]]-L-cysteine 69

To a stirred solution of **59** (25 mg, 0.057 mmol) in H_2O (0.75 ml) at $0^\circ C$ was added trifluoroacetic acid (0.25 ml). After completion of the reaction (tlc monitoring), the solvents were removed under reduced pressure and coevaporated with Et_2O (3x5 mL). The residue was purified by column chromatography (RP-18 silica gel, $H_2O/MeOH$) and lyophilized.



Yield 85% as a white solid

 $C_{15}H_{25}NO_9S$

M.W.: 395.43 g/mol

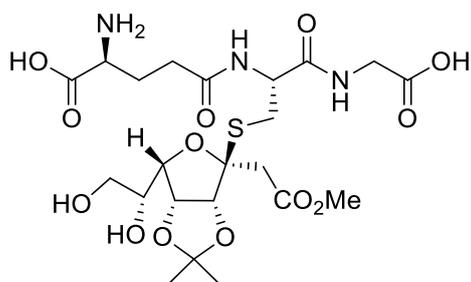
 $R_f = 0.68$ ($H_2O/MeOH$: 2/1) $[\alpha]_D = -66.0^\circ$ ($c = 0.2, H_2O$)

1H NMR (D_2O , 250 MHz): $\delta = 1.41$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.54 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 3.04 (dd, 1H, $J_{gem} = 13.5$, $J_{CH,\alpha} = 7.5$ Hz, CH -S), 3.22 (d, 1H, $J_{gem} = 16.5$ Hz, H -2), 3.24 (dd, 1H, $J_{CH,\alpha} = 4.5$ Hz, CH -S), 3.33 (d, 1H, H -2'), 3.72 (dd, 1H, $J_{gem} = 12.5$, $J_{7,8} = 6.0$ Hz, H -8), 3.80 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.84 (dd, 1H, $J_{7,8} = 3.0$ Hz, H -8'), 3.99 (dd, 1H, H - α), 4.11 (m, 1H, H -7), 4.21 (dd, 1H, $J_{6,7} = 8.0$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, H -6), 4.84 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H -4), 5.05 (dd, 1H, H -5). **^{13}C NMR (D_2O , 62.9 MHz):** $\delta = 23.8$ ($C(CH_3)_2$), 24.8 ($C(CH_3)_2$), 27.9 (CH_2 -S), 39.6 (C -2), 52.5, 54.2 (CO_2CH_3 , C - α), 62.5 (C -8), 70.1 (C -7), 79.5, 79.9 (C -5,

C-6), 85.7 (C-4), 92.8 (C-3), 113.5 (C(CH₃)₂), 171.6, 172.2 (2 C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 418.1142 (calculated for C₁₅H₂₅NO₉SNa: 418.1142). **IR** (KBr pellets) ν = 3421, 2990, 2943, 2867, 1730, 1600 cm⁻¹

L- γ -Glutamyl-S-[3-[3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)- β -D-gulo-octanoic acid methyl ester]]-L-cysteinyl-glycine 70

Prepared starting from **66** following procedure described for the synthesis of **69**.



Yield 91% as a white solid

C₂₂H₃₅N₃O₁₃S

M.W.: 581.59 g/mol

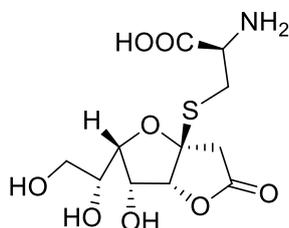
R_f = 0.70 (H₂O/MeOH: 1/1)

[α]_D = -65.6° (c = 0.36, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 250 MHz): δ = 1.41 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.54 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.16-2.25 (m, 2H, 2 H-b), 2.54-2.61 (m, 2H, 2 H-c), 2.91 (dd, 1H, J_{gem} = 13.5, $J_{d,e}$ = 8.5 Hz, H-e), 3.14 (dd, 1H, $J_{d,e'}$ = 5.5 Hz, H-e'), 3.20 (d, 1H, J_{gem} = 16.5 Hz, H-2), 3.32 (d, 1H, H-2'), 3.72 (dd, 1H, J_{gem} = 12.0, $J_{7,8}$ = 5.5 Hz, H-8), 3.78 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.84 (dd, 1H, $J_{7,8'}$ = 3.5 Hz, H-8'), 3.86 (t, 1H, $J_{a,b}$ = 6.5 Hz, H-a), 4.01 (s, 2H, 2 H-f), 4.11 (ddd, 1H, $J_{6,7}$ = 8.5, H-7), 4.20 (dd, 1H, $J_{5,6}$ = 3.5 Hz, H-6), 4.66 (dd, 1H, H-d), 4.81 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, H-4), 5.04 (dd, 1H, H-5). **¹³C NMR (D₂O, 62.9 MHz):** δ = 23.8 (C(CH₃)₂), 24.8 (C(CH₃)₂), 26.1 (C-b), 28.6 (C-e), 31.2 (C-c), 39.7 (C-2), 41.6 (C-f), 52.4, 53.3, 53.8 (CO₂CH₃, C-a, C-d), 62.4 (C-8), 70.1 (C-7), 79.5, 80.0 (C-5, C-6), 85.8 (C-4), 92.5 (C-3), 113.4 (C(CH₃)₂), 171.6, 172.2, 173.5, 174.6 (5 C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 604.1767 (calculated for C₂₂H₃₅N₃O₁₃SNa: 604.1783). **IR** (KBr pellets) ν = 3402, 3279, 2985, 2943, 1735, 1648, 1539 cm⁻¹

Compound 71

To a stirred solution of **59** (25 mg, 0.057 mmol) in H₂O (0.50 ml) at 0°C was added trifluoroacetic acid (0.50 ml). After completion of the reaction (tlc monitoring), the solvents were removed under reduced pressure and coevaporated with Et₂O (3x5 mL). The residue was purified by column chromatography (RP-18 silica gel, H₂O/MeOH) and lyophilized.



Yield 100% as a white solid

C₁₁H₁₇NO₈S

M.W.: 323.32 g/mol

R_f = 0.80 (H₂O/MeOH: 2/1)

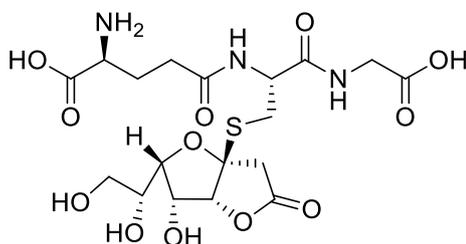
[α]_D = -59.8° (c = 0.3, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 250 MHz): δ = 3.16 (dd, 1H, J_{gem} = 14.5, $J_{CH,\alpha}$ = 8.0 Hz, CH-S), 3.22 (s, 2H, 2 H-2), 3.33 (dd, 1H, $J_{CH,\alpha}$ = 4.5 Hz, CH-S), 3.58 (dd, 1H, J_{gem} = 12.0, $J_{7,8}$ = 5.5 Hz, H-8), 3.69 (dd, 1H, $J_{7,8'}$ = 3.5 Hz, H-8'), 3.95 (ddd, 1H, $J_{6,7}$ = 7.5 Hz, H-7), 3.98 (dd, 1H, H- α), 4.16 (dd, 1H, $J_{5,6}$ = 3.5 Hz, H-6), 4.48 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 5.0 Hz, H-5), 4.99 (d, 1H, H-4). **¹³C NMR (D₂O, 62.9 MHz):** δ = 29.9 (CH₂-S), 43.9 (C-2), 54.2 (C- α), 62.2 (C-8), 69.9 (C-7, C-5), 82.0 (C-6), 88.0 (C-4), 91.7 (C-3), 171.8 (C=O cyst),

176.8 (C=O lactone). **ESI-HRMS** $[M+H]^+$ $m/z = 324.0755$ (calculated for $C_{11}H_{18}NO_8S$: 324.0748). **IR** (KBr pellets) $\nu = 3436, 2943, 1803, 1638, 1515 \text{ cm}^{-1}$

Compound 72

Prepared starting from **66** following procedure described for the synthesis of **71**.



Yield 100% as a white solid

$C_{18}H_{27}N_3O_{12}S$

M.W.: 509.48 g/mol

$R_f = 0.85$ ($H_2O/MeOH$: 1/1)

$[\alpha]_D = -38.2^\circ$ ($c = 0.4, H_2O$)

1H NMR (D_2O , 250 MHz): $\delta = 2.10$ -2.18 (m, 2H, 2 H -b), 2.46-2.56 (m, 2H, 2 H -c), 3.02 (dd, 1H, $J_{gem} = 13.0, J_{d,e} = 7.5$ Hz, H -e), 3.13 (dd, 1H, $J_{d,e'} = 7.0$ Hz, H -e'), 3.24 (s, 2H, 2 H -2), 3.59 (dd, 1H, $J_{gem} = 12.0, J_{7,8} = 6.0$ Hz, H -8), 3.72 (dd, 1H, $J_{7,8'} = 3.5$ Hz, H -8'), 3.90 (t, 1H, $J_{a,b} = 6.5$ Hz, H -a), 3.96 (s, 2H, 2 H -f), 4.00 (m, 1H, H -7), 4.17 (dd, 1H, $J_{6,7} = 7.5, J_{5,6} = 3.5$ Hz, H -6), 4.48 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H -5), 4.66 (m, 1H, H -d), 4.95 (d, 1H, H -4). **^{13}C NMR (D_2O , 62.9 MHz):** $\delta = 25.6$ (C -b), 30.5, 31.0 (C -e, C -c), 41.2 (C -f), 43.9 (C -2), 52.9, 53.2 (C -a, C -d), 62.3 (C -8), 69.9 (C -7, C -5), 81.7 (C -6), 88.2 (C -4), 91.7 (C -3), 172.4, 172.9, 174.3, 177.0 (5 $C=O$). **ESI-HRMS** $[M+H]^+$ $m/z = 510.1402$ (calculated for $C_{18}H_{28}N_3O_{12}S$: 510.1388). **IR** (KBr pellets) $\nu = 3350, 3075, 2933, 1782, 1730, 1671, 1539 \text{ cm}^{-1}$

II.3- Linear and cyclic glycopeptides

G - General procedure for nitro group reduction and amine protection with Boc:

To a solution of carboxylic acid (1.1 mmol, 1 eq.) and Boc₂O (715 mg, 3.3 mmol, 3 eq.) in MeOH (30 mL) was added Pd/C(10%) (40%w/w). The mixture was stirred under H₂ atmosphere (70 psi) for 24 h. The reaction mixture was then filtered through a pad of celite and concentrated to give a white solid. The residue was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA) to give mono- and diprotected compounds.

H - General procedure for saponification with LiOH:

To a solution of methyl ester (2 mmol) in THF (15 mL) and water (5 mL) was added LiOH (144 mg, 6 mmol, 3 eq.) and the mixture was stirred until completion of the reaction. THF was removed under reduced pressure, ethyl acetate (20 mL) was added and the pH was adjusted to 2-3 with aqueous 1N HCl. The organic layer was washed with brine and dried over MgSO₄, filtered and concentrated. When necessary, the crude residue was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA).

I - General procedure for nitro group reduction and amine protection with benzyloxycarbonyl:

To a solution of carboxylic acid (14 mmol) in MeOH (30 mL) was added Pd/C(10%) (40%w/w). The mixture was hydrogenated under H₂ atmosphere (40 psi) for 24 h. The reaction mixture was then filtered through a pad of celite and concentrated to give a white solid. This solid was suspended in CH₂Cl₂ (60 mL) and vigorously stirred. While TMSCl (3.55 mL, 28 mmol, 2 eq.) was added, the mixture was stirred for 2 h and then cooled to 0°C and DIEA (4.36 mL, 25.2 mmol, 1.8 eq.) followed by Cbz-Cl (3.0 mL, 21 mmol, 1.5 eq.) were added. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred overnight. Solvent was removed under vacuum and the residue was dissolved in ethyl acetate (70 mL). Water (20 mL) was added and the solution was acidified with 1 N HCl (pH = 2). The separated organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated. The residue was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA).

J - General procedure for peptidic coupling with HATU:

To a solution of amine (1.1 mmol, 1.1 eq.) and carboxylic acid (1 mmol, 1 eq.) in DMF (10 mL) were added HATU (570 mg, 1.5 mmol, 1.5 eq.) and DIEA (363 μL, 2.1 mmol, 2.1 eq.) at 0°C under argon atmosphere. After stirring at room temperature for 24h, the solvent was evaporated. The residue was dissolved in ethyl acetate (10 mL), washed with HCl 1N (5 mL), a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (5 mL) and brine (5 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated. The product was purified by column chromatography (silica gel, cyclohexane/AcOEt).

K - General procedure for nitro reduction or Cbz hydrogenolysis:

To a solution of protected compound (10 mmol) in MeOH (20 mL) was added Pd/C(10%) (40%w/w). The mixture was hydrogenated under H₂ atmosphere (40 psi) for 24 h. The reaction mixture was then filtered through a pad of celite and concentrated to give the desired product. The crude product was used without further purification.

L - General procedure for amine protection with benzyloxycarbonyl:

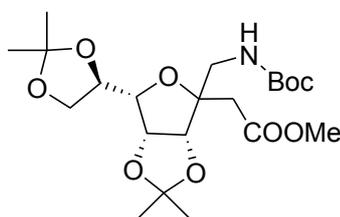
To a solution of protected compound (10 mmol) in MeOH (20 mL) was added Pd/C(10%) (40%w/w). The mixture was hydrogenated under H₂ atmosphere (40 psi) for 24 h. The reaction mixture was then filtered through a pad of celite and concentrated to give the desired product. The crude residue was solubilized in CH₂Cl₂ (50 mL) and DIEA (3.46 mL, 20.0 mmol, 2.0 eq.) followed by CbzCl (2.13 mL, 15 mmol, 1.5 eq.) was added at 0°C. The reaction mixture was allowed to reach room temperature and stirred overnight. The solvent was removed under vacuum and the residue was dissolved in ethyl acetate (100 mL). The solution was washed with 0.5N HCl (30 mL) and brine (30 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated. The product was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA).

M - General procedure for macrocyclization:

To a solution of deprotected glyco-amino acid (0.4 mmol, 1 eq.) in CH₂Cl₂/DMF (4/1) at 0°C under argon, were added DIEA (346 μL, 2.0 mmol, 5.0 eq.) and HATU (182 mg, 0.48 mmol, 1.2 eq.). After stirring at room temperature for 3 days, the solvents were evaporated and the residue was taken up in ethyl acetate (30 mL). The solution was washed with brine (10 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated. The product was purified by column chromatography (silica gel, AcOEt/MeOH).

Compound 75 (mixture α/β)

Prepared using general procedure **G** starting from **2**.



Yield 22% as a yellow oil

C₂₁H₃₅NO₉

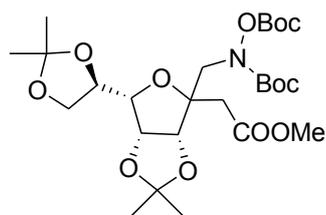
M.W.: 445.50 g/mol

R_f = 0.38 (cH/EA: 7/3)

¹H NMR (acetone d₆, 400 MHz): δ = 1.27, 1.29 (2s, 3H, CH₃ acetal), 1.30 (s, 3H, CH₃ acetal), 1.35 (s, 3H, CH₃ acetal), 1.42, 1.43 (2s, 9H, 3 CH₃ Boc), 1.46, 1.47 (2s, 3H, CH₃ acetal), 2.57 (d, 0.5H, J_{gem} = 16.0 Hz, H-2), 2.65-2.70 (m, 1H, H-2), 2.80 (d, 0.5H, J_{gem} = 17.0 Hz, H-2), 3.24 (dd, 0.5H, J_{gem} = 14.5, J_{NH,2'} = 5.5 Hz, H-2'), 3.47-3.60 (m, 1.5H, H-2'), 3.64 (2 s, 3H, OCH₃), 3.72 (dd, 1H, J_{gem} = 8.5, J_{7,8} = 7.0 Hz, H-8), 3.94 (dd, 0.5H, J_{6,7} = 8.0, J_{5,6} = 4.0 Hz, H-6), 3.99 (dd, 0.5H, J_{6,7} = 8.0, J_{5,6} = 4.5 Hz, H-6), 4.11 (m, 1H, H-8'), 4.22 (m, 1H, H-7), 4.68 (d, 0.5H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-4), 4.88-4.97 (m, 1.5H, H-5, H-4), 5.54 (m, 0.36H, NH), 5.88 (m, 0.41H, NH). **¹³C NMR (acetone d₆, 62.9 MHz):** δ = 23.6, 23.8, 24.9, 25.1, 25.2, 26.2, 27.6, 27.7 (4 CH₃ acetal, 3 CH₃ Boc), 35.8, 36.9 (C-2), 40.6, 43.8 (C-2'), 50.6, 50.9 (OCH₃), 65.7, 65.8 (C-8), 76.3, 76.4 (C-7), 80.9, 81.4, 81.9, 82.0, 83.3, 83.4, 84.7 (C(CH₃)₃, C-3, C-5, C-4, C-6), 108.8, 108.9 (C acetal), 111.9, 112.4 (C acetal), 155.8, 156.0 (C=O Boc), 170.5 (C=O). **ESI- HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 468.2202 (calculated for C₂₁H₃₅NO₉Na: 468.2204). **IR (NaCl)** ν = 3374, 2982, 2933, 1737, 1715, 1513 cm⁻¹

Compound 76 (mixture α/β)

Prepared using general procedure **G** starting from **2**.



Yield 76% as a yellow oil

 $C_{26}H_{43}NO_{12}$

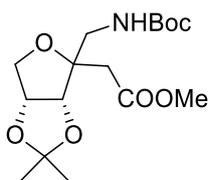
M.W.: 561.62 g/mol

 $R_f = 0.50$ (cH/EA: 7/3)

1H NMR (acetone d_6 , 250 MHz): $\delta = 1.26, 1.28, 1.36, 1.42$ (4s, 12H, 4 CH_3 acetal), 1.45, 1.46, 1.51, 1.52 (4s, 18H, CH_3 Boc), 2.72-2.79 (m, 2H, $H-2, H-2'$), 3.03 (d, 1H, $J_{gem} = 16.5$ Hz, $H-2$), 3.63, 3.64 (2 s, 3H, OCH_3), 3.71 (m, 1H, $H-8$), 3.86-4.02 (m, 2H, $H-6$ and $H-2'$), 4.09 (dd, 1H, $J_{gem} = 8.0, J_{7,8} = 6.5$ Hz, $H-8'$), 4.22 (m, 1H, $H-7$), 4.65 (d, 1H, $J_{4,5} = 5.5$ Hz, $H-4$), 4.90 (m, 1H, $H-5$). **^{13}C NMR (acetone d_6 , 62.9 MHz):** $\delta = 24.7, 26.0, 26.2, 27.3$ (4 CH_3 acetal), 27.9, 28.4 (6 CH_3 Boc), 36.9 ($C-2$), 50.1 ($C-2'$), 51.6 (OCH_3), 66.8 ($C-8$), 77.4 ($C-7$), 81.5, 82.5, 82.8, 83.9, 85.3, 85.5 (2 $C(CH_3)_3$, $C-3, C-5, C-4, C-6$), 109.9, 113.0 (2 C acetal), 152.9, 155.4 (2 $C=O$ Boc), 171.6 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 584.2677$ (calculated for $C_{26}H_{43}NO_{12}Na$: 584.2677). **IR** (NaCl) $\nu = 3454, 2984, 2937, 1784, 1737, 1437$ cm^{-1}

Compound 77 (mixture α/β)

Prepared using general procedure G starting from 6.



Yield 33% as a yellow solid

 $C_{16}H_{27}NO_7$

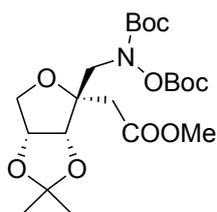
M.W.: 345.39 g/mol

 $R_f = 0.35$ (cH/EA: 7/3)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.32, 1.33$ (2s, 3H, CH_3 acetal), 1.44, 1.45 (2s, 9H, 3 CH_3 Boc), 1.48, 1.51 (2s, 3H, CH_3 acetal), 2.52 (d, 0.6H, $J_{gem} = 15.5$ Hz, $H-2$), 2.60 (d, 0.6H, $H-2$), 2.69 (d, 0.4H, $J_{gem} = 16.0$ Hz, $H-2$), 2.79 (d, 0.4H, $H-2$), 3.40 (m, 1H, $H-2'$), 3.58 (m, 1H, $H-2'$), 3.68, 3.70 (2 s, 3H, OCH_3), 3.83-3.99 (m, 2H, 2 $H-6$), 4.57 (d, 0.6H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.79-4.98 (m, 2.4H, $H-5, H-4, NH$). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 24.5, 24.7, 26.0$ (2 CH_3 acetal), 28.2, 28.3 (3 CH_3 Boc), 36.5, 38.3 ($C-2$), 40.8, 44.2 ($C-2'$), 51.7, 51.8 (OCH_3), 70.9, 71.9 ($C-6$), 79.3, 79.5, 81.2, 81.7, 83.1, 84.4, 85.1, 85.3 ($C(CH_3)_3, C-3, C-5, C-4$), 112.4, 112.8 (C acetal), 156.0, 156.3 ($C=O$ Boc), 170.9, 171.3 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 368.1714$ (calculated for $C_{16}H_{27}NO_7Na$: 368.1680). **IR** (NaCl) $\nu = 3369, 2976, 2928, 2853, 1685, 1520$ cm^{-1}

Compound 78

Prepared using general procedure G starting from 6. Obtained as pure compound (unlike 75, 76 & 77)



Yield 34% as a yellow oil

 $C_{21}H_{35}NO_{10}$

M.W.: 461.50 g/mol

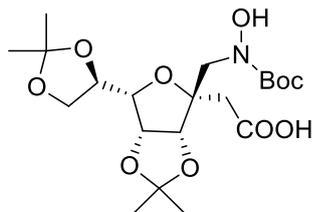
 $R_f = 0.48$ (cH/EA: 7/3)

1H NMR (acetone d_6 , 250 MHz): $\delta = 1.30, 1.43$ (2s, 6H, CH_3 acetal), 1.47, 1.53 (2s, 18H, CH_3 Boc), 2.72 (d, 1H, $J_{gem} = 17.5$ Hz, $H-2$), 2.82 (s, 1H, $H-2'$), 3.00 (d, 1H, $H-2$), 3.66 (s, 3H, OCH_3), 3.79-4.00

(m, 3H, 2 *H*-6 and *H*-2'), 4.60 (d, 1H, $J_{4,5} = 5.5$ Hz, *H*-4), 4.95 (dd, 1H, $J_{5,6} = 4.5$ Hz, *H*-5). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 62.9 MHz): $\delta = 24.8, 26.1$ (2 CH_3 acetal), 27.6, 28.0 (6 CH_3 Boc), 36.2 (*C*-2), 49.4 (*C*-2'), 51.3 (OCH_3), 70.5 (*C*-6), 81.3, 82.6, 82.9, 84.4, 84.8 (2 $\text{C}(\text{CH}_3)_3$, *C*-3, *C*-5, *C*-4), 112.4 (*C* acetal), 151.8 ($\text{C}=\text{O}$ Boc), 155.0 ($\text{C}=\text{O}$ Boc), 171.3 ($\text{C}=\text{O}$). ESI-HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 484.2172$ (calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{35}\text{NO}_{10}\text{Na}$: 484.2153). IR (NaCl) $\nu = 2981, 2933, 1784, 1739, 1721, 1435$ cm^{-1}

Compound 79

Prepared using general procedure **H** starting from **76**.



Yield 84% as a white foam

$\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{NO}_{10}$

M.W.: 447.48 g/mol

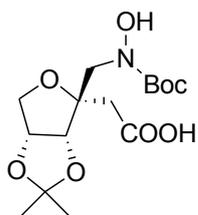
$R_f = 0.21$ (EA)

$[\alpha]_D = -26.1^\circ$ ($c = 1$, CHCl_3)

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.24, 1.33, 1.38, 1.41, 1.44$ (5s, 21H, 7 CH_3 acetal and boc), 2.82 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 17.5$ Hz, *H*-2), 2.96 (d, 1H, *H*-2), 3.51 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 15.0$ Hz, *H*-2'), 3.68 (m, 1H, *H*-8), 3.96 (m, 1H, *H*-6), 4.01 (d, 1H, *H*-2'), 4.14 (m, 1H, *H*-8'), 4.28 (m, 1H, *H*-7), 4.70 (s, 2H, *H*-4, *H*-5), 7.78 (br s, 2H, OH, COOH). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 62.9 MHz): $\delta = 24.4, 25.1, 25.6, 26.5$ (4 CH_3 acetal), 28.1 (3 CH_3 boc), 36.8 (*C*-2), 51.2 (*C*-2'), 65.9 (*C*-8), 75.8 (*C*-7), 80.9, 81.1, 82.2, 83.2, 85.3 (*C*-3, *C*-4, *C*-5, *C*-6, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 109.7, 112.7 (2 *C* acetal), 156.3 ($\text{C}=\text{O}$), 174.5 ($\text{C}=\text{O}$). ESI-HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 470.1987$ (calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{NO}_{10}\text{Na}$: 470.1997). IR (NaCl) $\nu = 3301, 2985, 2937, 1713$ cm^{-1}

Compound 80

Prepared using general procedure **H** starting from **78**.



Yield 75% as a white foam

$\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{NO}_8$

M.W.: 347.36 g/mol

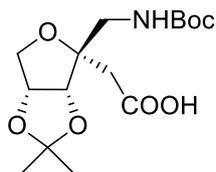
$R_f = 0.18$ (EA)

$[\alpha]_D = -37.4^\circ$ ($c = 0.5$, CHCl_3)

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz): $\delta = 1.32, 1.48, 1.50$ (3s, 15H, 5 CH_3 acetal and boc), 2.84 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 17.5$ Hz, *H*-2), 2.97 (d, 1H, *H*-2), 3.55 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 15.0$ Hz, *H*-2'), 3.88 (d, 1H, *H*-2'), 3.94 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 11.0, J_{5,6} = 4.0$ Hz, *H*-6), 4.02 (d, 1H, *H*-6'), 4.64 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-4), 4.88 (dd, 1H, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, *H*-5). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 62.9 MHz): $\delta = 24.6, 25.8$ (2 CH_3 acetal), 28.2 (3 CH_3 boc), 36.8 (*C*-2), 50.8 (*C*-2'), 71.0 (*C*-6), 81.1, 82.6, 82.9, 85.6 (*C*-3, *C*-4, *C*-5, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 112.6 (*C* acetal), 156.6 ($\text{C}=\text{O}$), 174.4 ($\text{C}=\text{O}$). ESI-HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 370.1488$ (calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{NO}_8\text{Na}$: 370.1509). IR (NaCl) $\nu = 3263, 2982, 2938, 1713$ cm^{-1}

i3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-[aminomethyl(*N*-tert-butoxycarbonyl)]- β -*D*-erythro-hexanoic acid **81**

Prepared using general procedure **H** starting from **80**.



Yield 65 % as a white solid

 $C_{15}H_{25}NO_7$

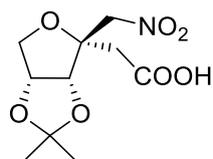
M.W.: 331.16 g/mol

 $R_f = 0.69$ (EA) $[\alpha]_D = -39.8^\circ$ ($c = 0.68$, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.44 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 1.52 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.77 (s, 2H, $H-2$), 3.06 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5$, $J_{2',NH} = 4.0$ Hz, $H-2'$), 3.47 (dd, 1H, $J_{2',NH} = 8.5$ Hz, $H-2'$), 3.88 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0$ Hz, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-6$), 4.05 (d, 1H, $H-6$), 4.54 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.88 (m, 2H, $H-5$, NH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 24.8$, 26.4 ($C(CH_3)_2$), 28.7 ($C(CH_3)_3$), 37.0 ($C-2$), 41.5 ($C-2'$), 71.7 ($C-6$), 80.2 ($C(CH_3)_3$), 82.6, 84.5 ($C-4$, $C-5$), 86.7 ($C-3$), 113.2 ($C(CH_3)$), 158.5 ($C=O$ Boc), 173.9 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 354.1529$ (calculated for $C_{15}H_{25}NO_7Na$: 354.1523). IR (NaCl) $\nu = 3355$, 2981, 2933, 1716, 1522 cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-3-nitromethyl- β -D-erythro-hexanoic acid 8

Prepared using general procedure H starting from 6.



Yield 70% as a white solid

 $C_{10}H_{15}NO_7$

M.W.: 261.23 g/mol

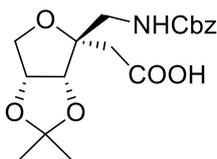
 $R_f = 0.42$ (EA) $[\alpha]_D = -108.8^\circ$ ($c = 1$, $CHCl_3$)

Mp = 125°C

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.38$ (s, 3H, CH_3), 1.55 (s, 3H, CH_3), 3.02 (d, 1H, $J_{gem} = 18.0$ Hz, $H-2$), 3.22 (d, 1H, $H-2$), 3.96 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-6$), 4.12 (d, 1H, $H-6$), 4.58 (d, 1H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, $H-2'$), 4.64 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.95 (dd, 1H, $H-5$), 5.03 (d, 1H, $H-2'$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 25.0$, 26.1 (CH_3), 36.4 ($C-2$), 71.8 ($C-6$), 75.7 ($C-2'$), 81.3, 83.4 ($C-4$, $C-5$), 83.9 ($C-3$), 113.6 ($C(CH_3)_2$), 176.2 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 284.0746$ (calculated for $C_{10}H_{15}NO_7Na$: 284.0741). IR (NaCl) $\nu = 1707$, 1553 cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-3-[(N-benzyloxycarbonyl)aminomethyl]- β -D-erythro-hexanoic acid 82

Prepared using general procedure I starting from 8.



Yield 65% as a white solid

 $C_{18}H_{23}NO_7$

M.W.: 365.38 g/mol

 $R_f = 0.57$ (EA) $[\alpha]_D = -35.8^\circ$ ($c = 0.4$, $CHCl_3$)

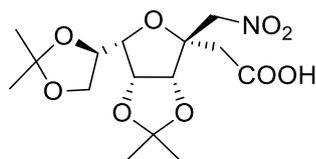
Mp = 117°C

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, CH_3), 1.50 (s, 3H, CH_3), 2.73 (d, 1H, $J_{gem} = 16.5$, $H-2$), 2.81 (d, 1H, $H-2$), 3.14 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5$, $J_{2',NH} = 4.0$ Hz, $H-2'$), 3.61 (dd, 1H, $J_{2',NH} = 8.0$ Hz, $H-2'$), 3.84 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-6$), 4.01 (d, 1H, $H-6$), 4.55 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.86

(m, 1H, *H*-5), 5.05-5.15 (m, 2H, *CH*₂-Ph), 5.24 (m, 1H, *N*-*H*), 7.31-7.41 (m, 5H, 5 *H*-Ar). ¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz): δ = 24.7, 25.9 (CH₃), 36.5 (*C*-2), 41.8 (*C*-2'), 67.4 (*CH*₂-Ph), 71.1 (*C*-6), 81.3, 83.2 (*C*-4, *C*-5), 85.5 (*C*-3), 113.0 (*C*(CH₃)₂), 128.3 (2 *C*-Ar), 128.4 (*C*-Ar), 128.7 (2 *C*-Ar), 136.3 (*C*-Ar), 157.0 (*C*=O Cbz), 174.3 (*C*=O). ESI-HRMS [M+Na]⁺ *m/z* = 388.1381 (calculated for C₁₈H₂₃NO₇Na: 388.1367). IR (NaCl) ν = 3341, 2983, 2932, 1718, 1537 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-nitromethyl-β-*D*-gulo-octanoic acid **83**

Prepared using general procedure **H** starting from **2**.



Yield 80% as a white solid

C₁₅H₂₃NO₉

M.W.: 361.14 g/mol

R_f = 0.37 (EA)

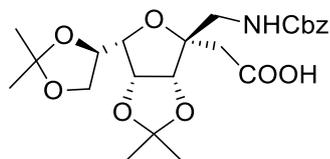
[α]_D = -51.3° (c = 0.2, CHCl₃)

Mp = 142°C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.30 (s, 3H, CH₃), 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.46 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 3.01 (d, 1H, *J*_{gem} = 18.0 Hz, *H*-2), 3.20 (d, 1H, *H*-2), 3.76 (dd, 1H, *J*_{gem} = 9.0, *J*_{7,8} = 6.0 Hz, *H*-8), 4.01 (dd, 1H, *J*_{5,6} = 4.0, *J*_{6,7} = 8.0 Hz, *H*-6), 4.17 (dd, 1H, *J*_{7,8} = 6.5 Hz, *H*-8), 4.35 (m, 1H, *H*-7), 4.64 (d, 1H, *J*_{gem} = 12.0 Hz, *H*-2'), 4.74 (d, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-4), 4.81 (dd, 1H, *H*-5), 4.99 (d, 1H, *H*-2'). ¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz): δ = 24.5 (CH₃), 25.3 (CH₃), 25.6 (CH₃), 26.7 (CH₃), 36.7 (*C*-2), 65.9 (*C*-8), 75.6 (*C*-7), 76.3 (*C*-2'), 81.0 (*C*-6), 82.3 (*C*-5), 83.5 (*C*-4, *C*-3), 110.1 (*C*(CH₃)₂), 113.7 (*C*(CH₃)₂), 175.0 (*C*=O). ESI-HRMS [M+Na]⁺ *m/z* = 384.1262 (calculated for C₁₅H₂₃NO₉Na: 384.1265). IR (NaCl) ν = 2985, 2928, 1733, 1716, 1555 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-[(*N*-benzyloxycarbonyl)aminomethyl]-β-*D*-gulo-octanoic acid **84**

Prepared using general procedure **I** starting from **83**.



Yield 45% as a colorless gum

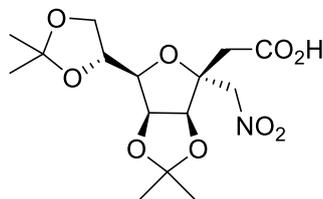
C₂₃H₃₁NO₉

M.W.: 465.20 g/mol

R_f = 0.60 (EA)

[α]_D = -11.9° (c = 0.4, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.26 (s, 3H, CH₃), 1.38 (s, 3H, CH₃), 1.43 (s, 3H, CH₃), 1.47 (s, 3H, CH₃), 2.77-2.86 (m, 2H, 2 *H*-2), 3.14 (dd, 1H, *J*_{gem} = 14.5 Hz, *J*_{NH,2'} = 3.5 Hz, *H*-2'), 3.66-3.76 (m, 2H, *H*-2', *H*-6), 3.86 (dd, 1H, *J*_{gem} = 8.5 Hz, *J*_{7,8'} = 4.5 Hz, *H*-8), 4.18 (dd, 1H, *J*_{7,8'} = 6.5 Hz, *H*-8'), 4.32 (m, 1H, *H*-7), 4.63 (d, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-4), 4.69 (dd, 1H, *J*_{5,6} = 4.0 Hz, *H*-5), 5.07-5.15 (m, 2H, *CH*₂-Ph), 5.32 (m, 1H, *NH*), 7.29-7.40 (m, 5H, 5 *H*-Ar). ¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz): δ = 24.6, 25.4, 25.7, 26.9 (4 CH₃), 36.6 (*C*-2), 42.3 (*C*-2'), 66.2, 67.3 (*C*-8, *CH*₂-Ph), 76.0 (*C*-7), 81.2, 81.7 (*C*-6, *C*-5), 83.5 (*C*-4), 85.4 (*C*-3), 110.1 (*C*(CH₃)₂), 113.3 (*C*(CH₃)₂), 128.3 (2 *C*-Ar), 128.4 (*C*-Ar), 128.7 (2 *C*-Ar), 136.4 (*C*-Ar), 157.0 (*C*=O), 173.9 (*C*=O). ESI-HRMS [M+Na]⁺ *m/z* = 488.1898 (calculated for C₂₃H₃₁NO₉Na: 488.1891). IR (NaCl) ν = 3336, 2985, 2933, 2853, 1721, 1534 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-nitromethyl- α -D-manno-octanoic acid 85Prepared using general procedure **H** starting from **7**.

Yield 80% as a white solid

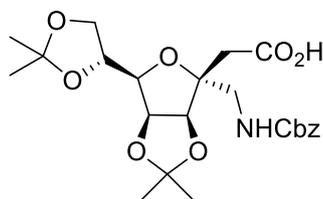
 $C_{15}H_{23}NO_9$

M.W.: 361.14 g/mol

 $R_f = 0.49$ (EA) $[\alpha]_D = +57.9^\circ$ ($c = 0.5$, $CHCl_3$)

Mp = 140°C

1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 1.35$ (s, 3H, CH₃), 1.37 (s, 3H, CH₃), 1.44 (s, 3H, CH₃), 1.52 (s, 3H, CH₃), 2.91 (d, 1H, $J_{gem} = 18.0$ Hz, H-2), 3.14 (d, 1H, H-2), 3.89-3.94 (m, 2H, H-6, H-8), 4.07 (dd, 1H, $J_{7,8'} = 6.0$ Hz, $J_{gem} = 8.5$ Hz, H-8'), 4.35 (m, 1H, H-7), 4.56 (d, 1H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, H-2'), 4.60 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-4), 4.91 (dd, 1H, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, H-5), 5.07 (d, 1H, H-2'). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = 24.4$, 25.1, 25.6, 26.8 (C(CH₃)₂), 35.9 (C-2), 67.2 (C-8), 72.6 (C-7), 75.4 (C-2'), 80.4 (C-6), 80.7 (C-5), 83.1 (C-4), 83.4 (C-3), 109.6 (C(CH₃)₂), 113.5 (C(CH₃)₂), 175.2 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺** $m/z = 384.1278$ (calculated for C₁₅H₂₃NO₉Na: 384.1265). **IR (NaCl)** $\nu = 2985$, 2928, 1735, 1716, 1555 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-3-[(*N*-benzyloxycarbonyl)aminomethyl]- α -D-manno-octanoic acid 86Prepared using general procedure **I** starting from **85**.

Yield 45% as a colorless gum

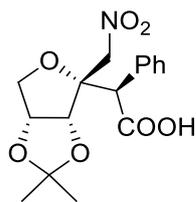
 $C_{23}H_{31}NO_9$

M.W.: 465.20 g/mol

 $R_f = 0.57$ (EA) $[\alpha]_D = +10.6^\circ$ ($c = 0.5$, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, CH₃), 1.37 (s, 3H, CH₃), 1.44 (s, 3H, CH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 2.69 (d, 1H, $J_{gem} = 16.5$ Hz, H-2), 2.77 (d, 1H, H-2), 3.18 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5$ Hz, $J_{NH,2'} = 4.0$ Hz, H-2'), 3.69 (dd, 1H, $J_{NH,2'} = 8.5$ Hz, H-2'), 3.87 (m, 1H, H-6), 3.96 (dd, 1H, $J_{gem} = 8.5$ Hz, $J_{7,8'} = 5.0$ Hz, H-8), 4.06 (dd, 1H, $J_{7,8'} = 6.0$ Hz, H-8'), 4.36 (m, 1H, H-7), 4.59 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-4), 4.82 (dd, 1H, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, H-5), 5.05-5.17 (m, 3H, CH₂-Ph, NH), 7.31-7.38 (m, 5H, 5 H-Ar). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = 24.4$, 25.4, 25.7, 27.0 (4 CH₃), 36.5 (C-2), 41.9 (C-2'), 67.0, 67.3 (C-8, CH₂-Ph), 73.3 (C-7), 79.6 (C-6), 81.0 (C-5), 83.5 (C-4), 85.1 (C-3), 109.4 (C(CH₃)₂), 113.1 (C(CH₃)₂), 128.4 (3 C-Ar), 128.7 (2 C-Ar), 136.3 (C-Ar), 156.9 (C=O), 173.9 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺** $m/z = 488.1892$ (calculated for C₂₃H₃₁NO₉Na: 488.1891). **IR (NaCl)** $\nu = 3341$, 2985, 2933, 2853, 1718, 1534 cm⁻¹

(2*R*) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-2-phenyl-3-nitromethyl- β -D-erythro-hexanoic acid 87Prepared using general procedure **H** starting from **21**.



Yield 75% as a colorless gum

 $C_{16}H_{19}NO_7$

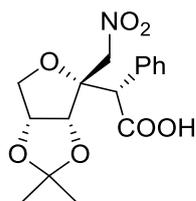
M.W.: 337.12 g/mol

 $R_f = 0.12$ (cH/EA: 7/3) $[\alpha]_D = +89.0^\circ$ (c = 1, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.44$ (s, 3H, CH_3), 1.65 (s, 3H, CH_3), 4.02 (dd, 1H, $J_{gem} = 10.0$, $J_{5,6} = 4.5$ Hz, $H-6$), 4.13 (d, 1H, $H-6'$), 4.32 (s, 1H, $H-2$), 4.33 (d, 1H, $J_{gem} = 13.5$ Hz, $H-2'$), 5.06 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-5$), 5.28 (d, 1H, $H-2'$), 5.44 (d, 1H, $H-4$), 7.29-7.34 (m, 2H, 2 $H-Ar$), 7.39-7.43 (m, 3H, 3 $H-Ar$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 24.7$ (CH_3), 25.9 (CH_3), 56.4 ($C-2$), 73.8 ($C-6$), 79.2 ($C-2'$), 82.0 ($C-5$), 84.3 ($C-4$), 86.8 ($C-3$), 113.8 ($C(CH_3)_2$), 128.6 ($C-Ar$), 129.0 (2 $C-Ar$), 129.9 (2 $C-Ar$), 133.0 ($C-Ar$), 175.8 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 360.1069$ (calculated for $C_{16}H_{19}NO_7Na$: 360.1054). IR (NaCl) $\nu = 2985, 1709, 1555$ cm^{-1}

(2S) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-2-phenyl-3-nitromethyl- β -D-erythro-hexanoic acid 88

Prepared using general procedure H starting from 22.



Yield 89% as a colorless gum

 $C_{16}H_{19}NO_7$

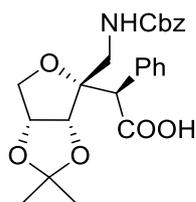
M.W.: 337.12 g/mol

 $R_f = 0.10$ (cH/EA: 7/3) $[\alpha]_D = -72.6^\circ$ (c = 1, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.39$ (s, 3H, CH_3), 1.59 (s, 3H, CH_3), 4.00 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0$, $J_{5,6} = 5.0$ Hz, $H-6$), 4.13 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 1.5$ Hz, $H-6'$), 4.28 (d, 1H, $J_{gem} = 12.5$ Hz, $H-2'$), 4.56 (s, 1H, $H-2$), 4.92-4.99 (m, 2H, $H-2'$, $H-5$), 5.02 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 7.32-7.36 (m, 3H, 3 $H-Ar$), 7.50-7.55 (m, 2H, 2 $H-Ar$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 24.8$ (CH_3), 25.7 (CH_3), 53.4 ($C-2$), 74.4 ($C-6$), 78.1 ($C-2'$), 81.4 ($C-5$), 84.1 ($C-4$), 87.6 ($C-3$), 114.0 ($C(CH_3)_2$), 128.7 ($C-Ar$), 129.1 (2 $C-Ar$), 129.9 (2 $C-Ar$), 132.7 ($C-Ar$), 175.0 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 360.1069$ (calculated for $C_{16}H_{19}NO_7Na$: 360.1054). IR (NaCl) $\nu = 3184, 2987, 2934, 1737, 1711, 1555$ cm^{-1}

(2R) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-2-phenyl-3-[(N-benzyloxycarbonyl)aminomethyl]- β -D-erythro-hexanoic acid 89

Prepared using general procedure I starting from 87.



Yield 63% as a colorless gum

 $C_{24}H_{27}NO_7$

M.W.: 441.18 g/mol

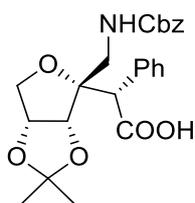
 $R_f = 0.44$ (cH/EA: 1/2) $[\alpha]_D = -6.0^\circ$ (c = 1, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.36$ (s, 3H, CH_3), 1.62 (s, 3H, CH_3), 3.22 (dd, 1H, $J = 15.0$, $J_{NH,2'} = 4.5$ Hz, $H-2'$), 3.38 (dd, 1H, $H-2'$), 3.90 (m, 1H, $H-6$), 4.08-4.18 (m, 2 H, $H-6'$, $H-2$), 4.63 (d, 1H, $J_{4,5} =$

6.0, *H*-4), 4.79 (m, 1H, *H*-5), 4.89 (m, 1H, *N*-*H*), 5.03 (s, 2H, CH_2 -Ph), 7.31-7.41 (m, 10H, 10 *H*-Ar). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 62.9 MHz): δ = 24.7 (CH_3), 25.6 (CH_3), 41.0 (*C*-2'), 55.0 (*C*-2), 66.9 (CH_2 -Ph), 71.5 (*C*-6), 81.4, 83.7 (*C*-5, *C*-4), 87.6 (*C*-3), 113.2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 128.1 (3 *C*-Ar), 128.3 (*C*-Ar), 128.6 (2 *C*-Ar), 128.9 (2 *C*-Ar), 129.6 (2 *C*-Ar), 134.4 (*C*-Ar), 136.5 (*C*-Ar), 156.5 ($\text{C}=\text{O}$), 174.8 ($\text{C}=\text{O}$). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z = 464.1678 (calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{NO}_7\text{Na}$: 464.1680). **IR** (NaCl) ν = 3323, 2985, 2933, 1725, 1718, 1518 cm^{-1}

(2S) 3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-2-phenyl-3-[(*N*-benzyloxycarbonyl)aminomethyl]- β -D-erythro-hexanoic acid 90

Prepared using general procedure **I** starting from **88**.



Yield 55% as a colorless gum

$\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{NO}_7$

M.W.: 441.18 g/mol

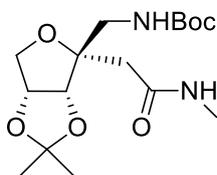
R_f = 0.40 (cH/EA: 1/2)

$[\alpha]_D = -63.2^\circ$ (c = 1, CHCl_3)

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz): δ = 1.37 (s, 3H, CH_3), 1.63 (s, 3H, CH_3), 3.01 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 14.0$, $J_{2',\text{NH}} = 6.0$ Hz, *H*-2'), 3.24 (dd, 1H, *H*-2'), 4.03 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 11.0$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, *H*-6), 4.21-4.27 (m, 2H, *H*-2, *H*-6'), 4.60 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, *H*-4), 4.93-5.14 (m, 4H, *H*-5, CH_2 -Ph, *NH*), 7.32-7.41 (m, 8H, 8 *H*-Ar), 7.49-7.53 (m, 2H, 2 *H*-Ar). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 62.9 MHz): δ = 24.7 (CH_3), 25.4 (CH_3), 40.9 (*C*-2'), 53.6 (*C*-2), 67.1 (CH_2 -Ph), 72.6 (*C*-6), 81.0 (*C*-5), 83.7 (*C*-4), 87.3 (*C*-3), 113.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 128.1 (2 *C*-Ar), 128.2 (*C*-Ar), 128.3 (*C*-Ar), 128.6 (2 *C*-Ar), 129.2 (*C*-Ar), 129.4 (2 *C*-Ar), 134.1 (2 *C*-Ar), 136.4 (*C*-Ar), 157.0 ($\text{C}=\text{O}$), 174.3 ($\text{C}=\text{O}$). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z = 464.1683 (calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{NO}_7\text{Na}$: 464.1680). **IR** (NaCl) ν = 3317, 2981, 2942, 1714, 1676, 1529 cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-[aminomethyl(*N*-*tert*-butoxycarbonyl)]- β -D-erythro-hexano-*N*-(methyl)-amide 91

Prepared using general procedure **J** starting from **81**.



Yield 70 % as a colorless gum

$\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6$

M.W.: 344.19 g/mol

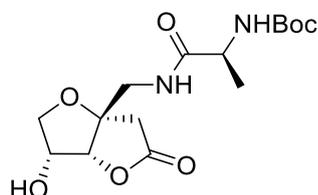
R_f = 0.58 (EA)

$[\alpha]_D = -30.0^\circ$ (c = 0.5, CHCl_3)

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz): δ = 1.36 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.46 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.53 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.56 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 14.0$ Hz, *H*-2), 2.65 (d, 1H, *H*-2), 2.83 (d, 3H, $J = 5.0$ Hz, $\text{NH}-\text{CH}_3$), 3.04 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 14.0$, $J_{2',\text{NH}} = 6.0$ Hz, *H*-2'), 3.31 (dd, 1H, $J_{2',\text{NH}} = 8.0$ Hz, *H*-2'), 3.92 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, *H*-6), 4.00 (d, 1H, *H*-6), 4.52 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-4), 4.93 (dd, 1H, *H*-5), 5.43 (br s, 1H, *NH*), 6.18 (br s, 1H, *NH*). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 62.9 MHz): δ = 24.7, 26.1, 26.3 (CH_3), 28.4 (CH_3 Boc), 40.2 (*C*-2), 41.7 (*C*-2'), 71.3 (*C*-6), 79.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 81.5, 83.0 (*C*-4, *C*-5), 85.8 (*C*-3), 112.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 156.3 ($\text{C}=\text{O}$ Boc), 171.3 ($\text{C}=\text{O}$). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z = 367.1845 (calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$: 367.1840). **IR** (NaCl) ν = 3341, 1716, 1657 cm^{-1}

Compound 92

To a stirred solution of **91** (138 mg, 0.4 mmol) in CH₂Cl₂ (4 ml) was added trifluoroacetic acid (1 ml) at 0°C under argon atmosphere. After stirring at room temperature until completion of the reaction, the solvent was removed under reduced pressure and co-evaporated with Et₂O (3x5 mL). The deprotected compound was then coupled with Boc-L-ala-OH via general procedure **J**.



Yield 70% as a colorless gum

C₁₅H₂₄N₂O₇

M.W.: 344.16 g/mol

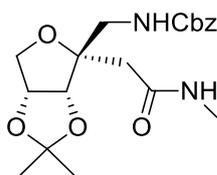
R_f = 0.31 (EA)

[α]_D = -4.4° (c = 0.5, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.36 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz, CH₃ alanine), 1.46 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.55 (s, 1H, OH), 2.74 (d, 1H, *J*_{gem} = 18.5 Hz, *H*-2), 2.81 (d, 1H, *H*-2), 3.43 (dd, 1H, *J*_{gem} = 14.0, *J*_{2',NH} = 5.5 Hz, *H*-2'), 3.68 (dd, 1H, *J*_{gem} = 9.0, *J*_{5,6} = 7.5 Hz, *H*-6), 3.72 (dd, 1H, *J*_{2',NH} = 7.5 Hz, *H*-2'), 4.11-4.16 (m, 2H, *H*-α, *H*-6), 4.39 (m, 1H, *H*-5), 4.80 (d, 1H, *J*_{4,5} = 5.0 Hz, *H*-4), 5.17 (br s, 1H, NH), 6.85 (t, 1H, *J* = 6.5 Hz, NH). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** δ = 17.8 (CH₃ alanine), 28.3 (CH₃ Boc), 39.3 (C-2), 43.7 (C-2'), 50.3 (C-α), 71.1 (C-6), 71.5 (C-5), 80.6 (C(CH₃)₃), 83.7 (C-4), 87.2 (C-3), 155.8 (C=O Boc), 173.9, 174.6 (2 C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 367.1445 (calculated for C₁₅H₂₄N₂O₇Na: 367.1476). **IR (NaCl)** ν = 3331, 1787, 1669 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-3-*C*-[aminomethyl(*N*-benzyloxycarbonyl)]-β-*D*-erythrono-hexano-*N*-(methyl)-amide **93**

Prepared using general procedure **J** starting from **82**.



Yield 80 % as a colorless gum

C₁₉H₂₆N₂O₆

M.W.: 378.42 g/mol

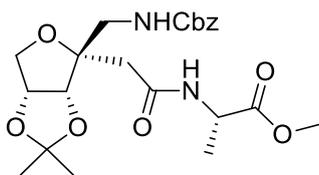
R_f = 0.36 (EA)

[α]_D = -27.3° (c = 0.4, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.33 (s, 3H, CH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 2.53 (d, 1H, *J*_{gem} = 14.5, *H*-2), 2.63 (d, 1H, *H*-2), 2.78 (d, 3H, *J*_{Me,NH} = 5.0 Hz, CH₃), 3.13 (dd, 1H, *J*_{gem} = 14.5, *J*_{2',NH} = 6.0 Hz, *H*-2'), 3.31 (dd, 1H, *J*_{2',NH} = 7.5 Hz, *H*-2'), 3.90 (dd, 1H, *J*_{gem} = 11.0, *J*_{5,6} = 3.5 Hz, *H*-6), 3.98 (d, 1H, *H*-6'), 4.47 (d, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-4), 4.89 (dd, 1H, *H*-5), 5.09 (s, 2H, CH₂-Ph), 5.78 (t, 1H, *N*-H), 6.14 (br s, 1H, *N*-H), 7.29-7.37 (m, 5H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.6, 26.1, 26.3 (CH₃), 40.2 (C-2), 42.2 (C-2'), 68.8 (CH₂-Ph), 71.1 (C-6), 81.5, 83.0 (C-4, C-5), 85.7 (C-3), 112.5 (C(CH₃)), 127.9 (2 C-Ar), 128.0 (C-Ar), 128.5 (2 C-Ar), 136.5 (C-Ar), 156.8 (C=O Cbz), 171.3 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 401.1791 (calculated for C₁₉H₂₆N₂O₆Na: 401.1683). **IR (NaCl)** ν = 3341, 1718, 1652 cm⁻¹

Dipeptide 94

Prepared using general procedure **J** starting from **82**.



Yield 60 % as a colorless gum

 $C_{22}H_{30}N_2O_8$

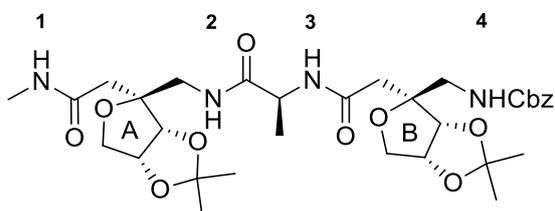
M.W.: 450.48 g/mol

 $R_f = 0.58$ (EA) $[\alpha]_D = -30.9^\circ$ ($c = 0.5$, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.33$ (s, 3H, CH_3), 1.38 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3 alanine), 1.52 (s, 3H, CH_3), 2.61 (d, 1H, $J_{gem} = 14.0$ Hz, $H-2$), 2.67 (d, 1H, $H-2$), 3.20 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5$, $J_{2',NH} = 5.5$ Hz, $H-2'$), 3.37 (dd, 1H, $J_{2',NH} = 7.5$ Hz, $H-2'$), 3.72 (s, 3H, OMe), 3.92 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-6$), 4.01 (d, 1H, $H-6$), 4.46-4.57 (m, 2H, $H-\alpha$, $H-4$), 4.90 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-5$), 5.06 (d, 1H, $J_{gem} = 12.0$ Hz, CH_2 -Ph), 5.12 (d, 1H, CH_2 -Ph), 5.66 (t, 1H, $N-H$), 6.80 (d, 1H, $J_{\alpha,NH} = 6.5$ Hz, $N-H$), 7.29-7.40 (m, 5H, H -Ar). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 17.9$ (CH_3 alanine), 24.6, 26.1 (2 $C(CH_3)_2$), 40.3 ($C-2$), 42.1 ($C-2'$), 48.1 ($C-\alpha$), 52.4 (OMe), 66.8 (CH_2 -Ph), 71.4 ($C-6$), 81.4, 83.0 ($C-4$, $C-5$), 85.6 ($C-3$), 112.6 ($C(CH_3)_2$), 128.0 (2 C -Ar), 128.5 (3 C -Ar), 136.4 (C -Ar), 156.8 ($C=O$ Cbz), 170.4 ($C=O$), 173.2 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 473.1902$ (calculated for $C_{22}H_{30}N_2O_8Na$: 473.1894). **IR** (NaCl) $\nu = 3341, 1725, 1662$ cm^{-1}

Tripeptide 97

93 and **94** were deprotected using general procedures **K** and **H** respectively and the deprotected compounds were coupled via general procedure **J**.



