UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

UMR 7509

THÈSE

présentée par

Mathieu LEPAGE

soutenue le : **31 octobre 2014**

pour obtenir le grade de

Docteur de l'université de Strasbourg

Discipline / Spécialité : Chimie

Conception et Synthèse de Nouvelles Classes d'Iminosucres d'Intérêt Biologique :

Ingénierie Click pour des Systèmes Multivalents

THÈSE dirigée par :

M. COMPAIN Philippe	Professeur, Université de Strasbourg

THÈSE encadrée par :

Mme. BODLENNER Anne	Maître de Conférences, Université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

M. TARAN Frédéric	Directeur de Recherche, CEA Saclay
M. VINCENT Stéphane	Professeur, Université de Namur

MEMBRES DU JURY :

M. PALE Patrick	Professeur, Université de Strasbourg
M. TARAN Frédéric	Directeur de Recherche, CEA Saclay
M. VINCENT Stéphane	Professeur, Université de Namur
M. COMPAIN Philippe	Professeur, Université de Strasbourg

« Hâtez-vous lentement ; et, sans perdre courage,
Vingt fois sur le métier, remettez votre ouvrage :
Polissez-le sans cesse et le repolissez ;
Ajoutez quelquefois, et souvent effacez. »

Nicolas Boileau

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier le Pr Patrick Pale, le Dr Frédéric Taran et le Pr Stéphane Vincent, pour avoir accepté de lire et d'évaluer cet ouvrage.

Une part importante de mon travail de thèse a été menée sur des composés multivalents basés sur des cyclopeptoïdes préparés par le groupe du Pr Irene Izzo et du Dr Francesco de Riccardis, de l'Université de Salerno, Italie. J'ai eu le plaisir de rencontrer Alessandra Meli, la doctorante en charge du projet, de lui faire visiter Strasbourg et de m'en faire une amie. J'adresse à toute cette équipe mes plus sincères remerciements et j'espère pouvoir sous peu honorer leur invitation par une visite dans le sud de l'Italie !

Une grande partie des résultats biologiques décrits dans cet ouvrage n'auraient jamais vu le jour sans une fructueuse collaboration avec l'équipe du Pr Céline Tarnus, de l'Université de Haute-Alsace à Mulhouse. Les abondants conseils et explications de Céline ont été fort instructifs pour le novice que j'étais dans l'inhibition d'enzymes. Avec elle, je remercie chaleureusement le Dr Marjorie Schmitt, qui a réalisé en un temps record les tests cinétiques sur les clusters de hautes valences.

Je remercie par ailleurs le groupe du Pr Frédéric Becq et du Dr Caroline Norez, pour l'évaluation de nos composés divalents comme correcteurs moléculaires pour la mucoviscidose.

Je remercie vivement le Dr Michel Schmitt pour le temps qu'il m'a accordé tout au long de ces trois ans, mes demandes répétées de ^{13}C longs, et pour m'avoir laissé passer mes tubes quand j'arrivais (avec un quart d'heure de retard) à 16h59 le vendredi !

Les analyses RMN ayant été cruciales pour une grande partie des composés finaux, je remercie sincèrement Bruno Vincent, du service RMN de l'Esplanade, pour sa disponibilité et son expertise.

De même, un grand merci au service de spectrométrie de masse de l'Esplanade. Le Dr Hélène Nierengarten et Mélanie Lebreton ont toujours fait l'effort d'aller chercher l'analyse prouvant la structure de nos monstres moléculaires, même lorsqu'ils étaient extrêmement lourds et difficiles à détecter. Chapeau bas !

Avant de choisir un sujet de thèse, on entend souvent que « les chefs, c'est aussi important que le sujet en lui-même ». Je ne saurais dire si cette assertion est vraie, car j'ai eu le bonheur d'avoir une chance inouïe avec à la fois un sujet passionnant et un encadrement exemplaire.

Philippe, ta disponibilité absolue malgré tes charges de plus en plus chronophages, ta rigueur et ton intégrité scientifiques, ton enthousiasme, la confiance que tu témoignes à tes étudiants, ta façon de tirer chaque présentation ou poster vers le haut et tant d'autres qualités font de toi un directeur de thèse et de labo formidable, avec qui j'espère pouvoir continuer à échanger dans le futur, sur la chimie, la science et bien d'autres sujets tout aussi passionnants. Je ne m'étais donc pas trompé en choisissant comme directeur de thèse mon si sympathique professeur de chimie organique de mes années ECPM.