Yield 85 % as a colorless gum

 $C_{24}H_{38}N_4O_{11}$

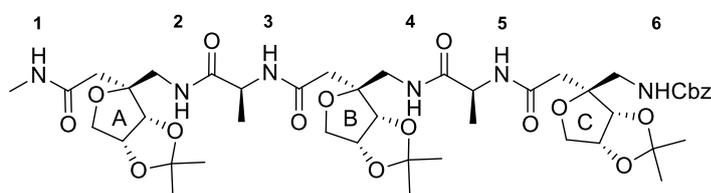
M.W.: 662.73 g/mol

 $R_f = 0.35$ (EA/MeOH: 9/1) $[\alpha]_D = -33.9^\circ$ ($c = 0.2$, $CHCl_3$)

1H (C_6D_6 , 400 MHz): 1.12 (s, 6H, $C(CH_3)_2$), 1.16 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3 alanine), 1.40, 1.43 (2s, 6H, $C(CH_3)_2$), 2.38 (d, 3H, $J = 5.0$ Hz, CH_3 methylamide), 2.59 (d, 1H, $J_{gem} = 14.0$ Hz, H_A-2), 2.75 (d, 1H, H_A-2), 2.83 (d, 1H, $J_{gem} = 15.5$ Hz, H_B-2), 2.94 (d, 1H, H_B-2), 3.08 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.0$, $J = 5.0$ Hz, H_A-2'), 3.40 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.0$, $J = 7.0$ Hz, H_B-2'), 3.57-3.66 (m, 3H, H_A-2' , H_B-2' , $H-6$), 3.83 (d, 1H, $J_{gem} = 11.0$ Hz, $H-6$), 3.89 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-6$), 3.94 (d, 1H, $J_{gem} = 11.0$ Hz, $H-6$), 4.42 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-5$), 4.46 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-5$), 4.52-4.56 (m, 3H, $H-\alpha$, $2H-4$), 5.09 (d, 1H, $J = 12.5$ Hz, CH_2 -Ph), 5.14 (d, 1H, CH_2 -Ph), 5.55 (q, 1H, N_1H), 6.35 (d, 1H, N_3H), 6.61 (t, 1H, $J = 6.5$ Hz, $NHCbz$), 7.02-7.12 (m, 3H, H -Ar), 7.23-7.25 (m, 2H, H -Ar), 7.60 (dd, 1H, $J = 7.0$, $J = 5.0$ Hz, N_2H). **^{13}C (C_6D_6 , 100 MHz):** 17.2 (CH_3 alanine), 24.2, 25.8, 25.9, 26.0 (4 CH_3 , CH_3 méthylamide), 38.8 (C_B-2), 40.0 (C_A-2), 40.5 (C_A-2'), 41.9 (C_B-2'), 49.4 ($C-\alpha$), 66.4 (CH_2 -Ph), 71.1 (C_A-6 , C_B-6), 81.3, 81.4 (C_B-5 , C_A-5), 83.3, 83.4 (C_B-4 , C_A-4), 85.8, 85.9 (C_B-3 , C_A-3), 111.8, 111.9 (2 $C(CH_3)_2$), 127.6 (C -Ar), 127.8 (C -Ar), 128.0 (C -Ar), 128.1 (C -Ar), 128.2 (C -Ar), 137.2 (C -Ar), 157.1 ($C=O$ Cbz), 170.4 ($C_3=O$), 171.5 ($C_1=O$), 172.3 ($C_2=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 685.3044$ (calculated for $C_{24}H_{38}N_4O_{11}Na$: 685.3055). **IR** (NaCl) $\nu = 3331, 1718, 1652$ cm^{-1}

Pentapeptide 98

97 and **94** were deprotected using general procedures **K** and **H** respectively and the deprotected compounds were coupled via general procedure **J**.



65 % as a colorless gum

$C_{45}H_{66}N_6O_{16}$

M.W.: 947.04 g/mol

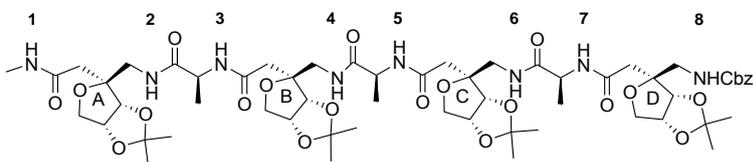
$R_f = 0.14$ (EA/MeOH: 9/1)

$[\alpha]_D = -35.8^\circ$ ($c = 0.2$, $CHCl_3$)

1H (C_6D_6 , 400 MHz): 1.11 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3 alanine), 1.12, 1.14, 1.16 (3 s, 9H, 3 CH_3), 1.32 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3 alanine), 1.40, 1.42, 1.44 (3s, 9H, 3 CH_3), 2.43 (d, 3H, $J = 5.0$ Hz, CH_3 methylamide), 2.71 (d, 1H, $J_{gem} = 15.0$ Hz, H_A-2), 2.75 (d, 1H, H_A-2), 2.84-2.88 (m, 2H, 2 H_B-2), 2.90 (d, 1H, $J_{gem} = 15.5$ Hz, H_C-2), 3.04 (d, 1H, H_C-2), 3.17 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.0$, $J_{NH,2'} = 5.5$ Hz, H_A-2'), 3.31 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.0$, $J = 5.5$ Hz, H_B-2'), 3.44 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5$, $J_{NH,2'} = 7.0$ Hz, H_C-2'), 3.62 (dd, 1H, $J_{NH,2'} = 7.0$ Hz, H_A-2'), 3.65 (dd, 1H, $J_{NH,2'} = 4.5$ Hz, H_C-2'), 3.68-3 (m, 2H, H_B-2' , 2 $H-6$), 3.86 (d, 2H, $J_{gem} = 11.0$ Hz, 2 $H-6$), 3.90-3.94 (m, 2H, 2 $H-6$), 4.40-4.43 (m, 2H, 2 $H-5$), 4.48-4.58 (m, 5H, $H_A-\alpha$, 3 $H-4$, $H-5$), 4.79 (m, 1H, $H_B-\alpha$), 5.12 (d, 1H, $J = 12.5$ Hz, CH_2 -Ph), 5.16 (d, 1H, CH_2 -Ph), 5.86 (q, 1H, N_1H), 6.62-6.68 (m, 2H, N_6H , N_3H), 7.05 (m, 1H, $H-Ar$), 7.11-7.14 (m, 3H, 2 $H-Ar$, N_3H), 7.20-7.30 (m, 2H, 2 $H-Ar$), 7.54 (t, 1H, N_2H), 7.85 (t, 1H, N_4H). **^{13}C (C_6D_6 , 100 MHz):** 17.1, 17.9 (2 CH_3 alanine), 24.1, 24.2, 24.3 (3 CH_3), 25.8, 25.9, 26.0 (3 CH_3 , CH_3 methylamide), 39.0 (C_C-2), 39.8 (C_A-2), 40.1 (C_B-2), 40.3 (C_A-2'), 40.7 (C_B-2'), 41.8 (C_C-2'), 49.2 ($C_B-\alpha$), 49.4 ($C_A-\alpha$), 66.5 (CH_2 -Ph), 71.0, 71.1, 71.3 (3 $C-6$), 81.2, 81.4 (3 $C-5$), 83.4, 83.5 (3 $C-4$), 85.8, 85.9 (3 $C-3$), 111.8, 111.9 (3 $C(CH_3)_2$), 127.6, 127.8, 128.0, 128.1, 128.3, 137.3 (6 $C-Ar$), 157.0 ($C_6=O$), 170.2 ($C_5=O$), 171.1 ($C_1=O$), 171.3 ($C_3=O$), 172.5 ($C_2=O$), 172.8 ($C_4=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 969.4428$ (calculated for $C_{45}H_{66}N_6O_{16}Na$: 969.4428). **IR** (NaCl) $\nu = 3322, 2981, 2933, 1714, 1660, 1650, 1546, 1538, 1532$ cm^{-1}

Heptapeptide 99

98 and **94** were deprotected using general procedures **K** and **H** respectively and the deprotected compounds were coupled via general procedure **J**.



Yield 55 % as a white solid

$C_{58}H_{86}N_8O_{21}$

M.W.: 1230.59 g/mol

$R_f = 0.24$ (EA/MeOH: 8/2)

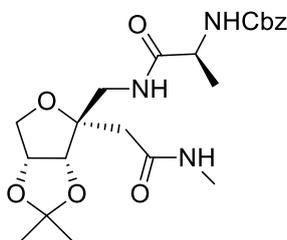
$[\alpha]_D = -36.1^\circ$ ($c = 0.2$, $CHCl_3$)

1H NMR (C_6D_6 , 400 MHz): $\delta = 1.10, 1.12, 1.13, 1.18$ (4 s, 12H, 4 $C(CH_3)_2$), 1.28 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3 alanine), 1.29 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3 alanine), 1.38 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3 alanine), 1.41, 1.42, 1.47 (3s, 12H, 4 $C(CH_3)_2$), 2.44 (d, 3H, $J = 4.5$ Hz, CH_3 methylamide), 2.79-2.98 (m, 6H, 6 $H-2$), 2.98 (d, 1H, $J_{gem} = 16.0$ Hz, $H-2$), 3.15 (d, 1H, $H-2$), 3.36-3.51 (m, 4H, 4 $H-2'$), 3.56-3.66 (m, 3H, 2 $H-2'$, $H-6$), 3.71 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.0$, $J_{NH,2'} = 5.0$ Hz, $H-2'$), 4.77-3.93 (m, 7H, 6 $H-6$, $H-2'$), 4.07 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0$, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-6$), 4.37-4.53 (m, 6H, 4 $H-5$, 2 $H-4$), 4.56 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $H-4$), 4.72-4.78 (m, 2H, 2 $H-\alpha$), 4.82 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $H-4$), 4.99 (m, 1H, $H-\alpha$), 5.09 (d, 1H, $J = 13.0$ Hz, CH_2 -Ph), 5.13 (d,

^1H , $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 6.20 (q, 1H, $J = 4.5$ Hz, N_1H), 6.58 (t, 1H, $J = 6.5$ Hz, N_8H), 6.95-7.14 (m, 5H, 3 H-Ar , 2 NH), 7.23-7.33 (m, 4H, 2 H-Ar , 2 NH), 8.02 (t, 1H, $J = 6.0$ Hz, NH), 8.12 (t, 1H, $J = 6.0$ Hz, NH). ^{13}C **NMR** (C_6D_6 , 100 MHz): $\delta = 17.3$, 17.7, 19.0 (3 CH_3 alanine), 23.9, 24.1, 24.2, 24.3 (4 CH_3), 25.7, 25.9, 26.0 (4 CH_3 , CH_3 méthylamide), 38.4 (C-2), 39.3 (C-2), 39.5 (C-2 , $\text{C-2}'$), 39.9 (C-2 , $\text{C-2}'$), 40.4 ($\text{C-2}'$), 42.2 ($\text{C-2}'$), 49.1 (2 $\text{C-}\alpha$), 49.8 ($\text{C-}\alpha$), 66.4 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 70.8, 71.0, 71.6 (4 C-6), 81.2, 81.3, 81.4 (4 C-5), 83.1, 83.2, 83.4, 83.6 (4 C-4), 85.8, 86.3, 86.4, 86.5 (4 C-3), 111.6, 111.8, 111.9, 112.1 (4 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 127.6, 127.8, 128.1, 128.3 (5 C-Ar), 137.2 (C-Ar), 157.0 (C=O Cbz), 170.3, 170.6, 170.8, 171.8, 172.6, 172.8, 173.1 (7 C=O). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 1253.5816$ (calculated for $\text{C}_{58}\text{H}_{86}\text{N}_8\text{O}_{21}\text{Na}$: 1253.5800). **IR** (NaCl) $\nu = 3483$, 3317, 2981, 2938, 1653, 1649, 1543, 1537 cm^{-1}

Dipeptide 100

93 was deprotected via general procedure **K** and the amine was coupled with Cbz-L-ala-H using general procedure **J**.



Yield 65 % as a colorless gum

$\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_7$

M.W.: 449.50 g/mol

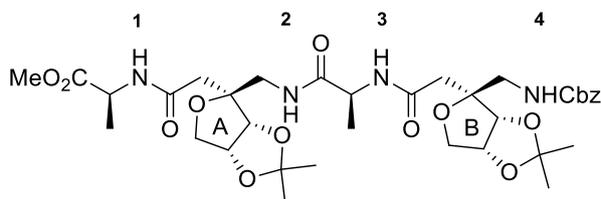
R_f : 0.21 (EA)

$[\alpha]_D = -30.4^\circ$ ($c = 0.25$, CHCl_3)

^1H **NMR** (CDCl_3 , 250 MHz): $\delta = 1.30$ (s, 3H, CH_3), 1.38 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3 alanine), 1.47 (s, 3H, CH_3), 2.48-2.62 (m, 2H, H-2), 2.78 (s, 3H, $J_{\text{Me,NH}} = 5.0$ Hz, CH_3), 3.10 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 14.0$, $J_{2',\text{NH}} = 6.0$ Hz, $\text{H-2}'$), 3.46 (dd, 1H, $J_{2',\text{NH}} = 6.0$ Hz, $\text{H-2}'$), 3.83-3.95 (m, 2H, H-6), 4.24 (m, 1H, $\text{H-}\alpha$), 4.42 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-4), 4.87 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-5), 5.10 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 5.53 (d, 1H, $\text{N}_3\text{-H}$), 6.20 (br s, 1H, $\text{N}_1\text{-H}$), 7.28-7.36 (m, 6H, 5 H-Ar , $\text{N}_2\text{-H}$). ^{13}C **NMR** (CDCl_3 , 62.9 MHz): $\delta = 18.8$ (CH_3 alanine), 24.6, 26.1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 26.4 (CH_3 méthylamine), 40.1 (C-2), 40.4 ($\text{C-2}'$), 50.9 ($\text{C-}\alpha$), 66.9 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 71.2 (C-6), 81.4, 83.2 (C-4 , C-5), 85.6 (C-3), 112.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 128.1 (2 C-Ar), 128.5 (3 C-Ar), 136.3 (C-Ar), 155.8 (C=O Cbz), 171.4 (C=O), 172.7 (C=O). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 472.2050$ (calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_7\text{Na}$: 472.2054). **IR** (NaCl) $\nu = 3317$, 2981, 2928, 1714, 1655, 1529 cm^{-1}

Tetrapeptide 102

94 was deprotected using general procedures **K** and **H** and the deprotected compounds were coupled via general procedure **J**.



Yield 78 % as a colorless gum

$\text{C}_{35}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{13}$

M.W.: 734.34 g/mol

$R_f = 0.29$ (EA)

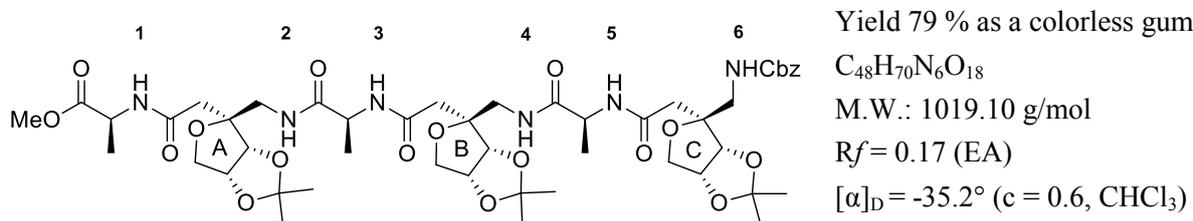
$[\alpha]_D = -33.3^\circ$ ($c = 1$, CHCl_3)

^1H **NMR** (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.32$, 1.34 (s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.37 (d, 6H, $J = 7.0$ Hz, CH_3 alanine), 1.49, 1.52 (s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.64 (s, 2H, $\text{H}_A\text{-2}$), 2.65 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 14.5$ Hz, $\text{H}_B\text{-2}$), 2.70 (d, 1H, $\text{H}_B\text{-2}$), 3.19 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 14.5$, $J = 6.0$ Hz, $\text{H}_B\text{-2}'$), 3.26 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 14.5$, $J = 6.0$ Hz, $\text{H}_A\text{-2}'$), 3.38 (dd, 1H, $J = 7.0$ Hz, $\text{H}_B\text{-2}'$), 3.42 (dd, 1H, $J = 7.0$ Hz, $\text{H}_A\text{-2}'$), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.90-4.01 (m, 4H, H-6),

4.41-4.54 (m, 3H, 2 $H-\alpha$, $H-4$), 4.57 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.88-4.91 (m, 2H, $H-5$), 5.10 (s, 2H, CH_2 -Ph), 6.03 (t, 1H, $J = 6.5$ Hz, $NHCbz$), 6.71 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, N_3H), 6.86 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, N_1H), 7.19 (t, 1H, N_2H), 7.27-7.37 (m, 5H, H -Ar). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): $\delta = 17.6, 17.7$ (2 CH_3 alanine), 24.6, 26.1 (4 CH_3), 39.5 (C_B-2), 39.9 (C_A-2), 40.2 (C_A-2'), 42.2 (C_B-2'), 48.2 ($C-\alpha$), 49.2 ($C-\alpha$), 52.5 (OCH_3), 66.8 (CH_2 -Ph), 71.4, 71.5 (C_A-6 , C_B-6), 81.3, 81.4 (C_B-5 , C_A-5), 83.1, 83.4 (C_B-4 , C_A-4), 85.5, 85.8 (C_B-3 , C_A-3), 112.5 (2 $C(CH_3)_2$), 128.0 (3 C -Ar), 128.5 (2 C -Ar), 136.5 (C -Ar), 157.1 ($C=O$ Cbz), 170.6 ($C_4=O$), 170.8 ($C_2=O$), 172.6 ($C_3=O$), 173.5 ($C_1=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 757.3257$ (calculated for $C_{35}H_{50}N_4O_{13}Na$: 757.3267). **IR** (NaCl) $\nu = 3322, 2985, 2938, 1721, 1659, 1532$ cm^{-1}

Hexapeptide 103

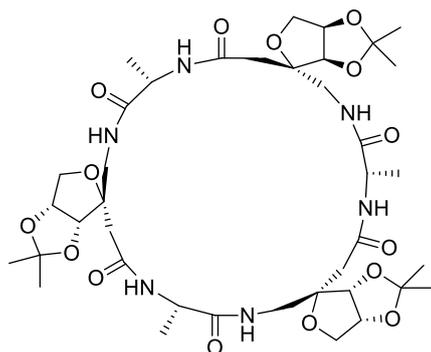
102 and **94** were deprotected using general procedures **K** and **H** respectively and the deprotected compounds were coupled via general procedure **J**.



1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.30$ -1.35 (m, 12H, 4 CH_3), 1.37 (d, 3H, $J = 7.5$ Hz, CH_3 alanine), 1.42 (d, 3H, $J = 7.5$ Hz, CH_3 alanine), 1.48 (s, 3H, CH_3), 1.51 (s, 6H, 2 CH_3), 2.59-2.75 (m, 6H, 6 $H-2$), 3.12 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5, J = 5.0$ Hz, $H-2'$), 3.23 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5, J = 6.0$ Hz, $H-2'$), 3.30 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5, J = 5.5$ Hz, $H-2'$), 3.39 (dd, 1H, $J = 6.5$ Hz, $H-2'$), 3.43 (dd, 1H, $J = 6.5$ Hz, $H-2'$), 3.51 (dd, 1H, $J = 7.0$ Hz, $H-2'$), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.90 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0, J = 4.0$ Hz, $H-6$), 3.93-3.99 (m, 5H, 5 $H-6$), 4.39 (m, 1H, $H-\alpha$), 4.44-4.55 (m, 4H, 2 $H-\alpha$, 2 $H-4$), 4.57 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.87-4.92 (m, 3H, 3 $H-5$), 5.08 (d, 1H, $J_{gem} = 12.5$ Hz, CH_2 -Ph), 5.12 (d, 1H, CH_2 -Ph), 6.06 (t, 1H, $J = 6.0$ Hz, $NHCbz$), 6.74 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, NH), 6.88 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, NH), 7.07 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, NH), 7.25 (m, 1H, NH), 7.30-7.39 (m, 5H, 5 H -Ar), 7.46 (t, 1H, $J = 6.0$ Hz, NH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): $\delta = 17.5, 17.7, 18.0$ (3 CH_3 alanine), 24.6 (3 CH_3), 26.1 (3 CH_3), 39.2, 39.7, 39.8, 40.1, 40.7, 41.9 (3 $C-2$, 3 $C-2'$), 48.2, 49.2, 49.4 (3 $C-\alpha$), 52.5 (OCH_3), 66.8 (CH_2 -Ph), 71.2, 71.4, 71.6 (3 $C-6$), 81.2, 81.3, 81.4 (3 $C-5$), 83.1, 83.3, 83.4 (3 $C-4$), 85.5, 85.7, 85.8 (3 $C-3$), 112.4, 112.5 (3 $C(CH_3)_2$), 128.0 (3 C -Ar), 128.5 (2 C -Ar), 136.6 (C -Ar), 157.1 ($C=O$ Cbz), 170.5, 170.7, 171.2, 172.9, 173.5 (6 $C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 1041.4649$ (calculated for $C_{48}H_{70}N_6O_{18}Na$: 1041.4639). **IR** (NaCl) $\nu = 3327, 2985, 2938, 1718, 1657, 1529$ cm^{-1}

Cyclopeptide 104

103 was deprotected using general procedures **H** and **K** and the deprotected compound was cyclized via general procedure **M**.



Yield 42 % as a white solid

C₃₉H₆₀N₆O₁₅

M.W.: 852.92 g/mol

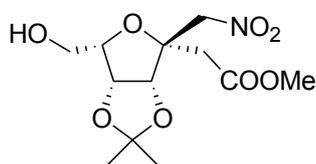
R_f = 0.33 (CH₂Cl₂/MeOH: 9/1)[α]_D = -50.5° (c = 0.5, CHCl₃)

Mp = 180 °C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.42 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz, CH₃ alanine), 1.53 (s, 3H, CH₃), 2.64 (d, 1H, *J*_{gem} = 14.5 Hz, *H*-2), 2.79 (d, 1H, *H*-2), 3.32 (dd, 1H, *J*_{gem} = 14.5, *J*_{2',NH} = 6.0 Hz, *H*-2'), 3.47 (dd, 1H, *J*_{2',NH} = 6.0 Hz, *H*-2'), 3.98 (d, 1H, *J*_{gem} = 11.5 Hz, *H*-6), 4.05 (dd, 1H, *J*_{5,6} = 3.5 Hz, *H*-6'), 4.48 (m, 1H, *H*-α), 4.51 (d, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-4), 4.94 (dd, 1H, *H*-5), 6.72 (d, 1H, *J* = 6.0 Hz, NH ala), 7.40 (t, 1H, NH erythro). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 17.8 (CH₃ alanine), 24.8 (CH₃), 26.3 (CH₃), 40.7, 41.0 (*C*-2, *C*-2'), 49.6 (*C*-α), 71.7 (*C*-6), 81.6 (*C*-5), 83.4 (*C*-4), 85.9 (*C*-3), 112.8 (C(CH₃)₂), 171.5, 173.2 (2 C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 875.4012 (calculated for C₃₉H₆₀N₆O₁₅Na: 875.4009). **IR** (NaCl) ν = 3312, 3056, 2981, 2933, 2857, 1737, 1657, 1529 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-3-nitromethyl-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-β-L-galacto-heptanoic acid methyl ester 105

To a stirred solution of **3β** (505 mg, 1.51 mmol) in methanol (32 mL) was added NaIO₄ (646 mg, 3.02 mmol, 2 eq.) under argon. After stirring at room temperature until completion of the reaction, the solvent was removed by half *in vacuo*. The mixture was diluted with CH₂Cl₂ (80 mL). The organic layer was washed with water (3 x 10 mL), dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was solubilized in MeOH (35 mL) and NaBH₄ (58 mg, 1.51 mmol, 1 eq.) was added at 0°C. After 1 h at room temperature, the solvent was removed under reduced pressure. The residue was diluted in CH₂Cl₂ (50 mL) and the organic layer was washed with a solution of 1N HCl (10 mL) and with water until pH = 7. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The crude product was used without further purification.



Yield 98% as a colorless oil

C₁₂H₁₉NO₈

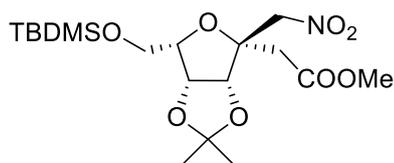
M.W.: 305.11 g/mol

R_f = 0.50 (cH/EA: 1/2)[α]_D = -10.4° (c = 0.4, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.31 (s, 3H, CH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 2.09 (br s, 1H, OH), 2.90 (d, 1H, *J*_{gem} = 18.0 Hz, *H*-2), 3.09 (d, 1H, *H*-2), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.83-3.90 (m, 2H, *H*-7, *H*-7'), 4.11 (m, H, *H*-6), 4.59 (d, 1H, *J*_{gem} = 11.5 Hz, *H*-2'), 4.67 (d, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-4), 4.90 (dd, 1H, *J*_{5,6} = 4.0 Hz, *H*-5), 5.06 (d, 1H, *H*-2'). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.5 (CH₃), 25.8 (CH₃), 36.3 (*C*-2), 52.0 (OCH₃), 61.0 (*C*-7), 76.0 (*C*-2'), 79.7, 81.4, 83.7 (*C*-4, *C*-5, *C*-6), 83.3 (*C*-3), 113.6 (C(CH₃)₂), 171.1 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 328.1014 (calculated for C₁₂H₁₉NO₈Na: 328.1003). **IR** (NaCl) ν = 3507, 2985, 2943, 1735, 1553 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-3-nitromethyl-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-tertbutyldimethylsilyl- β -L-galacto-heptanoic acid methyl ester 106

To a solution of **105** (6.1 mmol, 1 eq.) in DMF (12 ml), *tert*-butyldimethylsilyl chloride (1.1g, 6.71 mmol, 1.1 eq.) and imidazole (1.04 g, 15.25 mmol, 2.5 eq.) were added and the mixture was stirred at room temperature until completion of the reaction. The reaction was quenched by addition of EtOH and the solvent was removed *in vacuo*. The residue was diluted in EtOAc (40 ml) and washed with water (20 ml) and brine (20 ml). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The compound was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA).



Yield 85% as a colorless oil

C₁₈H₃₃NO₈Si

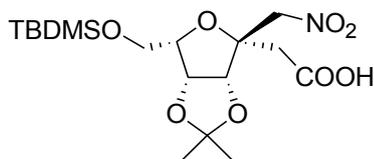
M.W.: 419.20 g/mol

R_f = 0.49 (cH/EA: 7/3)[α]_D = -6.7° (c = 1, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 0.08 (s, 6H, 2 Si-CH₃), 0.91 (s, 9H, Si-C(CH₃)₃), 1.33 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 2.88 (d, 1H, J_{gem} = 18.0 Hz, H-2), 3.13 (d, 1H, H-2), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (dd, 1H, J_{gem} = 10.0, $J_{6,7}$ = 6.0 Hz, H-7), 3.93 (dd, 1H, $J_{6,7}$ = 6.0 Hz, H-7'), 4.08 (m, 1H, H-6), 4.58-4.63 (m, 2H, H-2', H-4), 4.85 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0, $J_{5,6}$ = 4.0 Hz, H-5), 5.09 (d, 1H, J_{gem} = 11.5 Hz, H-2'). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = -5.5 (Si-CH₃), -5.3 (Si-CH₃), 18.9 (Si-C(CH₃)₃), 24.6 (CH₃), 24.7 (CH₃), 25.8 (Si-C(CH₃)₃), 36.1 (C-2), 51.7 (OCH₃), 60.8 (C-7), 75.6 (C-2'), 80.3, 80.6, 83.0, 83.3 (C-3, C-4, C-5, C-6), 112.9 (C(CH₃)₂), 171.0 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 442.1870 (calculated for C₁₈H₃₃NO₈SiNa: 442.1868). **IR** (NaCl) ν = 2952, 2928, 2857, 1737, 1555 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-3-nitromethyl-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-tertbutyldimethylsilyl- β -L-galacto-heptanoic acid 107

Prepared using general procedure **H** starting from **106**.



Yield 64% as a colorless oil

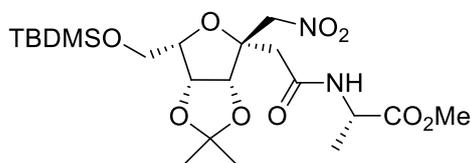
C₁₇H₃₁NO₈Si

M.W.: 405.18 g/mol

R_f = 0.29 (cH/EA: 1/1)[α]_D = -46.6° (c = 1, CHCl₃)

Mp: 152-154°C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 0.07 (s, 6H, 2 Si-CH₃), 0.89 (s, 9H, Si-C(CH₃)₃), 1.32 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 2.92 (d, 1H, J_{gem} = 18.0 Hz, H-2), 3.19 (d, 1H, H-2), 3.78 (dd, 1H, J_{gem} = 10.0, $J_{6,7}$ = 6.0 Hz, H-7), 3.92 (dd, 1H, $J_{6,7}$ = 6.0 Hz, H-7'), 4.08 (td, 1H, $J_{5,6}$ = 4.0 Hz, H-6), 4.55-4.60 (m, 2H, H-2', H-4), 4.84 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0, H-5), 5.04 (d, 1H, J_{gem} = 12.0 Hz, H-2'). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = -5.3 (Si-CH₃), -5.2 (Si-CH₃), 18.5 (Si-C(CH₃)₃), 24.7 (CH₃), 25.8 (CH₃), 26.0 (Si-C(CH₃)₃), 36.4 (C-2), 60.9 (C-7), 75.8 (C-2'), 80.6, 80.8, 82.9, 83.5 (C-3, C-4, C-5, C-6), 113.3 (C(CH₃)₂), 175.6 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 428.1721 (calculated for C₁₈H₃₃NO₈SiNa: 428.1711). **IR** (NaCl) ν = 3146, 2952, 2928, 2853, 1714, 1558 cm⁻¹

Dipeptide 108Prepared using general procedure **J** starting from **107**.

Yield 75% as a white solid

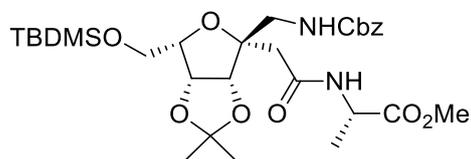
 $C_{21}H_{38}N_2O_9Si$

M.W.: 490.62 g/mol

Rf: 0.15 (cH/Ea: 7/3)

 $[\alpha]_D = -30.4^\circ$ (c = 0.4, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 0.07 (s, 3H, Si- CH_3), 0.08 (s, 3H, Si- CH_3), 0.90 (s, 9H, Si- $C(CH_3)_3$), 1.33 (s, 3H, CH_3), 1.43 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH_3 ala), 1.49 (s, 3H, CH_3), 2.79 (d, 1H, J_{gem} = 15.5 Hz, $H-2$), 3.01 (d, 1H, $H-2$), 3.77 (dd, 1H, J_{gem} = 11.0, $J_{6,7}$ = 6.0 Hz, $H-7$), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (dd, 1H, $J_{6,7}$ = 6.0 Hz, $H-7'$), 4.07 (td, 1H, $J_{5,6}$ = 4.0 Hz, $H-6$), 4.56-4.63 (m, 2H, $H-2'$, $H-\alpha$), 4.67 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, $H-4$), 4.85 (dd, 1H, $H-5$), 5.11 (d, 1H, J_{gem} = 12.0 Hz, $H-2'$), 6.35 (d, 1H, J = 7.5 Hz, NH). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz):** δ = -5.4 (Si- CH_3), -5.3 (Si- CH_3), 18.1 (CH_3 ala, Si- $C(CH_3)_3$), 24.5 (CH_3), 25.8 (CH_3 , Si- $C(CH_3)_3$), 38.3 (C-2), 48.0 (C- α), 52.5 (OCH₃), 61.0 (C-7), 76.2 (C-2'), 80.6 (C-5, C-6), 83.4 (C-3), 83.5 (C-4), 112.8 ($C(CH_3)_2$), 169.1 (C=O), 173.3 (C=O ala). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ m/z = 513.2249 (calculated for $C_{21}H_{38}N_2O_9SiNa$: 513.2239). **IR** (NaCl) ν = 3355, 2985, 2952, 2933, 2862, 1742, 1662, 1553 cm^{-1}

Dipeptide 109Prepared using general procedure **L** starting from **108**.

Yield 20% as a colorless gum

 $C_{29}H_{46}N_2O_9Si$

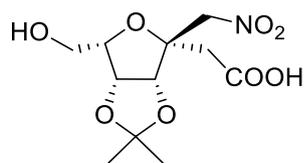
M.W.: 594.67 g/mol

Rf: 0.21 (cH/Ea: 7/3)

 $[\alpha]_D = -2.5^\circ$ (c = 1.0, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): δ = 0.10 (s, 6H, 2 Si- CH_3), 0.93 (s, 9H, Si- $C(CH_3)_3$), 1.35 (s, 3H, CH_3), 1.41 (d, 3H, J = 7.5 Hz, CH_3 ala), 1.53 (s, 3H, CH_3), 2.61 (d, 1H, J_{gem} = 14.0 Hz, $H-2$), 2.69 (d, 1H, $H-2$), 3.26 (dd, 1H, J_{gem} = 14.5, $J_{2',NH}$ = 5.5 Hz, $H-2'$), 3.49 (dd, 1H, $J_{2',NH}$ = 8.5 Hz, $H-2'$), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (m, 1H, $H-7$), 3.94 (dd, 1H, J_{gem} = 10.5, $J_{6,7}$ = 5.5 Hz, $H-7'$), 4.07 (m, 1H, $H-6$), 4.49-4.60 (m, 2H, $H-4$, $H-\alpha$), 4.87 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.5, $J_{5,6}$ = 3.5 Hz, $H-5$), 5.09-5.19 (m, 2H, CH_2 -Ph), 5.68 (dd, 1H, NH-Cbz), 6.86 (d, 1H, J = 7.5 Hz, NH), 7.33-7.41 (m, 5H, 5 H -Ar). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** δ = -5.4 (Si- CH_3), -5.3 (Si- CH_3), 18.0, 18.3 (CH_3 ala, Si- $C(CH_3)_3$), 24.5 (CH_3), 25.9 (CH_3 , Si- $C(CH_3)_3$), 40.6 (C-2), 42.6 (C-2'), 48.1 (C- α), 52.4 (OCH₃), 61.4 (C-7), 66.8 (CH_2 -Ph), 80.2, 81.1 (C-5, C-6), 83.2, 84.7 (C-3, C-4), 112.5 ($C(CH_3)_2$), 128.0 (3 C-Ar), 128.5 (2 C-Ar), 136.5 (C-Ar), 156.8 (C=O Cbz), 170.4 (C=O), 173.2 (C=O ala). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ m/z = 617.2875 (calculated for $C_{29}H_{46}N_2O_9SiNa$: 617.2865). **IR** (NaCl) ν = 3345, 2952, 2924, 2857, 1721, 1666, 1525 cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-3-nitromethyl-4,5-O-(1-methylethylidene)- β -L-galacto-heptanoic acid 110Prepared using general procedure **H** starting from **105**.



Yield 98 % as a colorless gum

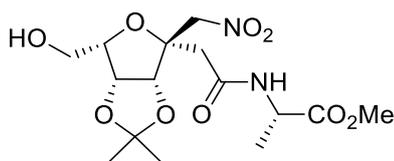
 $C_{11}H_{17}NO_8$

M.W.: 291.25 g/mol

 $R_f = 0.15$ (EA) $[\alpha]_D = -72.2^\circ$ ($c = 0.9$, $CHCl_3$)

1H NMR (acetone d_6 , 250 MHz): $\delta = 1.28$ (s, 3H, CH_3), 1.43 (s, 3H, CH_3), 2.84 (d, 1H, $J_{gem} = 18.0$ Hz, $H-2$), 3.03 (d, 1H, $H-2$), 3.68 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0$, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, $H-7$), 3.82 (dd, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, $H-7'$), 4.16 (td, 1H, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-6$), 4.68 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.86 (d, 1H, $J_{gem} = 12.0$ Hz, $H-2'$), 4.98 (dd, 1H, $H-5$), 5.18 (d, 1H, $H-2'$). **^{13}C NMR (acetone d_6 , 62.9 MHz):** $\delta = 24.7$ (CH_3), 26.0 (CH_3), 36.4 ($C-2$), 60.6 ($C-7$), 76.2 ($C-2'$), 81.1, 81.9, 83.7, 84.3 ($C-3$, $C-4$, $C-5$, $C-6$), 113.1 ($C(CH_3)_2$), 171.9 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 314.0834$ (calculated for $C_{11}H_{17}NO_8Na$: 314.0846). **IR** (NaCl) $\nu = 3450, 2990, 2938, 1721, 1553$ cm^{-1}

Dipeptide 111

Prepared using general procedure **J** starting from **110**.

Yield 81% as a colorless oil

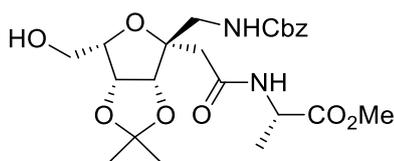
 $C_{15}H_{24}N_2O_9$

M.W.: 376.36 g/mol

 $R_f = 0.42$ (EA) $[\alpha]_D = -80.3^\circ$ ($c = 0.92$, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, CH_3), 1.42 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3 ala), 1.51 (s, 3H, CH_3), 2.34 (dd, 1H, $J_{7,OH} = 7.5$, $J_{7',OH} = 5.5$ Hz, OH), 2.80 (d, 1H, $J_{gem} = 15.5$ Hz, $H-2$), 2.97 (d, 1H, $H-2$), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.81-3.91 (m, 2H, 2 $H-7$), 4.12 (m, 1H, $H-6$), 4.57 (m, 1H, $H-\alpha$), 4.60 (d, 1H, $J_{gem} = 12.0$ Hz, $H-2'$), 4.76 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.91 (dd, 1H, $J_{5,6} = 4.5$ Hz, $H-5$), 5.05 (d, 1H, $H-2'$), 6.42 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, NH). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz):** $\delta = 18.0$ (CH_3 ala), 24.3 (CH_3), 25.7 (CH_3), 38.4 ($C-2$), 48.1 ($C-\alpha$), 52.6 (OCH_3), 61.2 ($C-7$), 76.5 ($C-2'$), 79.8 ($C-6$), 81.4 ($C-5$), 83.5 ($C-3$), 83.8 ($C-4$), 113.3 ($C(CH_3)_2$), 169.0 ($C=O$), 173.4 ($C=O$ ala). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 399.1398$ (calculated for $C_{15}H_{24}N_2O_9Na$: 399.1374). **IR** (NaCl) $\nu = 3497, 3412, 2990, 2947, 1737, 1659, 1553$ cm^{-1}

Dipeptide 113

Prepared using general procedure **L** starting from **111**.

Yield 56% as a white solid

 $C_{23}H_{32}N_2O_9$

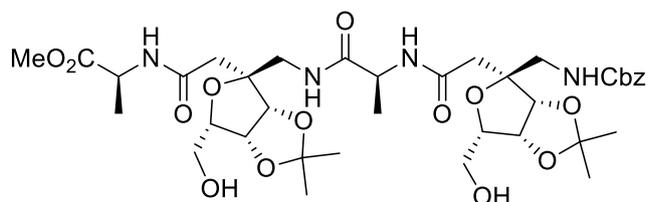
M.W.: 480.51 g/mol

 $R_f = 0.39$ (EA) $[\alpha]_D = -20.4^\circ$ ($c = 1.02$, MeOH)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 250 MHz): δ = 1.35 (s, 3H, CH_3), 1.42 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH_3 ala), 1.54 (s, 3H, CH_3), 2.63 (d, 1H, J_{gem} = 14.5 Hz, H -2), 2.70 (d, 1H, H -2), 2.80 (t, 1H, $J_{7,\text{OH}}$ = 5.5 Hz, OH), 3.22 (dd, 1H, J_{gem} = 14.5, $J_{2',\text{NH}}$ = 5.5 Hz, H -2'), 3.45 (dd, 1H, $J_{2',\text{NH}}$ = 7.5 Hz, H -2'), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.83-3.98 (m, 2H, 2 H -7), 4.15 (m, 1H, H -6), 4.49-4.62 (m, 2H, H -4, H - α), 4.90 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0, $J_{5,6}$ = 4.0 Hz, H -5), 5.08 (d, 1H, J_{gem} = 12.5 Hz, CH_2 -Ph), 5.15 (d, 1H, CH_2 -Ph), 5.79 (dd, 1H, NH -Cbz), 6.95 (d, 1H, J = 7.0 Hz, NH), 7.33-7.43 (m, 5H, 5 H -Ar). **$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 62.9 MHz):** δ = 17.9 (CH_3 ala), 24.3 (CH_3), 25.7 (CH_3), 40.0 (C -2), 42.9 (C -2'), 48.2 (C - α), 52.6 (OCH_3), 61.5 (C -7), 67.0 (CH_2 -Ph), 79.4 (C -6), 81.5 (C -5), 83.7, 85.0 (C -3, C -4), 113.0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 128.0 (2 C -Ar), 128.1 (C -Ar), 128.5 (2 C -Ar), 136.4 (C -Ar), 157.0 ($\text{C}=\text{O}$ Cbz), 170.5 ($\text{C}=\text{O}$), 173.8 ($\text{C}=\text{O}$ ala). **ESI-HRMS** [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ m/z = 503.2010 (calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_9\text{Na}$: 503.2000). **IR** (NaCl) ν = 3341, 2985, 2938, 1718, 1657, 1537 cm^{-1}

Tetrapeptide 115

111 and **113** were deprotected using general procedures **K** and **H** respectively and the deprotected compounds were coupled via general procedure **J**.



Yield 61% as a white foam

$\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_{15}$

M.W.: 794.84 g/mol

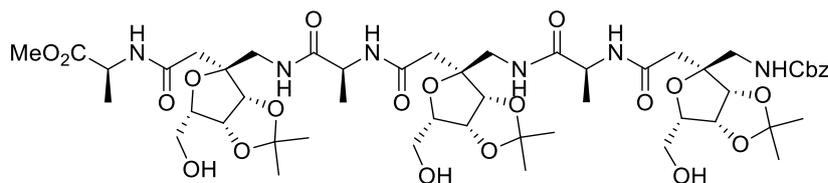
R_f = 0.41 (EA/MeOH: 9/1)

$[\alpha]_D^{25} = +2.7^\circ$ (c = 0.5, CHCl_3)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 250 MHz): δ = 1.32 (s, 6H, 2 CH_3), 1.39 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH_3 ala), 1.44 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH_3 ala), 1.50 (s, 3H, CH_3), 1.54 (s, 3H, CH_3), 2.19 (br s, 2H, 2 OH), 2.54 (d, 1H, J_{gem} = 15.0 Hz, H -2), 2.63 (d, 1H, J_{gem} = 15.0 Hz, H -2), 2.75 (d, 2H, 2 H -2), 3.17-3.27 (m, 2H, 2 H -2'), 3.48-3.60 (m, 2H, 2 H -2'), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.81-3.92 (m, 4H, 4 H -7), 4.12-4.20 (m, 2H, 2 H -6), 4.38 (m, 1H, H - α), 4.43-4.56 (m, 2H, H -4, H - α), 4.69 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, H -4), 4.82-4.89 (m, 2H, 2 H -5), 5.09 (d, 1H, J_{gem} = 12.5 Hz, CH_2 -Ph), 5.18 (d, 1H, CH_2 -Ph), 6.28 (m, 1H, NH -Cbz), 7.01 (d, 1H, J = 6.5 Hz, NH), 7.15 (d, 1H, J = 6.5 Hz, NH), 7.32-7.41 (m, 6H, 5 H -Ar, NH). **$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 62.9 MHz):** δ = 17.2, 17.8 (2 CH_3 ala), 24.2, 24.3 (2 CH_3), 25.7, 25.8 (2 CH_3), 39.5, 40.0, 40.8, 43.1 (2 C -2, 2 C -2'), 48.4, 49.6 (2 C - α), 52.7 (OCH_3), 61.3, 61.6 (2 C -7), 66.9 (CH_2 -Ph), 79.8 (2 C -6), 81.1, 81.5 (2 C -5), 83.8, 84.1, 84.5, 85.0 (2 C -3, 2 C -4), 112.9 (2 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 128.0 (2 C -Ar), 128.1 (C -Ar), 128.5 (2 C -Ar), 136.6 (C -Ar), 157.2 ($\text{C}=\text{O}$ Cbz), 170.9, 171.1 (2 $\text{C}=\text{O}$), 173.6, 174.2 (2 $\text{C}=\text{O}$ ala). **ESI-HRMS** [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ m/z = 817.3470 (calculated for $\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_{15}\text{Na}$: 817.3478). **IR** (NaCl) ν = 3473, 3402, 3336, 3066, 2985, 2938, 1716, 1657, 1532 cm^{-1}

Hexapeptide 116

115 and **113** were deprotected using general procedures **K** and **H** respectively and the deprotected compounds were coupled via general procedure **J**.



Yield 59% as a white foam

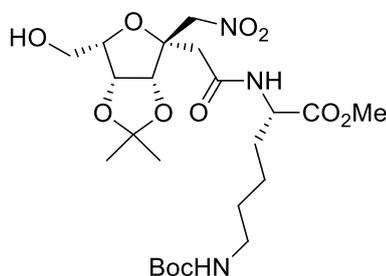
 $C_{51}H_{76}N_6O_{21}$

M.W.: 1109.18 g/mol

 $R_f = 0.32$ (EA/MeOH: 9/1) $[\alpha]_D = -1.8^\circ$ ($c = 0.6$, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.30$ -1.51 (m, 27H, 9 CH_3), 2.33 (br s, 3H, 3 OH), 2.50 (d, 1H, $J_{gem} = 15.0$ Hz, $H-2$), 2.58 (d, 1H, $J_{gem} = 15.0$ Hz, $H-2$), 2.67 (d, 1H, $J_{gem} = 15.5$ Hz, $H-2$), 2.71-2.82 (m, 3H, 3 $H-2$), 3.19-3.64 (m, 6H, 6 $H-2'$), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.75-3.93 (m, 6H, 6 $H-7$), 4.08-4.25 (m, 3H, 3 $H-6$), 4.36 (m, 1H, $H-\alpha$), 4.45-4.58 (m, 4H, 2 $H-4$, 2 $H-\alpha$), 4.68 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.82-4.90 (m, 3H, 3 $H-5$), 5.10 (d, 1H, $J_{gem} = 12.0$ Hz, CH_2 -Ph), 5.16 (d, 1H, CH_2 -Ph), 6.39 (m, 1H, NH -Cbz), 7.13-7.21 (m, 2H, 2 NH), 7.34-7.42 (m, 7H, 5 H -Ar, 2 NH), 7.67 (m, 1H, NH). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 17.3$, 17.9 (3 CH_3 ala), 24.2, 24.4, 25.8 (6 CH_3), 39.4, 39.8, 39.9, 40.6, 41.0, 42.9 (3 $C-2$, 3 $C-2'$), 48.4, 49.3, 49.6 (3 $C-\alpha$), 52.6 (OCH_3), 61.3, 61.5, 61.6 (3 $C-7$), 66.9 (CH_2 -Ph), 79.5, 79.6, 79.9 (3 $C-6$), 81.3, 81.4, 81.6 (3 $C-5$), 83.8, 84.0, 84.2, 84.4, 85.0 (3 $C-3$, 3 $C-4$), 112.8 (3 $C(CH_3)_2$), 128.1 (2 C -Ar), 128.6 (3 C -Ar), 136.6 (C -Ar), 157.2 ($C=O$ Cbz), 170.7, 170.9, 171.3 (3 $C=O$), 173.7, 174.1 (3 $C=O$ ala). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 1131.4931$ (calculated for $C_{51}H_{76}N_6O_{21}Na$: 1131.4956). **IR** (NaCl) $\nu = 3478$, 3327, 3066, 2985, 2938, 2881, 1714, 1655, 1532, 1454 cm^{-1}

Dipeptide 118

Prepared using general procedure **J** starting from **110**.

Yield 90 % as a colorless oil

 $C_{23}H_{39}N_3O_{11}$

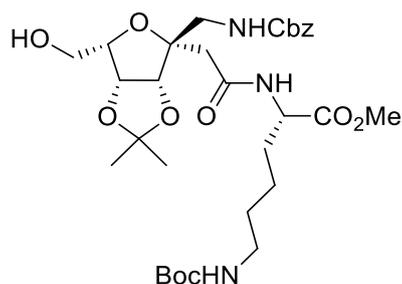
M.W.: 533.57 g/mol

 $R_f = 0.21$ (cH/EA: 3/7) $[\alpha]_D = -22.0^\circ$ ($c = 0.4$, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.25$ -1.54 (m, 4H, 2 CH_2 lys), 1.32 (s, 3H, CH_3), 1.43 (s, 9H, $C(CH_3)_3$ boc), 1.51 (s, 3H, CH_3), 1.66-1.90 (m, 2H, CH_2 lys), 2.77 (d, 1H, $J_{gem} = 16.0$ Hz, $H-2$), 2.99-3.12 (m, 3H, $H-2$, CH_2 lys), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.80-3.92 (m, 2H, 2 $H-7$), 4.13 (m, 1H, $H-6$), 4.51-4.64 (m, 3H, $H-2'$, $H-\alpha$, $NHBoc$), 4.79 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.92 (dd, 1H, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-5$), 5.09 (d, 1H, $J_{gem} = 12.0$ Hz, $H-2'$), 6.49 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, NH). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 22.4$ (CH_2 lys), 24.3 (CH_3), 25.8 (CH_3), 28.4 ($C(CH_3)_3$ boc), 29.5 (CH_2 lys), 31.9 (CH_2 lys), 38.5 ($C-2$), 40.4 (CH_2 lys), 52.0, 52.5 ($C-\alpha$, OCH_3), 61.2 ($C-7$), 76.7 ($C-2'$), 79.9, 81.5 ($C(CH_3)_3$ boc, $C-5$, $C-6$), 83.4 ($C-3$), 83.9 ($C-4$), 113.3 ($C(CH_3)_2$), 156.2 ($C=O$ boc), 169.4 ($C=O$), 172.7 ($C=O$ lys). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 556.2485$ (calculated for $C_{23}H_{39}N_3O_{11}Na$: 556.2477). **IR** (NaCl) $\nu = 3364$, 2981, 2933, 2867, 1742, 1690, 1666, 1551, 1529 cm^{-1}

Dipeptide 120

Prepared using general procedure **L** starting from **118**.



Yield 70 % as a colorless oil

 $C_{31}H_{47}N_3O_{11}$

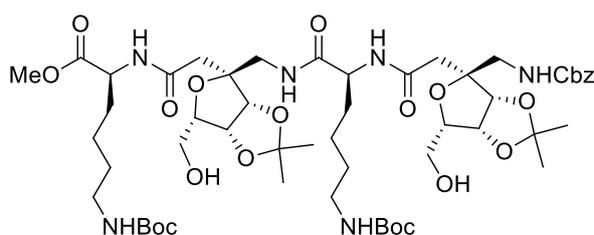
M.W.: 637.72 g/mol

 $R_f = 0.08$ (cH/EA: 1/1) $[\alpha]_D = -1.8^\circ$ (c = 0.5, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.28-1.58$ (m, 4H, 2 CH_2 lys), 1.34 (s, 3H, CH_3), 1.47 (s, 9H, $C(CH_3)_3$ boc), 1.54 (s, 3H, CH_3), 1.66-1.92 (m, 2H, CH_2 lys), 2.38 (br s, 1H, OH), 2.63 (d, 1H, $J_{gem} = 14.0$ Hz, H-2), 2.72 (d, 1H, H-2), 3.08-3.15 (m, 2H, CH_2 lys), 3.22 (dd, 1H, $J_{gem} = 15.0$, $J_{2',NH} = 6.5$ Hz, H-2'), 3.46 (dd, 1H, $J_{2',NH} = 7.5$ Hz, H-2'), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.84-3.96 (m, 2H, 2 H-7), 4.15 (m, 1H, H-6), 4.54 (m, 1H, H- α), 4.63 (d, 1H, $J_{4,5} = 5.5$ Hz, H-4), 4.70 (t, 1H, $J = 5.0$ Hz, NH Boc), 4.89 (dd, 1H, $J_{5,6} = 4.5$ Hz, H-5), 5.08 (d, 1H, $J_{gem} = 13.0$ Hz, CH-Ph), 5.15 (d, 1H, CH-Ph), 5.78 (m, 1H, NH Cbz), 6.98 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, NH), 7.33-7.41 (m, 5H, 5 H-Ar). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 22.5$ (CH_2 lys), 24.3 (CH_3), 25.8 (CH_3), 28.4 ($C(CH_3)_3$ boc), 29.5 (CH_2 lys), 31.8 (CH_2 lys), 40.1, 40.4 (C-2, CH_2 lys), 42.9 (C-2'), 52.2, 52.5 (C- α , OCH₃), 61.5 (C-7), 66.9 (CH_2 -Ph), 79.4, 81.7 ($C(CH_3)_3$ boc, C-5, C-6), 83.7, 84.9 (C-3, C-4), 113.0 ($C(CH_3)_2$), 128.0 (2 C-Ar), 128.1 (C-Ar), 128.5 (2 C-Ar), 136.4 (C-Ar), 156.3, 156.9 (C=O Boc, C=O Cbz), 170.9 (C=O), 172.9 (C=O lys). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ m/z = 660.3112 (calculated for $C_{31}H_{47}N_3O_{11}Na$: 660.3103). **IR** (NaCl) $\nu = 3345, 2976, 2933, 2867, 1709, 1662, 1525$ cm^{-1}

Tetrapeptide 122

118 and **120** were deprotected using general procedures **K** and **H** respectively and the deprotected compounds were coupled via general procedure **J**.



Yield 69 % as a white solid

 $C_{53}H_{84}N_6O_{19}$

M.W.: 1109.26 g/mol

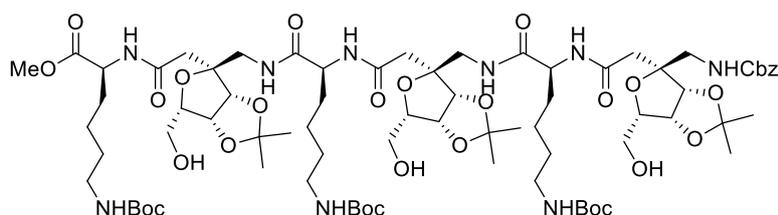
 $R_f = 0.6$ (EA/MeOH: 9/1) $[\alpha]_D = +1.6^\circ$ (c = 0.2, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.30-1.54$ (m, 8H, 4 CH_2 lys), 1.31 (s, 6H, 2 CH_3), 1.45 (s, 18H, 2 $C(CH_3)_3$ boc), 1.48 (s, 3H, CH_3), 1.51 (s, 3H, CH_3), 1.63-1.86 (m, 4H, 2 CH_2 lys), 2.50-2.77 (m, 6H, 2 OH, 4 H-2), 3.03-3.18 (m, 5H, 2 CH_2 lys, H-2'), 3.25 (dd, 1H, $J_{gem} = 15.0$, $J_{2',NH} = 5.5$ Hz, H-2'), 3.51 (dd, 1H, $J_{gem} = 15.0$, $J_{2',NH} = 8.0$ Hz, H-2'), 3.58 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5$, $J_{2',NH} = 7.0$ Hz, H-2'), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.82-3.88 (m, 4H, 4 H-7), 4.13-4.18 (m, 2H, 2 H-6), 4.31 (m, 1H, H- α), 4.41-4.48 (m, 2H, H- α , H-4), 4.69 (d, 1H, $J_{4,5} = 5.5$ Hz, H-4), 4.79-4.88 (m, 4H, 2 H-5, 2 NH Boc), 5.07 (d, 1H, $J_{gem} = 13.0$ Hz, CH-Ph), 5.16 (d, 1H, CH-Ph), 6.43 (m, 1H, NH sucre), 7.15 (m, 1H, NH lys), 7.24 (m, 1H, NH lys), 7.31-7.41 (m, 6H, 5 H-Ar, NH sucre). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz):** $\delta = 22.7, 22.9$ (2 CH_2 lys), 24.2, 24.3 (2 CH_3), 25.8 (2 CH_3), 28.4 (2 $C(CH_3)_3$), 29.5, 29.6 (2 CH_2 lys), 30.8, 31.5 (2 CH_2 lys), 39.6, 40.1, 40.7 (2 C-2, C-2', 2 CH_2 lys), 42.9 (C-2'), 52.7 (C- α , OCH₃), 53.8 (C- α), 61.4, 61.7 (2 C-7), 66.8 (CH_2 -Ph), 79.2, 79.3 (2 $C(CH_3)_3$), 79.9 (2 C-6), 81.2, 81.5 (2 C-5), 83.6, 84.0 (2 C-4), 85.0 (2 C-3), 112.9 (2 $C(CH_3)_2$), 128.0 (2 C-Ar), 128.1 (C-Ar), 128.5 (2 C-Ar), 136.5 (C-Ar), 156.2 (2 C=O Boc),

157.3 (C=O Cbz), 171.0, 171.6, 172.9, 173.9 (4 C=O). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 1131.5654$ (calculated for $C_{53}H_{84}N_6O_{19}Na$: 1131.5683). **IR** (NaCl) $\nu = 3336, 2976, 2933, 2862, 1692, 1655, 1525$ cm^{-1}

Hexapeptide 123

122 and **120** were deprotected using general procedures **K** and **H** respectively and the deprotected compounds were coupled via general procedure **J**.