Anne, encadrante attentionnée, soutien bibliographique et principal moteur de mon travail en début du doctorat, tu as su gérer avec brio mon impatience et mon caractère souvent trop fonceur pour m'enseigner petit à petit à voler de mes propres ailes sans que je ne me brûle. Toi aussi toujours disponible pour écouter et répondre à mes questions, malgré le nombre croissant de tes

responsabilités d'encadrement (sans compter ton petit Illan arrivé fin 2012), j'ai beaucoup apprécié les tests bios à Mulhouse en ta compagnie. Jeune maître de conférences, je suis persuadé que tu apporteras beaucoup aux nombreux étudiants qui passeront sous ton aile.

Damien, premier compagnon de notre enclave expatriée au R5N2 de l'ECPM, merci pour l'investissement dont tu fais preuve et qui font de toi une pièce maîtresse de l'organisation du laboratoire et de l'UMR.

Camille et P-A, vous m'avez tout appris du fonctionnement du labo, et sur des techniques de manip bien pratiques. Je suis fier de soutenir un 31 octobre, comme vous l'avez fait avant moi. Camille, première doctorante du labo et initiatrice d'une grande partie de ma thématique, il me semble que les premiers conseils de ta part remontent à ma 1A de l'ECPM, faisant de toi l'une des personnes m'ayant mené sur la voie que j'ai empruntée. P-A, ta persévérance a été un modèle pour moi, et je suis persuadé qu'elle sera récompensée tôt ou tard. Je n'oublierai pas que, dès lors que j'avais une question, tu prenais toujours de ton temps pour me répondre.

Une pensée toute particulière pour mes acolytes Antoine et Jérémy, qui ont dû supporter mon dictat psychorigide au labo. Travailler en votre compagnie a vraiment été enrichissant, j'ai beaucoup appris d'Antoine, maintenant maître de conférences à Rouen, et j'espère avoir transmis le plus possible de mes connaissances à mon padawan Jérèm', qui aura la chance de perpétuer mon projet en plus de tous les autres dont il a hérité. Bien plus que des collègues, vous resterez des amis, et j'ose espérer que nous aurons encore l'occasion de partager de bonnes vraies soirées, à Strasbourg ou ailleurs.

A ma brillante stagiaire Manon, je souhaite toute la réussite possible dans la thèse qu'elle commence alors que je termine la mienne. Une génération ECPMienne ne nous aura pas empêchés de construire bien plus qu'une relation encadrant-élève.

A Emile, Milou de son surnom, je souhaite bon vent pour la suite de son parcours à Lyon ou ailleurs, et je le remercie pour être devenu un ami plus qu'un collègue.

Raphaël, bon courage pour terminer le difficile sujet de thèse dont tu as hérité.

Je salue aussi tous les stagiaires qui sont passés par le SYBIO depuis 3 ans : Julien, Nadia, Eric, Najet, Hélène, avec qui le courant est à chaque fois très bien passé.

En plus de tous les étudiants cités ci-dessus, je remercie aussi ceux qui m'ont accompagné et conseillé au jour le jour. Tout d'abord Mickaël, avec qui j'ai souvent fermé le R5N2 après d'intenses journées de manip. Travailleur acharné et scientifique accompli, j'espère sincèrement que tu parviendras à tes objectifs, tu le mérites amplement. Xavier et Thibault, qui ont régulièrement partagé mes repas animés par de géniales discussions, très sérieuses ou complètement délirantes. Andru « L'Empereur », avec qui j'ai partagé de nombreuses séances ciné et quantité de passionnantes discussions de fond. Et aussi mes acolytes Karima et Antoine, ainsi qu'Alicia, que je remercie tous trois pour les cafés, les bières, les blagues et les discussions !

Un merci général à toutes les personnes de l'UMR, et une reconnaissance particulière pour certains : Nico, qui m'a précédé depuis la 1A de l'ECPM et qui m'a beaucoup appris, Boubacar et Bruno, thésards à qui je souhaite bon courage pour la suite de leurs carrières, Joanna et Armen, jeunes chargés de recherches qui m'ont toujours témoigné une grande sympathie et répondu à mes interrogations sans compter le temps consacré. Enfin, un grand merci à Françoise, Gilles et Sabine,

mes professeurs de l'ECPM qui m'ont enseigné chacun à leur manière une façon de voir la chimie organique.