Yield 47 % as a white solid

$C_{75}H_{121}N_9O_{27}$

M.W.: 1580.81 g/mol

$R_f = 0.39$ (EA/MeOH: 9/1)

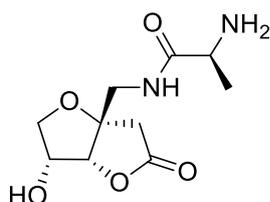
$[\alpha]_D = +1.2^\circ$ ($c = 0.4$, $CHCl_3$)

Mp = 117 °C

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.23-1.53$ (m, 12H, 6 CH_2 lys), 1.28 (s, 3H, CH_3), 1.31 (s, 6H, 2 CH_3), 1.45 (s, 27H, 3 $C(CH_3)_3$ boc), 1.50 (s, 9H, 3 CH_3), 1.60-1.89 (m, 6H, 3 CH_2 lys), 2.42-2.60 (m, 3H, 3 $H-2$), 2.75-2.87 (m, 3H, 3 $H-2$), 3.03-3.19 (m, 7H, 3 CH_2 lys, $H-2'$), 3.26 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.0$, $J_{2',NH} = 4.0$ Hz, $H-2'$), 3.35 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.0$, $J_{2',NH} = 4.0$ Hz, $H-2'$), 3.46-3.56 (m, 2H, 2 $H-2'$), 3.65 (m, 1H, $H-2'$), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 3.80-3.90 (m, 6H, 6 $H-7$), 4.13-4.21 (m, 4H, 3 $H-6$, $H-\alpha$), 4.39-4.55 (m, 5H, 2 $H-\alpha$, 2 $H-4$, NH Boc), 4.67 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.81-4.96 (m, 5H, 3 $H-5$, 2 NH Boc), 5.07 (d, 1H, $J_{gem} = 12.0$ Hz, $CH-Ph$), 5.15 (d, 1H, $CH-Ph$), 6.47 (m, 1H, NH), 7.12 (m, 1H, NH), 7.31-7.43 (m, 8H, 5 $H-Ar$, 3 NH), 7.93 (m, 1H, NH). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz): $\delta = 22.7, 22.8$ (3 CH_2 lys), 24.3, 24.4 (3 CH_3), 25.8, 25.9 (3 CH_3), 28.5 (3 $C(CH_3)_3$), 29.4, 29.6, 29.7 (3 CH_2 lys), 30.9, 31.2, 31.7 (3 CH_2 lys), 39.6, 40.2, 40.3, 41.0, 42.7 (3 $C-2$, 3 $C-2'$, 3 CH_2 lys), 52.5, 52.7 ($C-\alpha$, OCH_3), 53.3 ($C-\alpha$), 54.3 ($C-\alpha$), 61.4, 61.7 (3 $C-7$), 66.8 (CH_2-Ph), 79.1 (3 $C(CH_3)_3$), 79.7, 80.0, 80.3 (3 $C-6$), 81.3, 81.4, 81.6 (3 $C-5$), 83.7, 84.0, 84.2, 84.3, 84.9 (3 $C-3$, 3 $C-4$), 112.8 (2 $C(CH_3)_2$), 112.9 ($C(CH_3)_2$), 128.1 (2 $C-Ar$), 128.5 (3 $C-Ar$), 136.6 ($C-Ar$), 156.2 (3 $C=O$ Boc), 157.2 ($C=O$ Cbz), 170.8, 171.4, 171.6, 172.9, 173.2, 173.9 (6 $C=O$). **ESI-HRMS** $[M+H]^+$ $m/z = 1580.8481$ (calculated for $C_{75}H_{122}N_9O_{27}$: 1580.8445). **IR** (NaCl) $\nu = 3331, 2981, 2933, 2867, 1692, 1655, 1525$ cm^{-1}

Compound 125

To a stirred solution of **104** (42 mg, 0.049 mmol) in H_2O (0.50 ml) at 0°C was added trifluoroacetic acid (0.50 ml). After completion of the reaction (tlc monitoring), the solvents were removed under reduced pressure and coevaporated with Et_2O (3x5 mL). The residue was purified by column chromatography (RP-18 silica gel, $H_2O/MeOH$) and lyophilized.



Yield 100 % as a white foam

$C_{10}H_{16}N_2O_5$

M.W.: 244.24 g/mol

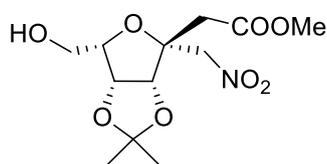
$R_f = 0.80$ ($H_2O/MeOH$: 1/1)

$[\alpha]_D = +14.5^\circ$ ($c = 0.4$, H_2O)

¹H (D₂O, 250 MHz): δ = 1.57 (d, 3H, J = 7.0 Hz, CH₃ alanine), 2.88 (d, 1H, J_{gem} = 19.0 Hz, H-2), 3.04 (d, 1H, H-2), 3.67 (s, 2H, 2 H-2'), 3.79 (dd, 1H, J_{gem} = 9.5, $J_{5,6}$ = 5.0 Hz, H-6), 4.13 (q, 1H, H- α), 4.17 (dd, 1H, $J_{5,6}$ = 6.0 Hz, H-6'), 4.54 (m, 1H, H-5), 4.96 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 5.0 Hz, H-4). **¹³C (D₂O, 62.9 MHz):** δ = 16.6 (CH₃ alanine), 39.0, 43.2 (C-2, C-2'), 49.1 (C- α), 70.3, 70.4 (C-6, C-5), 84.6 (C-4), 87.2 (C-3), 114.0, 118.7 (TFA), 162.6, 163.2 (TFA), 171.4, 178.0 (2 C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 245.1165 (calculated for C₁₀H₁₆N₂O₅Na: 245.1132). **IR** (pellets) ν = 3383, 3255, 3094, 2995, 2938, 1782, 1678 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-3-nitromethyl-4,5-*O*-(1-methylethylidene)- α -L-galacto-heptanoic acid methyl ester **126**

Prepared starting from **3 α** following procedure described for **105**.



Yield 99 % as a colorless gum

C₁₂H₁₉NO₈

M.W.: 305.28 g/mol

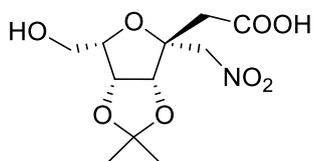
R_f = 0.42 (cH/EA: 1/2)

[α]_D = -1.8° (c = 1.0, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.33 (s, 3H, CH₃), 1.51 (s, 3H, CH₃), 2.41 (t, 1H, J = 5.0 Hz, OH), 2.79 (d, 1H, J_{gem} = 16.0 Hz, H-2), 2.97 (d, 1H, H-2), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (t, 2H, $J_{6,7}$ = 5.0 Hz, 2 H-7), 4.09 (m, 1H, H-6), 4.82 (d, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, H-4), 4.87 (d, 1H, J_{gem} = 14.0 Hz, H-2'), 4.90-4.98 (m, 2H, H-5, H-2'). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.2 (CH₃), 25.6 (CH₃), 36.7 (C-2), 52.1 (OCH₃), 61.0 (C-7), 75.8 (C-2'), 80.0, 81.3, 82.0, 85.3 (C-3, C-4, C-5, C-6), 113.5 (C(CH₃)₂), 169.9 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 328.1015 (calculated for C₁₂H₁₉NO₈Na: 328.1003). **IR** (NaCl) ν = 3469, 2985, 2947, 2890, 1735, 1553, 1437 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-3-nitromethyl-4,5-*O*-(1-methylethylidene)- α -L-galacto-heptanoic acid **127**

Prepared using general procedure **H** starting from **126**.



Yield 98 % as a colorless gum

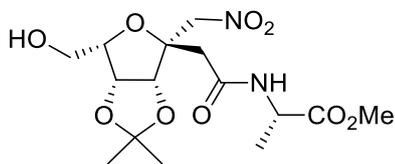
C₁₁H₁₇NO₈

M.W.: 291.25 g/mol

R_f = 0.10 (EA)

[α]_D = -6.1° (c = 0.5, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.32 (s, 3H, CH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 2.76 (d, 1H, J_{gem} = 16.0 Hz, H-2), 2.97 (d, 1H, H-2), 3.88 (d, 2H, $J_{6,7}$ = 5.5 Hz, 2 H-7), 4.12 (m, 1H, H-6), 4.78-5.08 (m, 5H, H-4, H-5, 2 H-2', COOH). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.2 (CH₃), 25.6 (CH₃), 36.7 (C-2), 61.1 (C-7), 75.3 (C-2'), 80.0, 81.3, 81.9, 85.3 (C-3, C-4, C-5, C-6), 113.7 (C(CH₃)₂), 173.1 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 314.0856 (calculated for C₁₁H₁₇NO₈Na: 314.0846). **IR** (NaCl) ν = 3464, 3213, 2985, 2943, 1723, 1553, 1416 cm⁻¹

Dipeptide 128Prepared using general procedure **J** starting from **127**.

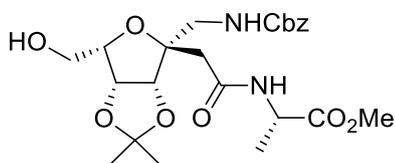
Yield 90% as a colorless oil

 $C_{15}H_{24}N_2O_9$

M.W.: 376.36 g/mol

 $R_f = 0.39$ (EA) $[\alpha]_D = +3.5^\circ$ ($c = 0.30$, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 1.35$ (s, 3H, CH₃), 1.46 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH₃ ala), 1.53 (s, 3H, CH₃), 2.48 (br s, 1H, OH), 2.74 (s, 2H, 2 $H-2$), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (d, 2H, $J_{6,7} = 5.5$ Hz, 2 $H-7$), 4.14 (m, 1H, $H-6$), 4.60 (m, 1H, $H-\alpha$), 4.86 (s, 2H, 2 $H-2'$), 4.93 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-5$), 5.06 (d, 1H, $H-4$), 6.70 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, NH). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = 18.1$ (CH₃ ala), 24.2 (CH₃), 25.6 (CH₃), 38.5 (C-2), 48.2 (C- α), 52.6 (OCH₃), 61.3 (C-7), 77.2 (C-2'), 80.4 (C-6), 81.3 (C-5), 82.5 (C-3), 85.3 (C-4), 113.5 (C(CH₃)₂), 168.1 (C=O), 173.3 (C=O ala). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 399.1410$ (calculated for $C_{15}H_{24}N_2O_9Na$: 399.1374). **IR** (NaCl) $\nu = 3478, 3336, 2990, 2933, 2857, 1742, 1659, 1553$ cm⁻¹

Dipeptide 129Prepared using general procedure **L** starting from **128**.

Yield 68% as a white solid

 $C_{23}H_{32}N_2O_9$

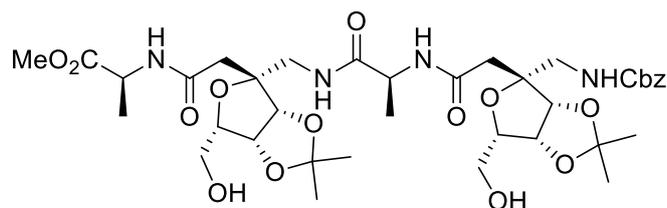
M.W.: 480.51 g/mol

 $R_f = 0.35$ (EA) $[\alpha]_D = -36.5^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, CH₃), 1.49 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH₃ ala), 1.50 (s, 3H, CH₃), 2.38 (br s, 1H, OH), 2.85 (s, 2H, 2 $H-2$), 3.46 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5$, $J_{2',NH} = 6.0$ Hz, $H-2'$), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.79-3.96 (m, 3H, 2 $H-7$, $H-2'$), 4.27 (m, 1H, $H-6$), 4.53-4.59 (m, 2H, $H-4$, $H-\alpha$), 4.89 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-5$), 5.13 (d, 1H, $J_{gem} = 12.0$ Hz, CH₂-Ph), 5.21 (d, 1H, CH₂-Ph), 5.46 (m, 1H, NH-Cbz), 7.35-7.44 (m, 5H, 5 $H-Ar$), 8.05 (d, 1H, $J = 6.5$ Hz, NH). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = 17.7$ (CH₃ ala), 24.3 (CH₃), 25.7 (CH₃), 38.4 (C-2), 43.8 (C-2'), 48.6 (C- α), 52.5 (OCH₃), 61.2 (C-7), 67.5 (CH₂-Ph), 79.8 (C-6), 81.7 (C-5), 84.3, 85.2 (C-3, C-4), 113.1 (C(CH₃)₂), 128.3 (2 C-Ar), 128.4 (C-Ar), 128.6 (2 C-Ar), 136.0 (C-Ar), 157.7 (C=O Cbz), 169.0 (C=O), 173.1 (C=O ala). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 503.2035$ (calculated for $C_{23}H_{32}N_2O_9Na$: 503.2000). **IR** (NaCl) $\nu = 3417, 3308, 3071, 2990, 2943, 2881, 1740, 1704, 1657, 1529, 1454$ cm⁻¹

Tetrapeptide 130

129 and **128** were deprotected using general procedures **H** and **K** respectively and the deprotected compounds were coupled via general procedure **J**.



Yield 57% as a white foam

 $C_{37}H_{54}N_4O_{15}$

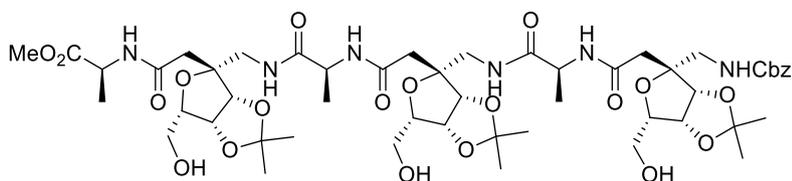
M.W.: 794.84 g/mol

 $R_f = 0.27$ (EA/MeOH: 9/1) $[\alpha]_D = -43.7^\circ$ (c = 0.4, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, CH₃), 1.33 (s, 3H, CH₃), 1.44-1.52 (m, 12H, 2 CH₃ ala, 2 CH₃), 2.37-2.46 (m, 3H, 3 H-2), 2.50 (d, 1H, $J_{gem} = 14.5$ Hz, H-2), 2.61-2.76 (br s, 2H, 2 OH), 3.39 (dd, 1H, $J_{gem} = 15.0$, $J = 6.0$ Hz, H-2'), 3.62 (dd, 1H, $J_{gem} = 13.0$, $J = 7.0$ Hz, H-2'), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.77-3.93 (m, 6H, 4 H-7, 2 H-2'), 4.14 (m, 1H, H-6), 4.23 (m, 1H, H-6), 4.37 (m, 1H, H- α), 4.47-4.63 (m, 2H, H-4, H- α), 4.86-4.94 (m, 3H, 2 H-5, H-4), 5.13 (d, 1H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, CH₂-Ph), 5.21 (d, 1H, CH₂-Ph), 5.42 (dd, 1H, $J = 9.5$, $J = 5.5$ Hz, NH-Cbz), 6.79 (t, 1H, $J = 6.0$ Hz, NH), 7.34-7.46 (m, 5H, 5 H-Ar), 8.21 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, NH), 8.26 (d, 1H, NH). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = 17.4$, 17.5 (2 CH₃ ala), 24.2, 24.4 (2 CH₃), 25.6, 25.8 (2 CH₃), 38.4 (2 C-2), 42.1, 43.7 (2 C-2'), 48.4, 50.4 (2 C- α), 52.3 (OCH₃), 60.9, 61.3 (2 C-7), 67.6 (CH₂-Ph), 79.5, 80.2 (2 C-6), 81.4, 81.8 (2 C-5), 84.0, 84.2, 84.5, 85.2 (2 C-3, 2 C-4), 112.8, 113.1 (2 C(CH₃)₂), 128.3 (2 C-Ar), 128.5 (C-Ar), 128.7 (2 C-Ar), 135.9 (C-Ar), 157.9 (C=O Cbz), 169.1 (2 C=O), 173.5, 173.9 (2 C=O ala). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 817.3454** (calculated for C₃₇H₅₄N₄O₁₅Na: 817.3478). **IR (NaCl) $\nu = 3417$, 3303, 3061, 2985, 2943, 1735, 1709, 1655, 1529 cm⁻¹**

Hexapeptide 131

129 and **130** were deprotected using general procedures **H** and **K** respectively and the deprotected compounds were coupled via general procedure **J**.



Yield 60% as a white foam

 $C_{51}H_{76}N_6O_{21}$

M.W.: 1109.18 g/mol

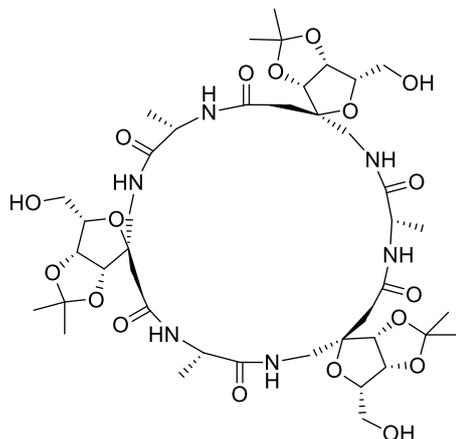
 $R_f = 0.11$ (EA/MeOH: 9/1) $[\alpha]_D = -41.9^\circ$ (c = 0.4, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 1.27$, 1.28, 1.29 (3s, 9H, 3 CH₃), 1.43-1.49 (m, 18H, 6 CH₃), 2.33 (d, 1H, $J_{gem} = 14.0$ Hz, H-2), 2.34-2.41 (m, 4H, 4 H-2), 2.44 (d, 1H, $J_{gem} = 13.5$ Hz, H-2), 2.71 (br s, 3H, 3 OH), 3.29 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5$, $J = 4.5$ Hz, H-2'), 3.56-3.61 (m, 2H, 2 H-2'), 3.65-3.71 (m, 2H, 2 H-2'), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.73-3.86 (m, 6H, 6 H-7), 3.94 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5$, $J = 8.5$ Hz, H-2'), 4.04-4.11 (m, 2H, 2 H-6), 4.19 (m, 1H, H-6), 4.25-4.32 (m, 2H, 2 H- α), 4.38 (d, 1H, $J_{4,5} = 5.5$ Hz, H-4), 4.47 (m, 1H, H- α), 4.79-4.86 (m, 4H, H-4, 3 H-5), 4.98 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-4), 5.10 (d, 1H, $J_{gem} = 12.5$ Hz, CH₂-Ph), 5.16 (d, 1H, CH₂-Ph), 5.38 (dd, 1H, $J = 9.0$, $J = 5.5$ Hz, NH-Cbz), 6.68 (dd, 1H, $J = 7.5$, $J = 6.5$ Hz, NH), 7.06 (m, 1H, NH), 7.33-7.40 (m, 5H, 5 H-Ar), 8.19 (d, 1H, $J = 6.0$ Hz, NH), 8.28 (d, 1H, $J = 5.5$ Hz, NH), 8.43 (d, 1H, $J = 5.0$ Hz, NH). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = 16.9$, 17.3, 17.4 (3 CH₃ ala), 24.3, 24.5, 25.8 (6 CH₃), 38.3, 38.4, 38.6 (3 C-2), 41.9, 42.2, 43.7 (3 C-2'), 48.5, 50.4, 50.8 (3 C- α), 52.2 (OCH₃), 60.8, 61.1, 61.5 (3 C-7), 67.6 (CH₂-Ph), 79.7, 79.8, 80.3 (3 C-6), 81.4, 81.8, 81.9 (3 C-5), 84.0, 84.1, 84.3, 84.8, 85.3 (3 C-3, 3 C-4), 112.7, 112.8, 113.0 (3 C(CH₃)₂), 128.3 (2 C-Ar), 128.5 (C-Ar), 128.7 (2 C-Ar), 135.9 (C-Ar), 157.9 (C=O Cbz), 169.2, 169.3, 169.8 (3 C=O), 173.6, 173.9,

174.3 (3 C=O ala). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 1131.4951$ (calculated for $C_{51}H_{76}N_6O_{21}Na$: 1131.4956). **IR** (NaCl) $\nu = 3421, 3303, 3061, 2985, 2938, 2881, 1733, 1704, 1657, 1539\text{ cm}^{-1}$

Cyclopeptide 132

131 was deprotected using general procedures **H** and **K** and the deprotected compound was cyclized via general procedure **M**.



Yield 35 % as a white solid

$C_{42}H_{66}N_6O_{18}$

M.W.: 943.00 g/mol

$R_f = 0.62$ ($CH_2Cl_2/MeOH$: 8/2)

$[\alpha]_D = -21.3^\circ$ ($c = 0.14, CHCl_3$)

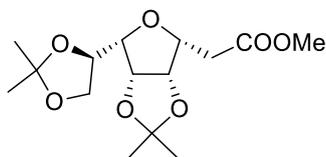
1H NMR (MeOH- d_4 , 250 MHz): $\delta = 1.31$ (s, 3H, CH_3), 1.38 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3 alanine), 1.46 (s, 3H, CH_3), 2.42 (d, 1H, $J_{gem} = 14.0$ Hz, $H-2$), 2.54 (d, 1H, $H-2$), 3.49 (d, 1H, $J_{gem} = 14.5$ Hz, $H-2'$), 3.62 (d, 1H, $H-2'$), 3.69 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0, J_{6,7} = 6.5$ Hz, $H-7$), 3.79 (dd, 1H, $J_{6,7'} = 5.0$ Hz, $H-7'$), 4.04 (m, 1H, $H-6$), 4.36 (m, 1H, $H-\alpha$), 4.76 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.87 (dd, 1H, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-5$). **^{13}C NMR (MeOH- d_4 , 62.9 MHz)**: $\delta = 16.6$ (CH_3 alanine), 23.5 (CH_3), 24.9 (CH_3), 38.6 ($C-2$), 42.8 ($C-2'$), 49.8 ($C-\alpha$), 60.4 ($C-7$), 80.2, 81.6, 84.2, 84.7 ($C-3, C-4, C-5, C-6$), 112.7 ($C(CH_3)_2$), 170.5, 174.2 (2 $C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 965.4317$ (calculated for $C_{42}H_{66}N_6O_{18}Na$: 965.4326). **IR** (NaCl) $\nu = 3417, 3274, 2924, 1666, 1636, 1532\text{ cm}^{-1}$

II.4- Synthesis of peptidomimetic compounds

II.4.1- AN41 analogues

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-*D*-glycero-*L*-galacto-octanoic acid methyl ester **133**

To a stirred solution of **1** (2.74 g, 8.7 mmol) in EtOAc (20 mL) was added Pd/C (10%) (300 mg, 10% w/w). The mixture was stirred under H₂ atmosphere (15 psi) for 18h. The reaction mixture was then filtered through a pad of celite and the solvent was removed *in vacuo*. The compound was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **133**.



Yield: 99 % as a white solid

C₁₅H₂₄O₇

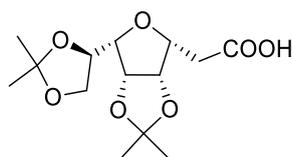
Mol. Wt.: 316.35 g/mol

R_f = 0.30 (cH/EA: 7/3)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.28 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.38 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.44 (s, 6H, C(CH₃)₂), 2.85 (dd, 1H, *J*_{gem} = 17.5, *J*_{2,3} = 6.0 Hz, *H*-2), 2.93 (dd, 1H, *J*_{2',3} = 8.0 Hz, *H*-2'), 3.52 (dd, 1H, *J*_{5,6} = 3.5, *J*_{6,7} = 8.0 Hz, *H*-6), 3.69 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.71 (m, 1H, *H*-8), 3.97 (ddd, 1H, *J*_{3,4} = 3.5 Hz, *H*-3), 4.21 (dd, 1H, *J*_{gem} = 8.5, *J*_{7,8'} = 6.5 Hz, *H*-8'), 4.36 (m, 1H, *H*-7), 4.62 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-5), 4.80 (dd, 1H, *H*-4).

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-*D*-glycero-*L*-galacto-octanoic acid **134**

To a solution of **133** (3.14 g, 10.0 mmol) in THF (30 mL) and water (10 mL) was added LiOH (724 mg, 30.0 mmol, 3 eq.) and the mixture was stirred until completion of the reaction monitored by tlc. THF was removed under reduced pressure, CH₂Cl₂ (20 mL) was added and the pH was adjusted to 2-3 with 1N HCl. The organic layer was washed with brine and dried over MgSO₄, filtered and concentrated to provide **134**.



Yield: 98 % as a colorless gum

C₁₄H₂₂O₇

Mol. Wt.: 302.32 g/mol

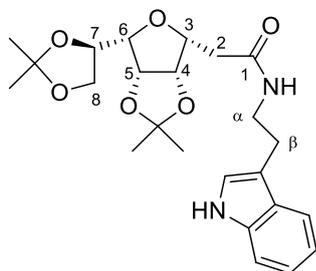
R_f = 0.46 (CH₂Cl₂/MeOH: 9/1)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.28 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.38 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.44 (s, 6H, C(CH₃)₂), 2.87 (dd, 1H, *J*_{gem} = 17.5, *J*_{2,3} = 6.5 Hz, *H*-2), 2.96 (dd, 1H, *J*_{2',3} = 8.0 Hz, *H*-2'), 3.53 (dd, 1H, *J*_{5,6} = 3.5, *J*_{6,7} = 8.0 Hz, *H*-6), 3.71 (dd, 1H, *J*_{gem} = 8.5, *J*_{7,8} = 7.5 Hz, *H*-8), 3.95 (ddd, 1H, *J*_{3,4} = 3.5 Hz, *H*-3), 4.21 (dd, 1H, *J*_{7,8'} = 6.5 Hz, *H*-8'), 4.37 (m, 1H, *H*-7), 4.63 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-5), 4.79 (dd, 1H, *H*-4), 8.09 (br s, 1H, COOH).

3,6-anhydro-2-deoxy-*N*-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-*D*-glycero-*L*-galacto-octonamide **135**

To a stirred solution of **134** (2.72 g, 9.0 mmol, 1 eq.) in CH₂Cl₂ (15 mL) were added tryptamine (1.58 g, 9.9 mmol, 1.1 eq.) and EDC (1.91 g, 9.9 mmol, 1.1 eq.) at 0°C under argon atmosphere. After stirring

overnight at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was diluted with CH_2Cl_2 (20 mL) and the organic layer was washed with a saturated aqueous solution of NaHCO_3 (10 mL), dried over MgSO_4 , filtered and the solvent was removed *in vacuo*. The product was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **135**.



Yield 80% as a pale yellow solid

$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6$

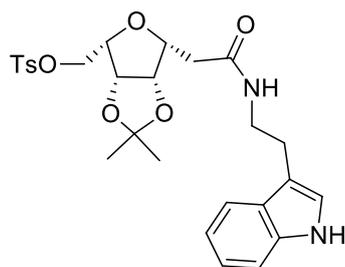
Mol. Wt.: 444.52 g/mol

$R_f = 0.57$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9/1)

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz): $\delta = 1.24$ (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.40 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.43 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.47 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.62 (d, 2H, $J_{2,3} = 6.5$ Hz, 2 $H-2$), 2.99 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta} = 6.5$ Hz, 2 $H-\beta$), 3.50-3.56 (m, 2H, $H-6$, $H-\alpha$), 3.62-3.76 (m, 2H, $H-\alpha'$, $H-8$), 3.94 (td, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $H-3$), 4.22 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 8.5$, $J_{7,8'} = 6.5$ Hz, $H-8'$), 4.35 (m, 1H, $H-7$), 4.58 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-5$), 4.64 (dd, 1H, $H-4$), 5.91 (t, 1H, $J = 5.0$ Hz, NHamide), 7.09-7.23 (m, 3H, 3 $H\text{-Ar}$), 7.37 (d, 1H, $J = 8.0$, $H\text{-Ar}$), 7.60 (d, 1H, $J = 8.0$, $H\text{-Ar}$), 8.29 (br s, 1H, NHindole).

3,6-anhydro-2-deoxy-*N*-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-*O*-tosyl-*L*-galactonamide **136**

To a stirred solution of **135** (3.73 g, 8.40 mmol) in methanol (180 mL) at 0°C was added dropwise an aqueous solution of 1N HCl (60 mL). After stirring at room temperature until completion of the reaction, sat. aq. NaHCO_3 was added until pH = 7. Half of the solvent was removed under *vacuum* and the product was extracted with CH_2Cl_2 (3 x 100 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered and the solvent was evaporated. To a stirred solution of this diol in methanol (180 mL) was added NaIO_4 (3.59 g, 16.8 mmol, 2 eq.) under argon. After stirring at room temperature until completion of the reaction, the solvent was removed by half *in vacuo*. The mixture was diluted with CH_2Cl_2 (200 mL). The organic layer was washed with water (3 x 75 mL), dried over MgSO_4 , filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The product was used without further purification. To a stirred solution of the obtained aldehyde in MeOH (190 mL) was added NaBH_4 (320 mg, 8.40 mmol, 1 eq.) at 0°C . After 1 h at room temperature, the solvent was removed under reduced pressure. The residue was diluted in CH_2Cl_2 (100 mL) and the organic layer was washed with a solution of 1N HCl (30 mL) and with water until pH = 7. The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered and evaporated under reduced pressure. To a solution of this alcohol (1.94 g, 5.2 mmol) in CH_2Cl_2 (50 mL) were added Et_3N (1.8 mL, 13 mmol, 2.5 eq.), DMAP (61 mg, 0.5 mmol, 0.1 eq.) and tosyl chloride (2 g, 10.4 mmol, 2 eq.) and the mixture was stirred for 24 h at room temperature. The solution was washed with 1N HCl (20 mL), sat. aq. NaHCO_3 (20 mL) and brine (20 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered and the solvent was evaporated *in vacuo*. The compound was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **136**.



Yield 90% as a white solid

 $C_{27}H_{32}N_2O_7S$

M.W.: 528.19 g/mol

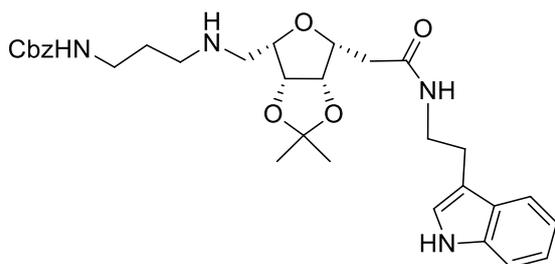
 $R_f = 0.49$ ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1) $[\alpha]_D = 6.0^\circ$ ($c = 1, CHCl_3$)

Mp = 64°C

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.21$ (s, 3H, CH_3), 1.30 (s, 3H, CH_3), 2.44 (s, 3H, Ph- CH_3), 2.49-2.51 (m, 2H, $H-2$), 2.98 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta} = 6.5$ Hz, $H-\beta$), 3.49 (m, 1H, $H-\alpha$), 3.62 (m, 1H, $H-6$), 3.69-3.78 (m, 2H, $H\alpha$, $H-3$), 4.12 (dd, 1H, $J_{6,7} = 7.5$, $J_{7,7'} = 11.0$ Hz, $H-7$), 4.25 (dd, 1H, $J_{6,7'} = 4.0$ Hz, $H-7'$), 4.54 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.5$, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.59 (dd, 1H, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-5$), 6.13 (t, 1H, $J = 5.5$ Hz, CONH), 7.08-7.12 (m, 2H, $H-Ar$), 7.19 (m, 1H, $H-Ar$), 7.33 (d, 2H, $J = 8.0$, $H-Ar$), 7.41 (d, 1H, $J = 8.0$, $H-Ar$), 7.59 (d, 1H, $J = 8.0$, $H-Ar$), 7.79 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, $H-Ar$), 8.58 (s, 1H, NH- Ar). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz):** $\delta = 21.8$ (CH_3 -Ph), 24.7 (CH_3), 25.0 ($C-\beta$), 25.8 (CH_3), 36.5 ($C-2$), 39.7 ($C-\alpha$), 68.3 ($C-7$), 78.6 ($C-3$), 80.0 ($C-6$), 80.6 ($C-5$), 81.5 ($C-4$), 111.6 ($C-Ar$), 112.7 ($C(CH_3)_2$), 112.9 ($C-Ar$), 118.7 ($C-Ar$), 119.3 ($C-Ar$), 122.1 ($C-Ar$), 122.6 ($C-Ar$), 127.5 ($C-Ar$), 128.1 (2 $C-Ar$), 130.1 (2 $C-Ar$), 132.7 ($C-Ar$), 136.6 ($C-Ar$), 145.3 ($C-Ar$), 170.4 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 551.1852$ (calculated for $C_{27}H_{32}N_2O_7SNa$: 551.1822). **IR** ($NaCl$) $\nu = 1654, 1535$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-*N*-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-[[3-[(phenylmethoxy)carbonyl]amino]propyl]amino]-*L*-galacto-heptonamide **137**

A solution of **136** (422 mg, 0.8 mmol, 1 eq.) and amine (0.8 mmol, 4 eq.) in isopropanol (4 mL) was heated at 100°C for 48h in a sealed tube. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was diluted with EtOAc (10 mL) and washed with sat. aq. $NaHCO_3$ (2x5 mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent was evaporated under reduced pressure. The compound was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **137**.



Yield 72% as a colorless gum

 $C_{31}H_{40}N_4O_6$

M.W.: 564.29 g/mol

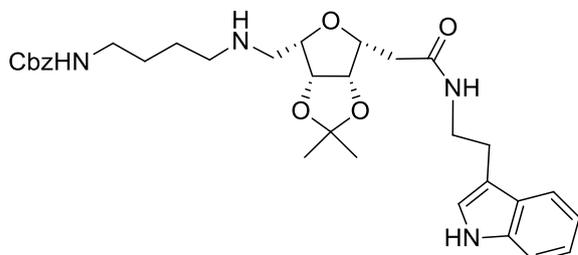
 $R_f = 0.33$ ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1) $[\alpha]_D = 10.3^\circ$ ($c = 0.5, CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.27$ (s, 3H, CH_3), 1.42 (s, 3H, CH_3), 1.59-1.76 (m, 2H, $H-9$), 2.55-2.59 (m, 2H, $H-2$), 2.69-2.74 (m, 2H, $H-12$), 2.77-2.92 (m, 2H, $H-7$), 2.99 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta} = 7.5$ Hz, $H-\beta$), 3.13-3.23 (m, 2H, $H-8$), 3.44-3.79 (m, 4H, $H-3$, $H-6$, $H-\alpha$), 4.55 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-5$), 4.60 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $H-4$), 5.12 (s, 2H, CH_2 -Ph), 5.50 (br s, 1H, NH), 6.29 (br s, 1H, NH), 7.05-7.23 (m, 3H, $H-Ar$), 7.32-7.42 (m, 6H, $H-Ar$), 7.61 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, $H-Ar$), 8.81 (br s, 1H, NH). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 24.7$ (CH_3), 25.1 ($C-\beta$), 25.8 (CH_3), 29.2 ($C-9$), 36.4 ($C-2$), 39.5 ($C-\alpha$), 39.7 ($C-8$), 47.6 ($C-7$), 47.9 ($C-10$), 66.7 (CH_2 -Ph), 78.1 ($C-3$), 80.4 ($C-6$), 81.0 ($C-4$), 81.5 ($C-5$), 111.4 ($C-Ar$), 112.3 ($C(CH_3)_2$), 112.9 ($C-Ar$), 118.7 ($C-Ar$), 119.3 ($C-Ar$), 122.0 ($C-Ar$), 122.2 ($C-Ar$), 127.5 ($C-Ar$), 128.1 (2 $C-Ar$), 128.5 (3 $C-Ar$), 136.4 ($C-Ar$), 136.6 ($C-Ar$), 156.8 (OCONH), 170.5 (CONH).

ESI-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 587.2866$ (calculated for $C_{31}H_{40}N_4O_6Na$: 587.2840). **IR** (NaCl) $\nu = 3312, 1714, 1645 \text{ cm}^{-1}$

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-[[4-[[[(phenylmethoxy)carbonyl]amino]butyl]amino]-L-galacto-heptonamide 138

Prepared starting from **136** following procedure described for **137**.



Yield 70% as a colorless gum

$C_{32}H_{42}N_4O_6$

M.W.: 578.31 g/mol

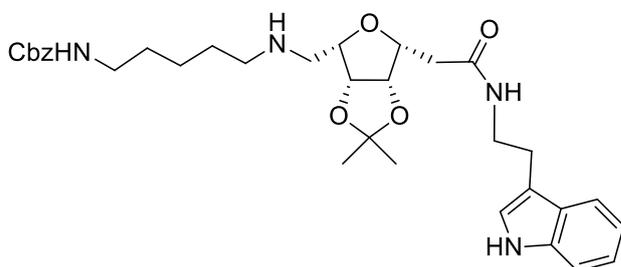
$R_f = 0.29$ ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1)

$[\alpha]_D = 9.1^\circ$ ($c = 1, CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.26$ (s, 3H, CH_3), 1.41 (s, 3H, CH_3), 1.50-1.56 (m, 4H, $H-9, H-10$), 2.55 (dd, 2H, $J_{gem} = 6.5 \text{ Hz}, J_{2,3} = 4.0 \text{ Hz}, J_{2',3} = 2.0 \text{ Hz}, H-2$), 2.61-2.65 (m, 2H, $H-11$), 2.81 (dd, 1H, $J_{gem} = 12.5 \text{ Hz}, J_{6,7} = 7.5 \text{ Hz}, H-7$), 2.88 (dd, 1H, $J_{6,7} = 4.5 \text{ Hz}, H-7'$), 2.98 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta} = 6.5 \text{ Hz}, H-\beta$), 3.17-3.21 (m, 2H, $H-8$), 3.52-3.70 (m, 3H, $H-\alpha, H-6$), 3.74 (m, 1H, $H-3$), 4.49-4.55 (m, 2H, $H-4, H-5$), 5.10 (s, 2H, CH_2-Ph), 5.47 (br s, 1H, NH), 6.26 (t, 1H, $J = 5.5 \text{ Hz}, NH$), 7.05 (s, 1H, $H-Ar$), 7.12 (m, 1H, $H-Ar$), 7.20 (m, 1H, $H-Ar$), 7.31-7.40 (m, 6H, $H-Ar$), 7.61 (d, 1H, $J = 8.0 \text{ Hz}, H-Ar$), 8.72 (br s, 1H, NH). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz): $\delta = 24.7$ (CH_3), 25.1 ($C-\beta$), 25.8 (CH_3), 26.6, 27.7 ($C-9, C-10$), 36.3 ($C-2$), 39.7 ($C-\alpha$), 40.9 ($C-8$), 47.9 ($C-7$), 49.4 ($C-11$), 66.6 (CH_2-Ph), 78.0 ($C-3$), 80.2 ($C-6$), 81.0, 81.5 ($C-4, C-5$), 111.4 ($C-Ar$), 112.3 ($C(CH_3)_2$), 112.8 ($C-Ar$), 118.7 ($C-Ar$), 119.3 ($C-Ar$), 122.0 ($C-Ar$), 122.3 ($C-Ar$), 127.4 ($C-Ar$), 128.2 (2 $C-Ar$), 128.5 (3 $C-Ar$), 136.4 ($C-Ar$), 136.7 ($C-Ar$), 156.6 ($OCONH$), 170.5 ($CONH$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 601.3002$ (calculated for $C_{32}H_{42}N_4O_6Na$: 601.2997). **IR** (NaCl) $\nu = 3312, 1716, 1648 \text{ cm}^{-1}$

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-[[5-[[[(phenylmethoxy)carbonyl]amino]pentyl]amino]-L-galacto-heptonamide 139

Prepared starting from **136** following procedure described for **137**.



Yield 80% as an oil

$C_{33}H_{44}N_4O_6Na$

M.W.: 592.33 g/mol

$R_f = 0.37$ ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1)

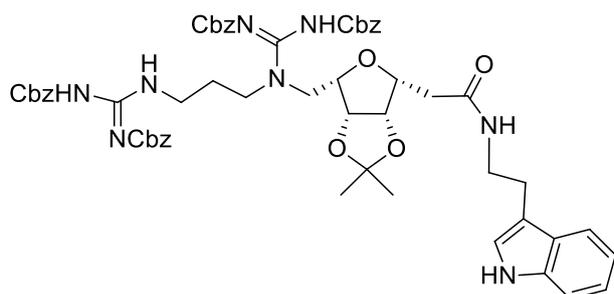
$[\alpha]_D = 5.5^\circ$ ($c = 1, CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.28$ (s, 3H, CH_3), 1.43 (s, 3H, CH_3), 1.32-1.53 (m, 6H, $H-9, H-10, H-11$), 2.58 (d, 2H, $J_{2,3} = 6.5 \text{ Hz}, H-2$), 2.62 (t, 2H, $J_{11,12} = 7.0 \text{ Hz}, H-12$), 2.84-2.92 (m, 2H, $H-7$), 2.99 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta} = 7.5 \text{ Hz}, H-\beta$), 3.14-3.22 (m, 2H, $H-8$), 3.53-3.70 (m, 3H, $H-6, H-\alpha$), 3.82 (m, 1H, $H-3$), 4.56 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0, J_{5,6} = 3.5 \text{ Hz}, H-5$), 4.61 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.5 \text{ Hz}, H-4$), 4.92 (br s, 1H, NH), 5.11 (s, 2H, CH_2-Ph), 6.16 (t, 1H, $J = 5.5 \text{ Hz}, NH$), 7.05 (s, 1H, $H-Ar$), 7.12 (m, 1H, $H-Ar$), 7.20 (m, 1H, $H-Ar$), 7.31-7.39 (m, 6H, $H-Ar$), 7.62 (d, 1H, $J = 8.0 \text{ Hz}, H-Ar$), 8.78 (br s, 1H, NH). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 24.2$ ($C-10$), 24.7 (CH_3), 25.2 ($C-\beta$), 25.8 (CH_3), 29.2, 29.7 ($C-9, C-11$), 36.3 ($C-2$), 39.7 ($C-\alpha$), 40.9

(C-8), 48.0 (C-7), 49.7 (C-12), 66.6 (CH₂-Ph), 78.0 (C-3), 80.5 (C-6), 81.1 (C-4), 81.5 (C-5), 111.3 (C-Ar), 112.3 (C(CH₃)₂), 112.8 (C-Ar), 118.7 (C-Ar), 119.3 (C-Ar), 122.0 (C-Ar), 122.3 (C-Ar), 127.4 (C-Ar), 128.1 (2 C-Ar), 128.5 (3 C-Ar), 136.4 (C-Ar), 136.7 (C-Ar), 156.5 (OCONH), 170.4 (CONH). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 615.3137 (calculated for C₃₃H₄₄N₄O₆Na: 615.3153). **IR** (NaCl) ν = 3312, 1704, 1652 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-[[*N*-bis[(phenylmethoxy)carbonyl]aminoiminomethyl]-*N*-[3-bis[(phenylmethoxy)carbonyl]guanidinopropyl]amino]-L-galacto-heptonamide 140

To a solution of **137** (282 mg, 0.5 mmol) in MeOH (10 mL) was added Pd/C (10%) (30 mg, 10% w/w). After stirring under H₂ atmosphere (30 psi) until completion of the reaction, the mixture was filtered through a pad of celite and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude was solubilized in DMF (3 mL) and *N,N'*-bis(dibenzoyloxycarbonyl)-*S*-methylisothiurea (1.0 mmol, 2eq.), HgCl₂ (134 mg, 0.5 mmol, 1 eq.) and Et₃N (153 mg, 1.5 mmol, 3 eq.) were added under argon atmosphere. After stirring 14 h at room temperature, the solvent was removed *in vacuo* and the residue was dissolved in EtOAc (40 mL). The organic layer was washed with water (5 mL), brine (5 mL), dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The compound was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **140**.



Yield 25% as a white solid

C₅₇H₆₂N₈O₁₂

M.W.: 1050.45 g/mol

R_f = 0.52 (EA)

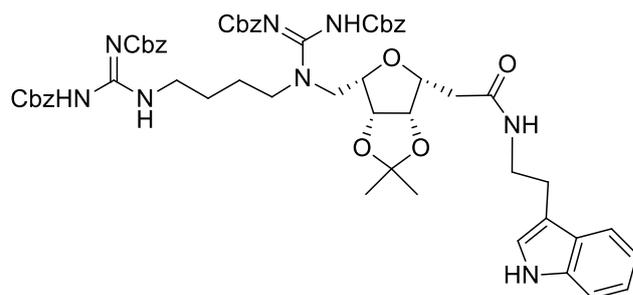
[α]_D = 5.1° (c = 0.2, CHCl₃)

Mp = 65°C

¹H NMR (MeOH d₄, 250 MHz): δ = 1.21 (s, 3H, CH₃), 1.31 (s, 3H, CH₃), 1.80-1.92 (m, 2H, H-9), 2.46-2.49 (m, 2H, H-2), 2.91 (t, 2H, *J* _{α,β} = 7.0 Hz, H- β), 3.36-3.68 (m, 8H, H-7, H-8, H-10, H- α), 3.76-3.84 (m, 2H, H-3, H-6), 4.55 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 6.0, *J*_{3,4} = 3.5 Hz, H-4), 4.62 (dd, 1H, *J*_{5,6} = 4.0 Hz, H-5), 4.96-5.03 (m, 4H, CH₂-Ph), 5.07 (s, 2H, CH₂-Ph), 5.12 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.94-7.09 (m, 3H, H-Ar), 7.22-7.37 (m, 21H, H-Ar), 7.55 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-Ar). **¹³C NMR (MeOH d₄, 62.9 MHz):** δ = 25.0 (CH₃), 26.1 (C- β), 26.3 (CH₃), 27.8 (C-9), 36.7 (C-2), 39.4 (C-10), 41.3 (C- α), 41.5 (C-8), 48.9 (C-7), 68.4 (CH₂-Ph), 68.7 (2 CH₂-Ph), 69.2 (CH₂-Ph), 79.7 (C-3), 80.1 (C-6), 82.1 (C-4), 83.0 (C-5), 112.3 (C-Ar), 113.3 (C-Ar), 113.7 (C(CH₃)₂), 119.4 (C-Ar), 119.7 (C-Ar), 122.4 (C-Ar), 123.5 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 129.0 (2 C-Ar), 129.1 (C-Ar), 129.2 (2 C-Ar), 129.3 (C-Ar), 129.5 (8 C-Ar), 129.6 (C-Ar), 129.7 (4 C-Ar), 136.5 (2 C-Ar), 138.1 (C-Ar), 138.2 (2 C-Ar), 154.6 (2 C=N), 157.4 (2 NHCOO), 164.8 (2 NHCOO), 172.7 (CONH). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 1073.4374 (calculated for C₅₇H₆₂N₈O₁₂Na: 1073.4379). **IR** (NaCl) ν = 1754, 1730, 1640 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-[[*N*-bis[(phenylmethoxy)carbonyl]aminoiminomethyl]-*N*-[4-bis[(phenylmethoxy)carbonyl]guanidinobutyl]amino]-L-galacto-heptonamide 141

Prepared starting from **138** following procedure described for **140**.



Yield 25% as a white solid

 $C_{58}H_{64}N_8O_{12}$

M.W.: 1064.46 g/mol

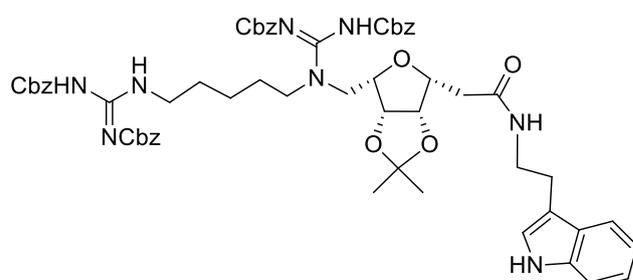
 $R_f = 0.59$ (EA) $[\alpha]_D = 10.3^\circ$ ($c = 0.2$, $CHCl_3$)

Mp = 68°C

1H NMR (MeOH d_4 , 250 MHz): $\delta = 1.25$ (s, 3H, CH_3), 1.35 (s, 3H, CH_3), 1.42-1.69 (m, 4H, $H-9$, $H-10$), 2.50-2.59 (m, 2H, $H-2$), 2.94 (t, 2H, $J_{\alpha\beta} = 7.0$ Hz, $H-\beta$), 3.37-3.54 (m, 6H, $H-8$, $H-11$, $H-\alpha$), 3.61-3.71 (m, 2H, $H-7$), 3.76-3.84 (m, 2H, $H-3$, $H-6$), 4.59-4.68 (m, 2H, $H-4$, $H-5$), 5.04-5.06 (m, 4H, CH_2 -Ph), 5.11 (s, 2H, CH_2 -Ph), 6.20 (s, 2H, CH_2 -Ph), 6.98-7.12 (m, 3H, H -Ar), 7.25-7.43 (m, 21H, H -Ar), 7.58 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H -Ar). **^{13}C NMR (MeOH d_4 , 62.9 MHz):** $\delta = 25.1$ (CH_3), 26.3 (CH_3), 26.4, 27.2, 28.2 ($C-\beta$, $C-9$, $C-10$), 41.5 ($C-\alpha$), 41.7 ($C-8$), 50.0 ($C-7$, $C-12$), 68.5 (CH_2 -Ph), 68.9 (2 CH_2 -Ph), 69.4 (CH_2 -Ph), 79.8 ($C-3$), 80.3 ($C-6$), 82.3 ($C-4$), 83.1 ($C-5$), 112.4 (C -Ar), 113.4 (C -Ar), 113.9 ($C(CH_3)_2$), 119.5 (C -Ar), 119.8 (C -Ar), 122.5 (C -Ar), 123.7 (C -Ar), 128.9 (C -Ar), 128.9 (2 C -Ar), 129.0 (2 C -Ar), 129.1 (C -Ar), 129.2 (2 C -Ar), 129.4 (C -Ar), 129.6 (8 C -Ar), 129.7 (C -Ar), 129.9 (4 C -Ar), 136.7 (2 C -Ar), 138.3 (2 C -Ar), 138.4 (C -Ar), 154.8 ($C=N$), 154.9 ($C=N$), 157.5 (2 $NHCOO$), 165.0 (2 $NHCOO$), 172.9 ($CONH$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 1087.4492$ (calculated for $C_{58}H_{64}N_8O_{12}Na$: 1087.4536). **IR** (NaCl) $\nu = 1728, 1638, 1622$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-[[N-bis[(phenylmethoxy)carbonyl]]aminoiminomethyl]-N-[5-bis[(phenylmethoxy)carbonyl]]guanidinopentyl]amino]-L-galacto-heptonamide 142

Prepared starting from **139** following procedure described for **140**.



Yield 35% as a white solid

 $C_{59}H_{66}N_8O_{12}$

M.W.: 1078.48 g/mol

 $R_f = 0.63$ (EA) $[\alpha]_D = 12.3^\circ$ ($c = 0.5$, $CHCl_3$)

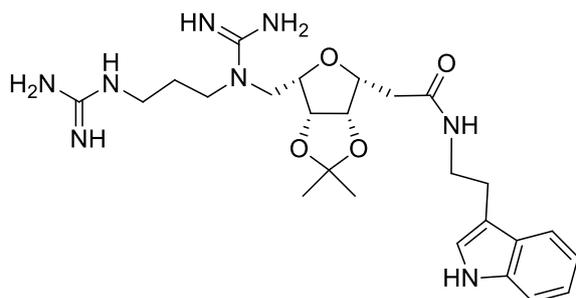
Mp = 70°C

1H NMR (MeOH d_4 , 400 MHz): $\delta = 1.24$ (s, 3H, CH_3), 1.26-1.33 (m, 2H, $H-10$), 1.35 (s, 3H, CH_3), 1.50-1.64 (m, 4H, $H-9$, $H-11$), 2.50-2.52 (m, 2H, $H-2$), 2.93 (t, 2H, $J_{\alpha\beta} = 7.5$ Hz, $H-\beta$), 3.30-3.51 (m, 6H, $H-8$, $H-12$, $H-\alpha$), 3.58-3.68 (m, 2H, $H-7$), 3.74 (m, 1H, $H-6$), 3.84 (m, 1H, $H-3$), 4.59-4.64 (m, 2H, $H-4$, $H-5$), 5.03 (s, 4H, CH_2 -Ph), 5.10 (s, 2H, CH_2 -Ph), 5.19 (s, 2H, CH_2 -Ph), 6.98-7.09 (m, 3H, H -Ar), 7.25-7.40 (m, 21H, H -Ar), 7.57 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H -Ar). **^{13}C NMR (MeOH d_4 , 100 MHz):** $\delta = 24.7$ ($C-10$), 24.9 (CH_3), 26.1 ($C-\beta$), 26.3 (CH_3), 27.6, 29.4 ($C-9$, $C-11$), 36.7 ($C-2$), 41.4 ($C-\alpha$), 41.8 ($C-8$), 49.1 ($C-7$), 50.1 ($C-12$), 68.4 (CH_2 -Ph), 68.7 (2 CH_2 -Ph), 69.3 (CH_2 -Ph), 79.6 ($C-3$), 80.2 ($C-6$), 82.1 ($C-4$), 83.0 ($C-5$), 112.3 (C -Ar), 113.3 (C -Ar), 113.7 ($C(CH_3)_2$), 119.4 (C -Ar), 119.6 (C -Ar), 122.3 (C -Ar), 123.5 (C -Ar), 128.9 (C -Ar), 129.0 (4 C -Ar), 129.1 (4 C -Ar), 129.5 (8 C -Ar), 129.7 (4 C -Ar), 136.5 (2 C -Ar), 138.1 (C -Ar), 138.3 (2 C -Ar), 154.8 (2 $C=N$), 157.3 (2 $NHCOO$), 164.8 (2 $NHCOO$), 172.8

(CONH). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 1101.4706$ (calculated for $C_{59}H_{66}N_8O_{12}Na$: 1101.4692). **IR** (NaCl) $\nu = 1759, 1728, 1643\text{ cm}^{-1}$

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-[N-(aminoiminomethyl)-N-(3-guanidinopropyl)amino]-L-galacto-heptonamide 143

To a solution of **140** (110 mg, 0.1 mmol) in MeOH (10 mL) was added Pd/C (10%) (10% w/w). After stirring under H_2 atmosphere (30 psi) until completion of the reaction, the mixture was filtered through a pad of celite and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude was purified by column chromatography (C-18 silica gel, $H_2O/ACN/0.1\%$ TFA) and lyophilized to provide **143**.



Yield 94% as a white solid

$C_{25}H_{38}N_8O_4$

M.W.: 514.62 g/mol

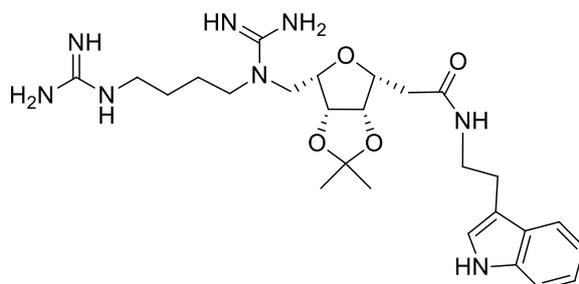
$R_f = 0.27$ ($H_2O/MeCN/TFA$: 6/4/0.1%)

$[\alpha]_D = 11.2^\circ$ ($c = 0.1$, MeOH)

1H NMR (MeOH d_4 , 250 MHz): $\delta = 1.30$ (s, 3H, CH_3), 1.45 (s, 3H, CH_3), 1.88-1.94 (m, 2H, $H-9$), 2.58 (d, 2H, $J_{gem} = 7.0$ Hz, $H-2$), 2.95 (t, 2H, $J_{\alpha\beta} = 7.0$ Hz, $H-\beta$), 3.18 (t, 2H, $J_{9,10} = 7.0$ Hz, $H-10$), 3.40-3.78 (m, 7H, $H-6$, $H-7$, $H-8$, $H-\alpha$), 3.91 (m, 1H, $H-3$), 4.67 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $H-4$), 4.77 (m, 1H, $H-5$), 6.96-7.11 (m, 3H, $H-Ar$), 7.33 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, $H-Ar$), 7.56 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, $H-Ar$). **^{13}C NMR (MeOH d_4 , 62.9 MHz):** $\delta = 23.5$ (CH_3), 25.0, 25.1 ($C-\beta$, CH_3), 25.8 ($C-9$), 35.3 ($C-2$), 38.6 ($C-7$), 40.4 ($C-\alpha$), 45.0 ($C-8$), 48.7 ($C-10$), 78.8 ($C-3$), 79.0 ($C-6$), 81.1 ($C-4$), 81.6 ($C-5$), 111.1 ($C-Ar$), 112.1 ($C-Ar$), 112.6 ($C(CH_3)_2$), 118.1 ($C-Ar$), 118.4 ($C-Ar$), 121.2 ($C-Ar$), 122.3 ($C-Ar$), 127.7 ($C-Ar$), 137.0 ($C-Ar$), 157.6 ($C=N$), 157.7 ($C=N$), 171.7 (CONH). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 537.2930$ (calculated for $C_{25}H_{38}N_8O_4Na$: 537.2908). **IR** (NaCl) $\nu = 3351, 1651, 1607\text{ cm}^{-1}$

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-[N-(aminoiminomethyl)-N-(4-guanidinobutyl)amino]-L-galacto-heptonamide 144

Prepared starting from **141** following procedure described for the synthesis of **143**.



Yield 85% as a white solid

$C_{26}H_{40}N_8O_4$

M.W.: 528.65 g/mol

$R_f = 0.23$ ($H_2O/MeCN/TFA$: 6/4/0.1%)

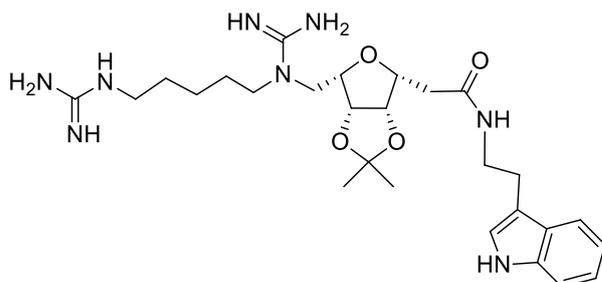
$[\alpha]_D = 5.0^\circ$ ($c = 0.1$, MeOH)

1H NMR (MeOH d_4 , 250 MHz): $\delta = 1.30$ (s, 3H, CH_3), 1.46 (s, 3H, CH_3), 1.59-1.71 (m, 4H, $H-9$, $H-10$), 2.57-2.61 (m, 2H, $H-2$), 2.95 (t, 2H, $J_{\alpha\beta} = 7.0$ Hz, $H-\beta$), 3.20 (t, 2H, $H-11$), 3.38-3.69 (m, 6H, $H-7$, $H-8$, $H-\alpha$), 3.78 (m, 1H, $H-6$), 3.94 (m, 1H, $H-3$), 4.68 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $H-4$), 4.83 (m, 1H, $H-5$), 6.97-7.11 (m, 3H, $H-Ar$), 7.34 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, $H-Ar$), 7.56 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, $H-Ar$). **^{13}C NMR (MeOH d_4 , 62.9 MHz):** $\delta = 24.7$ (CH_3), 25.3 (CH_3), 26.2, 26.3, 26.8 ($C-\beta$, $C-9$, $C-10$), 36.4 ($C-$

2), 41.6 (C- α), 42.2 (C-7), 49.9 (C-8), 50.4 (C-11), 79.9 (C-3), 80.2 (C-6), 82.3 (C-4), 82.8 (C-5), 112.3 (C-Ar), 113.2 (C-Ar), 113.7 (C(CH₃)₂), 119.3 (C-Ar), 119.6 (C-Ar), 122.3 (C-Ar), 123.5 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 138.1 (C-Ar), 158.6 (C=N), 158.8 (C=N), 172.9 (CONH). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 551.3039 (calculated for C₂₆H₄₀N₈O₄Na: 551.3065). **IR** (NaCl) ν = 3379, 1681 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-[N-(aminoiminomethyl)-N-(5-guanidinopentyl)amino]-L-galacto-heptonamide **145**

Prepared starting from **141** following procedure described for the synthesis of **143**.



Yield 94% as a white solid

C₂₇H₄₂N₈O₄

M.W.: 542.33 g/mol

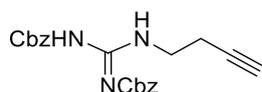
R_f = 0.20 (H₂O/MeCN/TFA: 6/4/0.1%)

[α]_D = 6.9° (c = 0.2, MeOH)

¹H NMR (MeOH d₄, 250 MHz): δ = 1.30 (s, 3H, CH₃), 1.46 (s, 3H, CH₃), 1.30-1.42 (m, 2H, H-10), 1.56-1.70 (m, 4H, H-9, H-11), 2.59 (d, 2H, $J_{2,3}$ = 6.5 Hz, H-2), 2.94 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta}$ = 7.5 Hz, H- β), 3.17 (t, 2H, $J_{11,12}$ = 7.0 Hz, H-12), 3.31-3.67 (m, 6H, H- α , H-8, H-7), 3.76 (m, 1H, H-6), 3.94 (m, 1H, H-3), 4.68 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0, $J_{5,6}$ = 3.5 Hz, H-5), 4.77 (dd, 1H, $J_{3,4}$ = 3.5 Hz, H-4), 6.97-7.12 (m, 3H, H-Ar), 7.33 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H-Ar), 7.57 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H-Ar). **¹³C NMR (MeOH d₄, 62.9 MHz):** δ = 24.6 (CH₃), 24.7 (CH₃), 26.2, 26.3 (C- β , C-10), 27.6, 29.6 (C-9, C-11), 36.5 (C-2), 41.6 (C-7), 42.3 (C- α), 49.7 (C-8), 50.7 (C-12), 79.9 (C-3), 80.2 (C-6), 82.3 (C-4), 82.8 (C-5), 112.3 (C-Ar), 113.3 (C(CH₃)₂), 113.7 (C-Ar), 119.3 (C-Ar), 119.6 (C-Ar), 122.3 (C-Ar), 123.4 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 138.2 (C-Ar), 158.7 (C-gua), 158.8 (C-gua), 172.8 (CONH). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 565.3200 (calculated for C₂₇H₄₂N₈O₄Na: 565.3221). **IR** (NaCl) ν = 3327, 1657, 1617 cm⁻¹

N,N'-bis-benzyloxycarbonyl-N''-(but-3-ynyl)-guanidine **146**

To a cooled solution of butyn-4-ol (151 μ L, 2.0 mmol, 1 eq.), N,N'-bis(benzyloxycarbonyl)guanidine (650 mg, 2.0 mmol, 1 eq.) and PPh₃ (630 mg, 2.4 mmol, 1.2 eq.) in dry toluene (10 mL), was added dropwise over 5 minutes a solution of diethylazodicarboxylate (DEAD, 378 μ L, 2.4 mmol, 1.2 eq.) in toluene (5 mL) under argon atmosphere. The mixture was stirred at room temperature for 4h and the solvent was removed *in vacuo*. The crude was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **146**.



Yield: 92% as a colorless oil

C₂₁H₂₁N₃O₄

M.W.: 379.41 g/mol

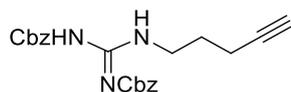
R_f: 0.68 (cH/EA: 8/2)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.92 (t, 1H, J = 2.0 Hz, C \equiv C-H), 2.57 (td, 2H, J = 7.0 Hz, CH₂), 4.22 (t, 2H, CH₂), 5.18 (s, 2H, CH₂-Ph), 5.28 (s, 2H, CH₂-Ph), 7.32-7.45 (m, 10H, 10 H-Ar), 9.29 (br s, 1H, NH), 9.47 (br s, 1H, NH). **¹³C NMR (62.9 MHz, CDCl₃):** δ = 17.5 (CH₂), 41.8 (CH₂), 66.0 (C \equiv C-H), 67.9, 69.0 (2 CH₂-Ph), 79.7 (C \equiv C-H), 126.8 (C-Ar), 126.9 (2 C-Ar), 127.3 (4 C-Ar), 127.7 (3 C-Ar),

133.5 (C-Ar), 135.9 (C-Ar), 154.7 (C=N), 159.1 (C=O), 162.7 (C=O). **IR** (film) ν : 3388, 3289, 3033, 2947, 1718, 1645, 1610, 1508.

N,N'-bis-benzyloxycarbonyl-*N''*-(pent-4-ynyl)-guanidine **147**

Prepared starting from pentyn-5-ol (185 μ L, 2.0 mmol) following procedure described for **146**.



Yield: 89% as a colorless oil

$C_{22}H_{23}N_3O_4$

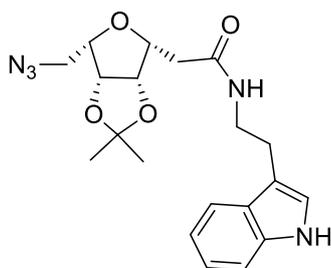
M.W.: 393.44 g/mol

R_f: 0.75 (cH/EA: 8/2)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.81-1.93 (m, 3H, CH₂, C \equiv C-H), 2.22 (td, 2H, J = 7.0, J = 7.0 Hz, CH₂), 4.13 (t, 2H, CH₂), 5.19 (s, 2H, CH₂-Ph), 5.28 (s, 2H, CH₂-Ph), 7.31-7.45 (m, 10H, 10 *H*-Ar), 9.32 (br s, 1H, NH), 9.48 (br s, 1H, NH). **¹³C NMR (62.9 MHz, CDCl₃)**: δ = 14.9 (CH₂), 26.4 (CH₂), 43.0 (CH₂), 66.0 (C \equiv C-H), 67.5, 67.9 (2 CH₂-Ph), 82.4 (C \equiv C-H), 126.7 (C-Ar), 126.8 (2 C-Ar), 127.3 (4 C-Ar), 127.6 (2 C-Ar), 127.7 (C-Ar), 133.6 (C-Ar), 135.9 (C-Ar), 154.8 (C=N), 159.5 (C=O), 162.8 (C=O). **IR** (film) ν : 3393, 3289, 3033, 2952, 1716, 1645, 1610, 1511.

3,6-anhydro-7-azido-2,7-dideoxy-N-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-L-galactonamide **148**

To a solution of **136** (1.0 g, 1.9 mmol) in DMF (10 mL) was added sodium azide (1.0 g, 15.2 mmol, 8 eq.) and the mixture was stirred for 2 days at 80°C. The solvent was removed in vacuo and the residue was diluted with EtOAc (50 mL) and washed with H₂O (20 mL) and brine (20 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was evaporated under reduced pressure. The compound was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **148**.



Yield 88% as a colorless gum

$C_{20}H_{25}N_5O_4$

M.W.: 399.44 g/mol

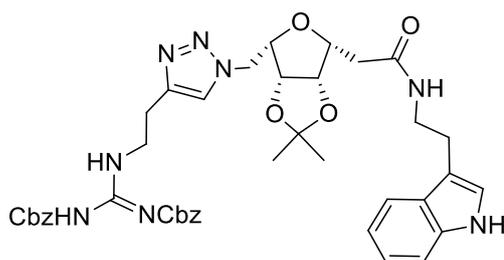
R_f = 0.49 (CH₂Cl₂/MeOH: 9/1)

$[\alpha]_D = 9.7^\circ$ (c = 0.4, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.27 (s, 3H, C(CH₃)), 1.42 (s, 3H, C(CH₃)), 2.57 (d, 2H, $J_{2,3}$ = 6.5 Hz, *H*-2), 2.98 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta}$ = 6.5 Hz, *H*- β), 3.43 (dd, 2H, J_{gem} = 7.5, $J_{6,7}$ = 3.0 Hz, *H*-7), 3.52-3.70 (m, 3H, *H*-6, *H*- α), 3.86 (td, 1H, $J_{3,4}$ = 2.5 Hz, *H*-3), 4.59-4.66 (m, 2H, *H*-4, *H*-5), 6.04 (t, 1H, J = 5.0 Hz, CONH), 7.05-7.24 (m, 3H, *H*-Ar), 7.38 (d, 1H, J = 8.0, *H*-Ar), 7.62 (d, 1H, J = 8.0 Hz, *H*-Ar), 8.11 (s, 1H, NH-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz)**: δ = 24.7 (CH₃), 25.2 (CH₃), 25.9 (C- β), 36.3 (C-2), 40.0 (C- α), 49.6 (C-7), 78.4 (C-3), 80.0 (C-6), 80.7 (C-4), 81.5 (C-5), 111.4 (C(CH₃)₂), 112.8 (C-Ar), 113.0 (C-Ar), 118.8 (C-Ar), 119.5 (C-Ar), 122.1 (C-Ar), 122.3 (C-Ar), 127.6 (C-Ar), 136.5 (C-Ar), 170.4 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 422.1821 (calculated for C₂₀H₂₅N₅O₄Na: 422.1799). **IR** (NaCl) ν = 2099, 1655 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-[4-[2-[N-bis(phenylmethoxy)carbonyl]guanidinoethyl][1,2,3]triazol-1-yl]-L-galacto-heptonamide 149

To a solution of **148** (300 mg, 0.75 mmol, 1 eq.) and **146** (284 mg, 0.75 mmol, 1 eq.) in CH₂Cl₂ (4 mL) were added H₂O (4 mL), CuSO₄·5H₂O (8 mg, 0.04 mmol, 0.05 eq.) and sodium ascorbate (15 mg, 0.075 mmol, 0.1 eq.). After completion of the reaction, the solution mixture was diluted with water and CH₂Cl₂ (20 mL) and the layers were separated. The aqueous layer was washed with CH₂Cl₂ (2x20 mL) and the combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The compound was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **149**.



Yield 80 % as a white solid

C₄₁H₄₆N₈O₈

M.W.: 778.85 g/mol

R_f = 0.46 (EA)

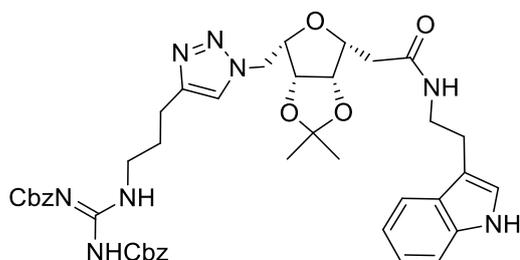
[α]_D = -3.5° (c = 0.2, CHCl₃)

Mp = 72°C

¹H NMR (MeOH d₄, 250 MHz): δ = 1.29 (s, 3H, C(CH₃)), 1.47 (s, 3H, C(CH₃)), 2.53-2.58 (m, 2H, H-2), 2.86-2.93 (m, 2H, H-8), 2.89 (t, 2H, J_{α,β} = 7.5 Hz, H-β), 3.40-3.50 (m, 2H, H-α), 3.78 (m, 1H, H-6), 3.85 (m, 1H, H-3), 4.11-4.19 (m, 2H, H-10), 4.40 (dd, 1H, J_{gem} = 14.0, J_{6,7} = 8.0 Hz, H-7), 4.57 (dd, 1H, J_{6,7'} = 4.0 Hz, H-7'), 4.62-4.70 (m, 2H, H-4, H-5), 5.09 (s, 2H, CH₂-Ph), 5.11 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.93-7.08 (m, 3H, H-Ar), 7.24-7.40 (m, 11H, H-Ar), 7.53 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H-Ar), 7.59 (s, 1H, H-triazole). **¹³C NMR (MeOH d₄, 62.9 MHz):** δ = 24.9 (CH₃), 25.8 (C-8), 26.2, 26.3 (CH₃, C-β), 36.6 (C-2), 41.5 (C-α), 45.4 (C-9), 50.5 (C-7), 68.3 (CH₂-Ph), 69.9 (CH₂-Ph), 79.7 (C-3), 80.7 (C-6), 82.2, 82.9 (C-4, C-5), 112.3 (C-Ar), 113.2 (C-Ar), 113.8 (C(CH₃)₂), 119.3 (C-Ar), 119.6 (C-Ar), 122.3 (C-Ar), 123.5 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 128.9 (4 C-Ar), 129.5 (5 C-Ar), 129.6 (C-Ar), 129.7 (2 C-Ar), 136.5 (C-Ar), 138.1 (C-Ar), 138.5 (C-Ar), 156.7 (NHCOO), 161.7 (C=N), 164.9 (NHCOO), 172.9 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 801.3316 (calculated for C₄₁H₄₆N₈O₈Na: 801.3331). **IR (NaCl) ν** = 1721, 1648, 1612 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-[4-[3-[N-bis(phenylmethoxy)carbonyl]guanidinopropyl][1,2,3]triazol-1-yl]-L-galacto-heptonamide 150

Prepared starting from **148** and **147** following procedure described for **149**.



Yield 70% as a white solid

C₄₂H₄₈N₈O₈

M.W.: 792.88 g/mol

R_f = 0.43 (EA)

[α]_D = -5.5° (c = 0.2, CHCl₃)

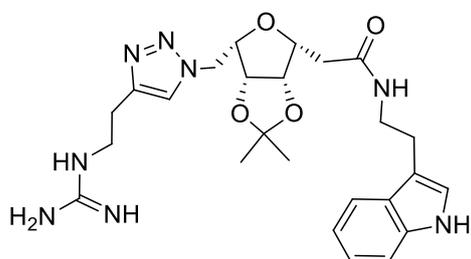
Mp = 62°C

¹H NMR (MeOH d₄, 400 MHz): δ = 1.28 (s, 3H, C(CH₃)), 1.46 (s, 3H, C(CH₃)), 1.83-1.90 (m, 2H, H-9), 2.51 (dd, 1H, J_{gem} = 15.0, J_{2,3} = 5.5 Hz, H-2), 2.55-2.61 (m, 3H, H-8, H-2'), 2.87 (t, 2H, J_{α,β} = 7.0 Hz, H-β), 3.35-3.49 (m, 2H, H-α), 3.77-3.85 (m, 2H, H-3, H-6), 3.88-3.92 (m, 2H, H-10), 4.38 (dd, 1H,

$J_{\text{gem}} = 14.5$, $J_{6,7} = 8.5$ Hz, $H-7$), 4.53 (dd, 1H, $J_{6,7} = 4.0$ Hz, $H-7'$), 4.60-4.64 (m, 2H, $H-4$, $H-5$), 5.09 (d, 2H, $J = 2.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 5.11 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 6.95-7.08 (m, 3H, $H\text{-Ar}$), 7.24-7.37 (m, 11H, $H\text{-Ar}$), 7.53 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, $H\text{-Ar}$), 7.69 (s, 1H, $H\text{-triazole}$). ^{13}C NMR (MeOH d_4 , 100 MHz): $\delta = 23.4$ (C-8), 24.8 (CH_3), 26.2 (CH_3 , C- β), 28.9 (C-9), 36.6 (C-2), 41.5 (C- α), 45.4 (C-10), 50.4 (C-7), 68.2 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 69.9 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 79.7 (C-3), 80.7 (C-6), 82.2, 82.9 (C-4, C-5), 112.3 (C-Ar), 113.2 (C-Ar), 113.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 119.3 (C-Ar), 119.6 (C-Ar), 122.3 (C-Ar), 123.5 (C-Ar), 124.0 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 128.9 (3 C-Ar), 129.4 (2 C-Ar), 129.5 (2 C-Ar), 129.7 (3 C-Ar), 136.5 (C-Ar), 138.1 (C-Ar), 138.5 (C-Ar), 148.2 (C-Ar), 156.8 (NHCOO), 161.9 (C=N), 165.0 (NHCOO), 172.9 (C=O). ESI-HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 815.3480$ (calculated for $\text{C}_{42}\text{H}_{48}\text{N}_8\text{O}_8\text{Na}$: 815.3487). IR (NaCl) $\nu = 3388, 3279, 1723, 1648, 1610$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-*N*-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-[4-(2-guanidinoethyl)[1,2,3]triazol-1-yl]-*L*-galacto-heptonamide 151

Prepared starting from 149 following procedure described for 143.

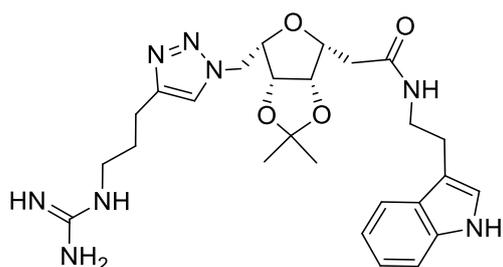


Yield 90 % as a white solid
 $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_8\text{O}_4$
 M.W.: 510.59 g/mol
 $R_f = 0.0$ (EA)
 $[\alpha]_D = -11.9^\circ$ ($c = 0.2$, MeOH)
 $\text{Mp} = 138^\circ\text{C}$

^1H NMR (MeOH- d_4 , 400 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)$), 1.50 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)$), 2.55-2.65 (m, 2H, $H-2$), 2.89-2.94 (m, 4H, $H-8$, $H\text{-}\beta$), 3.41-3.49 (m, 4H, $H-9$, $H\text{-}\alpha$), 3.87-3.93 (m, 2H, $H-3$, $H-6$), 4.53 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 14.0$, $J_{6,7} = 8.5$ Hz, $H-7$), 4.66-4.77 (m, 3H, $H-7'$, $H-4$, $H-5$), 6.99-7.11 (m, 3H, $H\text{-Ar}$), 7.35 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, $H\text{-Ar}$), 7.57 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, $H\text{-Ar}$), 7.80 (s, 1H, $H\text{-triazole}$). ^{13}C NMR (MeOH- d_4 , 100 MHz): $\delta = 24.9$ (CH_3), 26.1 (C-8), 26.2 (CH_3 , C- β), 36.5 (C-2), 41.5 (C- α), 41.9 (C-9), 50.6 (C-7), 79.7 (C-3), 80.7 (C-6), 82.2, 82.9 (C-4, C-5), 112.3 (C-Ar), 113.2 (C-Ar), 113.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 119.3 (C-Ar), 119.6 (C-Ar), 122.3 (C-Ar), 123.5 (C-Ar), 124.8 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 138.1 (C-Ar), 145.3 (C-Ar), 158.9 (C=N), 172.9 (C=O). ESI-HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 533.2597$ (calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_8\text{O}_4\text{Na}$: 533.2595). IR (pellets) $\nu = 3327, 1652$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-*N*-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-[4-(3-guanidinopropyl)[1,2,3]triazol-1-yl]-*L*-galacto-heptonamide 152

Prepared starting from 150 following procedure described for 143.

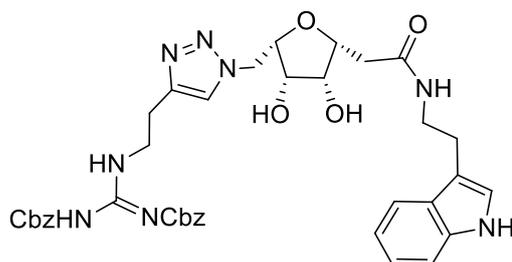


Yield 90% as a white solid
 $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_8\text{O}_4$
 M.W.: 524.62 g/mol
 $R_f = 0.0$ (EA)
 $[\alpha]_D = -11.6^\circ$ ($c = 0.2$, MeOH)
 $\text{Mp} = 132^\circ\text{C}$

¹H NMR (MeOH-d₄, 250 MHz): δ = 1.32 (s, 3H, C(CH₃)), 1.49 (s, 3H, C(CH₃)), 1.83-1.89 (m, 2H, H-9), 2.56-2.61 (m, 2H, H-2), 2.68 (t, 2H, $J_{8,9}$ = 8.0 Hz, H-8), 2.91 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta}$ = 7.5 Hz, H- β), 3.11 (t, 2H, $J_{9,10}$ = 7.0 Hz, H-10), 3.43-3.49 (m, 2H, H- α), 3.86-3.95 (m, 2H, H-3, H-6), 4.51 (dd, 1H, J_{gem} = 14.5, $J_{6,7}$ = 8.5 Hz, H-7), 4.68 (m, 1H, H-7'), 4.73-4.80 (m, 2H, H-4, H-5), 6.96-7.11 (m, 3H, H-Ar), 7.33 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H-Ar), 7.55 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H-Ar), 7.73 (s, 1H, H-triazole). **¹³C NMR (MeOH-d₄, 62.9 MHz):** δ = 23.2 (C-8), 24.9 (CH₃), 26.2 (CH₃, C- β), 29.6 (C-9), 36.6 (C-2), 41.5 (C- α), 41.7 (C-10), 50.6 (C-7), 79.8 (C-3), 80.8 (C-6), 82.3, 83.0 (C-4, C-5), 112.3 (C-Ar), 113.3 (C-Ar), 113.9 (C(CH₃)₂), 119.3 (C-Ar), 119.7 (C-Ar), 122.4 (C-Ar), 123.6 (C-Ar), 124.2 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 138.2 (C-Ar), 147.8 (C-Ar), 159.0 (C=N), 173.0 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 547.2752 (calculated for C₂₆H₃₆N₈O₄Na: 547.2752). **IR** (pellets) ν = 3355, 1650 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-7-[4-[2-[N-bis(phenylmethoxy)carbonyl]guanidinoethyl][1,2,3]triazol-1-yl]-L-galacto-heptonamide 153

To a stirred solution of **149** (250 mg, 0.32 mmol) in H₂O (2 ml) at 0°C was added trifluoroacetic acid (2 ml). After completion of the reaction (tlc monitoring), the solution mixture was diluted with EtOAc (50 mL) and NaHCO₃ sat. aq. was added until pH 5-6. The product was extracted with EtOAc (2x15 ml) and the combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The compound was purified by column chromatography (silica gel, EA/MeOH) to provide **153**.



Yield 85 % as a colorless gum

C₃₈H₄₂N₈O₈

M.W.: 738.79 g/mol

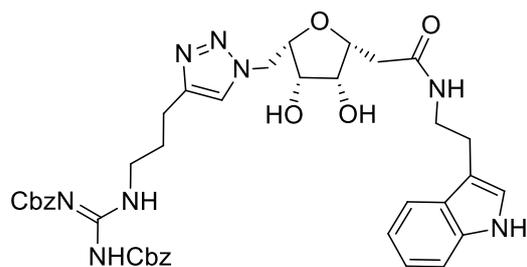
R_f = 0.23 (EA/MeOH: 9/1)

[α]_D = -5.8° (c = 0.1, MeOH)

¹H NMR (MeOH-d₄, 250 MHz): δ = 2.46-2.58 (m, 2H, H-2), 4.02 (m, 4H, H-8, H- β), 3.46 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta}$ = 7.0 Hz, H- α), 4.01-4.18 (m, 5H, H-4, H-5, H-6, H-9), 4.30 (t, 1H, $J_{2,3}$ = 5.5 Hz, H-3), 4.41 (dd, 1H, J_{gem} = 14.5, $J_{6,7}$ = 9.0 Hz, H-7), 4.56 (dd, 1H, $J_{6,7'}$ = 3.5 Hz, H-7'), 5.08 (s, 3H, CH₂-Ph), 5.11 (s, 3H, CH₂-Ph), 6.92-7.08 (m, 3H, H-Ar), 7.25-7.37 (m, 11H, H-Ar), 7.52 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H-Ar), 7.58 (s, 1H, H-triazole). **¹³C NMR (MeOH-d₄, 62.9 MHz):** δ = 25.8, 26.3 (C-8, C- β), 38.4 (C-2), 41.5 (C- α), 45.4 (C-9), 52.7 (C-7), 68.4, 69.9 (CH₂-Ph), 73.3 (C-4, C-5), 79.0 (C-3), 79.9 (C-6), 112.3 (C-Ar), 113.2 (C-Ar), 119.3 (C-Ar), 119.6 (C-Ar), 122.3 (C-Ar), 123.4 (C-Ar), 124.6 (C-Ar), 128.9 (4 C-Ar), 129.4 (4 C-Ar), 129.7 (4 C-Ar), 136.4 (C-Ar), 138.1 (C-Ar), 138.5 (C-Ar), 156.7 (C=N), 161.7 (2 C=O), 163.2 (TFA), 173.9 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 761.3011 (calculated for C₃₈H₄₂N₈O₈Na: 761.3018). **IR** (pellets) ν = 3325, 1665, 1632 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-7-[4-[3-[N-bis(phenylmethoxy)carbonyl]guanidinopropyl][1,2,3]triazol-1-yl]-L-galacto-heptonamide 154

Prepared starting from **150** following procedure described for **153**.



Yield 53% as a colorless gum

 $C_{39}H_{44}N_8O_8$

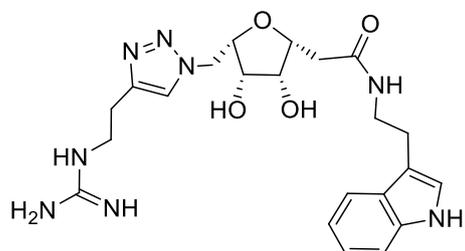
M.W.: 752.82 g/mol

 $R_f = 0.34$ (EA/MeOH: 9/1) $[\alpha]_D = -2.0^\circ$ (c = 0.2, MeOH)

1H NMR (MeOH- d_4 , 250 MHz): $\delta = 1.82$ - 1.93 (m, 2H, $H-9$), 2.47 - 2.61 (m, 4H, $H-2$, $H-8$), 2.85 - 2.90 (m, 2H, $H-\beta$), 3.44 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta} = 7.0$ Hz, $H-\alpha$), 3.89 (t, 2H, $J_{9,10} = 7.5$ Hz, $H-10$), 4.04 - 4.15 (m, 3H, $H-4$, $H-5$, $H-6$), 4.29 (t, 1H, $J_{2,3} = 5.5$ Hz, $H-3$), 4.42 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5$, $J_{6,7} = 9.0$ Hz, $H-7$), 4.54 (dd, 1H, $J_{6,7} = 3.5$ Hz, $H-7'$), 5.11 (s, 2H, CH_2 -Ph), 5.18 (s, 2H, CH_2 -Ph), 6.92 - 7.07 (m, 3H, H -Ar), 7.25 - 7.38 (m, 11H, H -Ar), 7.52 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H -Ar), 7.69 (s, 1H, H -triazole). **^{13}C NMR (MeOH- d_4 , 62.9 MHz):** $\delta = 23.3$ (C-9), 26.3 , 28.7 (C-8, C- β), 38.5 (C-2), 41.5 (C- α), 45.8 (C-10), 52.7 (C-7), 68.5 , 70.1 (CH_2 -Ph), 73.3 (C-4, C-5), 79.0 (C-3), 79.9 (C-6), 112.2 (C-Ar), 113.2 (C-Ar), 119.3 (C-Ar), 119.6 (C-Ar), 122.3 (C-Ar), 123.5 (C-Ar), 124.2 (C-Ar), 128.7 (C-Ar), 129.0 (3 C-Ar), 129.4 (2 C-Ar), 129.5 (2 C-Ar), 129.7 (4 C-Ar), 136.4 (C-Ar), 138.1 (C-Ar), 138.2 (C-Ar), 156.5 (C=N), 161.4 (2 C=O), 163.0 (TFA), 173.9 (C=O). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 775.3172$ (calculated for $C_{39}H_{44}N_8O_8Na$: 775.3174). **IR** (pellets) $\nu = 3368$, 1668 , 1645 cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-7-[4-(3-guanidinopropyl)[1,2,3]triazol-1-yl]-L-galacto-heptonamide 155

Prepared starting from **153** following procedure described for **143**.



Yield 80 % as a colorless gum

 $C_{22}H_{30}N_8O_4$

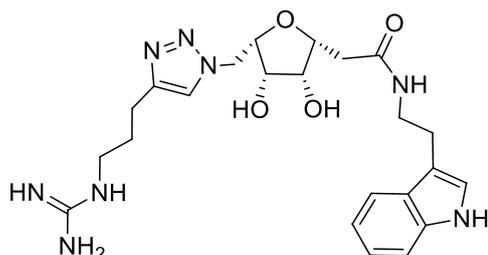
M.W.: 470.52 g/mol

 $R_f = 0.58$ (H_2O /MeCN/TFA: 4/6/0.1%) $[\alpha]_D = -9.0^\circ$ (c = 0.1, MeOH)

1H NMR (MeOH- d_4 , 250 MHz): $\delta = 2.56$ - 2.61 (m, 2H, $H-2$), 2.85 - 2.96 (m, 4H, $H-8$, $H-\beta$), 3.40 - 3.51 (m, 4H, $H-\alpha$, $H-9$), 4.11 - 4.19 (m, 3H, $H-4$, $H-5$, $H-6$), 4.37 (t, 1H, $J_{2,3} = 5.5$ Hz, $H-3$), 4.52 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.0$, $J_{6,7} = 9.0$ Hz, $H-7$), 4.65 (dd, 1H, $J_{6,7} = 3.0$ Hz, $H-7'$), 6.96 - 7.11 (m, 3H, H -Ar), 7.32 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H -Ar), 7.55 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H -Ar), 7.77 (s, 1H, H -triazole). **^{13}C NMR (MeOH- d_4 , 62.9 MHz):** $\delta = 24.9$, 25.1 (C-8, C- β), 37.3 (C-2), 40.4 (C- α), 40.7 (C-9), 51.7 (C-7), 72.2 (C-4, C-5), 78.0 (C-3), 78.8 (C-6), 111.1 (C-Ar), 112.1 (C-Ar), 118.1 (C-Ar), 118.4 (C-Ar), 121.2 (C-Ar), 122.3 (2 C-Ar), 123.9 (C-Ar), 127.6 (C-Ar), 137.0 (C-Ar), 157.5 (C=N), 172.7 (C=O). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 493.2274$ (calculated for $C_{22}H_{30}N_8O_4Na$: 493.2282). **IR** (pellets) $\nu = 3339$, 3210 , 2657 , 2922 , 1665 , 1649 cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-7-[4-(3-guanidinopropyl)[1,2,3]triazol-1-yl]-L-galacto-heptonamide 156

Prepared starting from **154** following procedure described for **143**.



Yield 95% as a colorless gum

 $C_{23}H_{32}N_8O_4$

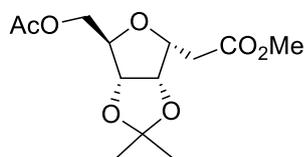
M.W.: 484.55 g/mol

 $R_f = 0.34$ ($H_2O/MeCN/TFA: 6/4/0.1\%$) $[\alpha]_D = -6.5^\circ$ ($c = 0.2, MeOH$)

1H NMR (D_2O , 250 MHz): $\delta = 1.63$ - 1.75 (m, 2H, $H-9$), 2.38 - 2.59 (m, 4H, $H-2$, $H-8$), 2.81 - 2.94 (m, 4H, $H-10$, $H-\beta$), 3.33 - 3.51 (m, 2H, $H-\alpha$), 4.01 - 4.21 (m, 3H, $H-4$, $H-5$, $H-6$), 4.33 - 4.45 (m, 2H, $H-3$, $H-7$), 4.54 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.5$, $J_{6,7'} = 3.0$ Hz, $H-7'$), 6.98 - 7.18 (m, 3H, $H-Ar$), 7.39 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, $H-Ar$), 7.54 - 7.57 (m, 2H, $H-Ar$, $H-triazole$). **^{13}C NMR (D_2O , 62.9 MHz):** $\delta = 21.7$ ($C-9$), 24.2 , 27.4 ($C-8$, $C-\beta$), 37.0 ($C-2$), 40.3 ($C-\alpha$, $C-10$), 51.3 ($C-7$), 71.6 , 71.8 ($C-4$, $C-5$), 77.2 ($C-3$), 77.9 ($C-6$), 111.7 ($C-Ar$), 111.8 ($C-Ar$), 118.4 ($C-Ar$), 119.1 ($C-Ar$), 121.8 ($C-Ar$), 123.3 (2 $C-Ar$), 123.7 ($C-Ar$), 126.9 ($C-Ar$), 136.1 ($C-Ar$), 147.0 ($C=N$), 173.5 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 507.2445$ (calculated for $C_{23}H_{32}N_8O_4Na$: 507.2439). **IR** (pellets) $\nu = 3279$, 1622 , 1549 cm^{-1}

7-O-acetyl-3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-althro-heptanoic acid methyl ester **157**

Prepared starting from **9-Z** following procedure described for **133**.



Yield 85% as colorless oil

 $C_{13}H_{20}O_7$

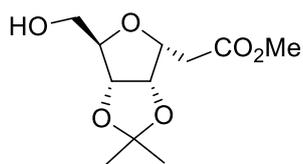
M.W.: 288.12 g/mol

 $R_f = 0.38$ ($cH/EA: 2/1$) $[\alpha]_D = -13.3^\circ$ ($c = 0.27, CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.34$ (s, 3H, CH_3), 1.49 (s, 3H, CH_3), 2.09 (s, 3H, OCH_3), 2.72 (dd, 1H, $J_{gem} = 16.0$, $J_{2,3} = 5.0$ Hz, $H-2$), 2.81 (dd, 1H, $J_{2,3} = 6.0$ Hz, $H-2'$), 3.71 (s, 3H, $COOCH_3$), 4.05 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0$, $J_{6,7} = 4.5$ Hz, $H-7$), 4.13 - 4.28 (m, 2H, $H-7'$, $H-6$), 4.36 (m, 1H, $H-3$), 4.67 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-5$), 4.80 (dd, 1H, $H-4$). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 20.7$ (CH_3COO), 24.8 , 26.0 ($C(CH_3)_2$), 34.0 ($C-2$), 51.5 (CH_3OCO), 63.3 ($C-7$), 77.3 , 81.1 , 81.4 , 82.7 ($C-3$, $C-4$, $C-5$, $C-6$), 112.6 ($C(CH_3)_2$), 170.3 , 171.2 (2 $C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 311.1119$ (calculated for $C_{13}H_{20}O_7Na$: 311.1101). **IR** ($NaCl$) $\nu = 2990$, 2943 , 1742 cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-althro-heptanoic acid methyl ester **230**

To a stirred solution of **157** (2.0 g, 6.9 mmol) in methanol (50 mL) was added a catalytic amount of sodium at $0^\circ C$ under argon atmosphere. After completion of the reaction (approx. 1h), acidic resin Amberlite IR-120 was added until $pH = 4$. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure to provide **230**.



Yield 97% as colorless oil

 $C_{11}H_{18}O_6$

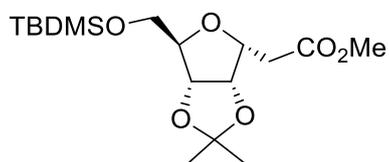
M.W.: 246.11 g/mol

 $R_f = 0.10$ (cH/EA: 2/1) $[\alpha]_D = +5.4^\circ$ (c = 0.52, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 1.33$ (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.49 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.91 (br s, 1H, OH), 2.72 (dd, 1H, $J_{gem} = 16.5$, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, H-2), 2.80 (dd, 1H, $J_{2,3} = 7.0$, H-2'), 3.60-3.66 (m, 2H, H-7, H-7'), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 4.14 (td, 1H, $J_{6,7} = 7.0$, $J_{5,6} = 1.0$ Hz, H-6), 4.39 (td, 1H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, H-3), 4.66 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-5), 4.78 (dd, 1H, H-4). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = 25.2$ (CH₃), 26.4 (CH₃), 34.5 (C-2), 51.9 (OCH₃), 62.1 (C-7), 77.2 (C-3), 81.5, 82.6, 84.3 (C-4, C-5, C-6), 113.0 (C(CH₃)₂), 171.8 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 269.1005** (calculated for C₁₁H₁₈O₆Na: 269.0996). **IR (NaCl) $\nu = 3464, 2990, 2943, 1737$ cm⁻¹**

3,6-anhydro-2-deoxy-7-O-(tert-butylidimethyl)silyl-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-althro-heptanoic acid methyl ester **158**

To a solution of **230** (6.1 mmol, 1 eq.) in DMF (12 ml), *tert*-butyldimethylsilyl chloride (1.1 g, 6.71 mmol, 1.1 eq.) and imidazole (1.04 g, 15.25 mmol, 2.5 eq.) were added and the mixture was stirred at room temperature until completion of the reaction. The reaction was quenched by addition of EtOH and the solvent was removed *in vacuo*. The residue was diluted in EtOAc (40 ml) and washed with water (20 ml) and brine (20 ml). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The compound was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA).



Yield 100% as a colorless oil

 $C_{17}H_{32}O_6Si$

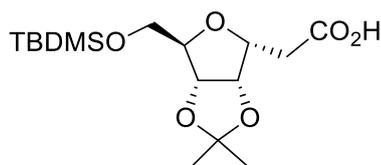
M.W.: 360.20 g/mol

 $R_f = 0.76$ (cH/EA: 2/1) $[\alpha]_D = -12.7^\circ$ (c = 0.45, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 0.06$ (s, 6H, CH₃), 0.89 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.34 (s, 3H, CH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 2.67 (dd, 1H, $J_{gem} = 16.0$, $J_{2,3} = 4.5$ Hz, H-2), 2.75 (dd, 1H, $J_{2,3} = 4.0$, H-2'), 3.69 (s, 3H, COOCH₃), 3.64-3.75 (m, 2H, H-7, H-7'), 4.07 (t, 1H, $J_{6,7} = 3.5$ Hz, H-6), 4.50 (m, 1H, H-3), 4.75 (m, 1H, H-5), 4.82 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-4). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = -5.5$ (Si(CH₃)₂), 18.2 (C(CH₃)₃), 25.1 (C(CH₃)₂), 25.9 (C(CH₃)₃), 26.3 (C(CH₃)₂), 34.9 (C-2), 51.7 (CH₃OCO), 64.9 (C-7), 78.6, 81.9, 83.3, 84.3 (C-3, C-4, C-5, C-6), 112.3 (C(CH₃)₂), 171.8 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 383.1864** (calculated for C₁₇H₃₂O₆SiNa: 383.1860). **IR (NaCl) $\nu = 2976, 2957, 2933, 2853, 1742$ cm⁻¹**

3,6-anhydro-7-O-(tert-butylidimethyl)silyl-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-althro-heptanoic acid **159**

Prepared starting from **158** following procedure described for **134**.



Yield 65 % as a colorless oil

 $C_{16}H_{30}O_6Si$

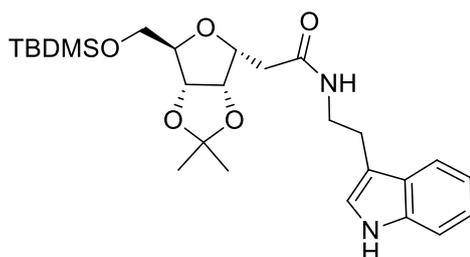
M.W.: 346.18 g/mol

 $R_f = 0.56$ (cH/EA: 2/1) $[\alpha]_D = -21.1^\circ$ (c = 0.1, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 0.06$ (s, 6H, CH_3), 0.89 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 1.35 (s, 3H, CH_3), 1.50 (s, 3H, CH_3), 2.71 (dd, 1H, $J_{gem} = 16.0$, $J_{2,3} = 4.5$ Hz, $H-2$), 2.80 (dd, 1H, $J_{2,3} = 4.0$, $H-2'$), 3.69 (dd, 1H, $J_{gem} = 11.0$, $J_{6,7} = 3.5$ Hz, $H-7$), 3.76 (dd, 1H, $J_{6,7} = 3.5$ Hz, $H-7'$), 4.13 (t, 1H, $H-6$), 4.51 (m, 1H, $H-3$), 4.76 (m, 1H, $H-5$), 4.84 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = -5.5$ ($SiCH_3$), -5.4 ($SiCH_3$), 18.3 ($C(CH_3)_3$), 25.0 ($C(CH_3)_2$), 26.0 ($C(CH_3)_3$), 26.2 ($C(CH_3)_2$), 34.9 ($C-2$), 65.0 ($C-7$), 78.5, 81.9, 83.3, 84.4 ($C-3$, $C-4$, $C-5$, $C-6$), 112.6 ($C(CH_3)_2$), 176.3 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ m/z = 369.17. IR (NaCl) $\nu = 2933$, 2853, 2251, 1714 cm^{-1}

3,6-anhydro-7-O-(tert-butyldimethyl)silyl-2-deoxy-N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-alstro-heptonamide 160

Prepared starting from **159** following procedure described for **135**.



Yield 80% as a colorless oil

 $C_{26}H_{40}N_2O_5Si$

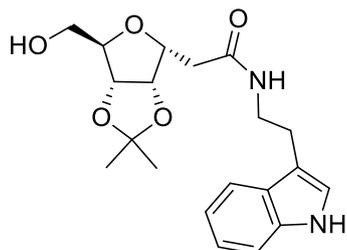
M.W.: 488.69 g/mol

 $R_f = 0.75$ (CH_2Cl_2 /MeOH: 9/1) $[\alpha]_D = -0.1^\circ$ (c = 0.34, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 0.04$ (s, 6H, CH_3), 0.88 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 1.30 (s, 3H, CH_3), 1.45 (s, 3H, CH_3), 2.53 (d, 2H, $J_{2,3} = 6.5$ Hz, $H-2$, $H-2'$), 2.98 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, $H-\beta$), 3.53-3.69 (m, 4H, $J_{6,7} = 3.5$ Hz, $H-7$, $H-7'$, 2 $H-\alpha$), 4.03 (t, 1H, $J_{6,7} = 4.0$ Hz, $H-6$), 4.38 (m, 1H, $H-3$), 4.63 (m, 1H, $H-5$), 4.77 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 6.24 (t, 1H, $J = 5.0$ Hz, CONH), 7.06-7.24 (m, 3H, $H-Ar$), 7.37 (d, 1H, $H-Ar$), 7.62 (d, 1H, $H-Ar$), 8.03 (br s, 1H, NH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = -5.5$ ($SiCH_3$), -5.4 ($SiCH_3$), 18.3 ($C(CH_3)_3$), 24.9 ($C(CH_3)_2$), 25.4 ($C-\beta$), 26.0 ($C(CH_3)_3$), 26.3 ($C(CH_3)_2$), 37.6 ($C-2$), 39.9 ($C-\alpha$), 64.4 ($C-7$), 79.0, 82.1, 83.1, 84.5 ($C-3$, $C-4$, $C-5$, $C-6$), 111.3 ($C(CH_3)_2$), 112.3, 113.2, 118.9, 119.5, 122.1, 122.2, 127.5, 136.5 (8 $C-Ar$), 170.9 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ m/z = 511.26. IR (NaCl) $\nu = 3327$, 2947, 2933, 2862, 1650 cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-alstro-heptonamide 161

To a solution of **160** (0.51 mmol, 1 eq.) in dry THF (3 ml) was added dropwise TBAF (1M in THF) (0.77 ml, 0.77 mmol, 1.5 eq.) at $0^\circ C$ and the reaction mixture was stirred overnight under argon atmosphere. Water (5 ml) was added and the aqueous layer was extracted with EtOAc (2x15 ml). The combined organic layers were washed with brine (10 ml), dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent was removed *in vacuo*. The product was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA).



Yield 95% as a colorless oil

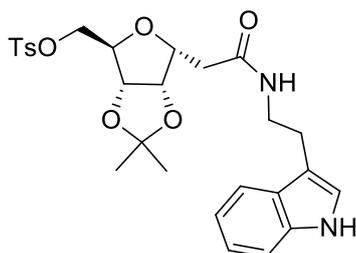
 $C_{20}H_{26}N_2O_5$

M.W.: 374.43 g/mol

 $R_f = 0.61$ ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1) $[\alpha]_D = -6.3^\circ$ ($c = 0.09$, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.27$ (s, 3H, CH_3), 1.44 (s, 3H, CH_3), 2.40 (br s, 1H, OH), 2.53 (d, 2H, $J_{2,3} = 6.5$ Hz, $H-2$, $H-2'$), 2.97 (t, 2H, $J = 6.5$ Hz, $H-\beta$), 3.51 (d, 2H, $J_{6,7} = 5.5$ Hz, $H-7$, $H-7'$), 3.56-3.66 (m, 2H, 2 $H-\alpha$), 4.06 (t, 1H, $H-6$), 4.30 (m, 1H, $H-3$), 4.55-4.63 (m, 2H, $H-5$, $H-4$), 6.19 (t, 1H, $J = 5.0$ Hz, $CONH$), 7.04-7.23 (m, 3H, $H-Ar$), 7.37 (d, 1H, $H-Ar$), 7.60 (d, 1H, $H-Ar$), 8.36 (br s, 1H, NH). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 24.9$ ($C(CH_3)_2$), 25.2 ($C-\beta$), 26.3 ($C(CH_3)_2$), 37.2 ($C-2$), 39.9 ($C-\alpha$), 62.3 ($C-7$), 77.7, 81.8, 82.6, 84.7 ($C-3$, $C-4$, $C-5$, $C-6$), 111.4 ($C(CH_3)_2$), 112.6, 112.9, 118.8, 119.5, 122.2, 122.4, 127.5, 136.5 (8 $C-Ar$), 171.1 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 397.1731$ (calculated for $C_{20}H_{26}N_2O_5Na$: 397.1734). **IR** ($NaCl$) $\nu = 3336, 2985, 2943, 2876, 1650$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-7-O-tosyl-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-alstroheptonamide 162

Prepared starting from **161** following tosylation procedure described for **136**.

Yield 87% as a white solid

 $C_{27}H_{32}N_2O_7S$

M.W.: 528.62 g/mol

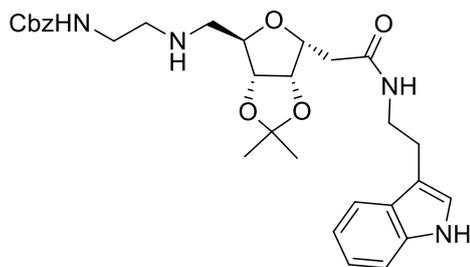
 $R_f = 0.67$ (EA) $[\alpha]_D = +10.7^\circ$ ($c = 1$, $CHCl_3$)

Mp = 64°C

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.22$ (s, 3H, CH_3), 1.42 (s, 3H, CH_3), 2.48 (s, 3H, $Ph-CH_3$), 2.46-2.52 (m, 2H, $H-2$), 3.02 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta} = 6.5$ Hz, $H-\beta$), 3.60-3.68 (m, 2H, $H-\alpha$), 3.92 (dd, 1H, $J_{6,7} = 4.5$, $J_{7,7'} = 11.0$ Hz, $H-7$), 4.03 (dd, 1H, $J_{6,7'} = 5.0$ Hz, $H-7'$), 4.12-4.23 (m, 2H, $H-6$, $H-3$), 4.44 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, $H-5$), 4.60 (d, 1H, $H-4$), 6.11 (t, 1H, $J = 5.5$ Hz, $CONH$), 7.08-7.44 (m, 6H, $H-Ar$), 7.63 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, $H-Ar$), 7.81 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, $H-Ar$), 8.35 (s, 1H, $NH-Ar$). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 21.7$ (CH_3-Ph), 24.7 (CH_3), 25.0 (CH_3), 26.1 ($C-\beta$), 37.2 ($C-2$), 39.5 ($C-\alpha$), 69.5 ($C-7$), 78.8 ($C-3$), 81.4 ($C-6$, $C-4$), 82.3 ($C-5$), 111.3 ($C(CH_3)_2$), 112.8 ($C-Ar$), 112.9 ($C-Ar$), 118.7 ($C-Ar$), 119.4 ($C-Ar$), 122.1 ($C-Ar$), 122.3 ($C-Ar$), 127.4 ($C-Ar$), 127.9 (2 $C-Ar$), 130.1 (2 $C-Ar$), 132.2 ($C-Ar$), 136.4 ($C-Ar$), 145.4 ($C-Ar$), 170.1 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 551.1853$ (calculated for $C_{27}H_{32}N_2O_7SNa$: 551.1822). **IR** ($NaCl$) $\nu = 3407, 3308, 1652$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-[[2-[[2-[(phenylmethoxy)carbonyl]amino]ethyl]amino]-D-alstroheptonamide 163

Prepared starting from **162** following procedure described for **137**.



Yield 82 % as a colorless gum

$C_{30}H_{38}N_4O_6$

M.W.: 550.28 g/mol

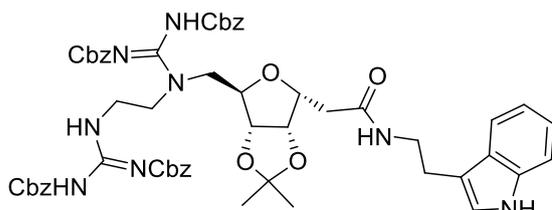
$R_f = 0.35$ ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1)

$[\alpha]_D = +3.5^\circ$ ($c = 0.5, CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.28$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.45 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.07 (br s, 1H, NH), 2.47 (dd, 1H, $J_{gem} = 12.5, J_{6,7} = 5.0$ Hz, H-7), 2.53-2.59 (m, 3H, H-2, H-7), 2.71 (t, 2H, $J_{8,9} = 6.0$ Hz, H-8), 2.97 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta} = 6.5$ Hz, H- β), 3.23-3.27 (m, 2H, H-9), 3.58-3.64 (m, 2H, H- α), 4.09 (m, 1H, H-6), 4.14 (m, 1H, H-3), 4.47 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-5), 4.56 (dd, 1H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, H-4), 5.12 (s, 2H, CH_2 -Ph), 5.39 (t, 1H, $J = 5.0$ Hz, CONH), 6.12 (t, 1H, $J = 5.0$ Hz, CONH), 7.05 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, H-Ar), 7.13 (m, 1H, H-Ar), 7.21 (m, 1H, H-Ar), 7.32-7.39 (m, 6H, H-Ar), 7.61 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H-Ar), 8.52 (br s, 1H, NH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): $\delta = 24.9$ ($C(CH_3)_2$), 25.1 (C- β), 26.2 ($C(CH_3)_2$), 36.6 (C-2), 39.7 (C- α), 40.3 (C-9), 48.3 (C-7), 48.6 (C-8), 66.7 (CH_2 -Ph), 76.5 (C-3), 81.3 (C-4), 82.9 (C-6), 83.7 (C-5), 111.3 (C-Ar), 112.6 ($C(CH_3)_2$), 112.9 (C-Ar), 118.7 (C-Ar), 119.4 (C-Ar), 122.1 (C-Ar), 122.2 (C-Ar), 127.4 (C-Ar), 128.1 (C-Ar), 128.2 (2 C-Ar), 128.5 (2 C-Ar), 136.4 (C-Ar), 136.6 (C-Ar), 156.7 (OCONH), 170.5 (CONH). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 573.2707$ (calculated for $C_{30}H_{38}N_4O_6Na$: 573.2684). IR (NaCl) $\nu = 3327, 1709, 1650$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-[[N-bis[(phenylmethoxy)carbonyl]]aminoiminomethyl]-N-[2-bis[(phenylmethoxy)carbonyl]]guanidinoethyl]amino]-D-altro-heptonamide 164

Prepared starting from **163** following procedure described for **140**.



Yield 30 % as a white solid

$C_{56}H_{60}N_8O_{12}$

M.W.: 1036.43 g/mol

$R_f = 0.5$ (EA)

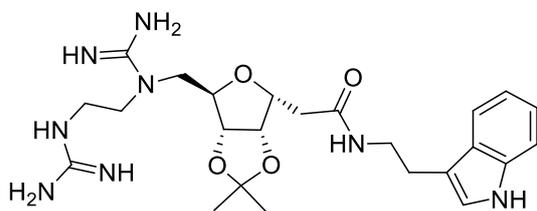
$[\alpha]_D = +11.4^\circ$ ($c = 0.5, CHCl_3$)

Mp = 70°C

1H NMR ($MeOH-d_4$, 400 MHz): $\delta = 1.23$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.39 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.47 (dd, 1H, $J_{gem} = 15.5, J_{2,3} = 5.5$ Hz, H-2), 2.56 (dd, 1H, $J_{2,3} = 8.0$ Hz, H-2'), 2.91 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta} = 6.5$ Hz, H- β), 3.42-3.72 (m, 8H, H- α , H-7, H-8, H-9), 4.25-4.29 (m, 2H, H-6, H-3), 4.43 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-5), 4.51 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-4), 5.00-5.01 (m, 6H, CH_2 -Ph), 5.08 (s, 2H, CH_2 -Ph), 6.97-7.08 (m, 3H, H-Ar), 7.19-7.36 (m, 21H, H-Ar), 7.54 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H-Ar). ^{13}C NMR ($MeOH-d_4$, 100 MHz): $\delta = 25.1$ ($C(CH_3)_2$), 26.1 (C- β), 26.6 ($C(CH_3)_2$), 36.9 (C-2), 39.7 (C-7), 41.3 (C- α), 48.8 (C-8), 68.3 (CH_2 -Ph), 68.8 (CH_2 -Ph), 69.2 (2 CH_2 -Ph), 78.0 (C-3, C-6), 82.6 (C-4), 84.5 (C-5), 112.3 (C-Ar), 113.3 (C-Ar), 113.6 ($C(CH_3)_2$), 119.4 (C-Ar), 119.6 (C-Ar), 122.3 (C-Ar), 123.5 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 129.0 (2 C-Ar), 129.2 (8 C-Ar), 129.4 (4 C-Ar), 129.5 (4 C-Ar), 129.6 (4 C-Ar), 136.4 (C-Ar), 138.1 (2 C-Ar), 154.4 (2 C-gua), 157.7 (2 OCONH), 164.7 (2 OCONH), 172.8 (CONH). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ $m/z = 1059.4244$ (calculated for $C_{56}H_{60}N_8O_{12}Na$: 1059.4223). IR (NaCl) $\nu = 3327, 1742, 1636, 1619$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-N-[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-[*N*-(aminoiminomethyl)-*N*-(2-guanidinoethyl)amino]-*D*-*altro*-heptonamide 165

Prepared starting from **164** following procedure described for the synthesis of **143**.



Yield 90 % as a white solid

$C_{24}H_{36}N_8O_4$

M.W.: 500.29 g/mol

$R_f = 0.29$ ($H_2O/MeCN/TFA: 6/4/0.1\%$)

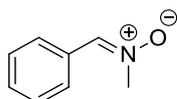
$[\alpha]_D = +23.0^\circ$ ($c = 0.2, MeOH$)

1H NMR (MeOH- d_4 , 250 MHz): $\delta = 1.33$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.48 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.54-2.66 (m, 2H, *H*-2), 2.97 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta} = 7.0$ Hz, *H*- β), 3.38-3.62 (m, 8H, *H*- α , *H*-7, *H*-8, *H*-9), 4.24 (m, 1H, *H*-6), 4.39 (m, 1H, *H*-3), 4.60 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-5), 4.72 (dd, 1H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, *H*-4), 6.99-7.14 (m, 3H, *H*-Ar), 7.36 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, *H*-Ar), 7.59 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, *H*-Ar). **^{13}C NMR (MeOH- d_4 , 62.9 MHz):** $\delta = 25.2$ ($C(CH_3)_2$), 26.3 (*C*- β), 26.7 ($C(CH_3)_2$), 36.8 (*C*-2), 40.5 (*C*- α), 41.6 (*C*-7), 49.8, 49.9 (*C*-8, *C*-9), 78.0 (*C*-3), 82.8, 84.2, 84.5 (*C*-4, *C*-5, *C*-6), 112.3 (*C*-Ar), 113.3 ($C(CH_3)_2$), 113.9 (*C*-Ar), 119.4 (*C*-Ar), 119.7 (*C*-Ar), 122.4 (*C*-Ar), 123.6 (*C*-Ar), 128.8 (*C*-Ar), 138.2 (*C*-Ar), 159.4, 160.2 (2 *C*-gua), 172.9 (CONH). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 523.2762$ (calculated for $C_{24}H_{36}N_8O_4Na$: 523.2752). **IR** (pellets) $\nu = 3374, 3189, 1674, 1607$ cm^{-1}

II.4.2- Spiro-isoxazolidines

N-benzylidenemethylamine *N*-oxide 166

To a stirred solution of benzaldehyde (20.2 mL, 0.2 moles, 1 eq.) in MeOH (150 mL) at 0°C were added MgSO₄ (24 g, 0.2 moles, 1eq.), *N*-methylhydroxylamine hydrochloride (16.7 g, 0.2 moles, 1eq.) and NaOH (8 g, 0.2 moles, 1eq.). After 24 hours, MeOH was removed under reduced pressure and the mixture was diluted with CH₂Cl₂ (100 mL) and washed with water (2x30 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed *in vacuo*. The compound was used without further purification.



Yield: 65% as a white solid

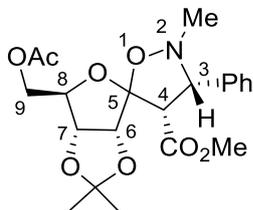
C₈H₉NO

M.W.: 135.16 g/mol

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 3.89 (s, 3H, CH₃), 7.37-7.43 (m, 4H, 3 *H*-Ar, CH=N), 8.20-8.24 (m, 2 H, 2 *H*-Ar).

Compound 167

A stirred solution of **9-Z** (1g, 3.5 mmol) and *N*-benzylidenemethylamine *N*-oxide (1.35 g, 10.5 mmol, 3 eq.) in toluene (3 ml) was heated by microwave irradiation at 150°C. After 2h, the solvent was removed *in vacuo* and the product was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA).



Yield 17% as a white solid

C₂₁H₂₇NO₈

M.W.: 421.44 g/mol

R_f = 0.26 (cH/EA: 2/1)

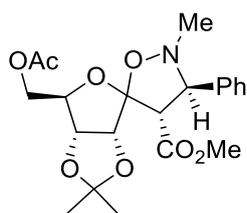
[α]_D = -147.9° (c = 0.2, CHCl₃)

Mp. = 75°C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.41 (s, 3H, CH₃), 1.54 (s, 3H, CH₃), 2.13 (s, 3H, CH₃), 2.74 (s, 3H, N CH₃), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 3.96 (d, 1H, J_{3,4} = 8.0 Hz, *H*-4), 4.23-4.32 (m, 3H, *H*-3, 2 *H*-9), 4.43 (t, 1H, J_{8,9} = 6.5 Hz, *H*-8), 4.74 (d, 1H, J_{6,7} = 6.0 Hz, *H*-7), 4.82 (d, 1H, *H*-6), 7.28-7.37 (m, 3H, *H*-Ar), 7.41-7.46 (m, 2H, *H*-Ar). ¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz): δ = 20.9 (CH₃), 25.2, 26.1 (C(CH₃)₂), 44.2 (N-CH₃), 51.3 (CH₃O), 58.4 (C-4), 64.2 (C-9), 74.8 (C-3), 81.9 (C-7), 82.8 (C-8), 85.5 (C-6), 113.4 (C(CH₃)₂, C-5), 127.9, 128.1, 128.2 (5 C-Ar), 134.7 (C-Ar), 167.1 (C=O), 170.5 (C=O). ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 444.1621 (calculated for C₂₁H₂₇NO₈Na: 444.1629). IR (NaCl) ν = 2985, 2943, 1747 cm⁻¹

Compound 168

Prepared starting from **9-Z** following procedure described for **167**.



Yield 70% as a white solid

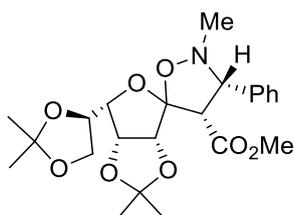
 $C_{21}H_{27}NO_8$

M.W.: 421.44 g/mol

 $R_f = 0.47$ (cH/EA: 2/1) $[\alpha]_D = -12.3^\circ$ (c = 0.56, $CHCl_3$)

Mp. = 96-98°C

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.38$ (s, 3H, CH_3), 1.48 (s, 3H, CH_3), 2.10 (s, 3H, CH_3), 2.64 (s, 3H, N CH_3), 3.66 (s, 3H, OCH_3), 3.91 (d, 1H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $H-4$), 4.17 (d, 2H, $J_{8,9} = 6.5$ Hz, $H-9$, $H-9'$), 4.27 (d, 1H, $H-3$), 4.37 (t, 1H, $H-8$), 4.77 (d, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, $H-7$), 4.83 (d, 1H, $H-6$), 7.31-7.38 (m, 5H, H -Ar). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 21.0$ (CH_3), 25.2, 26.2 ($C(CH_3)_2$), 43.6 (N- CH_3), 52.0 (CH_3O), 59.6 ($C-4$), 64.3 ($C-9$), 75.3 ($C-3$), 81.9 ($C-7$), 84.0 ($C-8$), 85.8 ($C-6$), 113.3 ($C(CH_3)_2$, $C-5$), 128.0, 128.5, 128.9 (5 C -Ar), 137.2 (C -Ar), 168.9 ($C=O$), 170.6 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 444.1630$ (calculated for $C_{21}H_{27}NO_8Na$: 444.1629). **IR** (NaCl) $\nu = 2957, 1743$ cm^{-1}

Compound 169Prepared starting from **1-Z** following procedure described for **167**.

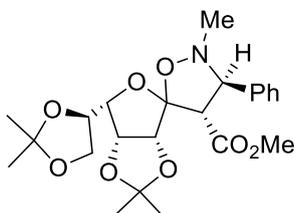
Yield 23% as a white solid

 $C_{23}H_{31}NO_8$

M.W.: 449.9 g/mol

 $R_f = 0.42$ (cH/EA: 1/1)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.32, 1.34, 1.42, 1.46$ (4 s, 12H, 4 CH_3), 2.71 (s, 3H, N- CH_3), 3.39 (s, 3H, OCH_3), 3.77 (m, 1H, $H-10$), 3.91 (d, 1H, $J_{3,4} = 8.0$ Hz, $H-4$), 4.10-4.20 (m, 3H, $H-3$, $H-8$, $H-10$), 4.27 (m, 1H, $H-9$), 4.67 (d, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, $H-6$), 4.75 (dd, 1H, $J_{7,8} = 3.5$ Hz, $H-7$), 7.24-7.44 (m, 5H, H -Ar).

Compound 170Prepared starting from **1-Z** following procedure described for **167**.

Yield 62% as a white solid

 $C_{23}H_{31}NO_8$

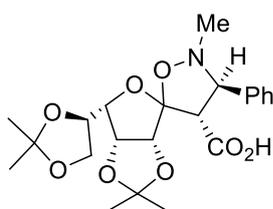
M.W.: 449.9 g/mol

 $R_f = 0.68$ (cH/EA: 1/1)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.33, 1.38, 1.44, 1.45$ (4 s, 12H, 4 CH_3), 2.65 (s, 3H, N- CH_3), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 3.73 (m, 1H, $H-10$), 3.87 (d, 1H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $H-4$), 4.08 (dd, 1H, $J_{8,9} = 7.5, J_{7,8} = 3.5$ Hz, $H-8$), 4.16-4.29 (m, 2H, $H-9$, $H-10$), 4.33 (d, 1H, $H-3$), 4.75-4.82 (m, 2H, $H-6$, $H-7$), 7.28-7.42 (m, 5H, H -Ar).

Compound 171

To a solution of **170** (540 mg, 1.2 mmol) in THF (12 mL) and water (4 mL) was added LiOH (86 mg, 3.6 mmol, 3 eq.) and the mixture was stirred until completion of the reaction monitored by tlc. THF was removed under reduced pressure, CH₂Cl₂ (20 mL) was added and the pH was adjusted to 2-3 with 1N HCl. The organic layer was washed with brine and dried over MgSO₄, filtered and concentrated to provide **171**.



Yield 90% as a white solid

C₂₂H₂₉NO₈

M.W.: 435.47 g/mol

R_f = 0.07 (cH/EA: 2/1)

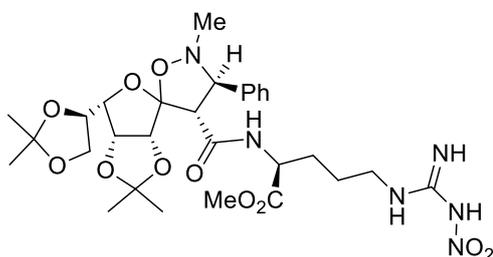
[α]_D = -7.0° (c = 0.2, CHCl₃)

Mp. = 95°C

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.37, 1.40, 1.47, 1.52 (4s, 12H, 4 CH₃), 2.74 (s, 3H, N-CH₃), 3.77 (dd, 1H, *J*_{gem} = 8.5, *J*_{9,10} = 7.0 Hz, *H*-10), 3.86 (d, 1H, *J*_{3,4} = 10.0 Hz, *H*-4), 4.15 (dd, 1H, *J*_{8,9} = 8.5, *J*_{7,8} = 4.0 Hz, *H*-8), 4.22 (dd, 1H, *J*_{9,10} = 6.5 Hz, *H*-10'), 4.34 (m, 1H, *H*-9), 4.39 (d, 1H, *H*-3), 4.82 (dd, 1H, *J*_{6,7} = 6.0 Hz, *H*-7), 4.85 (d, 1H, *H*-6), 7.29-7.38 (m, 3H, *H*-Ar), 7.44-7.47 (m, 2H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** δ = 24.2, 25.0, 25.5, 26.7 (4 CH₃), 44.2 (N-CH₃), 60.2 (C-4), 65.9 (C-10), 73.9 (C-3), 75.4 (C-9), 79.6 (C-7), 82.9 (C-8), 84.9 (C-6), 110.1 (C-5), 110.7, 113.8 (2 C(CH₃)₂), 128.0 (2 C-Ar), 128.5 (C-Ar), 128.8 (2 C-Ar), 136.7 (C-Ar), 167.7 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 458.1783 (calculated for C₂₂H₂₉NO₈Na: 458.1785). **IR (NaCl)** ν = 3464, 3199, 2990, 2933, 1737 cm⁻¹

Compound 172

To a solution of N_ω-NO₂-L-arg-OMe (296 mg, 1.1 mmol, 1.1 eq.) and **171** (435 mg, 1 mmol, 1 eq.) in DMF (10 mL) were added HATU (570 mg, 1.5 mmol, 1.5 eq.) and DIEA (363 μL, 2.1 mmol, 2.1 eq.) at 0°C under argon atmosphere. After stirring at room temperature for 24h, the solvent was evaporated. The residue was dissolved in ethyl acetate (10 mL), washed with 1N HCl (5 mL), NaHCO₃ sat. aq. (5 mL) and brine (5 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated. The product was purified by column chromatography (silica gel, cyclohexane/AcOEt) to provide **172**.



Yield 88% as a colorless gum

C₂₉H₄₂N₆O₁₁

M.W.: 650.68 g/mol

R_f = 0.50 (EA)

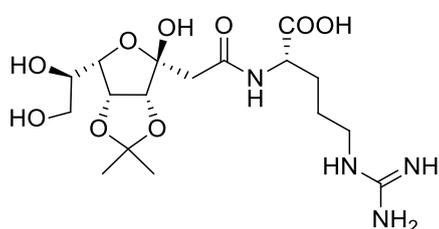
[α]_D = -35.8° (c = 1, MeOH)

¹H NMR (DMSO-d₆, 250 MHz): δ = 1.25-1.38 (m, 2H, *H*-A1), 1.29, 1.31, 1.35, 1.44 (4s, 12H, 4 CH₃), 1.53-1.68 (m, 2H, *H*-A2), 2.56 (s, 3H, N-CH₃), 3.00-3.08 (m, 2H, *H*-A3), 3.58 (m, 1H, *H*-4), 3.61 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (t app., 1H, *J* = 8.0 Hz, *H*-10), 3.88 (dd, 1H, *J*_{8,9} = 7.5, *J*_{7,8} = 4.0 Hz, *H*-8), 4.05 (t app., 1H, *J* = 8.0 Hz, *H*-10'), 4.13-4.23 (m, 2H, *H*-9, *H*-3), 4.32 (m, 1H, *H*-α), 4.74 (d, 1H, *J*_{6,7} = 6.0 Hz, *H*-6), 4.91 (dd, 1H, *H*-7), 7.29-7.39 (m, 5H, *H*-Ar), 7.87 (br s, 2H, NH), 8.42 (br s, 1H, NH). **¹³C NMR (DMSO-d₆, 62.9 MHz):** δ = 24.4, 25.2, 25.4, 26.4 (4 CH₃, C-A2), 28.4 (C-A1), 40.4 (C-A3), 43.4 (N-

CH₃), 51.3, 51.7 (O-CH₃, C- α), 59.3 (C-4), 65.0 (C-10), 74.3 (C-3), 75.1 (C-9), 78.7 (C-7), 82.8 (C-8), 84.5 (C-6), 108.7 (C-5), 110.6, 112.3 (2 C(CH₃)₂), 127.6 (2 C-Ar), 128.0 (C-Ar), 128.5 (2 C-Ar), 137.5 (C-Ar), 159.2 (C=N), 165.8 (C=O), 171.8 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 673.2829 (calculated for C₂₉H₄₂N₆O₁₁Na: 673.2804). **IR** (NaCl) ν = 3336, 2985, 2947, 1744, 1666, 1629, 1600, 1537 cm⁻¹

Compound 174

To a solution of **172** (325 mg, 0.50 mmol) in THF (9 mL) and water (3 mL) was added LiOH (36 mg, 1.50 mmol, 3 eq.) and the mixture was stirred until completion of the reaction monitored by tlc. Amberlite[®] IR-120 was added until pH = 3-4 and the mixture was filtered off. The solvent were evaporated and the obtained carboxylic acid was solubilized in MeOH (10 mL) and Pd/C (10%) (80 mg, 40% w/w) was added. After stirring under H₂ atmosphere (40 psi) until completion of the reaction, the mixture was filtered through a pad of celite and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude was purified by column chromatography (C-18 silica gel, H₂O/MeOH) and lyophilized to provide **174**.



Yield 25% as a white solid

C₁₇H₃₀N₄O₉

M.W.: 434.20 g/mol

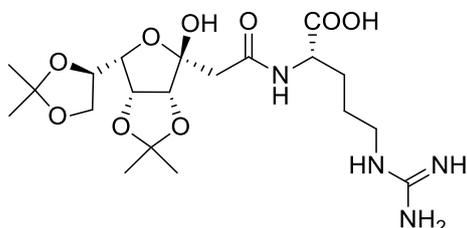
R_f = 0.76 (H₂O/MeOH: 1/1)

[α]_D = -11.1° (c = 0.2, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 250 MHz): δ = 1.40, 1.56 (2s, 6H, 2 CH₃), 1.61-1.83 (m, 3H, 2 H-A2, H-A1), 1.90 (m, 1H, H-A1), 3.26 (t, 2H, J_{A2-A3} = 6.5 Hz, H-A3), 3.70 (dd, 1H, J_{gem} = 8.0, J_{7,8} = 6.0 Hz, H-8), 3.83 (dd, 1H, J_{7,8} = 3.0 Hz, H-8'), 3.97 (m, 1H, H-7), 4.19 (dd, 1H, J_{6,7} = 8.5, J_{5,6} = 3.5 Hz, H-8), 4.28 (m, 1H, H- α), 4.70 (d, 1H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-4), 5.02 (dd, 1H, H-5). **¹³C NMR (D₂O, 62.9 MHz):** δ = 23.7, 24.4, 25.0 (2 CH₃, C-A2), 28.9 (C-A1), 40.7 (C-A3), 54.5 (C- α), 62.5 (C-8), 70.4 (C-7), 78.8 (C-5), 79.9 (C-6), 85.3 (C-4), 104.0 (C-3), 113.5 (C(CH₃)₂), 156.7 (C=N), 170.5 (C=O), 178.5 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 457.1900 (calculated for C₁₇H₃₀N₄O₉Na: 457.1905). **IR** (pellets) ν = 3355, 3184, 2981, 2943, 2876, 1648, 1598 cm⁻¹

Compound 175

Prepared starting from **172** following procedure described for **174**.



Yield 65% as a white solid

C₂₀H₃₄N₄O₉

M.W.: 474.23 g/mol

R_f = 0.57 (H₂O/MeOH: 1/1)

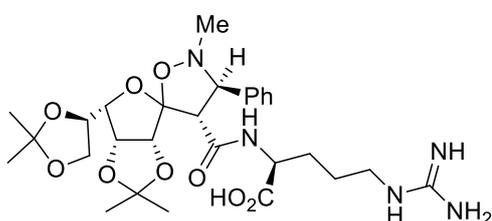
[α]_D = -3.3° (c = 0.2, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 250 MHz): δ = 1.34, 1.40, 1.47, 1.51 (4s, 12H, 4 CH₃), 1.59-1.66 (m, 2H, 2 H-A2), 1.75 (m, 1H, H-A1), 1.86 (m, 1H, H-A1'), 3.21 (t, 2H, J_{A2-A3} = 6.5 Hz, H-A3), 3.90 (dd, 1H, J_{gem} = 9.5, J_{7,8} = 6.5 Hz, H-8), 4.16 (dd, J_{6,7} = 8.5, J_{5,6} = 2.5 Hz, H-6), 4.21-4.28 (m, 2H, H- α , H-8), 4.42 (m, 1H, H-7), 4.66 (d, 1H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-4), 4.98 (dd, 1H, H-5). **¹³C NMR (D₂O, 62.9 MHz):** δ = 23.6, 24.2, 24.4, 24.9, 25.5 (4 CH₃, C-A2), 28.8 (C-A1), 40.6 (C-A3), 54.4 (C- α), 65.3 (C-8), 74.8 (C-7), 79.8 (C-5), 80.4 (C-6), 84.9 (C-4), 104.9 (C-3), 110.4, 113.7 (2 C(CH₃)₂), 156.7 (C=N), 170.3 (C=O), 178.5

(C=O). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 497.2187$ (calculated for $C_{20}H_{34}N_4O_9Na$: 487.2218). **IR** (pellets) $\nu = 3355, 3175, 2985, 2933, 1655, 1593\text{ cm}^{-1}$

Compound 176

To a solution of HCl.H-L-arg-OMe (73 mg, 0.28 mmol, 1.1 eq.) and **171** (109 mg, 0.25 mmol, 1 eq.) in DMF (10 mL) were added HATU (143 mg, 0.38 mmol, 1.5 eq.) and DIEA (137 μ L, 0.8 mmol, 3.2 eq.) at 0°C under argon atmosphere. The reaction mixture was stirred overnight at room temperature and the solvent was evaporated. This crude product was solubilized in THF (3 mL) and water (1 mL) and LiOH (18 mg, 0.75 mmol, 3 eq.) was added. The mixture was stirred until completion of the reaction monitored by tlc. Amberlite® IR-120 was added until pH = 3-4 and the mixture was filtered off. The solvent were evaporated and the product was purified by column chromatography (C-18 silica gel, H₂O/MeOH) and lyophilized to provide **176**.



Yield 68% as a white solid

$C_{28}H_{41}N_5O_9$

M.W.: 591.65 g/mol

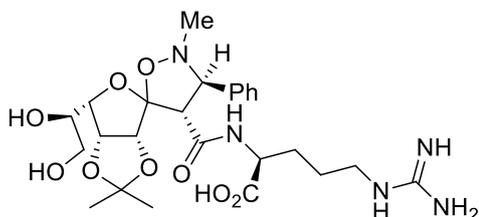
$R_f = 0.12$ (H₂O/MeOH: 1/1)

$[\alpha]_D = -89.5^\circ$ (c = 0.2, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 250 MHz): $\delta = 0.93$ (m, 1H, *H*-A2), 1.01 (m, 1H, *H*-A2'), 1.36 (s, 6H, 2 *CH*₃), 1.44 (s, 3H, *CH*₃), 1.49 (m, 1H, *H*-A1), 1.52 (s, 3H, *CH*₃), 1.59 (m, 1H, *H*-A1'), 2.78 (s, 3H, N-*CH*₃), 2.82 (t, 2H, $J_{A2-A3} = 7.5$ Hz, *H*-A3), 3.90 (d, 1H, $J_{3,4} = 11.5$ Hz, *H*-4), 3.96 (dd, 1H, $J_{gem} = 9.0$, $J_{9,10} = 6.5$ Hz, *H*-10), 4.14 (dd, 1H, $J_1 = 7.0$, $J_2 = 5.0$ Hz, *H*- α), 4.20 (dd, 1H, $J_{8,9} = 8.5$, $J_{7,8} = 3.5$ Hz, *H*-8), 4.28 (dd, 1H, $J_{9,10} = 7.0$ Hz, *H*-10'), 4.39-4.47 (m, 2H, *H*-3, *H*-9), 4.92 (d, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, *H*-6), 5.01 (dd, 1H, *H*-7), 7.41-7.48 (m, 5H, *H*-Ar). **¹³C NMR (D₂O, 62.9 MHz):** $\delta = 23.4, 23.6, 24.3, 24.7, 25.7$ (4 *CH*₃, *C*-A2), 29.1 (*C*-A1), 40.7 (*C*-A3), 44.7 (N-*CH*₃), 54.5 (*C*- α), 59.6 (*C*-4), 65.2 (*C*-10), 74.8 (*C*-9), 75.2 (*C*-3), 78.9 (*C*-7), 81.5 (*C*-8), 84.8 (*C*-6), 110.5 (*C*(*CH*₃)₂), 111.6 (*C*-5), 114.2 (*C*(*CH*₃)₂), 128.2 (2 *C*-Ar), 129.1 (2 *C*-Ar), 129.3 (*C*-Ar), 134.3 (*C*-Ar), 156.4 (*C*=N), 167.0 (*C*=O), 177.0 (*C*=O). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 614.2742$ (calculated for $C_{28}H_{41}N_5O_9Na$: 614.2796). **IR** (ATR) $\nu = 3343, 2986, 1638, 1597, 1500\text{ cm}^{-1}$

Compound 177

Prepared starting from **171** following procedure described for **176**.



Yield 19% as a white solid

$C_{25}H_{37}N_5O_9$

M.W.: 551.26 g/mol

$R_f = 0.43$ (H₂O/MeOH: 1/1)

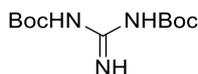
$[\alpha]_D = -79.0^\circ$ (c = 0.1, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 250 MHz): $\delta = 0.90$ -1.05 (m, 2H, *H*-A2), 1.39, 1.40 (2s, 6H, 2 *CH*₃), 1.50-1.65 (m, 2H, *H*-A1), 2.83 (s, 3H, N-*CH*₃), 2.86 (t, 2H, $J_{A2-A3} = 7.5$ Hz, *H*-A3), 3.73 (dd, 1H, $J_{gem} = 12.0$, $J_{9,10} = 6.0$ Hz, *H*-10), 3.84-3.94 (m, 2H, *H*-4, *H*-10'), 4.07 (m., 1H, *H*-9), 4.15-4.21 (m, 2H, *H*- α , *H*-8), 4.43 (d, 1H, $J_{3,4} = 12.0$ Hz, *H*-3), 4.95 (d, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, *H*-6), 5.03 (dd, 1H, $J_{7,8} = 3.0$ Hz, *H*-7), 7.47-7.54 (m, 5H, *H*-

Ar). ^{13}C NMR (D_2O , 62.9 MHz): $\delta = 23.4, 23.6, 24.7$ (2 CH_3 , C-A2), 29.0 (C-A1), 40.7 (C-A3), 45.0 (N- CH_3), 54.5 (C- α), 59.6 (C-4), 62.0 (C-10), 70.5 (C-9), 75.3 (C-3), 78.9 (C-7), 80.3 (C-8), 84.9 (C-6), 111.3 (C-5), 113.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 128.2 (2 C-Ar), 129.1 (2 C-Ar), 129.3 (C-Ar), 134.4 (C-Ar), 156.4 (C=N), 167.2 (C=O), 177.0 (C=O). ESI-HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $m/z = 574.2495$ (calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_9\text{Na}$: 574.2483). IR (ATR) $\nu = 3162, 2922, 1632, 1585\text{ cm}^{-1}$

Compound 178

To a solution of guanidinium chloride (5 g, 52 mmol) and NaOH (8.38 g, 0.21 mol, 4 eq.) in water (50 mL) and 1,4-dioxane (100 mL) was added di-*tert*-butyl dicarbonate (25.1 g, 114 mmol, 2.2 eq.) at 0°C. After stirring at room temperature for 24 h, the solvent was evaporated. Residue was diluted with water (100 mL) and the product was extracted with ethyl acetate (3x100 mL). The combined organic layers were washed with a 10 % citric acid solution (75 ml), water (75 ml) and brine (75 ml), dried over MgSO_4 and filtered. The solvent was removed *in vacuo* and the compound was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA).



Yield: 60% as a white solid

$\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4$

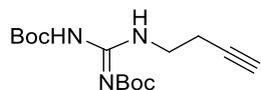
M.W.: 259.15 g/mol

R_f: 0.42 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 97/3)

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz): $\delta = 1.41$ (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 8.67 (br s, 2H, NH).

N,N'-bis-*tert*-butyloxycarbonyl-*N''*-(but-3-ynyl)-guanidine 179

To a cooled solution of butyn-4-ol (151 μL , 2.0 mmol, 1 eq.), **178** (518 mg, 2.0 mmol, 1 eq.) and PPh_3 (630 mg, 2.4 mmol, 1.2 eq.) in dry toluene (10 mL), was added dropwise over 5 minutes a solution of diethylazodicarboxylate (DEAD, 378 μL , 2.4 mmol, 1.2 eq.) in toluene (5 mL) under argon atmosphere. The mixture was stirred at room temperature for 4h and the solvent was removed *in vacuo*. The crude was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **179**.



Yield: 88% as a colorless oil

$\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4$

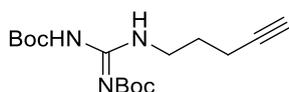
M.W.: 311.18 g/mol

R_f: 0.80 (cH/EA: 2/1)

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz): $\delta = 1.49$ (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.54 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.95 (s, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 2.54 (td, 2H, $J_1 = 7.0, J_2 = 2.0\text{ Hz}$, CH_2), 4.10 (t, 2H, CH_2), 9.29 (s, 2H, N-H).

N,N'-bis-*tert*-butyloxycarbonyl-*N''*-(pent-4-ynyl)-guanidine 180

Prepared starting from **178** and pentyn-5-ol following procedure described for **179**.



Yield: 82% as a colorless oil

$\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_4$

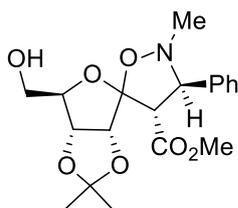
M.W.: 325.20 g/mol

R_f: 0.63 (cH/EA: 2/1)

^1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.49 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.53 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.83 (q, 2H, J_1 = 7.0 Hz, CH₂), 1.93 (t, 1H, J_2 = 2.0 Hz, C≡CH), 2.23 (td, 2H, CH₂), 4.01 (t, 2H, CH₂), 9.30 (s, 2H, N-H).

Compound 181

To a stirred solution of **168** (3.37 g, 8.0 mmol) in methanol (50 mL) was added a catalytic amount of sodium at 0°C under argon atmosphere. After completion of the reaction (approx. 1h), acidic resin Amberlite IR-120 was added until pH = 4. After filtration, the solvent was removed *in vacuo* to provide **181**.



Yield 96% as a white solid

C₁₉H₂₅NO₇

M.W.: 379.40 g/mol

R_f = 0.21 (cH/EA: 2/1)

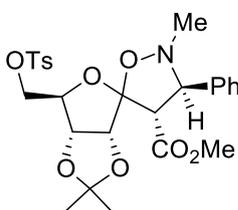
[α]_D = -1.8° (c = 0.8, CHCl₃)

Mp = 123°C

^1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.38 (s, 3H, CH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 2.65 (s, 3H, N-CH₃), 3.64 (m, 1H, H-9), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (d, 1H, $J_{3,4}$ = 9.0 Hz, H-4), 3.97 (d, 1H, H-3), 4.27-4.38 (m, 2H, H-8, H-9'), 4.81 (d, 1H, $J_{6,7}$ = 6.0 Hz, H-7), 4.91 (d, 1H, H-6), 7.33-7.38 (m, 5H, H-Ar). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 25.0, 26.0 (C(CH₃)₂), 43.4 (N-CH₃), 52.0 (CH₃O), 59.2 (C-4), 63.7 (C-9), 75.7 (C-3), 81.3 (C-7), 86.4 (C-8), 87.8 (C-6), 113.0 (C(CH₃)₂), 113.3 (C-5), 128.1, 128.6, 128.9 (5 C-Ar), 137.0 (C-Ar), 169.2 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 402.1529 (calculated for C₁₉H₂₅NO₇Na: 402.1523). **IR** (NaCl) ν = 3512, 2952, 1741 cm⁻¹

Compound 182

To a solution of **181** (3.0 g, 7.9 mmol) in CH₂Cl₂ (50 mL) were added Et₃N (2.75 mL, 19.8 mmol, 2.5 eq.), DMAP (96 mg, 0.79 mmol, 0.1 eq.) and tosyl chloride (3.04 g, 15.8 mmol, 2 eq.) and the mixture was stirred for 24 h at room temperature. The solution was washed with 1N HCl (20 mL), sat. aq. NaHCO₃ (20 mL) and brine (20 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was evaporated *in vacuo*. The compound was purified by flash chromatography (silica gel, cH/EA) to provide **182**.



Yield 92% as a white solid

C₂₆H₃₁NO₉S

M.W.: 533.59 g/mol

R_f = 0.46 (cH/EA: 2/1)

[α]_D = +10.0° (c = 0.49, CHCl₃)

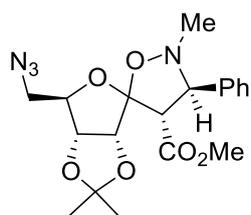
Mp = 141°C

^1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.35 (s, 3H, CH₃), 1.44 (s, 3H, CH₃), 2.46 (s, 3H, CH₃-Ph), 2.55 (s, 3H, N-CH₃), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (d, 1H, $J_{3,4}$ = 9.5 Hz, H-4), 4.04 (d, 2H, $J_{8,9}$ = 7.0 Hz, H-9, H-9'), 4.17 (d, 1H, H-3), 4.33 (t, 1H, H-8), 4.75 (m, 2H, H-6, H-7), 7.307.38 (m, 7H, H-Ar), 7.82 (d, 2H, H-Ar). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 21.8 (CH₃-Ph), 25.2, 26.1 (C(CH₃)₂), 43.5 (N-CH₃), 52.1 (CH₃O), 59.4 (C-4), 68.6 (C-9), 75.4 (C-3), 81.5 (C-7), 83.2 (C-8), 85.5 (C-6), 113.2 (C-5), 113.5 (C(CH₃)₂), 128.1, 128.2, 128.6, 128.9, 130.1 (9 C-Ar), 132.7 (C-Ar), 137.0 (C-Ar), 145.2 (C-Ar), 168.9

(C=O). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 556.1618$ (calculated for $C_{26}H_{31}NO_9SNa$: 556.1612). **IR** (NaCl) $\nu = 3400, 2924, 1740\text{ cm}^{-1}$

Compound 183

To a solution of **182** (2.0 g, 3.8 mmol) in DMF (10 mL) was added sodium azide (2.0 g, 30.4 mmol, 8 eq.) and the mixture was stirred for 2 days at 80°C. The solvent was removed in vacuo and the residue was diluted with EtOAc (50 mL) and washed with H₂O (20 mL) and brine (20 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was evaporated under reduced pressure. The compound was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **183**.



Yield 95% as a colorless gum

$C_{19}H_{24}N_4O_6$

M.W.: 404.42 g/mol

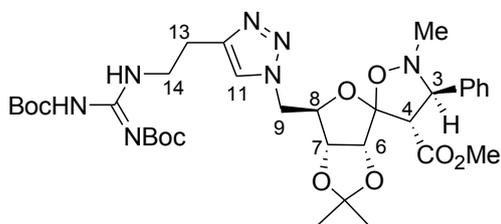
$R_f = 0.77$ (cH/EA: 2/1)

$[\alpha]_D = -63.3^\circ$ (c = 0.55, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 1.37$ (s, 3H, CH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 2.62 (s, 3H, N-CH₃), 3.22 (dd, 1H, $J_{8,9} = 7.5$, $J_{9,9'} = 12.5$ Hz, H-9), 3.55 (dd, 1H, $J_{8,9'} = 7.5$ Hz, H-9'), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (d, 1H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-4), 4.21-4.32 (m, 2H, H-3, H-8), 4.70 (d, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, H-7), 4.81 (d, 1H, H-6), 7.31-7.37 (m, 5H, H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz)**: $\delta = 25.2, 26.2$ (C(CH₃)₂), 43.3 (N-CH₃), 52.0 (CH₃O), 52.9 (C-9), 59.6 (C-4), 75.3 (C-3), 81.9 (C-7), 85.1 (C-8), 85.8 (C-6), 113.2 (C-5), 113.5 (C(CH₃)₂), 128.1, 128.5, 128.9 (5 C-Ar), 137.1 (C-Ar), 168.8 (C=O). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 427.1578$ (calculated for $C_{19}H_{24}N_4O_6Na$: 427.1588). **IR** (NaCl) $\nu = 3435, 2103, 1741, 1644\text{ cm}^{-1}$

Compound 184

To a solution of **183** (404 mg, 1.0 mmol, 1 eq.) and **179** (311 mg, 1.0 mmol, 1 eq.) in *t*BuOH (4 ml) were added a solution of sodium ascorbate (1 M, 1 ml/mmol, 1 eq.) and a solution of copper acetate (Cu(OAc)₂, 0.3 M, 3 ml/mmol, 0.9 eq.). After 24h, CH₂Cl₂ (10 ml) was added and the layers were separated. The organic layer was washed with a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (5 ml) and brine (5 ml), dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The compound was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **184**.



Yield 84% as a white solid

$C_{34}H_{49}N_7O_{10}$

M.W.: 715.79 g/mol

$R_f = 0.26$ (cH/EA: 2/1)

$[\alpha]_D = +5.2^\circ$ (c = 0.68, CHCl₃)

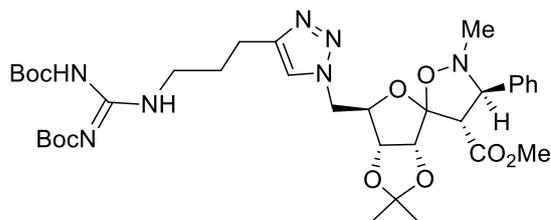
Mp = 69°C

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 1.35$ (s, 3H, CH₃), 1.44 (s, 3H, CH₃), 1.48 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.51 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.63 (s, 3H, N-CH₃), 3.06 (t, 2H, $J_{13,14} = 7.0$ Hz, 2H-13), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (d, 1H, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-4), 4.21-4.24 (m, 3H, H-3, 2H-14), 4.36 (dd, 1H, $J_{8,9} = 6.5$, $J_{9,9'} = 13.0$ Hz, H-9), 4.49 (t, 1H, H-8), 4.61 (dd, 1H, $J_{8,9'} = 6.5$ Hz, H-9'), 4.83 (d, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, H-7), 4.86 (d, 1H, H-6), 7.31-7.40 (m, 5H, H-Ar), 7.60 (s, 1H, H-11), 9.23 (NH), 9.34 (NH). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz)**: $\delta =$

25.3 (C(CH₃)₂), 25.5 (C-13), 26.2 (C(CH₃)₂), 28.1, 28.5 (6C, C(CH₃)₃), 43.3 (N-CH₃), 44.4 (C-14), 52.1 (CH₃O), 52.3 (C-9), 59.4 (C-4), 75.6 (C-3), 78.9 (C(CH₃)₃), 81.7 (C-7), 84.1 (C(CH₃)₃), 84.9 (C-8), 85.7 (C-6), 113.3 (C-5), 113.6 (C(CH₃)₂), 123.0 (C-11), 128.2, 128.7, 128.9 (5 C-Ar), 136.9 (C-Ar), 145.4 (C-12), 155.0 (C=N), 160.6 (C=O), 164.0 (C=O), 168.9 (CH₃OCO-). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 738.3409 (calculated for C₃₄H₄₉N₇O₁₀Na: 738.3433). **IR** (NaCl) ν = 3391, 2980, 1740, 1715 cm⁻¹

Compound 185

Prepared starting from **183** and **180** following procedure described for **184**.



Yield 70% as a white solid

C₃₅H₅₁N₇O₁₀

M.W.: 729.82 g/mol

R_f = 0.18 (cH/EA: 2/1)

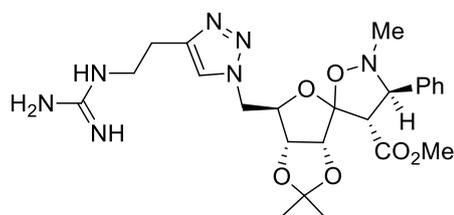
[α]_D = +2.2° (c = 0.46, CHCl₃)

Mp = 73 °C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.35 (s, 3H, CH₃), 1.44 (s, 3H, CH₃), 1.51 (s, 18H, C(CH₃)₃), 2.00-2.06 (m, 2H, 2H-14), 2.64 (s, 3H, N-CH₃), 2.80 (t, 2H, J_{13,14} = 7.0 Hz, 2H-13), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (d, 1H, J_{3,4} = 9.0 Hz, H-4), 4.02 (m, 2H, 2H-15), 4.23 (d, 1H, H-3), 4.38 (dd, 1H, J_{8,9} = 6.5, J_{9,9'} = 12.5 Hz, H-9), 4.49 (t, 1H, H-8), 4.62 (dd, 1H, J_{8,9'} = 7.0 Hz, H-9'), 4.84 (d, 1H, J_{6,7} = 6.0 Hz, H-7), 4.88 (d, 1H, H-6), 7.32-7.37 (m, 5H, H-Ar), 7.65 (s, 1H, H-11), 9.34 (NH). **¹³C NMR** (CDCl₃, 62.9 MHz): δ = 23.1 (C-14), 25.2 (C(CH₃)₂), 26.1 (C(CH₃)₂), 28.1, 28.5 (7C, C-13, C(CH₃)₃), 43.2 (N-CH₃), 44.3 (C-15), 52.0 (CH₃O), 52.2 (C-9), 59.3 (C-4), 75.5 (C-3), 78.9 (C(CH₃)₃), 81.6 (C-7), 83.9 (C(CH₃)₃), 84.9 (C-8), 85.7 (C-6), 113.2 (C-5), 113.5 (C(CH₃)₂), 122.2 (C-11), 128.1, 128.6, 128.9 (5 C-Ar), 136.9 (C-Ar), 147.7 (C-12), 155.1 (C=N), 160.8 (C=O), 164.0 (C=O), 168.9 (CH₃OCO-). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 752.3585 (calculated for C₃₅H₅₁N₇O₁₀Na: 752.3590). **IR** (NaCl) ν = 2981, 2080, 1640 cm⁻¹

Compound 186

To a stirred solution of **184** (286 mg, 0.4 mmol) in CH₂Cl₂ (4 ml) was added trifluoroacetic acid (1 ml) at 0°C under argon atmosphere. After stirring at room temperature until completion of the reaction, the solvent was removed under reduced pressure and co-evaporated with Et₂O (3x5 mL). The residue was purified by column chromatography (C-18 silica gel, H₂O/ACN) and lyophilized to provide **186**.



Yield 70% as a white solid

C₂₄H₃₃N₇O₆

M.W.: 515.56 g/mol

R_f = 0.12 (CH₂Cl₂/MeOH: 9/1)

[α]_D = +21.3° (c = 0.58, CHCl₃)

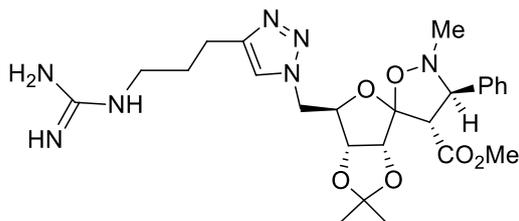
Mp = 66 °C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.38 (s, 3H, CH₃), 1.44 (s, 3H, CH₃), 2.63 (s, 3H, N-CH₃), 3.03 (m, 2H, J_{13,14} = Hz, 2H-13), 3.60 (s, 3H, OCH₃), 3.60-3.64 (m, 2H, 2H-14), 3.95 (d, 1H, J_{3,4} = 9.0 Hz, H-4), 4.11 (d, 3H, H-3), 4.38 (m, 1H, H-9), 4.52-4.65 (m, 2H, H-8, H-9'), 4.80 (d, 1H, J_{6,7} = 6.0 Hz, H-7), 4.89 (d, 1H, H-6), 7.31-7.38 (m, 5H, H-Ar), 7.67 (s, 1H, H-11), 8.20 (NH). **¹³C NMR** (CDCl₃, 62.9

MHz): δ = 25.3 (C(CH₃)₂), 25.6 (C-13), 26.2 (C(CH₃)₂), 41.0 (C-14), 43.1 (N-CH₃), 52.3 (CH₃O), 52.7 (C-9), 59.4 (C-4), 75.8 (C-3), 81.6 (C-7), 84.9 (C-8), 85.6 (C-6), 113.3 (C-5), 113.8 (C(CH₃)₂), 124.3 (C-11), 128.2, 128.8, 129.0 (5 C-Ar), 136.6 (C-Ar), 144.1 (C-12), 158.0 (C=N), 169.7 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 538.2366 (calculated for C₂₄H₃₃N₇O₆Na: 538.2385). **IR** (NaCl) ν = 3370, 1737, 1677 cm⁻¹

Compound 187

Prepared starting from **185** following procedure described for **186**.



Yield 70% as a white solid

C₂₅H₃₅N₇O₆

M.W.: 529.59 g/mol

R_f = 0.29 (CH₂Cl₂/MeOH: 9/1)

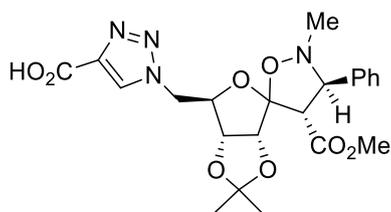
[α]_D = +24.9° (c = 0.99, CHCl₃)

Mp = 68 °C

¹H NMR (MeOH-d₄, 400 MHz): δ = 1.39 (s, 3H, CH₃), 1.46 (s, 3H, CH₃), 1.99 (q, 2H, 2H-14), 2.63 (s, 3H, N-CH₃), 2.82 (t, 2H, $J_{13,14}$ = 7.5 Hz, 2H-13), 3.28 (t, 2H, $J_{14,15}$ = 7.0 Hz, 2H-15), 3.59 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (d, 1H, $J_{3,4}$ = 9.5 Hz, H-4), 4.16 (d, 2H, H-3), 4.39-4.52 (m, 2H, H-8, H-9), 4.66 (dd, 1H, $J_{9,9'}$ = 11.5, $J_{8,9'}$ = 3.0 Hz, H-9'), 4.91 (d, 1H, $J_{6,7}$ = 6.0 Hz, H-6), 4.94 (d, 1H, H-7), 7.35-7.38 (m, 5H, H-Ar), 7.85 (s, 1H, H-11). **¹³C NMR (MeOH-d₄, 100 MHz):** δ = 23.1 (C-14), 25.2 (C(CH₃)₂), 26.4 (C(CH₃)₂), 29.5 (C-13), 41.7 (C-15), 43.5 (N-CH₃), 52.5 (CH₃O), 53.5 (C-9), 60.7 (C-4), 77.1 (C-3), 82.8 (C-7), 86.2 (C-8), 86.9 (C-6), 114.7 (C-5, C(CH₃)₂), 124.7 (C-11), 129.0, 129.8, 130.0 (5 C-Ar), 138.1 (C-Ar), 147.6 (C-12), 158.8 (C=N), 170.6 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 552.2534 (calculated for C₂₅H₃₅N₇O₆Na: 552.2541). **IR** (pellets) ν = 3345, 3170, 3000, 2881, 1735, 1674 cm⁻¹

Compound 189

To a solution of compound **183** (0.9 mmol, 1 eq.) and propionic acid (0.9 mmol, 1 eq.) in *tbu*OH/H₂O (4 ml/4 ml) were added sodium ascorbate (20 mg, 0.09 mmol, 0.1 eq.) and CuSO₄·5H₂O (3 mg, 0.009 mmol, 0.01 eq.) and the solution was stirred at room temperature for 24h. After completion, HCl 1N was added until pH = 1-2 and the product was extracted with CH₂Cl₂ (3x10 ml). The organic layers were dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The compound was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA).



Yield 100% as a white solid

C₂₂H₂₆N₄O₈

M.W.: 474.46 g/mol

R_f = 0.20 (CH₂Cl₂/MeOH: 9/1)

[α]_D = -15.0° (c = 0.98, CHCl₃)

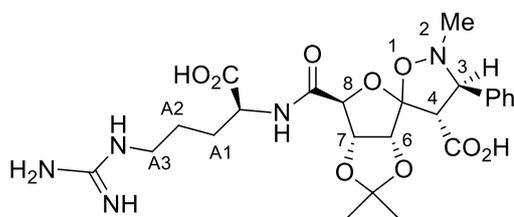
Mp = 75 °C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.39 (s, 3H, CH₃), 1.47 (s, 3H, CH₃), 2.64 (s, 3H, N-CH₃), 3.64 (s, 3H, OCH₃), 3.94 (d, 1H, $J_{3,4}$ = 9.5 Hz, H-4), 4.25 (d, 1H, H-3), 4.42-4.57 (m, 2H, H-8, H-9), 4.78 (dd, 1H, $J_{8,9}$ = 3.0, $J_{9,9'}$ = 12.5 Hz, H-9'), 4.85 (d, 1H, $J_{6,7}$ = 6.0 Hz, H-7), 4.91 (d, 1H, H-6), 7.31-7.42 (m,

5H, *H*-Ar), 8.40 (s, 1H, *H*-11). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 62.9 MHz): δ = 25.2, 26.1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 42.9 (N- CH_3), 52.1 (CH_3O), 52.9 (*C*-9), 59.1 (*C*-4), 75.6 (*C*-3), 81.3 (*C*-7), 84.7 (*C*-8), 85.6 (*C*-6), 113.4 (*C*-5), 114.0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 128.2, 128.8, 128.9 (5 *C*-Ar), 129.8 (*C*-11), 136.0 (*C*-Ar), 139.4 (*C*-12), 162.9 ($\text{C}=\text{O}$), 168.4 ($\text{C}=\text{O}$). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z = 497.1641 (calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_8\text{Na}$: 497.1643). **IR** (NaCl) ν = 2985, 2947, 1737 cm^{-1}

Compound 192

To a solution of **181** (340 mg, 0.90 mmol, 1 eq.) in water (7 ml) and acetonitrile (1.5 ml) were added NaBr (92 mg, 0.90 mmol, 1 eq.) and TEMPO (21 mg, 0.14 mmol, 0.15 eq.). An aqueous solution of NaOCl (9.5%, 4 eq.) was added at 0°C and the pH was adjusted to 10-11 by addition of NaOCl. After completion of the reaction, HCl 1N was added until pH = 2-3 and the product was extracted with CH_2Cl_2 (3x20 ml). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The obtained carboxylic acid was used without further purification and coupled with H-L-arg-OMe following procedure described for **177**.



Yield 32% as a white solid

$\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_9$

M.W.: 535.55 g/mol

R_f = 0.23 ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$: 1/1)

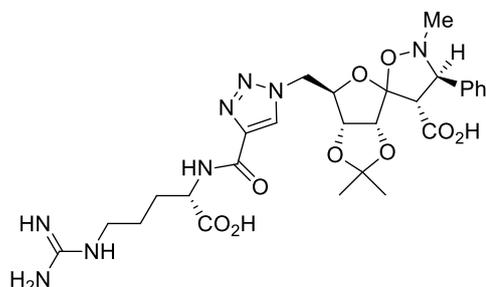
$[\alpha]_D = -23.6^\circ$ (c = 0.5, H_2O)

Mp = 175 °C

^1H NMR (D_2O , 400 MHz): δ = 1.44 (s, 3H, CH_3), 1.51 (s, 3H, CH_3), 1.62-1.67(m, 2H, 2*H*-A2), 1.78 (m, 1H, *H*-A1), 1.92 (m, 1H, *H*-A1'), 2.61 (s, 3H, N- CH_3), 3.20 (t, 2H, J = 7.0 Hz, 2*H*-A3), 3.80 (d, 1H, $J_{3,4}$ = 11.0 Hz, *H*-4), 4.21-4.28 (m, 2H, *H*-3, *H*- α), 4.73 (d, 1H, $J_{7,8}$ = 2.0 Hz, *H*-8), 4.85 (d, 1H, $J_{6,7}$ = 6.0 Hz, *H*-6), 5.15 (dd, 1H, *H*-7), 7.41-7.49 (m, 5H, *H*-Ar). ^{13}C NMR (D_2O , 100 MHz): δ = 24.4, 24.6, 25.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$, *C*-A2), 28.6 (*C*-A1), 40.5 (*C*-A3), 42.6 (N- CH_3), 54.6 (*C*- α), 62.1 (*C*-4), 77.1 (*C*-3), 81.9 (*C*-7), 85.2 (*C*-6), 85.7 (*C*-8), 113.7, 114.2 (*C*-5, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 128.2, 129.1 (5 *C*-Ar), 134.9 (*C*-Ar), 156.6 ($\text{C}=\text{N}$), 171.1 ($\text{C}=\text{O}$), 173.8 ($\text{C}=\text{O}$), 178.0 ($\text{C}=\text{O}$). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z = 536.2332 (calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_5\text{O}_9$: 536.2351). **IR** (pellets) ν = 3364, 2213, 1664, 1591 cm^{-1}

Compound 194

Prepared starting from **189** following procedure described for **177**.



Yield 62% as a white solid

$\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_8\text{O}_9$

M.W.: 616.62 g/mol

R_f = 0.65 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 3/7)

$[\alpha]_D = +32.5^\circ$ (c = 0.2, MeOH)

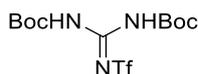
Mp = 245 °C

^1H NMR ($\text{MeOH}-d_4$, 250 MHz): δ = 1.40 (s, 3H, CH_3), 1.48 (s, 3H, CH_3), 1.56-1.68 (m, 2H, 2*H*-A2), 1.83 (m, 1H, *H*-A1), 2.09 (m, 1H, *H*-A1'), 2.65 (s, 3H, N- CH_3), 3.15 (m, 1H, *H*-A3), 3.42 (m, 1H, *H*-A3), 3.73 (d, 1H, $J_{3,4}$ = 9.0 Hz, *H*-4), 4.27 (d, 1H, *H*-3), 4.38-4.52 (m, 2H, 2 *H*-9), 4.57 (dd, 1H, J = 8.5,

$J = 4.0$ Hz, $H-\alpha$), 4.79 (m, 1H, $H-8$), 4.90 (d, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, $H-6$), 4.95 (dd, 1H, $H-7$), 7.25-7.44 (m, 5H, $H-Ar$), 8.55 (s, 1H, H triazole). ^{13}C NMR (MeOH- d_4 , 62.9 MHz): $\delta = 24.4, 24.9, 25.6$ ($C(CH_3)_2$, $C-A2$), 30.1 ($C-A1$), 40.5 ($C-A3$), 42.2 ($N-CH_3$), 53.1, 53.2 ($C-\alpha$, $C-9$), 62.3 ($C-4$), 77.5 ($C-3$), 81.4 ($C-7$), 85.1 ($C-8$), 86.0 ($C-6$), 113.5, 114.0 ($C-5$, $C(CH_3)_2$), 127.9, 128.0, 128.1, 128.5 (5 $C-Ar$, C triazole), 138.5 ($C-Ar$), 142.4 (C triazole), 157.5 ($C=N$), 161.0 ($C=O$), 174.1 ($C=O$), 176.8 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+H]^+$ $m/z = 617.2717$ (calculated for $C_{27}H_{37}N_8O_9$: 617.2678). IR (pellets) $\nu = 3374, 3175, 2985, 2943, 2876, 1957, 1600, 1496$ cm^{-1}

Compound 196

To a solution of **178** (900 mg, 3.5 mmol, 1 eq.) and triethylamine (0.7 mL, 4.4 mmol, 1.25 éq.) in CH_2Cl_2 (20 mL) was added dropwise Tf_2O (0.8 mL, 4.2 mmol, 1.2 éq.) at $-78^\circ C$. After stirring for 4 h at a temperature kept below $-20^\circ C$, a 2M sodium bisulfate solution (10 mL) was added and the mixture was stirred for 5 minutes. The layers were separated and the product was extracted with CH_2Cl_2 (3x20 mL). The combined organic layers were washed with a 2M sodium bisulfate solution (10 mL), brine (10 mL), dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent was evaporated. The product was used without further purification.



Yield: quantitative as a white solid

$C_{12}H_{20}F_3N_3O_6S$

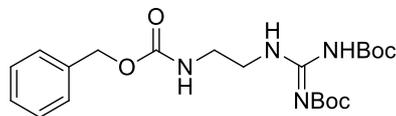
M.W.: 391.10 g/mol

Rf: 0.86 ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.46$ (s, 18H, $C(CH_3)_3$), 11.08 (br s, 2H, NH).

Compound 197

To a stirred solution of compound **196** (360 mg, 0.92 mmol, 1 eq.) in CH_2Cl_2 (8 mL) was added *N*-benzyloxycarbonyl-1,2-ethanediamine (178 mg, 0.92 mmol, 1 eq.). After 30 minutes at room temperature, CH_2Cl_2 (20 mL) was added. The mixture was washed with a 2M sodium bisulfate solution (10 mL), a saturated aqueous solution of $NaHCO_3$ (10 mL), dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent was evaporated. The product **197** was used without further purification.



Yield quantitative as a white solid

$C_{21}H_{32}N_4O_6$

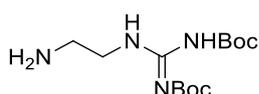
M.W.: 436.23 g/mol

Rf: 0.74 ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.46$ (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 1.49 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 3.36-3.43 (m, 2H, CH_2), 3.55-3.62 (m, 2H, CH_2), 5.09 (s, 2H, CH_2-Ph), 5.86 (br s, 1H, NH), 7.31-7.34 (m, 5H, $H-Ar$), 8.57 (br s, 1H, NH), 11.44 (br s, 1H, NH).

Compound 198

To a solution of compound **197** (550mg, 1.26 mmol, 1 eq.) in MeOH (10 mL) was added Pd/C (10%) (10%w/w). The mixture was stirred under H_2 atmosphere (15 psi) for 6 h. The reaction mixture was then filtered through a pad of celite and concentrated to give the desired product **198**.



Yield 90% as a white solid

C₁₃H₂₆N₄O₄

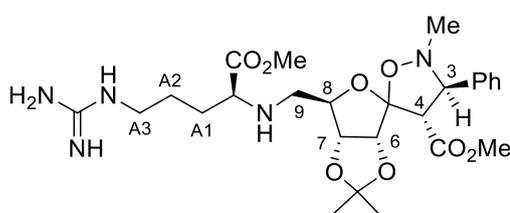
M.W.: 302.20 g/mol

R_f: 0.0 (CH₂Cl₂/MeOH: 9/1)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.40 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.43 (s, 9H, C(CH₃)₃), 3.20-3.27 (m, 2H, CH₂), 3.58-3.65 (m, 2H, CH₂), 8.63 (br s, 1H, NH), 11.24 (br s, 1H, NH).

Compound 199

To a cooled solution (-78 °C) of oxalyl chloride (160 μL, 0.88 mmol, 1.7 eq.) in CH₂Cl₂ (4 ml) was slowly added a solution of DMSO (240 μL, 1.76 mmol, 3.4 eq.) in CH₂Cl₂ (4 ml). After 30 min. of stirring, a solution of **181** (380 mg, 1.0 mmol, 1 eq.) in CH₂Cl₂ (6 ml) was added. After 30 additional minutes, triethylamine (600 μL, 4.0 mmol, 4 eq.) was added and the mixture was stirred for 30 min. at -78 °C. The reaction mixture was allowed to reach room temperature and water (10 mL) was added and the product was extracted with CH₂Cl₂ (3x10 ml). The combined organic layers were washed with an aqueous solution of HCl 1N (10 ml), a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (10 ml), water (10 ml) and dried over MgSO₄. The solvent was removed under reduced pressure and the product was used without further purification. To a stirred solution of this aldehyde in anhydrous MeOH (15 ml) was added amine partner (1.5 mmol, 1.5 eq.) at 0°C under argon atmosphere. After stirring for 4h at 0°C, acetic acid (0.5 ml) was added. After 10 min, NaBH₃CN (95 mg, 1.5 mmol, 1.5 eq.) was added and the mixture was stirred for 1h. The solvent was evaporated and the residue was diluted with CH₂Cl₂ (40 ml), washed with water (10 ml) and a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (2x10 ml). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The compound was purified by column chromatography (silica gel, CH₂Cl₂/MeOH) to provide **199**.



Yield 65% as a colorless gum

C₂₆H₃₉N₅O₈

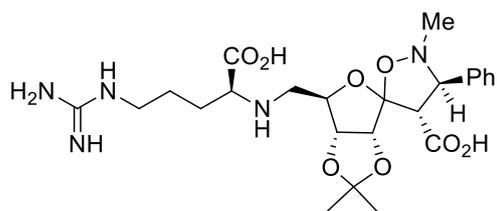
M.W.: 549.62 g/mol

R_f = 0.44 (CH₂Cl₂/MeOH: 9/1)[α]_D = -12.5° (c = 0.53, MeOH)

¹H NMR (MeOH-d₄, 250 MHz): δ = 1.38 (s, 3H, CH₃), 1.47 (s, 3H, CH₃), 1.65-1.80 (m, 4H, 2H-A1, 2H-A2), 2.58-2.66 (m, 4H, N-CH₃, H-9), 2.81 (dd, 1H, J_{8,9} = 5.5, J_{9,9'} = 12.5 Hz, H-9'), 3.21-3.26 (m, 2H, 2H-A3), 3.48 (t, 1H, H-α), 3.64 (s, 3H, OCH₃), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (d, 1H, J_{3,4} = 9.5 Hz, H-4), 4.14 (d, 1H, H-3), 4.26 (dd, 1H, H-8), 4.78-4.82 (m, 2H, H-6, H-7), 7.32-7.38 (m, 5H, H-Ar). ¹³C NMR (MeOH-d₄, 62.9 MHz): δ = 25.1, 26.3 (C(CH₃)₂), 26.4 (C-A2), 30.6 (C-A1), 42.0 (C-A3), 43.6 (N-CH₃), 51.1 (C-9), 52.4 (CH₃O), 52.5 (CH₃O), 60.7 (C-4), 61.8 (C-α), 77.0 (C-3), 83.6 (C-7), 87.1 (C-8), 87.6 (C-6), 114.2 (C(CH₃)₂), 114.6 (C-5), 129.0, 129.7, 129.9 (5 C-Ar), 138.3 (C-Ar), 158.6 (C=N), 170.9 (C=O), 176.3 (C=O). ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 572.2692 (calculated for C₂₆H₃₉N₅O₈Na: 572.2691). IR (pellets) ν = 3360, 3199, 2952, 1740, 1664, 1657 cm⁻¹

Compound 200

Prepared starting from **199** following procedure described for **171**.



Yield 80% as a white solid

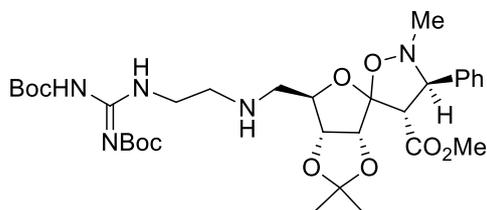
 $C_{24}H_{35}N_5O_8$

M.W.: 521.56 g/mol

 $R_f = 0.24$ ($H_2O/MeOH$: 1/1) $[\alpha]_D = -57.9^\circ$ ($c = 0.33, H_2O$)

Mp = 230°C

1H NMR (D_2O , 400 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, CH_3), 1.41 (s, 3H, CH_3), 1.50-1.64 (m, 4H, 2 H -A1, 2 H -A2), 2.53-2.59 (m, 4H, N- CH_3 , H -9), 2.70 (dd, 1H, $J_{gem} = 12.0, J_{8,9} = 5.0$ Hz, H -9'), 3.05 (m, 1H, H - α), 3.12 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz, 2 H -A3), 3.63 (d, 1H, $J_{3,4} = 11.0$ Hz, H -4), 4.14 (d, 1H, H -3), 4.22 (ddd, 1H, $J_{8,9} = 9.0, J_{7,8} = 0.5$ Hz, H -8), 4.74 (dd, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, H -7), 4.77 (d, 1H, H -6), 7.31-7.40 (m, 5H, H -Ar). **^{13}C NMR (D_2O , 100 MHz):** $\delta = 24.0, 25.2$ ($C(CH_3)_2$), 24.6 (C -A2), 29.5 (C -A1), 40.9 (C -A3), 43.3 (N- CH_3), 50.3 (C -9), 62.3 (C -4), 63.6 (C - α), 76.8 (C -3), 81.8 (C -7), 84.9 (C -8), 85.4 (C -6), 113.3, 113.5 ($C(CH_3)_2$, C -5), 128.2, 128.9, 129.0 (5 C -Ar), 135.6 (C -Ar), 156.7 ($C=N$), 174.2 ($C=O$ spiro), 181.5 ($C=O$ arginine). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 544.2369$ (calculated for $C_{24}H_{35}N_5O_8Na$: 544.2378). **IR** (pellets) $\nu = 3360, 3165, 2985, 2943, 2867, 1664, 1591$ cm^{-1}

Compound 201Prepared starting from **181** following procedure described for **199**.

Yield 55% as a colorless gum

 $C_{32}H_{49}N_5O_{10}$

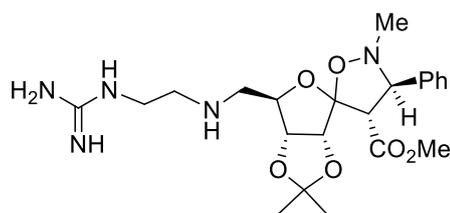
M.W.: 663.76 g/mol

 $R_f = 0.20$ (cH/EA : 2/1) $[\alpha]_D = +11.6^\circ$ ($c = 0.52, CHCl_3$)

Mp = 210 °C

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.37$ (s, 3H, CH_3), 1.48 (s, 3H, CH_3), 1.50 (s, 18H, $C(CH_3)_3$), 2.60 (s, 3H, N- CH_3), 2.76 (dd, 1H, $J_{8,9} = 6.0, J_{9,9'} = 12.5$ Hz, H -9), 2.83-2.88 (m, 3H, H -9', CH_2), 3.49-3.53 (m, 2H, CH_2), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 3.93 (d, 1H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H -4), 4.19 (d, 1H, H -3), 4.35 (t, 1H, H -8), 4.81 (d, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, H -7), 4.86 (d, 1H, H -6), 7.28-7.38 (m, 5H, H -Ar), 8.76 (br s, 1H, NH), 11.47 (br s, 1H, NH). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz):** $\delta = 25.2, 26.1$ ($C(CH_3)_2$), 28.2, 28.4 ($C(CH_3)_3$), 40.5 (CH_2), 43.4 (N- CH_3), 48.0 (CH_2), 51.4 (C -9), 52.0 (CH_3O), 59.6 (C -4), 75.5 (C -3), 79.5 ($C(CH_3)_3$), 82.5 (C -7), 83.1 ($C(CH_3)_3$), 85.9 (C -8), 86.2 (C -6), 113.0 ($C(CH_3)_2$), 113.5 (C -5), 128.2, 128.5, 128.8 (5 C -Ar), 137.4 (C -Ar), 153.1 ($C=N$), 156.4 ($C=O$), 163.5 ($C=O$), 169.3 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 686.3389$ (calculated for $C_{32}H_{49}N_5O_{10}Na$: 686.3372). **IR** (NaCl) $\nu = 3336, 2976, 2876, 1737, 1723, 1640$ cm^{-1}

Compound 202Prepared starting from **201** following procedure described for **186**.



Yield 82% as a white solid

 $C_{22}H_{33}N_5O_6$

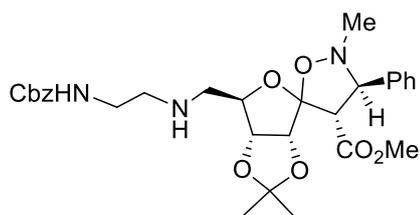
M.W.: 463.53 g/mol

 $R_f = 0.18$ ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1) $[\alpha]_D = -1.7^\circ$ ($c = 0.64$, MeOH)

Mp = 118 °C

1H NMR (MeOH- d_4 , 400 MHz): $\delta = 1.39$ (s, 3H, CH_3), 1.48 (s, 3H, CH_3), 2.58 (s, 3H, N- CH_3), 2.91 (t, 1H, $J_{9,9'} = 11.5$ Hz, $H-9$), 3.01-3.07 (m, 3H, $H-9'$, CH_2), 3.42-3.46 (m, 2H, CH_2), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 3.93 (d, 1H, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, $H-4$), 4.11 (d, 1H, $H-3$), 4.39 (dd, 1H, $H-8$), 4.80 (d, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, $H-7$), 4.84 (d, 1H, $H-6$), 7.33-7.39 (m, 5H, $H-Ar$). **^{13}C NMR (MeOH- d_4 , 100 MHz):** $\delta = 25.2$, 26.4 ($C(CH_3)_2$), 41.0 (CH_2), 43.2 (N- CH_3), 49.8 (CH_2), 52.0 ($C-9$), 52.6 (CH_3O), 60.7 ($C-4$), 77.3 ($C-3$), 83.4 ($C-7$), 85.6 ($C-8$), 86.8 ($C-6$), 114.5 ($C-5$, $C(CH_3)_2$), 129.0, 129.9, 130.0 (5 $C-Ar$), 138.0 ($C-Ar$), 159.2 ($C=N$), 171.2 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 486.2310$ (calculated for $C_{22}H_{33}N_5O_6Na$: 486.2323). **IR** (pellets) $\nu = 3355$, 3180, 1685, 1676 cm^{-1}

Compound 203

Prepared starting from **181** following procedure described for **199**.

Yield 40% as a colorless gum

 $C_{29}H_{37}N_3O_8$

M.W.: 555.62 g/mol

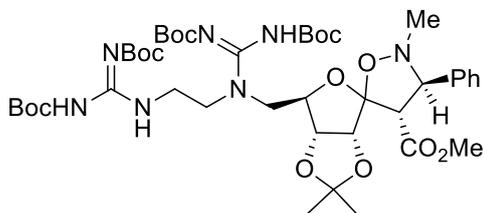
 $R_f = 0.27$ ($CH_2Cl_2/MeOH$: 98/2) $[\alpha]_D = -2.6^\circ$ ($c = 0.47$, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 1.36$ (s, 3H, CH_3), 1.48 (s, 3H, CH_3), 2.57 (s, 3H, N- CH_3), 2.72-2.79 (m, 4H, $H-9$, $H-9'$, CH_2), 3.27-3.32 (m, 2H, CH_2), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 3.92 (d, 1H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $H-4$), 4.18 (d, 1H, $H-3$), 4.29 (t, 1H, $J_{8,9} = 6.5$ Hz, $H-8$), 4.69 (d, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, $H-7$), 4.77 (d, 1H, $H-6$), 5.11 (s, 2H, CH_2-Ph), 5.34 (br s, 1H, NH), 7.29-7.39 (m, 10H, $H-Ar$). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz):** $\delta = 25.2$, 26.2 ($C(CH_3)_2$), 40.5 (CH_2), 43.2 (N- CH_3), 48.6 (CH_2), 51.6 ($C-9$), 52.0 (CH_3O), 59.5 ($C-4$), 66.7 (CH_2-Ph), 75.5 ($C-3$), 82.5 ($C-6$), 85.9 ($C-8$), 86.1 ($C-7$), 113.2 ($C-5$, $C(CH_3)_2$), 128.2, 128.3, 128.5, 128.6, 128.8 (10 $C-Ar$), 136.8 ($C-Ar$), 137.3 ($C-Ar$), 156.6 ($C=O$), 169.3 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+H]^+$ $m/z = 556.2684$ (calculated for $C_{29}H_{38}N_3O_8$: 556.2653). **IR** (NaCl) $\nu = 3350$, 2943, 1735, 1723 cm^{-1}

Compound 205

To a solution of **203** (278 mg, 0.5 mmol) in MeOH (10 mL) was added Pd/C (10%) (30 mg, 10% w/w). After stirring under H_2 atmosphere (30 psi) until completion of the reaction, the mixture was filtered through a pad of celite and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude was solubilized in DMF (3 mL) and *N,N'*-di-boc-*S*-methylisothioureia (291 mg, 1.0 mmol, 2eq.), $HgCl_2$ (134 mg, 0.5 mmol, 1 eq.) and Et_3N (153 mg, 1.5 mmol, 3 eq.) were added under argon atmosphere. After stirring 14 h at room temperature, the solvent was removed *in vacuo* and the residue was dissolved in EtOAc (40 mL). The organic layer was washed with water (5 mL), brine (5 mL), dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent

was removed under reduced pressure. The compound was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **205**.



Yield 40% as a white solid

$C_{43}H_{67}N_7O_{14}$

M.W.: 906.03 g/mol

$R_f = 0.44$ (cH/EA: 2/1)

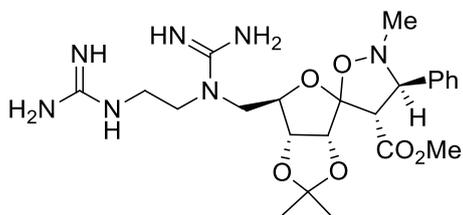
$[\alpha]_D = +7.8^\circ$ (c = 0.51, $CHCl_3$)

Mp = 85°C

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.36$ (s, 3H, CH_3), 1.46-1.51 (m, 39H, 4 $C(CH_3)_3$, CH_3), 2.61 (s, 3H, N- CH_3), 3.31-3.41 (m, 2H, CH_2), 3.66 (s, 3H, OCH_3), 3.66-3.83 (m, 4H, $H-9$, $H-9'$, CH_2), 3.89 (d, 1H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $H-4$), 4.21 (d, 1H, $H-3$), 4.49 (m, 1H, $H-8$), 4.68 (d, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, $H-7$), 4.79 (d, 1H, $H-6$), 7.30-7.39 (m, 5H, $H-Ar$), 8.52 (br s, 1H, NH), 11.45 (br s, 1H, NH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 25.3$, 26.3 ($C(CH_3)_2$), 28.1, 28.2, 28.3, 28.4 (4 $C(CH_3)_3$), 38.6 (CH_2), 43.0 (N- CH_3), 47.9 (CH_2), 51.7 ($C-9$), 52.1 (CH_3O), 59.6 ($C-4$), 75.4 ($C-3$), 79.1 (2 $C(CH_3)_3$), 82.3 ($C-7$), 83.0 (2 $C(CH_3)_3$), 85.3 ($C-8$), 85.7 ($C-6$), 113.2, 113.4 ($C(CH_3)_2$, $C-5$), 128.2, 128.5, 128.9 (5 $C-Ar$), 137.2 ($C-Ar$), 153.0 ($C=N$), 154.5 ($C=N$), 156.6 (2 $C=O$), 163.6 (2 $C=O$), 168.8 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ m/z = 928.4622 (calculated for $C_{43}H_{67}N_7O_{14}Na$: 928.4638). IR (NaCl) $\nu = 3336$, 2976, 2933, 1792, 1742, 1725 cm^{-1}

Compound 206

Prepared starting from **205** following procedure described for **186**.



Yield 88% as a white solid

$C_{23}H_{35}N_7O_6$

M.W.: 505.57 g/mol

$R_f = 0.05$ ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1)

$[\alpha]_D = +16.1^\circ$ (c = 0.57, MeOH)

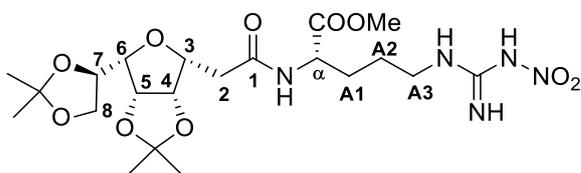
Mp = 180 °C

1H NMR ($MeOH-d_4$, 250 MHz): $\delta = 1.40$ (s, 3H, CH_3), 1.48 (s, 3H, CH_3), 2.59 (s, 3H, N- CH_3), 3.40-3.89 (m, 6H, $H-9$, $H-9'$, 2 CH_2), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 3.94 (d, 1H, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, $H-4$), 4.11 (d, 1H, $H-3$), 4.45 (m, 1H, $H-8$), 4.79 (d, 1H, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, $H-7$), 4.88 (d, 1H, $H-6$), 7.33-7.39 (m, 5H, $H-Ar$). ^{13}C NMR ($MeOH-d_4$, 62.9 MHz): $\delta = 25.2$, 26.4 ($C(CH_3)_2$), 39.5 (CH_2), 43.0 (N- CH_3 , CH_2), 52.7 ($C-9$), 53.5 (CH_3O), 60.7 ($C-4$), 75.5 ($C-3$), 82.9 ($C-7$), 85.9 ($C-8$), 86.6 ($C-6$), 114.7 ($C-5$), 114.8 ($C(CH_3)_2$), 129.1, 129.9, 130.0 (5 $C-Ar$), 137.7 ($C-Ar$), 158.8 ($C=N$), 158.9 ($C=N$), 170.8 ($C=O$). ESI-HRMS $[M+Na]^+$ m/z = 528.2529 (calculated for $C_{23}H_{35}N_7O_6Na$: 528.2541). IR (pellets) $\nu = 3440$, 3350, 1737, 1692 cm^{-1}

II.4.3- Arginine at C-terminal end

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-*D*-glycero-*L*-galacto-(*N*^ω-nitro-*L*-arginine methyl ester)-octonoamide **207**

To a solution of *N*^ω-NO₂-*L*-arg-OMe (296 mg, 1.1 mmol, 1.1 eq.) and **134** (300 mg, 1 mmol, 1 eq.) in DMF (10 mL) were added HATU (570 mg, 1.5 mmol, 1.5 eq.) and DIEA (363 μL, 2.1 mmol, 2.1 eq.) at 0°C under argon atmosphere. After stirring at room temperature for 24h, the solvent was evaporated. The residue was dissolved in ethyl acetate (10 mL), washed with 1N HCl (5 mL), NaHCO₃ sat. aq. (5 mL) and brine (5 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated. The product was purified by column chromatography (silica gel, cyclohexane/AcOEt) to provide **207**.



Yield 50% as a colorless oil

C₂₁H₃₅N₅O₁₀

M.W.: 517.53 g/mol

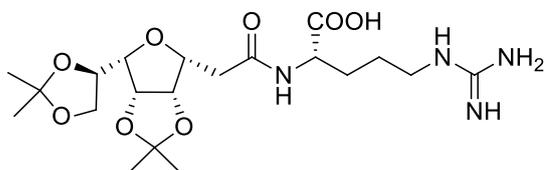
R_f = 0.36 (CH₂Cl₂/MeOH: 9/1)

[α]_D = -22.2° (c = 0.2, CHCl₃)

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 250 MHz): δ = 1.20 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.25 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.30 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.36 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.45-1.73 (m, 4H, *H*-A2, *H*-A1), 2.49-2.54 (m, 2H, *H*-2), 3.10-3.17 (m, 2H, *H*-A3), 3.41 (dd, 1H, *J*_{6,7} = 8.5, *J*_{5,6} = 3.5 Hz, *H*-6), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.66 (t, 1H, *J*_{7,8} = 7.5 Hz, *H*-8), 3.85 (td, 1H, *J*_{2,3} = 6.5, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, *H*-3), 3.98-4.16 (m, 2H, *H*-7, *H*-8'), 4.26 (m, 1H, *H*-α), 4.60 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-4), 4.66 (dd, 1H, *H*-5), 7.91 (br s, 2H, *NH*), 8.32 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, *NH*), 8.46 (br s, 1H, *NH*). **¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 62.9 MHz):** δ = 24.7 (CH₃, C-A2), 25.3 (CH₃), 25.8 (CH₃), 26.5 (CH₃), 28.2 (C-A1), 34.3 (C-2), 40.1 (C-A3), 51.5 (C-α), 51.8 (OCH₃), 65.2 (C-8), 75.2 (C-7), 77.4 (C-3), 80.6 (C-5), 81.1 (C-4), 82.4 (C-6), 108.6 (C(CH₃)₂), 111.3 (C(CH₃)₂), 159.3 (C=N), 169.7 (C=O), 172.5 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 540.2294 (calculated for C₂₁H₃₅N₅O₁₀Na: 540.2276). **IR (NaCl)** ν = 3317, 2985, 2928, 2862, 1742, 1650, 1629, 1598, 1539 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-*O*-(1-methylethylidene)-*D*-glycero-*L*-galacto-(*L*-arginine)-octonoamide **209**

To a solution of **207** (200 mg, 0.39 mmol) in THF (9 mL) and water (3 mL) was added LiOH (30 mg, 1.17 mmol, 3 eq.) and the mixture was stirred until completion of the reaction monitored by tlc. Amberlite[®] IR-120 was added until pH = 3-4 and the mixture was filtered off. The solvent were evaporated and the obtained carboxylic acid was solubilized in MeOH (10 mL) and Pd/C (10%) (80 mg, 40% w/w) was added. After stirring under H₂ atmosphere (40 psi) until completion of the reaction, the mixture was filtered through a pad of celite and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude was purified by column chromatography (C-18 silica gel, H₂O/MeOH) and lyophilized to provide **209**.



Yield 70% as a white foam

C₂₀H₃₄N₄O₈

M.W.: 458.51 g/mol

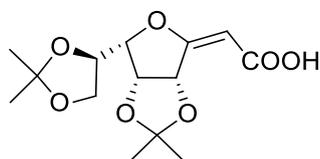
R_f = 0.32 (H₂O/MeOH: 1/1)

[α]_D = -1.0° (c = 0.2, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 400 MHz): δ = 1.26 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.32 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.38 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.42 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.51-1.60 (m, 2H, H-A2), 1.66 (m, 1H, H-A1), 1.77 (m, 1H, H-A1), 2.70 (d, 2H, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, H-2), 3.12 (t, 2H, $J_{A3,A2} = 7.0$ Hz, H-A3), 3.64 (dd, 1H, $J_{6,7} = 8.5$, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, H-6), 3.80 (dd, 1H, $J_{gem} = 9.0$, $J_{7,8} = 6.5$ Hz, H-8), 3.99 (td, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-3), 4.12 (dd, 1H, $J_{\alpha,A1} = 8.0$, $J_{\alpha,A1'} = 5.0$ Hz, H- α), 4.17 (dd, 1H, $J_{7,8'} = 7.0$ Hz, H-8'), 4.33 (m, 1H, H-7), 4.77 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-4), 4.81 (dd, 1H, H-5). **¹³C NMR (D₂O, 100 MHz):** δ = 23.6 (CH₃), 24.1 (CH₃), 24.4 (C-A2), 24.7 (CH₃), 25.5 (CH₃), 28.7 (C-A1), 34.6 (C-2), 40.6 (C-A3), 54.6 (C- α), 65.2 (C-8), 74.6 (C-7), 78.0 (C-3), 80.4 (C-5), 81.1 (C-4), 82.6 (C-6), 110.4 (C(CH₃)₂), 113.1 (C(CH₃)₂), 156.7 (C=N), 171.8 (C=O), 178.6 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 481.2275 (calculated for C₂₀H₃₄N₄O₈Na: 481.2269). **IR** (pellets) ν = 3364, 2985, 2938, 2867, 1652, 1579 cm⁻¹

(E)-3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-glycero-L-galacto-oct-2-enic acid 210

To a solution of **5-E** (630 mg, 2 mmol, 1 eq.) in pyridine (15 mL) was added LiI (2.6 g, 20 mmol, 10 eq.) and the mixture was stirred at 120 °C until completion of the reaction. The solvent was removed under reduced pressure, CH₂Cl₂ (20 mL) was added and the pH was adjusted to 2-3 with 1N HCl. The layers were separated and the organic layer was washed with brine, dried over MgSO₄, filtered and concentrated. The crude residue was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **210**.



Yield 50% as a white solid

C₁₄H₂₀O₇

M.W.: 300.12 g/mol

R_f = 0.21 (cH/EA: 1/1)

[α]_D = -36.5° (c = 1, CHCl₃)

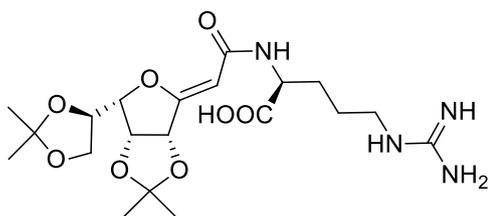
Mp = 200-202°C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.37 (s, 3H, CH₃), 1.39 (s, 3H, CH₃), 1.43 (s, 3H, CH₃), 1.46 (s, 3H, CH₃), 3.77 (dd, 1H, $J_{gem} = 9.0$, $J_{7,8} = 7.0$ Hz, H-8), 4.18-4.26 (m, 2H, H-6, H-8), 4.42 (m, 1H, H-7), 4.75 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $J_{5,6} = 4.0$ Hz, H-5), 5.51 (s, 1H, H-2), 5.76 (d, 1H, H-4), 10.66 (br s, 1H, COOH). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 25.2 (CH₃), 25.6 (CH₃), 26.4 (CH₃), 26.7 (CH₃), 65.7 (C-8), 75.5, 77.5, 79.9, 86.5 (C-4, C-5, C-6, C-7), 94.9 (C-2), 110.3, 113.7 (2 C(CH₃)₂), 172.0 (C-3), 173.1 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 323.1102 (calculated for C₁₄H₂₀O₇Na: 323.1101). **IR** (NaCl) ν = 3061, 2985, 2933, 2563, 1685, 1655 cm⁻¹

(Z)-3,6-anhydro-2-deoxy-4,5:7,8-bis-O-(1-methylethylidene)-D-glycero-L-galacto-(L-arginine)-oct-2-enoamide 212

To a solution of HC.H-L-arg-OMe (191 mg, 0.73 mmol, 1.1 eq.) and **210** (200 mg, 0.67 mmol, 1 eq.) in DMF (10 mL) were added HATU (380 mg, 1.0 mmol, 1.5 eq.) and DIEA (243 μ L, 1.41 mmol, 2.1 eq.) at 0°C under argon atmosphere. After stirring at room temperature for 24h, the solvent was evaporated. The crude product was solubilized in pyridine (15 mL), LiI (871 mg, 6.7 mmol, 10 eq.) was added and the mixture was stirred at 120 °C until completion of the reaction monitored by tlc. The solvent was

removed under reduced pressure and the crude was purified by column chromatography (C-18 silica gel, H₂O/MeOH) and lyophilized to provide **212**.



Yield 83% as a white solid

C₂₀H₃₂N₄O₈

M.W.: 456.49 g/mol

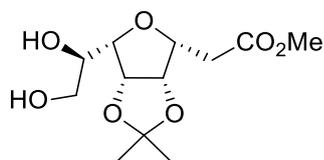
R_f = 0.41 (H₂O/MeOH: 1/1)

[α]_D = -44.6° (c = 0.08, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 250 MHz): δ = 1.47 (s, 3H, CH₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 1.53 (s, 3H, CH₃), 1.54 (s, 3H, CH₃), 1.63-1.75 (m, 2H, H-A2), 1.79-1.99 (m, 2H, H-A1), 3.26 (t, 2H, J_{A3,A2} = 7.0 Hz, H-A3), 4.08 (dd, 1H, J_{gem} = 9.0, J_{7,8} = 6.0 Hz, H-8), 4.32-4.39 (m, 2H, H-6, H-8'), 4.62 (m, 1H, H-7), 4.73 (m, 1H, H-α), 5.07 (dd, 1H, J_{4,5} = 6.0, J_{5,6} = 4.0 Hz, H-5), 5.22 (d, 1H, J_{2,4} = 1.0 Hz, H-2), 5.49 (dd, 1H, H-4). **¹³C NMR (D₂O, 62.9 MHz):** δ = 24.6 (CH₃, C-A2), 25.0 (CH₃), 25.9 (CH₃), 26.0 (CH₃), 29.4 (C-A1), 41.0 (C-A3), 54.6 (C-α), 65.6 (C-8), 74.9 (C-7), 77.2 (C-5), 81.6 (C-4), 87.0 (C-6), 96.0 (C-2), 111.0 (C(CH₃)₂), 115.2 (C(CH₃)₂), 157.0 (C=N), 165.5 (C-3), 167.3 (C=O), 178.9 (C=O). **ESI-HRMS** [M+H]⁺ m/z = 457.2278 (calculated for C₂₀H₃₃N₄O₈: 457.2293). **IR** (pellets) ν = 3132, 3165, 2981, 2937, 2725, 2860, 1672, 1583 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-D-glycero-L-galacto-octonic acid methyl ester **213**

To a stirred solution of **133** (3.16 g, 10.0 mmol) in methanol (200 mL) at 0°C was added an aqueous solution of 1N HCl (70 mL). After stirring at room temperature until completion of the reaction, sat. aq. NaHCO₃ was added until pH = 7. Half of the solvent was removed under vacuo and the product was extracted with CH₂Cl₂ (3 x 100 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was evaporated. The crude residue was purified by column chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **213**.



Yield 92% as a white solid

C₁₂H₂₀O₇

M.W.: 276.12 g/mol

R_f = 0.29 (EA)

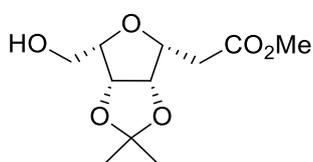
[α]_D = -5.6° (c = 1, CHCl₃)

Mp = 50°C

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.31 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.47 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.78 (dd, 1H, J_{gem} = 17.0, J_{2,3} = 7.0 Hz, H-2), 2.87 (dd, 1H, J_{2,3} = 7.0 Hz, H-2'), 3.57 (dd, 1H, J_{6,7} = 6.5, J_{5,6} = 3.0 Hz, H-6), 3.71 (s, 3H, O-CH₃), 3.74 (dd, 1H, J_{gem} = 11.5, J_{7,8} = 5.0 Hz, H-8), 3.81 (dd, 1H, J_{7,8} = 4.0 Hz, H-8'), 3.95 (td, 1H, J_{3,4} = 3.5 Hz, H-3), 4.09 (m, 1H, H-7), 4.75 (dd, 1H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-4), 4.79 (dd, 1H, H-5). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.6 (CH₃), 25.7 (CH₃), 33.3 (C-2), 51.8 (OCH₃), 63.4 (C-7), 70.7 (C-8), 77.3 (C-3), 81.0, 81.3 (C-4, C-5, C-6), 112.6 (C(CH₃)₂), 171.5 (C=O). **ESI-HRMS** [M+K]⁺ m/z = 315.0858 (calculated for C₁₂H₂₀O₇K: 315.0841). **IR** (NaCl) ν = 3440, 2990, 2938, 2876, 1735 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-L-galacto-heptonic acid methyl ester 214

To a stirred solution of **213** (2.2 g, 7.97 mmol) in methanol (180 mL) was added NaIO₄ (3.42 g, 16.0 mmol, 2 eq.) under argon. After stirring at room temperature until completion of the reaction, the solvent was removed by half *in vacuo*. The mixture was diluted with CH₂Cl₂ (200 mL). The organic layer was washed with water (3 x 75 mL), dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The product was used without further purification. To a stirred solution of the obtained aldehyde in MeOH (190 mL) was added NaBH₄ (305 mg, 7.97 mmol, 1 eq.) at 0°C. After 1 h at room temperature, the solvent was removed under reduced pressure. The residue was diluted in CH₂Cl₂ (100 mL) and the organic layer was washed with a solution of 1N HCl (30 mL) and with water until pH = 7. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The crude product **214** was used without further purification.



Yield 93% as a colorless oil

C₁₁H₁₈O₆

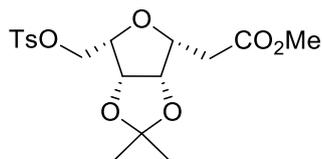
M.W.: 246.26 g/mol

R_f = 0.47 (EA)[α]_D = -1.4° (c = 0.2, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.32 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.47 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.78 (dd, 1H, *J*_{gem} = 17.0, *J*_{2,3} = 7.0 Hz, *H*-2), 2.86 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 7.0 Hz, *H*-2'), 3.66 (m, 1H, *H*-6), 3.71 (s, 3H, CH₃), 3.90 (dd, 1H, *J*_{gem} = 11.0, *J*_{6,7} = 5.0 Hz, *H*-7), 3.96 (dd, 1H, *J*_{6,7} = 4.0 Hz, *H*-7'), 3.99 (m, 1H, *H*-3), 4.75 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-4), 4.79 (dd, 1H, *H*-5). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.7 (CH₃), 25.8 (CH₃), 33.3 (C-2), 51.8 (OCH₃), 61.0 (C-7), 77.4 (C-3), 80.9, 81.3, 81.4 (C-4, C-5, C-6), 112.7 (C(CH₃)₂), 171.4 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z** = 269.1030 (calculated for C₁₁H₁₈O₆Na: 269.0996). **IR (NaCl)** ν = 3459, 2985, 2928, 2862, 1737 cm⁻¹

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-O-tosyl-L-galacto-heptonic acid methyl ester 215

To a solution of **214** (1.28 g, 5.2 mmol) in CH₂Cl₂ (50 mL) were added Et₃N (1.8 mL, 13 mmol, 2.5 eq.), DMAP (61 mg, 0.5 mmol, 0.1 eq.) and tosyl chloride (2 g, 10.4 mmol, 2 eq.) and the mixture was stirred for 24 h at room temperature. The solution was washed with 1N HCl (20 mL), sat. aq. NaHCO₃ (20 mL) and brine (20 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was evaporated *in vacuo*. The compound was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **215**.



Yield 92% as a colorless oil

C₁₈H₂₄O₈S

M.W.: 400.44 g/mol

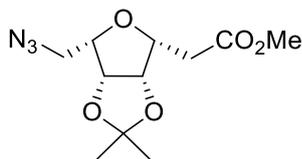
R_f = 0.75 (EA)[α]_D = +4.5° (c = 0.2, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.26 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.33 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.45 (s, 3H, Ph-CH₃), 2.68 (dd, 1H, *J*_{gem} = 16.0, *J*_{2,3} = 7.0 Hz, *H*-2), 2.78 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 7.0 Hz, *H*-2'), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (m, 1H, *H*-6), 3.90 (td, 1H, *J*_{3,4} = 3.5 Hz, *H*-3), 4.17 (dd, 1H, *J*_{gem} = 10.5, *J*_{6,7} = 7.0 Hz, *H*-7), 4.31

(dd, 1H, $J_{6,7} = 5.0$ Hz, $H-7'$), 4.67 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.73 (dd, 1H, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-5$), 7.34 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, $H-Ar$), 7.81 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, $H-Ar$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 21.6$ (Ph- CH_3), 24.8 (CH_3), 25.7 (CH_3), 33.2 ($C-2$), 51.8 (OCH_3), 67.5 ($C-7$), 77.7 ($C-3$), 78.5 ($C-6$), 80.5, 80.9 ($C-4$, $C-5$), 112.8 ($C(CH_3)_2$), 128.1 (2 $C-Ar$), 129.7 (2 $C-Ar$), 132.8 ($C-Ar$), 144.8 ($C-Ar$), 171.2 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 423.1116$ (calculated for $C_{18}H_{24}O_8SNa$:423.1084). **IR** (NaCl) $\nu = 2981$, 2928, 2853, 1735, 1596 cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-azido-L-galacto-heptonic acid methyl ester **216**

To a solution of **215** (2.0 g, 5.0 mmol) in DMF (10 mL) was added sodium azide (2.6 g, 40.0 mmol, 8 eq.) and the mixture was stirred for 2 days at 80°C. The solvent was removed in vacuo and the residue was diluted with EtOAc (50 mL) and washed with H_2O (20 mL) and brine (20 mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent was evaporated under reduced pressure. The compound was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **216**.



Yield 84 % as a colorless oil

$C_{11}H_{17}N_3O_5$

M.W.: 271.27 g/mol

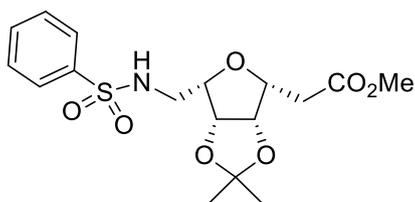
$R_f = 0.51$ (cH/EA: 1/1)

$[\alpha]_D = +6.0^\circ$ ($c = 0.1$, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.46 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.76 (dd, 1H, $J_{gem} = 17.0$, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, $H-2$), 2.84 (dd, 1H, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, $H-2'$), 3.51 (dd, 1H, $J_{gem} = 12.5$, $J_{6,7} = 6.5$ Hz, $H-7$), 3.57 (dd, 1H, $J_{6,7} = 6.5$ Hz, $H-7'$), 3.67 (m, 1H, $H-6$), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.96 (td, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $H-3$), 4.70 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-4$), 4.78 (dd, 1H, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, $H-5$). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 25.1$ (CH_3), 26.0 (CH_3), 33.5 ($C-2$), 49.8 ($C-7$), 52.0 (OCH_3), 77.9 ($C-3$), 79.9 ($C-6$), 81.0, 81.3 ($C-4$, $C-5$), 113.0 ($C(CH_3)_2$), 171.5 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 294.1065$ (calculated for $C_{11}H_{17}N_3O_5Na$: 294.1060). **IR** (NaCl) $\nu = 2985$, 2943, 2867, 2099, 1742 cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-benzosulfonylamino-L-galacto-heptonic acid methyl ester **218**

To a solution of **216** (500 mg, 1.84 mmol, 1 eq.) in MeOH (10 mL) was added Pd/C (10%) (50 mg, 10% w/w). After stirring under H_2 atmosphere (15 psi) until completion of the reaction, the mixture was filtered through a pad of celite and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude amine was solubilized in pyridine (3 mL) and this solution was added dropwise under argon atmosphere to a stirred solution of benzylsulfonyl chloride (282 μL , 2.21 mmol, 1.2 eq.) in pyridine (6 mL). After stirring at room temperature until completion of the reaction, the solvent was removed under reduced pressure. The residue was diluted with EtOAc (15 mL) and washed with H_2O (2x5 mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent was evaporated under reduced pressure. The compound was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **218**.



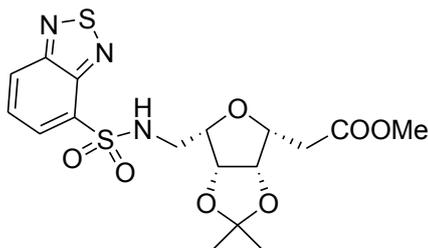
Yield 80% as a colorless oil

 $C_{17}H_{23}NO_7S$

M.W.: 385.43 g/mol

 $R_f = 0.22$ (cH/EA: 7/3) $[\alpha]_D = +12.2^\circ$ (c = 0.5, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 1.27$ (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.36 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.64 (dd, 1H, $J_{gem} = 16.5$, $J_{2,3} = 6.5$ Hz, *H*-2), 2.73 (dd, 1H, $J_{2',3} = 6.5$ Hz, *H*-2'), 3.27 (t, 2H, $J_{7,NH} = 6.5$, $J_{6,7} = 6.5$ Hz, *H*-7), 3.63 (td, 1H, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, *H*-6), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (td, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, *H*-3), 4.63 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-4), 4.71 (dd, 1H, *H*-5), 4.88 (t, 1H, NH), 7.48-7.61 (m, 3H, *H*-Ar), 7.85-7.89 (m, 2H, *H*-Ar). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = 24.7$ (CH₃), 25.7 (CH₃), 33.3 (C-2), 42.1 (C-7), 51.8 (OCH₃), 77.5 (C-3), 79.1 (C-6), 80.8, 81.2 (C-4, C-5), 112.7 (C(CH₃)₂), 127.1 (2 C-Ar), 129.1 (2 C-Ar), 132.6 (C-Ar), 140.0 (C-Ar), 171.2 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ $m/z = 408.1122$ (calculated for C₁₇H₂₃NO₇Na: 408.1087). **IR** (NaCl) $\nu = 3284, 2985, 2938, 2872, 1737$ cm⁻¹

Compound 219Prepared starting from **216** following procedure described for **218**.

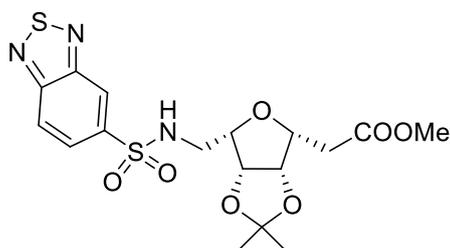
Yield 85% as a colorless gum

 $C_{17}H_{21}N_3O_7S_2$

M.W.: 443.08 g/mol

 $R_f = 0.24$ (cH/EA: 1/1) $[\alpha]_D = +4.7^\circ$ (c = 0.5, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 1.24$ (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.26 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.50 (dd, 1H, $J_{gem} = 16.5$, $J_{2,3} = 6.5$ Hz, *H*-2), 2.62 (dd, 1H, $J_{2',3} = 6.5$ Hz, *H*-2'), 3.25 (t, 2H, $J_{7,NH} = 6.5$, $J_{6,7} = 6.5$ Hz, *H*-7), 3.63 (td, 1H, $J_{5,6} = 3.5$ Hz, *H*-6), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (td, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, *H*-3), 4.59 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-5), 4.66 (dd, 1H, *H*-4), 5.70 (t, 1H, NH), 7.71 (dd, 1H, $J = 9.0$, $J = 7.0$ Hz, *H*-Ar), 8.21-8.26 (m, 2H, *H*-Ar). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = 24.7$ (CH₃), 25.6 (CH₃), 33.1 (C-2), 42.3 (C-7), 51.8 (OCH₃), 77.5 (C-3), 79.1 (C-6), 80.8, 81.1 (C-4, C-5), 112.7 (C(CH₃)₂), 126.3 (C-Ar), 128.2 (C-Ar), 130.9 (C-Ar), 131.7 (C-Ar), 149.3 (C=N-Ar), 155.3 (C=N-Ar), 171.1 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ $m/z = 466.0713$ (calculated for C₁₇H₂₁N₃O₇S₂Na: 466.0713). **IR** (NaCl) $\nu = 3298, 2990, 2943, 2872, 1733$ cm⁻¹

Compound 220Prepared starting from **216** following procedure described for **218**.

Yield 84% as a colorless gum

 $C_{17}H_{21}N_3O_7S_2$

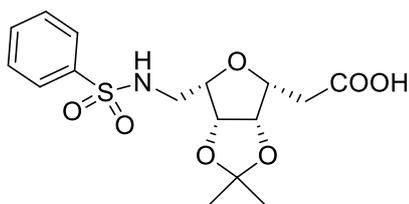
M.W.: 443.08 g/mol

 $R_f = 0.22$ (cH/EA: 1/1) $[\alpha]_D = +2.2^\circ$ (c = 0.4, $CHCl_3$)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.28 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.37 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.61 (dd, 1H, J_{gem} = 14.5, $J_{2,3}$ = 6.5 Hz, *H*-2), 2.71 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 7.0 Hz, *H*-2'), 3.33-3.43 (m, 2H, *H*-7), 3.68 (td, 1H, $J_{6,7}$ = 6.0, $J_{5,6}$ = 3.5 Hz, *H*-6), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (td, 1H, $J_{3,4}$ = 3.5 Hz, *H*-3), 4.68 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, *H*-5), 4.73 (dd, 1H, *H*-4), 5.20 (t, 1H, NH), 8.00 (dd, 1H, J = 9.0, J = 1.0 Hz, *H*-Ar), 8.17 (dd, 1H, J = 0.5 Hz, *H*-Ar), 8.64 (dd, 1H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.6 (CH₃), 25.7 (CH₃), 33.2 (*C*-2), 42.3 (*C*-7), 51.9 (OCH₃), 77.5 (*C*-3), 79.0 (*C*-6), 80.9, 81.2 (*C*-4, *C*-5), 112.8 (C(CH₃)₂), 122.1 (*C*-Ar), 122.9 (*C*-Ar), 126.1 (*C*-Ar), 141.1 (*C*-Ar), 153.6 (C=N-Ar), 155.7 (C=N-Ar), 171.2 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 466.0727 (calculated for C₁₇H₂₁N₃O₇S₂Na: 466.0713). **IR** (NaCl) ν = 3279, 2995, 2938, 2867, 1733 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-benzosulfonylamino-L-galacto-heptonic acid **221**

To a solution of **218** (500 mg, 1.30 mmol) in THF (12 mL) and water (4 mL) was added LiOH (94 mg, 3.9 mmol, 3 eq.) and the mixture was stirred until completion of the reaction monitored by tlc. THF was removed under reduced pressure, CH₂Cl₂ (20 mL) was added and the pH was adjusted to 2-3 with 1N HCl. The organic layer was washed with brine and dried over MgSO₄, filtered and concentrated to provide **221**.

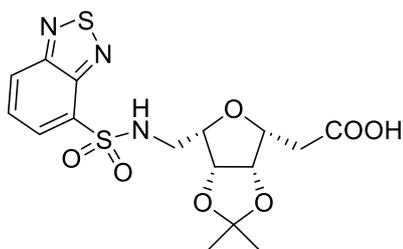


Yield 90% as a gum
C₁₆H₂₁NO₇S
M.W.: 371.41 g/mol
R_f = 0.10 (cH/EA: 1/2)
[α]_D = 11.3° (c = 0.08, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.28 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.37 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.69 (dd, 1H, J_{gem} = 17.0, $J_{2,3}$ = 6.5 Hz, *H*-2), 2.79 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 6.5 Hz, *H*-2'), 3.28 (t, 2H, $J_{7,\text{NH}}$ = 6.5, $J_{6,7}$ = 6.5 Hz, *H*-7), 3.66 (td, 1H, $J_{5,6}$ = 3.5 Hz, *H*-6), 3.88 (td, 1H, $J_{3,4}$ = 3.5 Hz, *H*-3), 4.65 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, *H*-4), 4.71 (dd, 1H, *H*-5), 5.02 (t, 1H, NH), 7.48-7.61 (m, 3H, *H*-Ar), 7.85-7.89 (m, 2H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.6 (CH₃), 25.6 (CH₃), 33.3 (*C*-2), 42.1 (*C*-7), 77.2 (*C*-3), 79.3 (*C*-6), 80.8, 81.1 (*C*-4, *C*-5), 112.9 (C(CH₃)₂), 127.0 (2 *C*-Ar), 129.1 (2 *C*-Ar), 132.7 (*C*-Ar), 139.9 (*C*-Ar), 175.7 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 394.0953 (calculated for C₁₆H₂₁NO₇SNa: 394.0931). **IR** (NaCl) ν = 3270, 2985, 2928, 2857, 1716 cm⁻¹

Compound **222**

Prepared starting from **219** following procedure described for **221**.

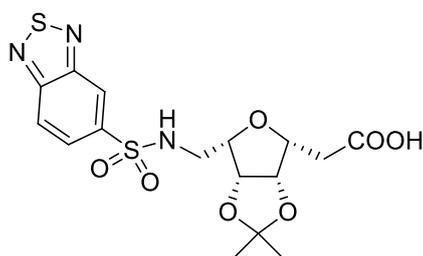


Yield 99% as a white solid
C₁₆H₁₉N₃O₇S₂
M.W.: 429.07 g/mol
R_f = 0.10 (cH/EA: 1/2)
[α]_D = +3.5° (c = 0.5, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.24 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.28 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.56 (dd, 1H, J_{gem} = 16.5, $J_{2,3}$ = 6.5 Hz, *H*-2), 2.68 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 6.5 Hz, *H*-2'), 3.23-3.30 (m, 2H, *H*-7), 3.66 (m, 1H, *H*-6), 3.79 (td, 1H, $J_{3,4}$ = 3.5 Hz, *H*-3), 4.61 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0, $J_{5,6}$ = 3.5 Hz, *H*-5), 4.67 (dd, 1H, *H*-4), 5.79 (t, 1H, $J_{7,NH}$ = 6.5 Hz, *NH*), 7.71 (dd, 1H, J = 9.0, J = 7.0 Hz, *H*-Ar), 8.22-8.26 (m, 2H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** δ = 24.8 (CH₃), 25.7 (CH₃), 33.3 (*C*-2), 42.4 (*C*-7), 77.3 (*C*-3), 79.4 (*C*-6), 80.9, 81.2 (*C*-4, *C*-5), 112.9 (C(CH₃)₂), 126.5 (*C*-Ar), 128.4 (*C*-Ar), 131.1 (*C*-Ar), 131.7 (*C*-Ar), 149.4 (C=N-Ar), 155.4 (C=N-Ar), 175.8 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺** m/z = 447.0992 (calculated for C₁₆H₁₉N₃O₇S₂Na: 447.1003). **IR (NaCl)** ν = 3289, 2985, 2933, 1733, 1714 cm⁻¹

Compound 223

Prepared starting from **220** following procedure described for **221**.



Yield 99% as a white solid

C₁₆H₁₉N₃O₇S₂

M.W.: 429.07 g/mol

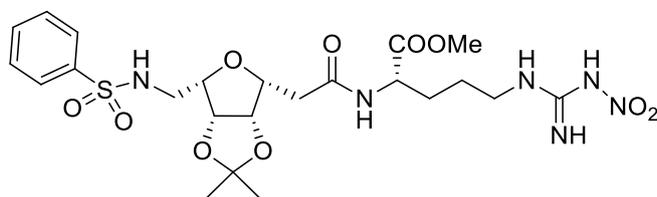
R_f = 0.12 (cH/EA: 1/2)

[α]_D = +1.1° (c = 0.5, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.26 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.37 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.64 (dd, 1H, J_{gem} = 17.0, $J_{2,3}$ = 6.5 Hz, *H*-2), 2.75 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 6.5 Hz, *H*-2'), 3.29-3.46 (m, 2H, *H*-7), 3.68 (m, 1H, *H*-6), 3.88 (td, 1H, $J_{3,4}$ = 3.5 Hz, *H*-3), 4.67 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6.0, $J_{5,6}$ = 3.5 Hz, *H*-5), 4.71 (dd, 1H, *H*-4), 5.38 (t, 1H, $J_{7,NH}$ = 6.5 Hz, *NH*), 7.97 (dd, 1H, J = 9.5, J = 1.5 Hz, *H*-Ar), 8.14 (dd, 1H, J = 0.5 Hz, *H*-Ar), 8.62 (dd, 1H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.7 (CH₃), 25.8 (CH₃), 33.4 (*C*-2), 42.4 (*C*-7), 77.4 (*C*-3), 79.4 (*C*-6), 81.0, 81.3 (*C*-4, *C*-5), 113.1 (C(CH₃)₂), 122.2 (*C*-Ar), 123.1 (*C*-Ar), 126.3 (*C*-Ar), 141.3 (*C*-Ar), 153.7 (C=N-Ar), 155.8 (C=N-Ar), 175.6 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺** m/z = 447.0995 (calculated for C₁₆H₁₉N₃O₇S₂Na: 447.1003). **IR (NaCl)** ν = 3270, 2985, 2933, 2872, 1730, 1714 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-benzosulfonylamino-L-galacto-(N^o-nitro-L-arginine methyl ester)-heptonoamide **224**

Prepared starting from **221** following procedure described for **207**.



Yield 84% as a white solid

C₂₃H₃₄N₆O₁₀S

M.W.: 586,62 g/mol

R_f = 0.4 (EA/MeOH: 9/1)

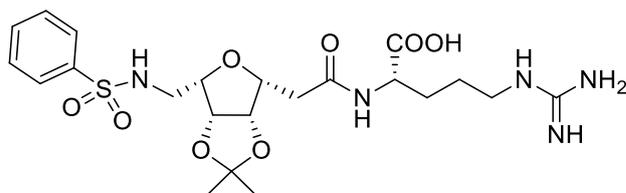
[α]_D = +5.1° (c = 0.4, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.27 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.40 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.69-1.78 (m, 3H, *H*-A1, 2 *H*-A2), 1.95 (m, 1H, *H*-A1), 2.56 (dd, 1H, J_{gem} = 15.0, $J_{2,3}$ = 3.5 Hz, *H*-2), 2.74 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 9.0 Hz, *H*-2'), 3.13-3.35 (m, 3H, 2 *H*-7, *H*-A3), 3.56 (m, 1H, *H*-A3), 3.68 (m, 1H, *H*-6), 3.79-3.92 (m, 4H, *H*-3, OCH₃), 4.59-4.67 (m, 3H, *H*- α , *H*-4, *H*-5), 5.77 (br s, 1H, *NH*), 7.13 (d, 1H, J = 7.0 Hz, *NH*), 7.52-7.62 (m, 5H, 3 *H*-Ar, 2 *NH*), 7.90 (d, 2H, J = 7.5 Hz, *H*-Ar), 8.66 (br s, 1H, *NH*). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** δ = 24.5 (*C*-A₂, CH₃), 25.7 (CH₃), 30.5 (*C*-A₂), 36.1 (*C*-2), 40.5 (*C*-A₃), 42.3 (*C*-7), 51.1 (*C*-

α), 53.1 (OCH₃), 77.7 (C-3), 79.9 (C-6), 80.8, 81.6 (C-4, C-5), 112.9 (C(CH₃)₂), 127.0 (2 C-Ar), 129.2 (2 C-Ar), 132.7 (C-Ar), 139.9 (C-Ar), 159.3 (C=N), 172.1 (C=O), 173.0 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 609.1969 (calculated for C₂₃H₃₄N₆O₁₀SNa: 609.1949). **IR** (NaCl) ν = 3360, 2933, 2867, 1735, 1633, 1539 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-benzosulfonylamino-L-galacto-(L-arginine)-heptonoamide **225**

Prepared starting from **224** following procedure described for **209**.



Yield 82% as a white solid

C₂₂H₃₃N₅O₈S

M.W.: 527.59 g/mol

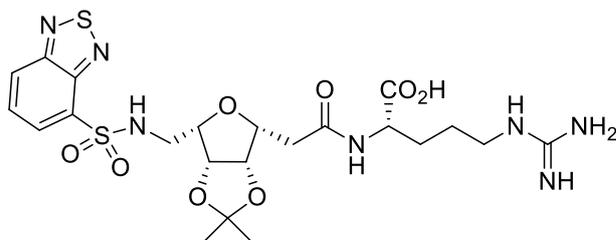
R_f = 0.24 (H₂O/MeOH: 1/1)

[α]_D = +15.0° (c = 0.2, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 400 MHz): δ = 1.25 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.36 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.49-1.62 (m, 2H, H-A2), 1.67 (m, 1H, H-A1), 1.79 (m, 1H, H-A1), 2.61 (d, 2H, $J_{2,3}$ = 7.0 Hz, H-2), 3.09-3.14 (m, 3H, H-7, 2 H-A3), 3.22 (dd, 1H, J_{gem} = 13.5, $J_{6,7}$ = 4.5 Hz, H-7'), 3.63 (m, 1H, H-6), 3.87 (td, 1H, $J_{3,4}$ = 2.5 Hz, H-3), 4.15 (dd, 1H, $J_{H-\alpha,A1}$ = 8.0 Hz, $J_{H-\alpha,A1'}$ = 5.0 Hz, H- α), 4.67-4.74 (m, 2H, H-4, H-5), 7.50-7.70 (m, 3H, H-Ar), 7.81-7.85 (m, 2H, H-Ar). **¹³C NMR (D₂O, 100 MHz):** δ = 23.6 (CH₃), 24.4 (C-A2), 24.7 (CH₃), 28.8 (C-A1), 34.7 (C-2), 40.6 (C-A3), 41.3 (C-7), 54.8 (C- α), 77.7 (C-3), 79.1 (C-6), 80.3 (C-5), 81.1 (C-4), 112.8 (C(CH₃)₂), 126.7 (2 C-Ar), 129.5 (2 C-Ar), 133.6 (C-Ar), 137.9 (C-Ar), 156.7 (C=N), 171.9 (C=O), 178.4 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 550.1956 (calculated for C₂₂H₃₃N₅O₈SNa: 550.1942). **IR** (pellets) ν = 3360, 3180, 2990, 2943, 2876, 1645, 1586 cm⁻¹

Compound **228**

To a solution of HCl.H-L-arg-OMe (55 mg, 0.21 mmol, 1.1 eq.) and **222** (81.5 mg, 0.19 mmol, 1 eq.) in DMF (10 mL) were added HATU (108 mg, 0.29 mmol, 1.5 eq.) and DIEA (105 μ L, 0.61 mmol, 3.2 eq.) at 0°C under argon atmosphere. The reaction mixture was stirred overnight at room temperature and the solvent was evaporated. This crude product was solubilized in THF (3 mL) and water (1 mL) and LiOH (30 mg, 0.57 mmol, 3 eq.) was added. The mixture was stirred until completion of the reaction monitored by tlc. Amberlite[®] IR-120 was added until pH = 3-4 and the mixture was filtered off. The solvent were evaporated and the product was purified by column chromatography (C-18 silica gel, H₂O/MeOH) and lyophilized to provide **228**.



Yield 65% (over 2 steps)

C₂₃H₃₁N₇O₈S₂

M.W.: 585.17 g/mol

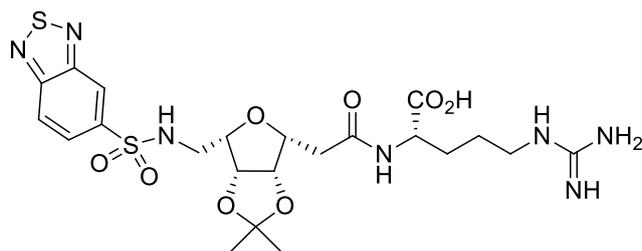
R_f = 0.15 (H₂O/MeOH: 1/1)

¹H NMR (D₂O, 250 MHz): δ = 1.12 (s, 3H, CH₃), 1.25, 1.26 (s, 3H, CH₃), 1.49-1.68 (m, 3H, H-A2, H-A1), 1.78 (m, 1H, H-A1), 2.33-2.54 (m, 2H, 2 H-2), 3.09-3.32 (m, 4H, 2 H-7, 2 H-A3), 3.59 (m, 1H, H-6), 3.74 (m, 1H, H-3), 4.12 (dd, 1H, $J_{H-\alpha,A1}$ = 8.0 Hz, $J_{H-\alpha,A1'}$ = 5.5 Hz, H- α), 4.55-4.62 (2 m, 2H, H-4, H-

5), 7.77 (m, 1H, *H*-Ar), 8.20-8.26 (m, 2H, 2 *H*-Ar). ^{13}C NMR (D_2O , 62.9 MHz): δ = 23.4, 23.5, 24.4, 24.6 (2 CH_3 , *C*-A2), 28.8, 28.9 (*C*-A1), 34.5, 34.7 (*C*-2), 40.7 (*C*-A3), 41.3 (*C*-7), 54.6 (*C*- α), 77.4, 77.5 (*C*-3), 78.9, 79.0 (*C*-6), 80.2, 80.3, 81.0, 81.2 (*C*-4, *C*-5), 112.7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 126.7 (*C*-Ar), 128.8 (*C*-Ar), 129.5 (*C*-Ar), 132.0 (*C*-Ar), 148.7 (*C*=N-Ar), 155.0 (*C*=N-Ar), 156.7 (*C*=N), 171.6, 172.0 (*C*=O), 178.4, 178.5 (*C*=O). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z = 608.1570 (calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_8\text{S}_2$: 608.1568). **IR** (ATR) ν = 3152, 2936, 1634, 1520 cm^{-1}

Compound 229

Prepared starting from **223** following procedure described for **228**.



Yield 87 % (over 2 steps)

$\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_8\text{S}_2$

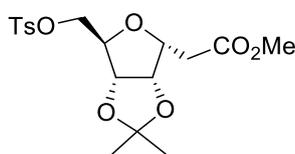
M.W.: 585.17 g/mol

R_f = 0.18 ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$: 1/1)

^1H NMR (D_2O , 250 MHz): δ = 1.15 (s, 3H, CH_3), 1.26 (s, 3H, CH_3), 1.47-1.85 (m, 4H, 2 *H*-A2, 2 *H*-A1), 2.41-2.57 (m, 2H, 2 *H*-2), 3.07-3.33 (m, 4H, 2 *H*-7, 2 *H*-A3), 3.66 (m, 1H, *H*-6), 3.83 (m, 1H, *H*-3), 4.12 (m, 1H, *H*- α), 4.65-4.73 (m, 2H, *H*-4, *H*-5), 7.94 (d, 1H, J = 9.0 Hz, *H*-Ar), 8.15 (d, 1H, J = 9.0 Hz, *H*-Ar), 8.54 (s, 1H, *H*-Ar). ^{13}C NMR (D_2O , 62.9 MHz): δ = 23.5, 24.4, 24.6 (2 CH_3 , *C*-A2), 28.8, 28.9 (*C*-A1), 34.7, 34.8 (*C*-2), 40.7 (*C*-A3), 41.3 (*C*-7), 54.6, 54.7 (*C*- α), 77.5, 77.6 (*C*-3), 79.1 (*C*-6), 80.3, 81.1, 81.3 (*C*-4, *C*-5), 112.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 121.8 (*C*-Ar), 122.9 (*C*-Ar), 125.8 (*C*-Ar), 139.8 (*C*-Ar), 152.9 (*C*=N-Ar), 155.3 (*C*=N-Ar), 156.7 (*C*=N), 171.8, 172.1 (*C*=O), 178.4, 178.5 (*C*=O). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z = 608.1577 (calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_8\text{S}_2$: 608.1568). **IR** (ATR) ν = 3327, 3165, 2932, 2966, 1630, 1570, 1518 cm^{-1}

3,6-anhydro-2-deoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-*O*-tosyl-D-*altro*-heptonic acid methyl ester **231**

Prepared starting from **230** following procedure described for **215**.



Yield 98% as a colorless oil

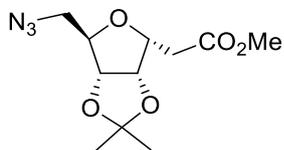
$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_8\text{S}$

M.W.: 400.44 g/mol

R_f = 0.71 (cH/EA : 1/1)

$[\alpha]_{\text{D}} = +11.0^\circ$ (c = 0.1, CHCl_3)

^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz): δ = 1.31 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.45 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.46 (s, 3H, Ph-CH_3), 2.63 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 16.5$, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, *H*-2), 2.74 (dd, 1H, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, *H*-2'), 3.70 (s, 3H, OCH_3), 4.00 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 10.5$, $J_{6,7} = 5.0$ Hz, *H*-7), 4.08 (dd, 1H, $J_{6,7} = 4.5$ Hz, *H*-7'), 4.18 (m, 1H, *H*-6), 4.29 (td, 1H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, *H*-3), 4.71 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $J_{5,6} = 0.5$ Hz, *H*-5), 4.77 (dd, 1H, *H*-4), 7.36 (d, 2H, J = 8.0 Hz, *H*-Ar), 7.80 (d, 2H, *H*-Ar). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 62.9 MHz): δ = 21.8 (Ph-CH_3), 25.0 (CH_3), 26.3 (CH_3), 34.5 (*C*-2), 51.9 (OCH_3), 69.6 (*C*-7), 78.4, 81.4, 82.7 (*C*-3, *C*-4, *C*-5, *C*-6), 113.1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 128.2 (2 *C*-Ar), 130.2 (2 *C*-Ar), 132.6 (*C*-Ar), 145.3 (*C*-Ar), 171.4 (*C*=O). **ESI-HRMS** $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z = 423.1087 (calculated for $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_8\text{SNa}$: 423.1084). **IR** (NaCl) ν = 2985, 2943, 1737, 1596 cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-azido-D-*altro*-heptonic acid methyl ester 232Prepared starting from **231** following procedure described for **216**.

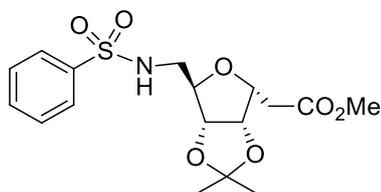
Yield 97 % as a colorless oil

C₁₁H₁₇N₃O₅

M.W.: 271.27 g/mol

R_f = 0.50 (cH/EA: 2/1)[α]_D = +18.5° (c = 0.2, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.33 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.49 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.73 (dd, 1H, *J*_{gem} = 17.0, *J*_{2,3} = 7.0 Hz, *H*-2), 2.81 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 7.0 Hz, *H*-2'), 3.28 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13.0, *J*_{6,7} = 5.0 Hz, *H*-7), 3.57 (dd, 1H, *J*_{6,7} = 6.5 Hz, *H*-7'), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 4.21 (m, 1H, *H*-6), 4.41 (td, 1H, *J*_{3,4} = 4.0 Hz, *H*-3), 4.64 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 6.0, *J*_{5,6} = 0.5 Hz, *H*-5), 4.80 (dd, 1H, *H*-4). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 25.2 (CH₃), 26.4 (CH₃), 34.5 (C-2), 51.8, 52.0 (C-7, OCH₃), 77.6 (C-3), 81.5, 82.9, 83.4 (C-4, C-5, C-6), 113.2 (C(CH₃)₂), 171.5 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 294.1073** (calculated for C₁₁H₁₇N₃O₅Na: 294.1060). **IR (NaCl) ν = 2990, 2938, 2099, 1737 cm⁻¹**

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-benzosulfonylamino-D-*altro*-heptonic acid methyl ester 234Prepared starting from **232** following procedure described for **218**.

Yield 83% as a colorless oil

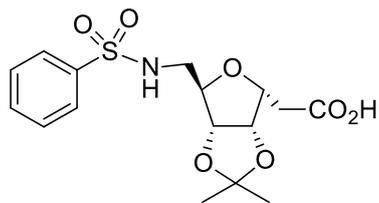
C₁₇H₂₃NO₇S

M.W.: 385.43 g/mol

R_f = 0.29 (cH/EA: 7/3)[α]_D = +26.2° (c = 0.14, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.29 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.44 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.64 (dd, 1H, *J*_{gem} = 16.0, *J*_{2,3} = 7.0 Hz, *H*-2), 2.74 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 7.0 Hz, *H*-2'), 2.89 (ddd, 1H, *J*_{gem} = 13.0, *J*_{6,7} = 8.5, *J*_{7,NH} = 4.0 Hz, *H*-7), 3.07 (ddd, 1H, *J*_{6,7} = 5.0, *J*_{7,NH} = 8.0 Hz, *H*-7'), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 4.05 (ddd, 1H, *J*_{5,6} = 1.0 Hz, *H*-6), 4.12 (td, 1H, *J*_{3,4} = 4.0 Hz, *H*-3), 4.53 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-5), 4.69 (dd, 1H, *H*-4), 4.78 (dd, 1H, NH), 7.49-7.63 (m, 3H, *H*-Ar), 7.85-7.89 (m, 2H, *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 25.1 (CH₃), 26.3 (CH₃), 34.1 (C-2), 42.8 (C-7), 52.0 (OCH₃), 76.5 (C-3), 81.1, 81.9, 83.1 (C-4, C-5, C-6), 113.3 (C(CH₃)₂), 127.2 (2 C-Ar), 129.4 (2 C-Ar), 133.0 (C-Ar), 139.7 (C-Ar), 171.5 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺ m/z = 408.1090** (calculated for C₁₇H₂₃NO₇SNa: 408.1087). **IR (NaCl) ν = 3279, 2990, 2933, 1735 cm⁻¹**

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-benzosulfonylamino-D-*altro*-heptonic acid 235Prepared starting from **234** following procedure described for **221**.



Yield 96% as a colorless oil

 $C_{16}H_{21}NO_7S$

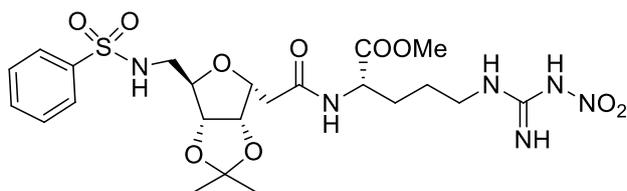
M.W.: 371.10 g/mol

 $R_f = 0.09$ (cH/EA: 1/2) $[\alpha]_D = +23.7^\circ$ (c = 0.2, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.30$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.45 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.69 (dd, 1H, $J_{gem} = 17.0$, $J_{2,3} = 6.0$ Hz, $H-2$), 2.78 (dd, 1H, $J_{2,3} = 6.0$ Hz, $H-2'$), 2.91 (ddd, 1H, $J_{gem} = 13.0$, $J_{6,7} = 8.0$, $J_{7,NH} = 4.0$ Hz, $H-7$), 3.08 (ddd, 1H, $J_{6,7} = 5.0$, $J_{7,NH} = 8.0$ Hz, $H-7'$), 4.09 (ddd, 1H, $J_{5,6} = 1.0$ Hz, $H-6$), 4.14 (td, 1H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, $H-3$), 4.56 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-5$), 4.71 (dd, 1H, $H-4$), 5.12 (dd, 1H, NH), 7.48-7.62 (m, 3H, $H-Ar$), 7.84-7.89 (m, 2H, $H-Ar$). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 25.1$ (CH_3), 26.3 (CH_3), 34.1 ($C-2$), 42.8 ($C-7$), 76.5 ($C-3$), 81.1, 82.1, 83.1 ($C-4$, $C-5$, $C-6$), 113.4 ($C(CH_3)_2$), 127.2 (2 $C-Ar$), 129.4 (2 $C-Ar$), 133.0 ($C-Ar$), 139.6 ($C-Ar$), 175.4 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 394.0929$ (calculated for $C_{16}H_{21}NO_7SNa$: 394.0931). **IR** (NaCl) $\nu = 3265, 2985, 2928, 1716$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-benzosulfonylamino-D-altro-(N^{ω} -nitro-L-arginine methyl ester)-heptonoamide 236

Prepared starting from 235 following procedure described for 207.



Yield 71% as a white solid

 $C_{23}H_{34}N_6O_{10}S$

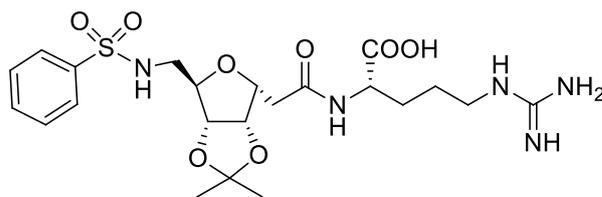
M.W.: 586.62 g/mol

 $R_f = 0.37$ (EA/MeOH: 9/1) $[\alpha]_D = +7.0^\circ$ (c = 0.5, $CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.27$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.44 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.63-1.83 (m, 3H, $H-A1$, 2 $H-A2$), 1.93 (m, 1H, $H-A1$), 2.54 (dd, 1H, $J_{gem} = 15.5$, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, $H-2$), 2.75 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, $H-2'$), 2.89 (m, 1H, $H-7$), 3.06 (ddd, 1H, $J_{gem} = 13.5$, $J = 8.0$, $J = 4.5$ Hz, $H-7'$), 3.31 (m, 1H, $H-A3$), 3.47 (m, 1H, $H-A3$), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 4.12 (m, 1H, $H-6$), 4.19 (m, 1H, $H-3$), 4.49 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-5$), 4.57-4.65 (m, 2H, $H-\alpha$, $H-4$), 6.17 (br s, 1H, NH), 7.26 (m, 1H, NH), 7.47-7.62 (m, 5H, 3 $H-Ar$, 2 NH), 7.83-7.88 (m, 2H, $H-Ar$), 8.59 (br s, 1H, NH). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 25.0$ ($C-A_2$, CH_3), 26.4 (CH_3), 30.2 ($C-A_1$), 36.8 ($C-2$), 40.8 ($C-A_3$), 42.8 ($C-7$), 51.5 ($C-\alpha$), 53.2 (OCH_3), 76.6 ($C-3$), 81.6, 83.1, 83.3 ($C-4$, $C-5$, $C-6$), 113.3 ($C(CH_3)_2$), 127.1 (2 $C-Ar$), 129.5 (2 $C-Ar$), 133.0 ($C-Ar$), 140.1 ($C-Ar$), 159.6 ($C=N$), 172.2 ($C=O$), 173.5 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 609.1940$ (calculated for $C_{23}H_{34}N_6O_{10}SNa$: 609.1949). **IR** (NaCl) $\nu = 3303, 2990, 2933, 2876, 1737, 1636, 1598, 1537$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-benzosulfonylamino-D-altro-(L-arginine)-heptonoamide 238

Prepared starting from 236 following procedure described for 209.



Yield 70% as a white solid

C₂₂H₃₃N₅O₈S

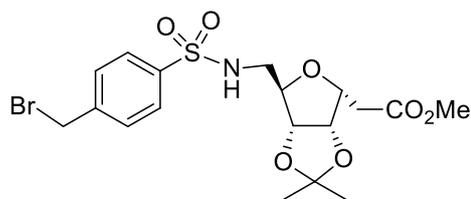
M.W.: 527.59 g/mol

R_f = 0.22 (H₂O/MeOH: 1/1)[α]_D = +17.1° (c = 0.1, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 250 MHz): δ = 1.37 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.52 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.59-1.95 (m, 4H, H-A2, H-A1), 2.63 (dd, 1H, J_{gem} = 14.5, J_{2,3} = 7.5 Hz, H-2), 2.72 (dd, 1H, J_{2,3'} = 6.5 Hz, H-2'), 3.06 (dd, 1H, J_{gem} = 14.0, J_{6,7} = 8.0 Hz, H-7), 3.14 (dd, 1H, J_{6,7'} = 6.0 Hz, H-7'), 3.23 (t, 2H, J_{A3,A2} = 7.0 Hz, H-A3), 4.12 (dd, 1H, H-6), 4.20-4.27 (m, 2H, H-3, H-α), 4.74 (d, 1H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-5), 4.84 (dd, 1H, J_{3,4} = 4.0 Hz, H-4), 7.66-7.80 (m, 3H, H-Ar), 7.91-7.95 (m, 2H, H-Ar). **¹³C NMR (D₂O, 62.9 MHz):** δ = 23.6, 24.4, 25.0 (2 CH₃, C-A2), 28.8 (C-A1), 35.2 (C-2), 40.7 (C-A3), 41.8 (C-7), 54.6 (C-α), 76.6 (C-3), 80.7, 82.1, 82.4 (C-4, C-5, C-6), 113.1 (C(CH₃)₂), 126.6 (2 C-Ar), 129.6 (2 C-Ar), 133.6 (C-Ar), 138.3 (C-Ar), 156.7 (C=N), 171.7 (C=O), 178.5 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺** m/z = 550.1957 (calculated for C₂₂H₃₃N₅O₈SNa: 550.1942). **IR** (pellets) ν = 3331, 3134, 2988, 2928, 2860, 1632, 1575, 1446 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-(4-bromomethyl-benzo)sulfonylamino-D-althro-heptonic acid methyl ester **239**

To a stirred solution of compound **233** (150 mg, 0.6 mmol, 1.0 eq.) in CH₂Cl₂ (1.5 mL) under argon was added dropwise pyridine (165 μL, 2.1 mmol, 3.5 eq.) and sulfonyl chloride (178 mg, 0.66 mmol, 1.1 eq.). After stirring at room temperature for 30 min, the mixture was diluted with CH₂Cl₂ (10 ml) and washed with 1N HCl (2x5 ml). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was removed *in vacuo*. The compound was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **239**.



Yield 61% as a colorless oil

C₁₈H₂₄BrNO₇S

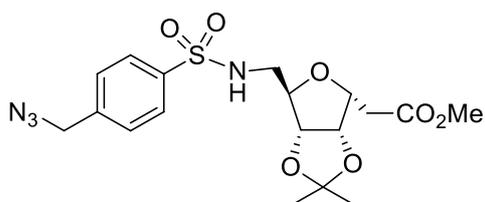
M.W.: 478.35 g/mol

R_f = 0.43 (cH/EA: 1/1)[α]_D = +18.5° (c = 0.2, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.29 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.45 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.64 (dd, 1H, J_{gem} = 15.5, J_{2,3} = 6.5 Hz, H-2), 2.74 (dd, 1H, J_{2,3'} = 6.5 Hz, H-2'), 2.90 (ddd, 1H, J_{gem} = 13.0, J_{6,7} = 8.5, J_{7,NH} = 4.0 Hz, H-7), 3.08 (ddd, 1H, J_{6,7'} = 5.0, J_{7',NH} = 8.0 Hz, H-7'), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 4.06 (ddd, 1H, J_{5,6} = 1.0 Hz, H-6), 4.12 (td, 1H, J_{3,4} = 4.0 Hz, H-3), 4.53 (dd, 1H, J_{4,5} = 6.0 Hz, H-5), 4.62 (s, 2H, CH₂-Br), 4.70 (dd, 1H, H-4), 4.81 (dd, 1H, NH), 7.52-7.58 (m, 2H, H-Ar), 7.84-7.89 (m, 2H, H-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.9 (CH₃), 26.1 (CH₃), 33.9 (C-2), 42.6 (C-7), 44.8 (CH₂-Br), 51.8 (OCH₃), 76.3 (C-3), 81.9, 82.7, 82.9 (C-4, C-5, C-6), 113.2 (C(CH₃)₂), 127.5 (2 C-Ar), 129.2 (2 C-Ar), 139.5 (C-Ar), 142.4 (C-Ar), 171.3 (C=O). **ESI-HRMS [M+Na]⁺** m/z = 500.0317 (calculated for C₁₈H₂₄BrNO₇SNa: 500.0349). **IR** (NaCl) ν = 3274, 2985, 2924, 2848, 1735, 1440 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-(4-azidomethyl-benzo)sulfonylamino-D-*altro*-heptonic acid methyl ester 240

To a stirred solution of compound **239** (120 mg, 0.25 mmol, 1 eq.) in DMF (2 ml) was added sodium azide (97 mg, 1.5 mmol, 6 eq.) and the mixture was stirred for 15 hours at 60°C. The solvent was removed in vacuo and the residue was diluted with CH₂Cl₂ (10 ml), washed with H₂O (5 ml) and brine (5 ml). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and the solvent was evaporated under reduced pressure. The compound was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **240**.



Yield 100% as a colorless oil

C₁₈H₂₄N₄O₇S

M.W.: 440.14 g/mol

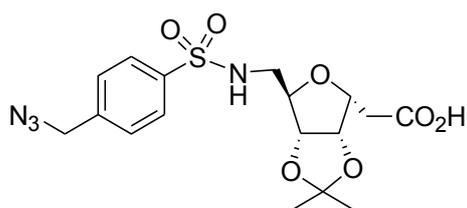
R_f = 0.21 (cH/EA: 7/3)

[α]_D = +21.7° (c = 0.25, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.29 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.45 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.65 (dd, 1H, *J*_{gem} = 16.5, *J*_{2,3} = 7.0 Hz, *H*-2), 2.73 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 6.5 Hz, *H*-2'), 2.88 (ddd, 1H, *J*_{gem} = 13.0, *J*_{6,7} = 9.0, *J*_{7,NH} = 3.5 Hz, *H*-7), 3.08 (ddd, 1H, *J*_{6,7} = 5.0, *J*_{7,NH} = 8.0 Hz, *H*-7'), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 4.03-4.14 (m, 2H, *H*-6, *H*-3), 4.46 (s, 2H, CH₂-N₃), 4.53 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 6.0, *J*_{5,6} = 1.5 Hz, *H*-5), 4.69 (dd, 1H, *J*_{3,4} = 4.0 Hz, *H*-4), 4.84 (dd, 1H, *NH*), 7.49 (d, 2H, *J* = 8.0 Hz, 2 *H*-Ar), 7.89 (d, 2H, 2 *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 25.1 (CH₃), 26.3 (CH₃), 34.0 (C-2), 42.7 (C-7), 52.0 (OCH₃), 54.1 (CH₂-N₃), 76.5 (C-3), 81.1, 81.9, 83.1 (C-4, C-5, C-6), 113.4 (C(CH₃)₂), 127.8 (2 C-Ar), 128.8 (2 C-Ar), 139.5 (C-Ar), 140.9 (C-Ar), 171.5 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 463.1207 (calculated for C₁₈H₂₄N₄O₇SNa: 463.1258). **IR (NaCl)** ν = 3274, 2990, 2933, 2104, 1735 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-(4-azidomethyl-benzo)sulfonylamino-D-*altro*-heptonic acid 241

Prepared starting from **240** following procedure described for **221**.



Yield 100% as a colorless oil

C₁₇H₂₂N₄O₇S

M.W.: 426.12 g/mol

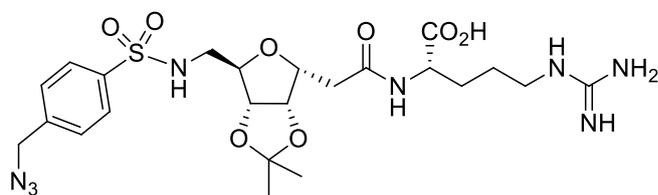
R_f = 0.21 (cH/EA: 1/3)

[α]_D = +15.7° (c = 0.3, CHCl₃)

¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.29 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.45 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.63-2.80 (m, 2H, 2 *H*-2), 2.91 (m, 1H, *H*-7), 3.07 (m, 1H, *H*-7'), 4.04-4.17 (m, 2H, *H*-6, *H*-3), 4.45 (s, 2H, CH₂-N₃), 4.56 (d, 1H, *J*_{4,5} = 6.0 Hz, *H*-5), 4.70 (dd, 1H, *J*_{3,4} = 4.0 Hz, *H*-4), 5.39 (dd, 1H, *NH*), 7.47 (d, 2H, *J* = 8.0 Hz, 2 *H*-Ar), 7.87 (d, 2H, 2 *H*-Ar). **¹³C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** δ = 24.9 (CH₃), 26.1 (CH₃), 34.1 (C-2), 42.6 (C-7), 53.9 (CH₂-Br), 76.4 (C-3), 81.0, 82.0, 82.9 (C-4, C-5, C-6), 113.2 (C(CH₃)₂), 127.6 (2 C-Ar), 128.6 (2 C-Ar), 139.3 (C-Ar), 140.7 (C-Ar), 175.6 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ *m/z* = 449.1130 (calculated for C₁₇H₂₂N₄O₇SNa: 449.1101). **IR (NaCl)** ν = 3265, 2985, 2924, 2857, 2104, 1716 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-(4-azidomethyl-benzo)sulfonylamino-D-althro-(L-arginine)-heptonoamide 243

Prepared starting from **241** following procedure described for **228**.



Yield 86 % as a white solid (over 2 steps)

$C_{23}H_{34}N_8O_8S$

M.W.: 582.22 g/mol

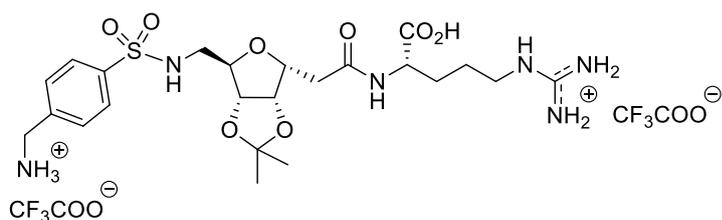
$R_f = 0.18$ ($H_2O/MeOH$: 1/1)

$[\alpha]_D = +31.0^\circ$ ($c = 0.1$, MeOH)

1H NMR (MeOH- d_4 , 250 MHz): $\delta = 1.29$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.43 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.57-1.70 (m, 2H, $H-A2$), 1.75 (m, 1H, $H-A1$), 1.87 (m, 1H, $H-A1$), 2.53 (dd, 1H, $J_{gem} = 15.5$, $J_{2,3} = 5.5$ Hz, $H-2$), 2.63 (dd, 1H, $J_{2,3} = 8.0$ Hz, $H-2'$), 2.87-3.04 (m, 2H, 2 $H-7$), 3.17-3.23 (m, 2H, 2 $H-A3$), 4.02 (dd, 1H, $J_{6,7} = 8.0$, $J_{6,7} = 6.0$ Hz, $H-6$), 4.17 (m, 1H, $H-3$), 4.28 (dd, 1H, $J = 7.5$, $J = 5.5$ Hz, $H-\alpha$), 4.50 (s, 2H, CH_2-N_3), 4.62-4.69 (m, 2H, $H-4$, $H-5$), 7.55 (d app., 2H, $J = 8.5$ Hz, 2 $H-Ar$), 7.90 (d app., 2H, 2 $H-Ar$). **^{13}C NMR (MeOH- d_4 , 62.9 MHz):** $\delta = 23.9$ (CH_3), 24.8 ($C-A2$), 25.4 (CH_3), 30.0 ($C-A1$), 36.1 ($C-2$), 41.0 ($C-A3$), 42.6 ($C-7$), 53.6, 54.2 (CH_2-N_3 , $C-\alpha$), 77.0 ($C-3$), 81.6, 83.2, 83.4 ($C-4$, $C-5$, $C-6$), 112.5 ($C(CH_3)_2$), 127.3 (2 $C-Ar$), 128.7 (2 $C-Ar$), 140.5 ($C-Ar$), 141.1 ($C-Ar$), 157.4 ($C=N$), 171.3 ($C=O$), 177.2 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 605.2118$ (calculated for $C_{23}H_{34}N_8O_8SNa$: 605.2113). **IR** (pellets) $\nu = 3364$, 3184, 2981, 2938, 2104, 1648, 1598 cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-(4-aminomethyl-benzo)sulfonylamino-D-althro-(L-arginine)-heptonoamide 244

To a solution of **243** (80 mg, 0.14 mmol) in MeOH (5 mL), was added Pd/C (10%) (8 mg, 10% w/w). After stirring under H_2 atmosphere (15 psi) until completion of the reaction, the mixture was filtered through a pad of celite and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude was purified by column chromatography (C-18 silica gel, $H_2O/MeOH$) and lyophilized to provide **244**.



Yield 87 % as a white solid

$C_{23}H_{36}N_6O_8S$

M.W.: 556.23 g/mol

$R_f = 0.38$ ($H_2O/CH_3CN/TFA$: 7/3/0.1%)

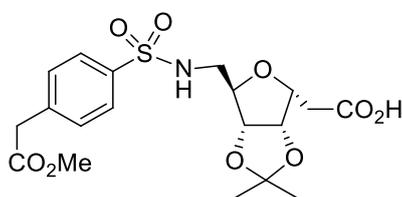
$[\alpha]_D = +6.9^\circ$ ($c = 0.1$, H_2O)

1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): $\delta = 1.25$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.38 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.45-1.61 (m, 3H, 2 $H-A2$, $H-A1$), 1.73 (m, 1H, $H-A1$), 2.47-2.53 (m, 2H, 2 $H-2$), 2.68 (m, 1H, $H-7$), 2.82 (m, 1H, $H-7'$), 3.07-3.11 (m, 2H, 2 $H-A3$), 3.87 (t, 1H, $J_{6,7} = 7.0$ Hz, $H-6$), 4.10-4.17 (m, 3H, $H-3$, CH_2-NH_2), 4.20 (td, 1H, $J = 8.0$, $J = 5.0$ Hz, $H-\alpha$), 4.63 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-5$), 4.66 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $H-4$), 6.99 & 7.20 (br s, 4H, 4 NH), 7.59 (t, 1H, $J = 5.5$ Hz, NH), 7.67 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, 2 $H-Ar$), 7.84-7.90 (m, 3H, 2 $H-Ar$, NH), 8.18 (d, 1H, $J_{NH,\square} = 8.0$ Hz, NH), 8.28 (br s, 3H, $CH_2-NH_3^+$). **^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz):** $\delta = 25.2$ (CH_3), 25.5 ($C-A2$), 26.6 (CH_3), 28.8 ($C-A1$), 35.3 ($C-2$), 40.7 ($C-A3$), 42.2 ($C-7$), 42.9 (CH_2-NH_2), 51.8 ($C-\alpha$), 77.0 ($C-3$), 81.3 ($C-4$), 82.1 ($C-6$), 83.0 ($C-5$), 111.8 ($C(CH_3)_2$), 127.3 (2 $C-Ar$), 130.1 (2 $C-Ar$), 139.0 ($C-Ar$), 140.7 ($C-Ar$), 157.1 ($C=N$), 158.5 (TFA), 170.0 ($C=O$ amide), 173.9

(C=O acid). **ESI-HRMS** $[M+H]^+$ $m/z = 557.2399$ (calculated for $C_{23}H_{37}N_6O_8S$: 557.2388). **IR** (pellets) $\nu = 3393, 3189, 2990, 2928, 1676, 1546 \text{ cm}^{-1}$

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-[(methylphenyl-(4-sulfonylamino)acetate)]-*D*-*altro*-heptonic acid 246

To a solution of **232** (192 mg, 0.71 mmol) in THF (5 mL) and water (2 mL) was added LiOH (51 mg, 2.13 mmol, 3 eq.) and the mixture was stirred until completion of the reaction monitored by tlc. THF was removed under reduced pressure, CH_2Cl_2 (20 mL) was added and the pH was adjusted to 2-3 with aqueous 1N HCl. The organic layer was washed with brine and dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated under reduced pressure. This carboxylic acid was solubilized in MeOH (10 mL) and Pd/C (10%) (20 mg, 10% w/w) was added. After stirring under H_2 atmosphere (15 psi) until completion of the reaction, the mixture was filtered through a pad of celite and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The crude amine was solubilized in pyridine (1 mL) and this solution was added dropwise under argon atmosphere to a stirred solution of methyl 2-[4-(chlorosulfonyl)phenyl]acetate (212 mg, 0.85 mmol, 1.2 eq.) in pyridine (2 mL). After stirring at room temperature until completion of the reaction, the solvent was removed under reduced pressure. The residue was diluted with CH_2Cl_2 (15 mL) and the pH was adjusted to 3-4 with 1N HCl. The layers were separated and the organic layer was washed with H_2O (2x5 mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered and the solvent was evaporated under reduced pressure. The compound was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **246**.



Yield 30 % as a colorless oil

$C_{19}H_{25}NO_9S$

M.W.: 443.47 g/mol

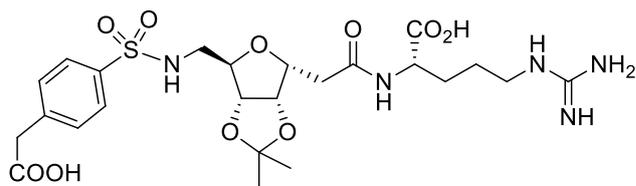
$R_f = 0.48$ (EA)

$[\alpha]_D = +13.1^\circ$ ($c = 0.1, CHCl_3$)

1H NMR ($CDCl_3$, 250 MHz): $\delta = 1.30$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.45 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.67 (dd, 1H, $J_{gem} = 17.0, J_{2,3} = 7.0$ Hz, $H-2$), 2.77 (dd, 1H, $J_{2,3} = 6.0$ Hz, $H-2'$), 2.91 (m, 1H, $H-7$), 3.09 (m, 1H, $H-7'$), 3.70 (s, 2H, $CH_2-CO_2CH_3$), 3.71 (s, 3H, CO_2CH_3), 4.01-4.18 (m, 2H, $H-6, H-3$), 4.57 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0, J_{5,6} = 1.0$ Hz, $H-5$), 4.71 (dd, 1H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, $H-4$), 5.25 (dd, 1H, NH), 7.43 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, $H-Ar$), 7.81 (d, 2H, $H-Ar$), 9.53 (br s, 1H, $COOH$). **^{13}C NMR** ($CDCl_3$, 62.9 MHz): $\delta = 24.9$ (CH_3), 26.1 (CH_3), 34.0 ($C-2$), 40.8 ($CH_2-CO_2CH_3$), 42.7 ($C-7$), 52.3 (CO_2CH_3), 76.4 ($C-3$), 80.9, 82.0, 83.0 ($C-4, C-5, C-6$), 113.2 ($C(CH_3)_2$), 127.3 (2 $C-Ar$), 130.2 (2 $C-Ar$), 138.4 ($C-Ar$), 139.1 ($C-Ar$), 171.1 ($C=O$), 175.3 ($C=O$). **ESI-HRMS** $[M+Na]^+$ $m/z = 466.1190$ (calculated for $C_{19}H_{25}NO_9SNa$: 466.1142). **IR** (NaCl) $\nu = 3270, 2985, 2938, 1730, 1714 \text{ cm}^{-1}$

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-[(4-carboxymethyl)phenylsulfonylamino)]-*D*-*altro*-(*L*-arginine)-heptonoamide 248

Prepared starting from **246** following procedure described for **228**.



Yield 54 % (over 2 steps) as a colorless oil

$C_{24}H_{35}N_5O_{10}S$

M.W.: 585.63 g/mol

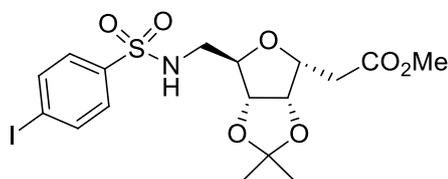
$R_f = 0.75$ ($H_2O/CH_3CN/TFA$: 7/3/0.1%)

$[\alpha]_D = +5.0^\circ$ ($c = 0.2, H_2O$)

1H NMR (DMSO- d_6 , 250 MHz): $\delta = 1.22$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.36 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.43-1.62 (m, 3H, $H-A2, H-A1$), 1.70 (m, 1H, $H-A1$), 2.64-2.93 (m, 4H, 2 $H-2$, 2 $H-7$), 3.03-3.12 (m, 2H, 2 $H-A3$), 3.68 (s, 2H, CH_2-COOH), 3.84 (t, 1H, $J_{6,7} = 7.0, J_{6,7'} = 7.0$ Hz, $H-6$), 4.08-4.22 (m, 2H, $H-3, H-\alpha$), 4.56-4.64 (m, 2H, $H-4, H-5$), 7.08 (br s, 2H, NH), 7.46 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, 2 $H-Ar$), 7.73 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, 2 $H-Ar$), 8.12 (m, 1H, NH), 12.52 (br s, 2H, 2 $COOH$). **^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 62.9 MHz):** $\delta = 25.5$ (CH_3), 25.7 ($C-A2$), 26.8 (CH_3), 29.1 ($C-A1$), 35.6 ($C-2$), 40.8 ($C-A3$), 41.2 ($C-7$), 43.2 (CH_2-COOH), 52.0 ($C-\alpha$), 77.2 ($C-3$), 81.5, 82.3, 83.3 ($C-4, C-5, C-6$), 112.0 ($C(CH_3)_2$), 127.1 (2 $C-Ar$), 131.0 (2 $C-Ar$), 139.4 ($C-Ar$), 140.6 ($C-Ar$), 157.4 ($C=N$), 159.1 (TFA), 170.2, 172.8, 174.1 (3 $C=O$). **ESI-HRMS $[M+H]^+$** $m/z = 608.2026$ (calculated for $C_{24}H_{35}N_5O_{10}SNa$: 608.1997). **IR** (pellets) $\nu = 3374, 3213, 2985, 2938, 1718, 1664, 1648, 1544$ cm^{-1}

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-O-(1-methylethylidene)-7-(4-iodo-benzo)sulfonylamino-D-altrioheptonic acid methyl ester **250**

Prepared starting from **232** and (4-iodo-benzo)sulfonyl chloride following procedure described for **218**.



Yield 82% as a colorless oil

$C_{17}H_{22}NO_7SI$

M.W.: 511.02 g/mol

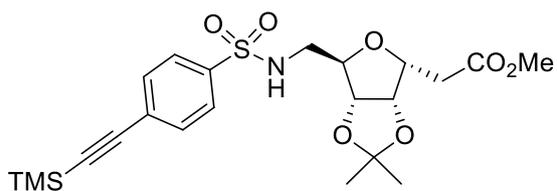
$R_f = 0.25$ (cH/EA: 7/3)

$[\alpha]_D = +18.5^\circ$ ($c = 0.8, CHCl_3$)

1H NMR (CDCl $_3$, 250 MHz): $\delta = 1.32$ (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1.47 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 2.67 (dd, 1H, $J_{gem} = 16.0, J_{2,3} = 7.0$ Hz, $H-2$), 2.76 (dd, 1H, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, $H-2'$), 2.91 (ddd, 1H, $J_{gem} = 13.0, J_{6,7} = 9.0, J_{7,NH} = 4.0$ Hz, $H-7$), 3.09 (ddd, 1H, $J_{6,7'} = 5.0, J_{7',NH} = 8.0$ Hz, $H-7'$), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 4.08 (ddd, 1H, $J_{5,6} = 1.0$ Hz, $H-6$), 4.15 (td, 1H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, $H-3$), 4.55 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $H-5$), 4.72 (dd, 1H, $H-4$), 5.01 (dd, 1H, NH), 7.58-7.63 (m, 3H, $H-Ar$), 7.88-7.93 (m, 2H, $H-Ar$). **^{13}C NMR (CDCl $_3$, 62.9 MHz):** $\delta = 25.1$ (CH_3), 26.3 (CH_3), 34.0 ($C-2$), 42.7 ($C-7$), 52.0 (OCH_3), 76.5 ($C-3$), 81.1, 81.9, 83.1 ($C-4, C-5, C-6$), 100.3 ($C-Ar-I$), 113.3 ($C(CH_3)_2$), 128.6 (2 $C-Ar$), 138.6 (2 $C-Ar$), 139.4 ($C-Ar$), 171.5 ($C=O$). **ESI-HRMS $[M+Na]^+$** $m/z = 534.0056$ (calculated for $C_{17}H_{22}NO_7SINa$: 534.0054). **IR** (NaCl) $\nu = 3279, 2985, 2938, 1735, 1572$ cm^{-1}

Compound **251**

To a stirred solution of **250** (137 mg, 0.25 mmol, 1 eq.), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (18 mg, 0.025 mmol, 0.1 eq.) and CuI (3 mg, 0.015 mmol, 0.06 eq.) in Et_3N (1 mL) was added ethynyltrimethylsilane (42 μL , 0.3 mmol, 1.2 eq.). The mixture was stirred at 80 $^\circ C$ until completion of the reaction. The solvent was removed under reduced pressure and the crude was purified by flash chromatography (silica gel, cyH/EA) to provide **251**.



Yield 80% as a colorless oil

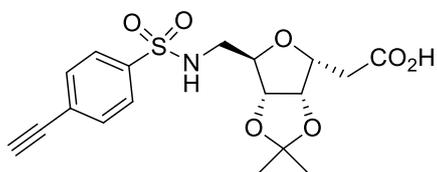
 $C_{22}H_{31}NO_7SSi$

M.W.: 481.16 g/mol

 $R_f = 0.32$ (cH/EA: 7/3) $[\alpha]_D = +20.2^\circ$ (c = 0.2, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 0.29$ (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.32 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.47 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.67 (dd, 1H, $J_{gem} = 17.0$, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, *H*-2), 2.76 (dd, 1H, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, *H*-2'), 2.89 (ddd, 1H, $J_{gem} = 12.0$, $J_{6,7} = 9.0$, $J_{7,NH} = 3.5$ Hz, *H*-7), 3.08 (ddd, 1H, $J_{6,7} = 5.0$, $J_{7,NH} = 8.0$ Hz, *H*-7'), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 4.07 (ddd, 1H, $J_{5,6} = 1.0$ Hz, *H*-6), 4.13 (td, 1H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, *H*-3), 4.54 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, *H*-5), 4.72 (dd, 1H, *H*-4), 5.01 (dd, 1H, NH), 7.61 (d app, 2H, $J = 8.5$ Hz, *H*-Ar), 7.82 (d app, 2H, *H*-Ar). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = 0.0$ (C(CH₃)₃), 25.2 (CH₃), 26.4 (CH₃), 34.1 (C-2), 42.8 (C-7), 52.1 (OCH₃), 76.6 (C-3), 81.2, 82.0, 83.2 (C-4, C-5, C-6), 98.9, 103.3 (C≡C), 113.4 (C(CH₃)₂), 127.1 (C-Ar), 127.2 (C-Ar), 128.3 (C-Ar), 132.7 (C-Ar), 132.8 (C-Ar), 139.1 (C-Ar), 171.5 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ $m/z = 504.1479$ (calculated for C₂₂H₃₁NO₇SSiNa: 504.1483). **IR** (NaCl) $\nu = 3279$, 2995, 2957, 2900, 2156, 1735, 1588 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-(4-acetylenyl-benzo)sulfonylamino-*D*-altrioheptonic acid **252**

Prepared starting from **251** following procedure described for **221**.

Yield 82% as a white foam

 $C_{18}H_{21}NO_7S$

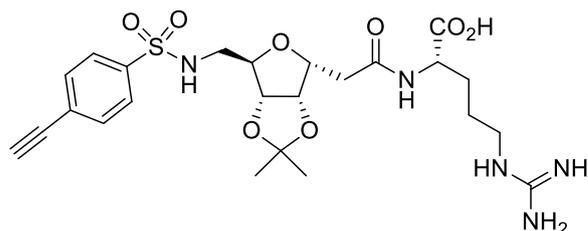
M.W.: 395.10 g/mol

 $R_f = 0.48$ (EA) $[\alpha]_D = +27.5^\circ$ (c = 0.1, $CHCl_3$)

1H NMR (CDCl₃, 250 MHz): $\delta = 1.30$ (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.46 (s, 3H, C(CH₃)₂), 2.70 (dd, 1H, $J_{gem} = 17.0$, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, *H*-2), 2.78 (dd, 1H, $J_{2,3} = 6.0$ Hz, *H*-2'), 2.90 (ddd, 1H, $J_{gem} = 13.0$, $J_{6,7} = 8.5$, $J_{7,NH} = 4.0$ Hz, *H*-7), 3.08 (ddd, 1H, $J_{6,7} = 5.0$, $J_{7,NH} = 8.0$ Hz, *H*-7'), 3.26 (s, 1H, *H*-C≡C), 4.09 (m, 1H, *H*-6), 4.15 (m, 1H, *H*-3), 4.55 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.0$, $J_{5,6} = 1.0$ Hz, *H*-5), 4.71 (dd, 1H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, *H*-4), 5.20 (dd, 1H, NH), 7.59-7.63 (m, 2H, *H*-Ar), 7.79-7.83 (m, 2H, *H*-Ar). **^{13}C NMR (CDCl₃, 62.9 MHz):** $\delta = 24.9$ (CH₃), 26.1 (CH₃), 34.0 (C-2), 42.6 (C-7), 76.3 (C-3), 80.8, 80.9, 81.9, 83.0 (C-4, C-5, C-6, C≡C), 113.3 (C(CH₃)₂), 127.0 (3 C-Ar), 132.8 (2 C-Ar), 139.5 (C-Ar), 175.4 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ $m/z = 418.0941$ (calculated for C₁₈H₂₁NO₇SNa: 418.0931). **IR** (NaCl) $\nu = 3270$, 2990, 2928, 1711 cm⁻¹

3,6-anhydro-2,7-dideoxy-4,5-*O*-(1-methylethylidene)-7-(4-acetylenyl-benzo)sulfonylamino-*D*-altrioheptonoamide **254**

Prepared starting from **252** following procedure described for **228**.



Yield 67 % as a white solid (over 2 steps)

 $C_{24}H_{33}N_5O_8S$

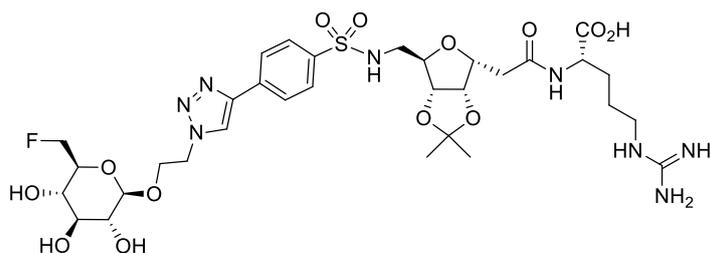
M.W.: 551.20 g/mol

 $R_f = 0.12$ (H₂O/MeOH: 1/1) $[\alpha]_D = +10.6^\circ$ (c = 0.3, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 400 MHz): $\delta = 1.23$ (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.39 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.46-1.54 (m, 2H, H-A2), 1.62 (m, 1H, H-A1), 1.77 (m, 1H, H-A1), 2.49 (dd, 1H, $J_{gem} = 15.0$, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, H-2), 2.58 (dd, 1H, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, H-2'), 2.86 (dd, 1H, $J_{gem} = 13.5$, $J_{6,7} = 7.0$ Hz, H-7), 2.91 (dd, 1H, $J_{6,7} = 7.0$ Hz, H-7'), 3.07 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, H-A3), 3.95 (t, 1H, H-6), 4.07 (td, 1H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, H-3), 4.11 (dd, 1H, $J_{H-\alpha, A1} = 8.0$, $J_{H-\alpha, A1'} = 4.5$ Hz, H- α), 4.57 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-5), 4.67 (dd, 1H, H-4), 7.62 (d app., 2H, $J = 8.0$ Hz, H-Ar), 7.72 (d app., 2H, H-Ar). **¹³C NMR (D₂O, 100 MHz):** $\delta = 23.5$ (CH₃), 24.4 (C-A2), 24.9 (CH₃), 28.8 (C-A1), 35.3 (C-2), 40.6 (C-A3), 42.7 (C-7), 54.5 (C- α), 76.7 (C-3), 80.6 (C-4), 81.9 (C=C), 82.6, 82.7 (C-5, C-6), 112.9 (C(CH₃)₂), 125.8 (C-Ar), 126.6 (2 C-Ar), 132.8 (2 C-Ar), 140.4 (C-Ar), 156.6 (C=N), 171.7 (C=O), 178.5 (C=O). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ m/z = 574.1960 (calculated for C₂₄H₃₃N₅O₈SNa: 574.1942). **IR** (pellets) $\nu = 3350, 3289, 3184, 2990, 2938, 2872, 1648, 1593$ cm⁻¹

Compound 255

To a solution of alkyne **254** (33 mg, 0.04 mmol, 1 eq.) and azido sugar **249** (15 mg, 0.04 mmol, 1 eq.) in a water/tbuOH mixture (0.5 mL/0.5 mL) were added sodium ascorbate (2.4 mg, 0.008 mmol, 0.2 eq.) and Cu(OAc)₂ (1.2 mg, 0.004 mmol, 0.1 eq.). The solution turned progressively pale green and the mixture was stirred at room temperature until completion of the reaction (the blue color reappeared). Chelex[®] resin (100 mg) was then added to the solution and the suspension was stirred until the solution became colorless. The resin was filtered off and the solvent were removed under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography (C-18 silica gel, H₂O/MeOH) and lyophilized.



Yield 77% as a white solid

 $C_{32}H_{47}FN_8O_{13}S$

M.W.: 802.30 g/mol

 $R_f = 0.29$ (H₂O/MeOH: 1/1) $[\alpha]_D = -6.7^\circ$ (c = 0.1, H₂O)

¹H NMR (D₂O, 400 MHz): $\delta = 1.31$ (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.46 (s, 3H, C(CH₃)₂), 1.59-1.61 (m, 2H, H-A2), 1.69 (m, 1H, H-A1), 1.84 (m, 1H, H-A1), 2.59 (dd, 1H, $J_{gem} = 15.0$, $J_{2,3} = 8.0$ Hz, H-2), 2.66 (dd, 1H, $J_{2,3} = 6.5$ Hz, H-2'), 3.04 (dd, 1H, $J_{gem} = 13.5$, $J_{6,7} = 8.5$ Hz, H-7), 3.08-3.17 (m, 3H, 2 H-A3, H-7'), 3.26 (m, 1H, H-11), 3.42- 3.59 (m, 3H, H-12, H-13, H-14), 4.08 (dd, 1H, $J_{6,7} = 8.5$, $J_{6,7'} = 6.5$ Hz, H-6), 4.14-4.25 (m, 3H, H-3, H- α , H-9), 4.33 (m, 1H, H-9'), 4.47 (d, 1H, $J_{10,11} = 8.0$ Hz, H-10), 4.61 (dd, 2H, $J_{H,F} = 47.5$, $J_{14,15} = 2.0$ Hz, H-15), 4.68 (d, 1H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H-5), 4.73-4.77 (m, 3H, H-4, 2 H-8), 7.94 (d app., 2H, $J = 8.0$ Hz, H-Ar), 7.99 (d app., 2H, H-Ar), 8.49 (H-triazole). **¹³C NMR (D₂O, 62.9 MHz):** $\delta = 23.9$ (CH₃), 24.6 (C-A2), 25.3 (CH₃), 29.1 (C-A1), 35.6 (C-2), 40.9 (C-A3), 42.2 (C-7), 50.9 (C-8), 54.8 (C- α), 68.5 (d, $J_{C,F} = 7.0$ Hz, C-13), 68.7 (C-9), 73.1 (C-11), 74.5 (d, $J_{C,F} = 18.0$ Hz, C-14), 75.7 (C-12), 77.0 (C-3), 81.0, 82.4, 82.7 (C-4, C-5, C-6), 82.1 (d, $J_{C,F} = 168.0$ Hz, C-15), 102.9 (C-10), 113.3

(C(CH₃)₂), 124.4 (C-Ar), 126.7 (2 C-Ar), 127.8 (2 C-Ar), 134.7 (C-triazole), 138.5 (C-Ar), 146.0 (C-triazole), 156.9 (C=N), 172.0 (C=O), 178.7 (C=O). **¹⁹F NMR (235.2 MHz, D₂O):** $\delta = -235.16$ (td, $J_{\text{H,F}} = 47.0$, $J_{\text{H,F}} = 27.0$ Hz). **ESI-HRMS** [M+Na]⁺ $m/z = 825.2845$ (calculated for C₃₂H₄₇FN₈O₁₃SNa: 825.2860). **IR** (ATR) $\nu = 3346, 3236, 1655, 1505, 1150$ cm⁻¹

III- Biological testings

III.1- Elisa test with NRP-1 or VEGFR-2

NRP-1 or VEGFR-2 were obtained from R&D Systems (Lille, France), as recombinant chimeric proteins. The surface of Maxisorp microplates (Dutscher) was coated with NRP-1 (2 $\mu\text{g/mL}$) or VEGFR-2 (5 $\mu\text{g/mL}$) in phosphate buffered saline (PBS) overnight at room temperature. The plates were blocked with phosphate buffer saline (PBS) containing 0.5% bovine serum albumin (BSA, blocking buffer) during 1h at 37°C to prevent non-specific interactions. Binding of the peptidomimetic derivatives to NRP-1 was assessed using various concentrations of tested compounds in addition to biotinylated VEGF₁₆₅ (5 ng/mL for NRP-1, 20 ng/mL for VEGFR-2, R&D Systems) in blocking buffer containing 2 $\mu\text{g/mL}$ heparin. Biotinylated VEGF₁₆₅ was used without any addition as negative control or with unlabelled VEGF₁₆₅ as positive control of binding (0.5 $\mu\text{g/mL}$ for NRP-1, 2 $\mu\text{g/mL}$ for VEGFR-2, R&D Systems). After a 2h-incubation at room temperature, the plates were washed and the bound biotinylated VEGF₁₆₅ was stained with streptavidin horseradish peroxidase conjugate (R&D Systems) and assayed. After 20 min at room temperature, reaction was stopped by addition of Stop Solution (R&D Systems). Optical densities were measured at 450 nm. Results were expressed as relative absorbance to wells containing only blocking buffer. Three wells per condition were used for each compound. The assay was performed according to Tirand *et al.*²⁰⁸

III.2- Endothelial cells (HUVEC)

III.2.1- General procedure for HUVECs culture and treatment

Briefly, Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) were collected from umbilical cords as previously described by Jaffe *et al.*²⁰⁹ HUVEC were cultured and used until third passage in EndoGro medium (Merck-Millipore, France) supplemented with 10% calf serum, 2 mM L-glutamine (GibcoBRL), 100 U/ml penicillin (GibcoBRL, France), 100 $\mu\text{g/ml}$ streptomycin (GibcoBRL, France) and 2.5 $\mu\text{g/ml}$ amphotericin B (GibcoBRL, France).

III.2.2- General procedure for Western Blots

For analysis of pAkt and pERK1/2 expression, western blotting was realized as previously described by Mriouah *et al.*²¹⁰ Briefly, protein aliquots (40 μg) were denatured in the Laemmli buffer containing β mercaptoethanol and resolved in SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. The separated proteins were transferred onto PVDF membranes (Amersham Biosciences, Orsay, France). The PVDF membrane was blocked with tris base-buffered saline prepared with 0.1% (v/v) tween-20 containing 5% (w/v) bovine serum albumin. The following primary antibodies against human Akt (#9272, Cell Signaling, 1:1000 dilution), phosphorylated Akt at ser473 (pAKT, #9271, Cell Signaling, 1:1000 dilution), ERK1/2 (#9102, Cell Signaling, 1:1000 dilution), phosphorylated ERK1/2 at Thr202/Tyr204 (pERK1/2) (#9106, Cell Signaling, 1:1000 dilution) were incubated overnight at 4°C. Subsequently, immuno-reactive proteins were visualized using the enhanced chemiluminescence procedure (Pierce, USA).

Quantification of relative band densities was performed using densitometer (LAS Imager FujiFilm) and Akt and ERK1/2 were used as control.

III.2.3- General procedure for cell viability assays

Cell viability was determined by monitoring the mitochondrial activity using WST-1 (Sigma). Following a 48h incubation of tested compounds and HUVECs at 37°C, 0.5 µmol/L of WST-1 reagent were added into each well. The absorbance of the resulting solution was then measured at 450 nm using wells without cells as blank (Multiskan Ascent microplate photometer, Thermo Scientific, France).

III.2.4- General procedure for angiogenesis and invasion assays

Angiogenesis assay

HUVECs were plated (90,000 cells/cm²) onto IBIDI 24-well plates precoated with Matrigel™ Basement Membrane Matrix (BD Biosciences, France). After 1h, tested compounds were added (15µL, 10mM) and the plates were incubated at 37°C overnight before being fixed with 4% paraformaldehyde. Photomicrographs of whole culture surfaces were taken (Nikon AZ100, Digital Sight DS-Qi1Mc camera, Nikon, France).

Invasion assay

The invasion ability of cells was analyzed using culture permeable support (8 µm pore size, Falcon) coated with 100 µL Matrigel™ (BD Biosciences). HUVEC were pretreated with the different compounds during 24h and plated at a density of 4.10⁵ cells in 500 µL serum free medium, inoculated in the upper chamber; while 700 µL of medium containing 10% FBS was used as the chemoattractant was placed in the lower chamber. After incubating the cells for 24h à 37°C, the non-invading cells remaining on the upper side of the filter were gently removed with cotton swab. The invading cells on the lower chamber were fixed with 4% paraformaldehyde (PFA) for 10 min and stained with crystal violet for 30 min. Crystal violet was solubilized with 4% acetic acid and absorbance at 540 nm was measured.

IV- Molecular modelling

The structures of the investigated compounds were prepared according to the CORINA [Molecular Networks GmbH, Erlangen, Germany] (for the 3D conformers) and MOPAC [MOPAC2012, James J. P. Stewart, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, <http://OpenMOPAC.net> (2012)] softwares (for the atomic charges).

The chemicals were firstly docked using the GOLD software. The protein target was the 3D structure of the B1 domain of NRP-1 as solved by X-ray when bound with the small molecule EG00229 (pdb code 3I97). Previous to the docking process, all hydrogen atoms were added to the PDB protein chain A considered at pH 7. In the GOLD settings, the protein binding site was defined according to the position of the EG00229 ligand within the complex providing a list of interacting amino acid residues within an

extra range of 10 Å from each ligand atom. For each docking run, 50 different ligand starting poses were used and optimized according to the goldscore docking function.

Molecular dynamics simulations were performed using the NAMD software.²¹¹ All protein/ligand complexes resulting from the best GOLD docking poses were checked for their stability using short 10ns molecular dynamics. For this purpose, each protein 3D model was first solvated with an 80 Å³ box of TIP3P explicit water molecules. Next, ions were added for ensuring the electrostatic neutrality of the whole protein+solvent systems. The initial states for dynamics were generated from the GOLD models after 64,000 steps of conjugate gradients minimization followed by an equilibration stage of 1ns. The simulations were carried out in the isobaric-isothermal ensemble, maintaining the pressure and the temperature at 1 atm and 300 K respectively by using Langevin dynamics and the Langevin piston approaches. The equations of motion were integrated with a 1fs time step. Long-range interactions were treated using the particle-mesh Ewald approach with an 11Å cut-off (switching distance 9Å) for the real space calculation. The calculation of forces and motion equations was repeated to generate the trajectories corresponding to the requested simulation times. A conformation of the whole molecular system was recorded every 10ps, generating for each 20ns runs a conformational sample of 1,000 frames which were analyzed using the VMD graphic software.²¹²

Bibliographie

1. Chapleur, Y. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 449.
2. Wilcox, C. S.; Long, G. W.; Suh, H. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 395.
3. a. Bourdon, B.; Corbet, M.; Fontaine, P.; Goekjian, P. G.; Gueyrard, D. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 747. b. Corbet, M.; Bourdon, B.; Gueyrard, D.; Goekjian, P. G. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 750.
4. a. Bandzouzi, A.; Chapleur, Y. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1987**, 661. b. Bandzouzi, A.; Chapleur, Y. *Carbohydr. Res.* **1987**, 171, 13.
5. a. Lakhrissi, M.; Chapleur, Y. *Synlett* **1991**, 583. b. Lakhrissi, M.; Chapleur, Y. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 5752.
6. Lakhrissi, Y.; Taillefumier, C.; Chrétien, F.; Chapleur, Y. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 7265.
7. Motherwell, W. B.; Tozer, M. J.; Ross, B. C. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 1437.
8. Lakhrissi, M.; Chapleur, Y. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 750.
9. RajanBabu, T. V.; Reddy, G. S. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 5458.
10. Csuk, R.; Glaenger, B. I. *Tetrahedron* **1991**, 47, 1655.
11. Johnson, C. R.; Johns, B. A. *Synlett* **1997**, 1406.
12. a. Habib, S.; Larnaud, F.; Pfund, E.; Lequeux, T.; Fenet, B.; Goekjian, P. G.; Gueyrard, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 1872. b. Habib, S.; Gueyrard, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 871.
13. Lichtenthaler, F. W.; Hahn, S.; Flath, F.-J. *Liebigs Ann.* **1995**, 2081.
14. Toth, M.; Somsak, L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 942.
15. a. Molas, P.; Matheu, M. I.; Castillon, S. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 3721. b. Lancelin, J. M.; Pougny, J. R.; Sinay, P. *Carbohydr. Res.* **1985**, 136, 369.
16. Gomez, A. M.; Danelon, G. O.; Pedregosa, A.; Valverde, S.; Lopez, J. C. *Chem. Commun.* **2002**, 2024.
17. a. Yang, W.-B.; Yang, Y.-Y.; Gu, Y.-F.; Wang, S.-H.; Chang, C.-C.; Lin, C.-H. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3773. b. Caravano, A.; Vincent, S. P.; Sinay, P. *Chem. Commun.* **2004**, 1216. c. Caravano, A.; Dohi, H.; Sinay, P.; Vincent, S. P. *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 3114.
18. Ousset J. B.; Mioskowski C.; Yang Y.-L.; Falck J. R. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 5903.
19. a. Griffin, F. K.; Murphy, P. V.; Paterson, D. E.; Taylor, R. J. K. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 8179. b. Belica P. S.; Franck R. W. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 8225. c. Paterson, D. E.; Griffin, F. K.; Alcaraz, M.-L.; Taylor, R. J. K. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 1323. d. Taylor R.

- J. K.; McAllister G. D.; Franck R. W. *Carbohydrate Research*, **2006**, *341*, 1298. e. Zhu, X. M.; Jin, Y.; Wickham, J. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 2670.
20. Yamanoi, T.; Nara, Y.; Matsuda, S.; Oda, Y.; Yoshida, A.; Katsuraya, K.; Watanabe, M. *Synlett* **2007**, 785.
21. a. Gomez, A. M.; Barrio, A.; Pedregosa, A.; Valverde, S.; Lopez, J. C. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 6323. b. Gomez, A. M.; Pedregosa, A.; Uriel, C.; Valverde, S.; Lopez, J. C. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 5619.
22. a. Novoa, A.; Pellegrini-Moïse, N.; Lamandé-Langle, S.; Chapleur, Y. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 6484. b. Thien, H.-T. T.; Novoa, A.; Pellegrini-Moise, N.; Chretien, F.; Didierjean, C.; Chapleur, Y. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 6939.
23. Alvarez, C.; Alvarez, R.; Corchete, P.; Perez-Melero, C.; Pelaez, R.; Medarde, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 588.
24. Alvarez, R.; Alvarez, C.; Mollinedo, F.; Sierra, B. G.; Medarde, M.; Pelaez, R. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6422.
25. Novoa, A.; Pellegrini-Moise, N.; Bourg, S.; Thoret, S.; Dubois, J.; Aubert, G.; Cresteil, T.; Chapleur, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 3570.
26. Taillefumier, C.; Chapleur, Y. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 263.
27. Lakhrissi, Y.; Taillefumier, C.; Lakhrissi, M.; Chapleur, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *9*, 417.
28. Novoa, A.; Pellegrini-Moise, N.; Bechet, D.; Barberi-Heyob, M.; Chapleur, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 3285.
29. Lakhrissi, M.; Carchon, G.; Schlama, T.; Mioskowski, C.; Chapleur, Y. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6453.
30. Lakhrissi, M.; Taillefumier, C.; Chaouch, A.; Didierjean, C.; Aubry, A.; Chapleur, Y. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6457.
31. Taillefumier, C.; Lakhrissi, M.; Chapleur, Y. *Synlett* **1999**, 697.
32. a. Taillefumier, C.; Enderlin, G.; Chapleur, Y. *Lett. Org. Chem.* **2005**, *2*, 226. b. Enderlin, G.; Taillefumier, C.; Didierjean, C.; Chapleur, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 2459.
33. Oukani, H.; Pellegrini-Moise, N.; Jackowski, O.; Chretien, F.; Chapleur, Y. *Carbohydr. Res.* **2013**, *381*, 205.
34. Taillefumier, C.; Lakhrissi, Y.; Lakhrissi, M.; Chapleur, Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 1707.

35. a. Suhara, Y.; Yamaguchi, Y.; Collins, B.; Schnaar, R. L.; Yanagishita, M.; Hildreth, J. E. K.; Shimada, I.; Ichikawa, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 1999. b. Gruner, S. A. W.; Locardi, E.; Lohof, E.; Kessler, H. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 491.
36. Chakraborty, T. K.; Srinivasu, P.; Tapadar, S.; Mohan, B. K. *Glycoconjugate J.* **2005**, *22*, 83.
37. Risseeuw, M. D. P.; Overhand, M.; Fleet, G. W. J.; Simone, M. I. *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 2001.
38. Ziegler, T.; Roseling, D.; Subramanian, L. R. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 911.
39. Andreini, M.; Taillefumier, C.; Chretien, F.; Thery, V.; Chapleur, Y. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 7651.
40. a. Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173. b. Cheng, R. P.; Gellman, S. H.; DeGrado, W. F. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3219. c. Martinek, T. A.; Fulop, F. *Chem Soc Rev* **2012**, *41*, 687.
41. Taillefumier, C.; Thielges, S.; Chapleur, Y. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2213.
42. Enderlin, G.; Taillefumier, C.; Didierjean, C.; Chapleur, Y. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8388.
43. Lakhrissi, M.; Chaouch, A.; Chapleur, Y. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1996**, *133*, 531.
44. Vala, C.; Chretien, F.; Balentova, E.; Lamande-Langle, S.; Chapleur, Y. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 17.
45. Lamande-Langle, S.; Collet, C.; Hensienne, R.; Vala, C.; Chretien, F.; Chapleur, Y.; Mohamadi, A.; Lacolley, P.; Regnault, V. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 6672.
46. a. Levy, D. E.; Tang, C.; *The Chemistry of C-Glycosides*, Elsevier Science: Amsterdam, **1995**. b. Levy, D. E.; Fuedgedi, P.; *Organic Chemistry of Sugars*; CRC Press, **2006**, 269. c. Skrydstrup, T.; Vauzeilles, B.; Beau, J.-M.; *Carbohydrate in Chemistry and Biology*; Wiley, **2000**; *1*, 495. d. Beau, J.-M.; Vauzeilles, B.; Skrydstrup, T.; *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology*, Vol III, Springer, **2001**; *3*, 2679.
47. a. Mangholz, S. E.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 2100. b. Praly, J. P.; El Kharraf, Z.; Descotes, G. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4441. c. Bluechel, C.; Ramana, C. V.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 2998.
48. Waldraff, C.; Bernet, B.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 1882.
49. Vasella, A.; Uhlmann, P.; Waldraff, C. A. A.; Diederich, F.; Thilgen, C. *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1383.
50. Nicotra, F.; Panza, L.; Russo, G. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 5627.

51. a. Araujo, A. C.; Nicotra, F.; Costa, B.; Giagnoni, G.; Cipolla, L. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1840. b. Araujo, A. C.; Nicotra, F.; Airoidi, C.; Costa, B.; Giagnoni, G.; Fumagalli, P.; Cipolla, L. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 635. c. Araujo, A. C.; Rauter, A. P.; Nicotra, F.; Airoidi, C.; Costa, B.; Cipolla, L. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 1266. d. Cipolla, L.; Forni, E.; Jeménez-Barbero, J.; Nicotra, F. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 3976. e. Cipolla, L.; Airoidi, C.; Bini, D.; Gregori, M.; Marcelo, F.; Jimenez-Barbero, J.; Nicotra, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 128.
52. Pal, A. P. J.; Mallick, A.; Reddy, Y. S.; Vankar, Y. D. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 6334.
53. Gomez, A. M.; Uriel, C.; Jarosz, S.; Valverde, S.; Lopez, J. C. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4830.
54. Schweizer, F.; Otter, A.; Hindsgaul, O. *Synlett* **2001**, 1743.
55. Gomez, A. M.; Casillas, M.; Valverde, S.; Lopez, J. C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 2175.
56. Chen, G.-R.; Praly, J.-P. *C. R. Chim.* **2008**, *11*, 19.
57. Brand, C.; Rauch, G.; Zanoni, M.; Dittrich, B.; Werz, D. B. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8779.
58. Woodward, H.; Smith, N.; Gallagher, T. *Synlett* **2010**, 869.
59. Dobbelaar, P. H.; Marzabadi, C. H. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 9273.
60. Perlmutter, P.; Pergamon Press: Oxford, U. K., **1992**.
61. a. Ballini, R.; Gabrielli, S.; Palmieri, A.; Petrini, M. *Curr. Org. Chem.* **2011**, *15*, 1482. b. Ballini, R.; Petrini, M. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 1017.
62. a. Tsogoeva, S. B. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 1701. b. Scheffler, U.; Mahrwald, R. *Chem. - Eur. J.* **2013**, *19*, 14346.
63. a. Jensen, K. L.; Poulsen, P. H.; Donslund, B. S.; Morana, F.; Jorgensen, K. A. *Org Lett* **2012**, *14*, 1516. b. Quintavalla, A.; Lanza, F.; Montroni, E.; Lombardo, M.; Trombini, C. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 12049. c. Liu, W.; Mei, D.; Wang, W.; Duan, W. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 3791. d. Wen, L.; Yin, L.; Shen, Q.; Lu, L. *ACS Catal.* **2013**, *3*, 502. e. Chiarucci, M.; Lombardo, M.; Trombini, C.; Quintavalla, A. *Adv. Synth. Catal.* **2012**, *354*, 364.
64. a. Wang, X.-F.; Peng, L.; An, J.; Li, C.; Yang, Q.-Q.; Lu, L.-Q.; Gu, F.-L.; Xiao, W.-J. *Chem. - Eur. J.* **2011**, *17*, 6484. b. Li, C.; Liu, F.-L.; Zou, Y.-Q.; Lu, L.-Q.; Chen, J.-R.; Xiao, W.-J. *Synthesis* **2013**, *45*, 601. c. Wang, X.-F.; An, J.; Zhang, X.-X.; Tan, F.; Chen, J.-R.; Xiao, W.-J. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 808. d. Wang, X.-F.; Hua, Q.-L.; Cheng, Y.; An, X.-L.; Yang, Q.-Q.; Chen, J.-R.; Xiao, W.-J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 8379.
65. Yang, W.; Yang, Y.; Du, D.-M. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 1190.

66. Jia, Z.-X.; Luo, Y.-C.; Cheng, X.-N.; Xu, P.-F.; Gu, Y.-C. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 6488.
67. Peng, J.; Du, D.-M. *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, *9*, 1210.
68. Ballini, R.; Barboni, L.; Fringuelli, F.; Palmieri, A.; Pizzo, F.; Vaccaro, L. *Green Chem.* **2007**, *9*, 823.
69. Gascon-Lopez, M.; Motevalli, M.; Paloumbis, G.; Bladon, P.; Wyatt, P. B. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 9349.
70. Bandzouzi, A.; Lakhrissi, M.; Chapleur, Y. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 1471.
71. McLeod, M. C.; Wilson, Z. E.; Brimble, M. A. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 400.
72. Srikrishna, A.; Gowri, V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 1553.
73. Hoyle, C. E.; Lowe, A. B.; Bowman, C. N. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1355.
74. a. Pachamuthu, K.; Schmidt, R. R. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 160. b. Uhrig, M. L.; Manzano, V. E.; Varela, O. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 162.
75. Nair, D. P.; Podgorski, M.; Chatani, S.; Gong, T.; Xi, W.; Fenoli, C. R.; Bowman, C. N. *Chem. Mater.* **2014**, *26*, 724.
76. Bernardes, G. J. L.; Chalker, J. M.; Errey, J. C.; Davis, B. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5052.
77. a. Witczak, Z. J.; Lorchak, D.; Nguyen, N. *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 1929. b. Witczak, Z. J.; Chhabra, R.; Chen, H.; Xie, X.-Q. *Carbohydr. Res.* **1997**, *301*, 167.
78. Ikeda, H.; Kaneko, E.; Okuzawa, S.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 8832.
79. Mukherjee, C.; Misra, A. K. *J. Carbohydr. Chem.* **2007**, *26*, 213.
80. a. Dondoni, A.; Marra, A. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 573. b. Dondoni, A.; Massi, A.; Nanni, P.; Roda, A. *Chem. - Eur. J.* **2009**, *15*, 11444. c. Ghirardello, M.; Oeberg, K.; Staderini, S.; Renaudet, O.; Berthet, N.; Dumy, P.; Hed, Y.; Marra, A.; Malkoch, M.; Dondoni, A. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2014**, *52*, 2422.
81. Gingras, M.; Chabre, Y. M.; Roy, M.; Roy, R. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4823.
82. Triola, G.; Brunsveld, L.; Waldmann, H. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3646.
83. a. Lazar, L.; Csavas, M.; Herczeg, M.; Herczegh, P.; Borbas, A. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4650. b. Lazar, L.; Csavas, M.; Hadhazi, A.; Herczeg, M.; Toth, M.; Laszlo, S.; Barna, T.; Herczegh, P.; Borbas, A. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 5339.
84. Staderini, S.; Chambery, A.; Marra, A.; Dondoni, A. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 702.

85. Gervay, J.; Flaherty, T. M.; Holmes, D. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 16355.
86. Fiore, M.; Marra, A.; Dondoni, A. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 4422.
87. Rosenker, C. J.; Krenske, E. H.; Houk, K. N.; Wipf, P. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 1076.
88. Aversa, M. C.; Bonaccorsi, P.; Faggi, C.; Lamanna, G.; Menichetti, S. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 11902.
89. Moormann, A. E.; Metz, S.; Toth, M. V.; Moore, W. M.; Jerome, G.; Kornmeier, C.; Manning, P.; Hansen, D. W.; Pitzele, B. S.; Webber, R. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2651.
90. Sendoda, Y.; Ono, Y. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* **1980**, *76*, 435.
91. a. Biermann, U.; Butte, W.; Koch, R.; Fokou, P. A.; Tueruenc, O.; Meier, M. A. R.; Metzger, J. O. *Chem. - Eur. J.* **2012**, *18*, 8201. b. Chatgililoglu, C.; Ferreri, C.; Melchiorre, M.; Sansone, A.; Torreggiani, A. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 255.
92. Molina, A.; Czernecki, S.; Xie, J. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7507.
93. Xie, J.; Molina, A.; Czernecki, S. *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, *18*, 481.
94. Kieburg, C.; Dubber, M.; Lindhorst, T. K. *Synlett* **1997**, 1447.
95. Popsavin, V.; Grabez, S.; Popsavin, M.; Krstic, I.; Kojic, V.; Bogdanovic, G.; Divjakovic, V. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 9409.
96. Horne, W. S.; Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1399.
97. Seebach, D.; Kimmerlin, T.; Sebesta, R.; Campo, M. A.; Beck, A. K. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7455.
98. Hill, D. J.; Mio, M. J.; Prince, R. B.; Hughes, T. S.; Moore, J. S. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893.
99. Dado, G. P.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1054.
100. Seebach, D.; Abele, S.; Sifferlen, T.; Haenggi, M.; Gruner, S.; Seiler, P. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 2218.
101. Hanessian, S.; Luo, X.; Schaum, R.; Michnick, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8569.
102. Hintermann, T.; Gademann, K.; Jaun, B.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 983.
103. a. Guichard, G.; Huc, I. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 5933. b. Seebach, D.; Hook, D. F.; Glattli, A. *Biopolymers* **2006**, *84*, 23. c. Seebach, D.; Beck, A. K.; Bierbaum, D. J. *Chem. Biodiversity* **2004**, *1*, 1111. d. Seebach, D.; Brenner, M.; Rueping, M.; Jaun, B. *Chem. - Eur. J.* **2002**, *8*, 573. e. Seebach, D.; Brenner, M.; Rueping, M.; Schweizer, B.; Jaun, B. *Chem. Commun.* **2001**, 207.

104. a. Bouillere, F.; Thetiot-Laurent, S.; Kouklovsky, C.; Alezra, V. *Amino Acids* **2011**, *41*, 687. b. Woll, M. G.; Lai, J. R.; Guzei, I. A.; Taylor, S. J. C.; Smith, M. E. B.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11077. c. Jones, C. R.; Qureshi, M. K. N.; Truscott, F. R.; Hsu, S.-T. D.; Morrison, A. J.; Smith, M. D. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 7099. d. Mathieu, L.; Legrand, B.; Deng, C.; Vezenkov, L.; Wenger, E.; Didierjean, C.; Amblard, M.; Averlant-Petit, M.-C.; Masurier, N.; Lisowski, V.; Martinez, J.; Maillard, L. T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, *52*, 6006.
105. Guo, L.; Zhang, W.; Guzei, I. A.; Spencer, L. C.; Gellman, S. H. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 4413.
106. Giuliano, M. W.; Maynard, S. J.; Almeida, A. M.; Reidenbach, A. G.; Guo, L.; Ulrich, E. C.; Guzei, I. A.; Gellman, S. H. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 12351.
107. a. Aravinda, S.; Ananda, K.; Shamala, N.; Balaram, P. *Chem. - Eur. J.* **2003**, *9*, 4789. b. Vasudev, P. G.; Chatterjee, S.; Shamala, N.; Balaram, P. *Accounts of Chemical Research* **2009**, *42*, 1628. c. Balaram, P. *Biopolymers* **2010**, *94*, 733. d. Vasudev, P. G.; Ananda, K.; Chatterjee, S.; Aravinda, S.; Shamala, N.; Balaram, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4039.
108. Sills, G. J. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2006**, *6*, 108.
109. Vasudev, P. G.; Shamala, N.; Ananda, K.; Balaram, P. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 4972.
110. Vasudev, P. G.; Chatterjee, S.; Ananda, K.; Shamala, N.; Balaram, P. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 6430.
111. Chatterjee, S.; Vasudev, P. G.; Raghothama, S.; Ramakrishnan, C.; Shamala, N.; Balaram, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5956.
112. Xiong, H.; Buckwalter, B. L.; Shieh, H.-M.; Hecht, M. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1995**, *92*, 6349.
113. a. Sharma, G. V. M.; Rajender, K.; Sridhar, G.; Reddy, P. S.; Kanakaraju, M. *Carbohydr. Res.* **2014**, *388*, 8. b. Sharma, G. V. M.; Sridhar, T.; Reddy, P. P.; Kunwar, A. C. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 3543. c. Sharma, G. V. M.; Reddy, N. Y.; Ravi, R.; Sreenivas, B.; Sridhar, G.; Chatterjee, D.; Kunwar, A. C.; Hofmann, H.-J. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 9191. d. Sharma, G. V. M.; Reddy, P. S.; Chatterjee, D.; Kunwar, A. C. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 4390. e. Sharma, G. V. M.; Yadav, T. A.; Choudhary, M.; Kunwar, A. C. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 6834. f. Sharma, G. V. M.; Reddy, P. S.; Chatterjee, D.; Kunwar, A. C. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 1562. g. Sharma, G. V. M.; Manohar, V.; Dutta, S. K.; Subash, V.; Kunwar, A. C. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3689. h. Sharma, G. V. M.; Subash, V.; Narsimulu, K.; Sankar, A. R.; Kunwar, A. C. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*, 8207. i. Sharma, G. V. M.; Nagendar, P.; Jayaprakash, P.; Krishna, P. R.; Ramakrishna, K. V. S.; Kunwar, A. C. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 5878.

114. Andreini, M.; Taillefumier, C.; Fernet, B.; Chapleur, Y. *Lett. Org. Chem.* **2008**, *5*, 360.
115. a. Sharma, G. V. M.; Jadhav, V. B.; Ramakrishna, K. V. S.; Jayaprakash, P.; Narsimulu, K.; Subash, V.; Kunwar, A. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14657. b. Sharma, G. V. M.; Chandramouli, N.; Choudhary, M.; Nagendar, P.; Ramakrishna, K. V. S.; Kunwar, A. C.; Schramm, P.; Hofmann, H.-J. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17335. c. Sharma, G. V. M.; Babu, B. S.; Ramakrishna, K. V. S.; Nagendar, P.; Kunwar, A. C.; Schramm, P.; Baldauf, C.; Hofmann, H.-J. *Chem. - Eur. J.* **2009**, *15*, 5552.
116. Edwards, A. A.; Ichihara, O.; Murfin, S.; Wilkes, R.; Whittaker, M.; Watkin, D. J.; Fleet, G. W. J. *J. Comb. Chem.* **2004**, *6*, 230.
117. a. Long, D. D.; Smith, M. D.; Marquess, D. G.; Claridge, T. D. W.; Fleet, G. W. J. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 9293. b. Simone, M. I.; Soengas, R.; Newton, C. R.; Watkin, D. J.; Fleet, G. W. J. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5761. c. Claridge, T. D. W.; Long, D. D.; Baker, C. M.; Odell, B.; Grant, G. H.; Edwards, A. A.; Tranter, G. E.; Fleet, G. W. J.; Smith, M. D. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2082. d. Jockusch, R. A.; Talbot, F. O.; Rogers, P. S.; Simone, M. I.; Fleet, G. W. J.; Simons, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16771. e. Watterson, M. P.; Edwards, A. A.; Leach, J. A.; Smith, M. D.; Ichihara, O.; Fleet, G. W. J. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 5853.
118. Spingler, B.; Schnidrig, S.; Todorova, T.; Wild, F. *CrystEngComm* **2012**, *14*, 751.
119. Payne, R. J.; Wong, C.-H. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 21.
120. Baldini, L.; Casnati, A.; Sansone, F.; Ungaro, R. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 254.
121. Ponader, D.; Wojcik, F.; Beceren-Braun, F.; Dervede, J.; Hartmann, L. *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 1845.
122. Mintzer, M. A.; Dane, E. L.; O'Toole, G. A.; Grinstaff, M. W. *Mol. Pharmaceutics* **2012**, *9*, 342.
123. Gomez-Garcia, M.; Benito, J. M.; Butera, A. P.; Mellet, C. O.; Fernandez, J. M. G.; Blanco, J. L. J. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 1273.
124. Cecioni, S.; Oerthel, V.; Iehl, J.; Holler, M.; Goyard, D.; Praly, J.-P.; Imberty, A.; Nierengarten, J.-F.; Vidal, S. *Chem. - Eur. J.* **2011**, *17*, 3252.
125. Wang, X.; Matei, E.; Deng, L.; Ramstroem, O.; Gronenborn, A. M.; Yan, M. *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)* **2011**, *47*, 8620.
126. Yang, Y.; Yu, M.; Yan, T.-T.; Zhao, Z.-H.; Sha, Y.-L.; Li, Z.-J. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 5234.

-
127. Sewald, N.; Jakubke H.-D.; *Peptides: Chemistry and Biology, Second Edition*, Wiley, **2009**.
128. Gauze, G. F.; Brazhnikova, M. G. *Am. Rev. Soviet Med.* **1944**, *2*, 134.
129. Wright, W. W.; Welch, H. *Antibiot. Annu.* **1960**, 61.
130. Wagner, H.; Hardt, C.; Heeg, K. *Internist (Berl)* **1985**, *26*, 530.
131. Bauer, W.; Briner, U.; Doepfner, W.; Haller, R.; Huguenin, R.; Marbach, P.; Petcher, T. J.; Pless, J. *Life Sci.* **1982**, *31*, 1133.
132. White, C. J.; Yudin, A. K. *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 509.
133. Haubner, R.; Schmitt, W.; Holzemann, G.; Goodman, S. L.; Jonczyk, A.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7881.
134. Jimenez Blanco, J. L.; Ortiz Mellet, C.; Garcia Fernandez, J. M. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4518.
135. Lee, Y. C.; Lee, R. T. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 321.
136. Dumy, P.; Eggleston, I. M.; Cervigni, S.; Sila, U.; Sun, X.; Mutter, M. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1255.
137. Galibert, M.; Renaudet, O.; Dumy, P.; Boturyn, D. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 1901.
138. a. Krauss, I. J.; Joyce, J. G.; Finnefrock, A. C.; Song, H. C.; Dudkin, V. Y.; Geng, X.; Warren, J. D.; Chastain, M.; Shiver, J. W.; Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11042. b. Galan, M. C.; Dumy, P.; Renaudet, O. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4599.
139. Ohta, T.; Miura, N.; Funitani, N.; Nakajima, F.; Niikura, K.; Sadamoto, R.; Guo, C.-T.; Suzuki, T.; Suzuki, Y.; Monde, K.; Nishimura, S.-I. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 5186.
140. Pujol, A. M.; Cuillel, M.; Renaudet, O.; Lebrun, C.; Charbonnier, P.; Cassio, D.; Gateau, C.; Dumy, P.; Mintz, E.; Delangle, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 286.
141. Thèse Alexandre Novoa, **2010**.
142. Ferrara, N. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* **2001**, *280*, 1358.
143. Biselli-Chicote, P. M.; Oliveira, A. R. C. P.; Pavarino, E. C.; Goloni-Bertollo, E. M. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **2012**, *138*, 363.
144. a. Carmeliet, P. *Nat. Med.* **2003**, *9*, 653. b. Risau, W. *Nature* **1997**, *386*, 671.
145. Walsh, D. A.; McWilliams, D. F.; Turley, M. J.; Dixon, M. R.; Franses, R. E.; Mapp, P. I.; Wilson, D. *Rheumatology* **2010**, *49*, 1852.
146. Miller, J. W.; Le, C. J.; Strauss, E. C.; Ferrara, N. *Ophthalmology* **2013**, *120*, 106.

147. Folkman, J. *J. Natl. Cancer Inst.* **1990**, *82*, 4.
148. Fujisawa, H.; Kitsukawa, T. *Curr. Opin. Neurobiol.* **1998**, *8*, 587.
149. Guttmann-Raviv, N.; Kessler, O.; Shraga-Heled, N.; Lange, T.; Herzog, Y.; Neufeld, G. *Cancer Lett.* **2006**, *231*, 1.
150. Chaudhary, B.; Khaled, Y. S.; Ammori, B. J.; Elkord, E. *Cancer Immunol Immunother* **2014**, *63*, 81.
151. Zachary, I. C.; Frankel, P.; Evans, I. M.; Pellet-many, C. *Biochem. Soc. Trans.* **2009**, *37*, 1171.
152. Kawasaki, T.; Kitsukawa, T.; Bekku, Y.; Matsuda, Y.; Sanbo, M.; Yaqi, T.; Fujisawa, H. *Development* **1999**, *126*, 4895.
153. Klagsbrun, M.; Takashima, S.; Mamluk, R. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2002**, *515*, 33.
154. a. Miao H Q; Lee P; Lin H; Soker S; Klagsbrun M *FASEB J.* **2000**, *14*, 2532. b. Neufeld, G.; Cohen, T.; Shraga, N.; Lange, T.; Kessler, O.; Herzog, Y. *Trends in Cardiovascular Medicine* **2002**, *12*, 13.
155. Parikh, A. A.; Fan, F.; Liu, W. B.; Ahmad, S. A.; Stoeltzing, O.; Reinmuth, N.; Bielenberg, D.; Bucana, C. D.; Klagsbrun, M.; Ellis, L. M. *Am. J. Pathol.* **2004**, *164*, 2139.
156. Latil, A.; Bieche, I.; Pesche, S.; Valeri, A.; Fournier, G.; Cussenot, O.; Lidereau, R. *Int. J. Cancer* **2000**, *89*, 167.
157. Lantuejoul, S.; Constantin, B.; Drabkin, H.; Brambilla, C.; Roche, J.; Brambilla, E. *J. Pathol.* **2003**, *200*, 336.
158. Stephenson, J. M.; Banerjee, S.; Saxena, N. K.; Cherian, R.; Banerjee, S. K. *Int. J. Cancer* **2002**, *101*, 409.
159. a. Broholm, H.; Laursen, H. *APMIS* **2004**, *112*, 257. b. Ding, H.; Wu, X.; Roncari, L.; Shannon, P.; Nagy, A.; Guha, A. *Int. J. Cancer* **2000**, *88*, 584.
160. Karjalainen, K.; Jaalouk, D. E.; Bueso-Ramos, C. E.; Zurita, A. J.; Kuniyasu, A.; Eckhardt, B. L.; Marini, F. C.; Lichtiger, B.; O'Brien, S.; Kantarjian, H. M.; Cortes, J. E.; Koivunen, E.; Arap, W.; Pasqualini, R. *Blood* **2011**, *117*, 920.
161. a. Binetruy-Tournaire, R.; Demangel, C.; Malavaud, B.; Vassy, R.; Rouyre, S.; Kraemer, M.; Plouet, J.; Derbin, C.; Perret, G.; Mazie, J. C. *EMBO J.* **2000**, *19*, 1525. b. Perret, G. Y.; Starzec, A.; Hauet, N.; Vergote, J.; Le Pecheur, M.; Vassy, R.; Leger, G.; Verbeke, K. A.; Bormans, G.; Nicolas, P.; Verbruggen, A. M.; Moretti, J.-L. *Nuc. Med. Biol.* **2004**, *31*, 575.
162. Starzec, A.; Ladam, P.; Vassy, R.; Badache, S.; Bouchemal, N.; Navaza, A.; du Penhoat, C. H.; Perret, G. Y. *Peptides* **2007**, *28*, 2397.

163. Giordano, R. J.; Anobom, C. D.; Cardo-Vila, M.; Kalil, J.; Valente, A. P.; Pasqualini, R.; Almeida, F. C. L.; Arap, W. *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 1075.
164. Giordano, R. J.; Cardo-Vila, M.; Salameh, A.; Anobom, C. D.; Zeitlin, B. D.; Hawke, D. H.; Valente, A. P.; Almeida, F. C. L.; Nor, J. E.; Sidman, R. L.; Pasqualini, R.; Arap, W. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, *107*, 5112.
165. Barr, M. P.; Byrne, A. M.; Duffy, A. M.; Condrón, C. M.; Devocelle, M.; Harriott, P.; Bouchier-Hayes, D. J.; Harmey, J. H. *Br. J. Cancer* **2005**, *92*, 328.
166. Jia, H.; Bagherzadeh, A.; Hartzoulakis, B.; Jarvis, A.; Loehr, M.; Shaikh, S.; Aqil, R.; Cheng, L.; Tickner, M.; Esposito, D.; Harris, R.; Driscoll, P. C.; Selwood, D. L.; Zachary, I. C. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 13493.
167. von Wronski, M. A.; Raju, N.; Pillai, R.; Bogdan, N. J.; Marinelli, E. R.; Nanjappan, P.; Ramalingam, K.; Arunachalam, T.; Eaton, S.; Linder, K. E.; Yan, F.; Pochon, S.; Tweedle, M. F.; Nunn, A. D. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 5702.
168. Vander Kooi, C. W.; Jusino, M. A.; Perman, B.; Neau, D. B.; Bellamy, H. D.; Leahy, D. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2007**, *104*, 6152.
169. Teesalu, T.; Sugahara, K. N.; Kotamraju, V. R.; Erkki, R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2009**, *106*, 16157.
170. Teesalu, T.; Sugahara, K. N.; Ruoslahti, E. *Front Oncol* **2013**, *3*, 216.
171. a. Haspel, N.; Zanuy, D.; Nussinov, R.; Teesalu, T.; Ruoslahti, E.; Aleman, C. *Biochemistry* **2011**, *50*, 1755. b. Zanuy, D.; Kotla, R.; Nussinov, R.; Teesalu, T.; Sugahara, K. N.; Aleman, C.; Haspel, N. *J. Struct. Biol.* **2013**, *182*, 78.
172. Getz, J. A.; Cheneval, O.; Craik, D. J.; Daugherty, P. S. *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 1147.
173. Liu, W.-Q.; Borriello, L.; Allain, B.; Pavoni, S.; Lopez, N.; Hermine, O.; Garbay, C.; Raynaud, F.; Lepelletier, Y.; Demange, L. *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2015**, *21*, 117.
174. Hruby, V. J.; Al-Obeidi, F.; Kazmierski, W. *Biochem. J.* **1990**, *268*, 249.
175. Jarvis, A.; Allerston, C. K.; Jia, H.; Herzog, B.; Garza-Garcia, A.; Winfield, N.; Ellard, K.; Aqil, R.; Lynch, R.; Chapman, C.; Hartzoulakis, B.; Nally, J.; Stewart, M.; Cheng, L.; Menon, M.; Tickner, M.; Djordjevic, S.; Driscoll, P. C.; Zachary, I.; Selwood, D. L. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2215.
176. Crawshaw, M. J.; Fallon, P. S.; Jarvis, A. N.; Powell, J. R.; Winfield, N. L.; Selwood, D.; Zachary, I. C.; Jia, H., Patent number: WO2011024001 A1, **2011**.
177. Hirschmann, R.; Nicolaou, K. C.; Pietranico, S.; Salvino, J.; Leahy, E. M.; Sprengeler, P. A.; Furst, G.; Strader, C. D.; Smith, A. B., I. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9217.

178. a. Minoux, H.; Moitessier, N.; Chapleur, Y.; Maigret, B. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1998**, *12*, 533. b. Moitessier, N.; Dufour, S.; Chretien, F.; Thiery, J. P.; Maigret, B.; Chapleur, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 511.
179. Borriello, L.; Montes, M.; Lepelletier, Y.; Leforban, B.; Liu, W.-Q.; Demange, L.; Delhomme, B.; Pavoni, S.; Jarray, R.; Boucher, J. L.; Dufour, S.; Hermine, O.; Garbay, C.; Hadj-Slimane, R.; Raynaud, F. *Cancer Lett.* **2014**, *349*, 120.
180. Liu, W.-Q.; Megale, V.; Borriello, L.; Leforban, B.; Montes, M.; Goldwaser, E.; Gresh, N.; Piquemal, J.-P.; Hadj-Slimane, R.; Hermine, O.; Garbay, C.; Raynaud, F.; Lepelletier, Y.; Demange, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 4254.
181. Goldwaser, E.; de Courcy, B.; Demange, L.; Garbay, C.; Raynaud, F.; Hadj-Slimane, R.; Piquemal, J.-P.; Gresh, N. *J. Mol. Model.* **2014**, *20*, 1.
182. Starzec, A.; Miteva, M. A.; Ladam, P.; Villoutreix, B. O.; Perret, G. Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 4042.
183. Xin, Y.; Li, J.; Wu, J.; Kinard, R.; Weekes, C. D.; Patnaik, A.; LoRusso, P.; Brachmann, R.; Tong, R. K.; Yan, Y.; Watts, R.; Bai, S.; Hegde, P. S. *Clin. Cancer Res.* **2012**, *18*, 6040.
184. Liang, W.-C.; Dennis, M. S.; Stawicki, S.; Chanthery, Y.; Pan, Q.; Chen, Y.; Eigenbrot, C.; Yin, J.; Koch, A. W.; Wu, X.; Ferrara, N.; Bagri, A.; Tessier-Lavigne, M.; Watts, R. J.; Wu, Y. *J. Mol. Biol.* **2007**, *366*, 815.
185. a. Pan, Q.; Chanthery, Y.; Liang, W.-C.; Stawicki, S.; Mak, J.; Rathore, N.; Tong, R. K.; Kowalski, J.; Yee, S. F.; Pacheco, G.; Ross, S.; Cheng, Z.; Le Couter, J.; Plowman, G.; Peale, F.; Koch, A. W.; Wu, Y.; Bagri, A.; Tessier-Lavigne, M.; Watts, R. J. *Cancer Cell* **2007**, *11*, 53. b. Xin, Y.; Bai, S.; Damico-Beyer, L. A.; Jin, D.; Liang, W.-C.; Wu, Y.; Theil, F.-P.; Joshi, A.; Lu, Y.; Lowe, J.; Maia, M.; Brachmann, R. K.; Xiang, H. *Pharm. Res.* **2012**, *29*, 2512.
186. Roth, L.; Agemy, L.; Kotamraju, V. R.; Braun, G.; Teesalu, T.; Sugahara, K. N.; Hamzah, J.; Ruoslahti, E. *Oncogene* **2012**, *31*, 3754.
187. Kumar, A.; Ma, H.; Zhang, X.; Huang, K.; Jin, S.; Liu, J.; Wei, T.; Cao, W.; Zou, G.; Liang, X.-J. *Biomaterials* **2012**, *33*, 1180.
188. Zhang, H.; Tam, S.; Ingham, E. S.; Mahakian, L. M.; Lai, C.-Y.; Tumbale, S. K.; Teesalu, T.; Hubbard, N. E.; Borowsky, A. D.; Ferrara, K. W. *Biomaterials* **2015**, *56*, 104.
189. Tirand, L.; Thomas, N.; Dodeller, M.; Dumas, D.; Frochot, C.; Maunit, B.; Guillemin, F.; Barberi-Heyob, M. *Drug Metab. Dispos.* **2007**, *35*, 806.

190. Thomas, N.; Pernot, M.; Vanderesse, R.; Becuwe, P.; Kamarulzaman, E.; Da, S. D.; Francois, A.; Frochot, C.; Guillemin, F.; Barberi-Heyob, M. *Biochem. Pharmacol.* **2010**, *80*, 226.
191. Benachour, H.; Seve, A.; Bastogne, T.; Frochot, C.; Vanderesse, R.; Jasniewski, J.; Miladi, I.; Billotey, C.; Tillement, O.; Lux, F.; Barberi-Heyob, M. *Theranostics* **2012**, *2*, 889.
192. Meldal, M.; Tornøe, C. W. *Chem Rev* **2008**, *108*, 2952.
193. Kun, S.; Nagy, G. Z.; Toth, M.; Czece, L.; Nhien, A. N. V.; Docsa, T.; Gergely, P.; Charavgi, M.-D.; Skourti, P. V.; Chrysina, E. D.; Patonay, T.; Somsak, L. *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 1427.
194. Thèse de Gérald Enderlin, **2008**.
195. Dondoni, A.; Franco, S.; Junquera, F.; Merchan, F.; Merino, P.; Tejero, T. *Synth. Commun.* **1994**, *24*, 2537.
196. a. Coşkun N., Tat F. T., Güven Ö. Ö., *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 3413; b. Coşkun N., Mert H., Arikan N., *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 1351.
197. a. Yang Q., Jiang Y., Kuang C. *Helv. Chim. Act.*, **2012**, *95*, 448; b. Liao S.-Y., Gu W., Yang L.-Y., Li T.-H., Tian J.-L., Wang L., Zhang M., Liu X. *Cryst. Growth Des.* **2012**, *12*, 3927
198. Feichtinger, K.; Zapf, C.; Sings, H. L.; Goodman, M. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3804.
199. Zidar, N.; Tomasic, T.; Sink, R.; Kovac, A.; Patin, D.; Blanot, D.; Contreras-Martel, C.; Dessen, A.; Premru, M. M.; Zega, A.; Gobec, S.; Masic, L. P.; Kikelj, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5512.
200. Snoeks, T. J. A.; Loewik, C. W. G. M.; Kaijzel, E. L. *Angiogenesis* **2010**, *13*, 135.
201. Chapleur, Y.; Vala, C.; Chrétien, F.; Lamandé-Langle, S. *Click Chemistry in Glycoscience: New Developments and strategies*, Wiley, **2013**, 183.
202. Chou, T. C.; Talalay, P. *Adv. Enzyme Regul.* **1984**, *22*, 27.
203. Zachary, I. C. *Biochem Soc Trans* **2011**, *39*, 1583.
204. McCubrey, J. A.; Steelman, L. S.; Abrams, S. L.; Lee, J. T.; Chang, F.; Bertrand, F. E.; Navolanic, P. M.; Terrian, D. M.; Franklin, R. A.; D'Assoro, A. B.; Salisbury, J. L.; Mazzarino, M. C.; Stivala, F.; Libra, M. *Advan. Enzyme Regul.* **2006**, *46*, 249.
205. a. Ellison, D. W.; Clifford, S. C.; Gajjar, A.; Gilbertson, R. J. *Eur J Paediatr Neurol* **2003**, *7*, 53. b. Fouladi, M.; Gilger, E.; Kocak, M.; Wallace, D.; Buchanan, G.; Reeves, C.; Robbins, N.; Merchant, T.; Kun, L. E.; Khan, R.; Gajjar, A.; Mulhern, R. *J Clin Oncol* **2005**, *23*, 7152.

206. Beck, B.; Driessens, G.; Goossens, S.; Youssef, K. K.; Kuchnio, A.; Caauwe, A.; Sotiropoulou, P. A.; Loges, S.; Lapouge, G.; Candi, A.; Mascré, G.; Drogat, B.; Dekoninck, S.; Haigh, J. J.; Carmeliet, P.; Blanpain, C. *Nature* **2011**, *478*, 399.
207. Snuderl, M.; Batista, A.; Kirkpatrick, N. D.; Ruiz de Almodovar, C.; Riedemann, L.; Walsh, E. C.; Anolik, R.; Huang, Y.; Martin, J. D.; Kamoun, W.; Knevels, E.; Schmidt, T.; Farrar, C. T.; Vakoc, B. J.; Mohan, N.; Chung, E.; Roberge, S.; Peterson, T.; Bais, C.; Zhelyazkova, B. H.; Yip, S.; Hasselblatt, M.; Rossig, C.; Niemeyer, E.; Ferrara, N.; Klagsbrun, M.; Duda, D. G.; Fukumura, D. *Cell* **2013**, *152*, 1065.
208. Tirand, L.; Frochot, C.; Vanderesse, R.; Thomas, N.; Trinquet, E.; Pinel, S.; Viriot, M.-L.; Guillemin, F.; Barberi-Heyob, M. *J. Controlled Release* **2006**, *111*, 153.
209. Jaffe, E. A.; Nachman, R. L.; Becker, C. G.; Minick, C. R. *J Clin Invest* **1973**, *52*, 2745.
210. Mriouah, J.; Boura, C.; Pinel, S.; Chretien, A.-S.; Fifre, A.; Merlin, J.-L.; Faivre, B. *Int. J. Oncol.* **2010**, *37*, 1555.
211. Phillips, J. C.; Braun, R.; Wang, W.; Gumbart, J.; Tajkhorshid, E.; Villa, E.; Chipot, C.; Skeel, R. D.; Kale, L.; Schulten, K. *J. Comput. Chem.* **2005**, *26*, 1781.
212. Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. *J. Mol. Graphics* **1996**, *14*, 33.

ABSTRACT

This work is focused on the development of new synthetic pathways for *exo*-glycals functionalization and synthesis of bioactive compounds. The first part of this manuscript describes the efficient preparation of new tertiary *S*-glycosides and γ -glycoamino acids *via* Michael addition of thiols derivatives and carbanions on anomeric carbon of *exo*-glycals. The obtained γ -glycoamino acids were then incorporated in α/γ mixed peptides and their structural properties were studied by NMR, IR, CD and molecular modelling studies. Furthermore, cyclic multivalent platforms were built by intramolecular cyclization of these entities. The second part of the manuscript concerns the elaboration of peptidomimetics targeting neuropilin-1 receptor, implicated in tumor angiogenesis. Based on molecular modeling studies, some compounds showed interesting binding affinity for NRP-1 receptor and one of them displayed promising properties toward inhibition of tubule formation.

Keywords: *exo*-glycals, *C*-glycosides, Michael addition, oligomers, peptidomimetics, NRP-1.

RESUME

Ces travaux s'articulent autour de dérivés saccharidiques de type *exo*-glycals ou *C*-glycosides pour lesquels de nouvelles méthodologies synthétiques ainsi que des applications dans le domaine de la biologie ont été développées. Dans un premier temps, l'addition de nucléophiles soufrés et carbonés sur le carbone anomérique de différents *exo*-glycals activés a été réalisée, permettant un accès efficace à de nouveaux *S*-glycosides tertiaires ainsi qu'à des γ -glycoamino acides anomériques. Ces derniers ont été utilisés pour l'élaboration de peptides linéaires mixtes α/γ dont les propriétés de structuration ont ensuite été étudiées par RMN, IR, CD et modélisation moléculaire. De nouvelles plates-formes glycopeptidiques multifonctionnelles ont été préparées par cyclisation de ces peptides. Dans un second temps, le développement de peptidomimétiques ciblant le récepteur neuropiline-1, impliqué dans l'angiogenèse tumorale, a été entrepris. En s'appuyant sur des études de modélisation moléculaire, certains composés ont montré une bonne affinité pour le récepteur NRP-1 et l'un des composés a montré des propriétés prometteuses pour l'inhibition de la formation de tubules.

Mots-clefs : *exo*-glycals, *C*-glycosides, addition de Michael, oligomères, peptidomimétiques, NRP-1.