Puisque je parle de professeurs, j'en profite pour saluer et remercier ceux qui ont compté pour moi et/ou qui m'ont transmis leur passion pour la science. Tout d'abord, je tiens à saluer et remercier M. Berson, du lycée A. Paré à Laval, mon professeur de Physique-Chimie pendant deux de mes années lycéennes : ses explications passionnées et passionnantes sont à l'origine de mon intérêt pour la chimie. Ensuite, Jimmy Roussel et Daniel Cordier, formidables enseignants de physique au CPI-Chem.I.St de Rennes, m'ont permis d'asseoir d'excellentes bases dans cette discipline si différente et pourtant si proche de la chimie. La passion dont ils ont fait preuve aura agi comme un levier sur ma motivation à comprendre les arcanes de l'électromagnétisme ou de la physique statistique. Finalement, je ne saurais oublier le génial Pr Daniel Uguen, dont la capacité à faire passer un difficile cours de chimie des énolates pour une agréable séance de cinéma en dit long sur son expérience.

Avec une partie des étudiants strasbourgeois déjà remerciés, j'adresse un gros clin d'œil à tous les camarades de la SECO 51 à Port-Leucate et en particulier à Yoann l'Allumette de Brest et à Marie H., avec qui j'espère garder contact. Merci aux organisateurs de cette semaine très enrichissante, et qui tombait à pic avant le début de la rédaction.

J'adresse mes remerciements à Barbara et Christine pour m'avoir accueilli en TP de Génie Chimique. Cette session d'enseignement dans une discipline que je maîtrisais moins n'aurait pas été possible sans le temps que vous avez accordé à mes questions. Emilie, partenaire idéale dans ces quelques semaines seuls face aux étudiants et sans filet de sécurité, merci à toi aussi et bon courage pour la fin de la thèse.

Pour moi, la fin de la thèse ce n'est pas simplement la fin de trois années de travail très intense, c'est aussi la conclusion de 6 ans de vie à Strasbourg. Six belles années depuis cette rentrée en 1A à l'ECPM, où j'ai eu l'honneur de me faire des amis qui le resteront pour un sacré bout de temps.

Parmi tous ces gens, je me dois de commencer par mes colocataires de l'Embuscade : Guillaume, Benoît, Thibaud, Fabien, Camille, Nex et Aymeric. Ils ont su faire de notre colocation du 15 boulevard de Lyon une merveilleuse expérience de vie en communauté, alors même que chacun (moi le premier) avait sa propre façon de vivre. Leur amitié représente pour moi un véritable trésor, et nul doute que nous aurons maintes fois l'occasion de la célébrer. Une pensée particulière pour deux de ces compères, qui ont tenu un rôle particulier dans les deux dernières années.

Fab', il s'en est passé des choses depuis notre session de TP en binôme en 2A de l'ECPM… Nous avons partagé un nombre incalculable de soirée, de bonnes tranches de rires, des weekends à droite, à gauche, et j'en passe. Et pour finir, plus de deux ans et demi à bosser et habiter ensemble sans jamais se prendre la tête. Merci pour avoir supporté, accepté mes avis et mes façons de faire différents des tiens. Tout le meilleur pour la suite !

Nex, plus qu'un coloc, tu as occupé une part importante de mon quotidien depuis que tu as emménagé à l'Embuscade, sans compter tout le reste. Déjà l'un de mes formateurs les plus compétents en « chansons paillardes 101 » et camarade infatigable de l'Irish Times Pub, te retrouver à Montréal puis dans mon entourage de labo aurait dû me mettre la puce à l'oreille. Je ne saurais compter le nombre de verres entrechoqués, de repas partagés, de discussions terminées (ou pas).

JD et Turk ont de la concurrence ! Tu as fini par trouver un nouveau départ bien mérité à Oxford, bon courage et à très vite.

Avant l'Embuscade, j'ai eu la chance de vivre avec d'autres amis très proches, et je ne les oublie pas ! Un grand merci à Max (et sa femme Marta !), rencontré à Rennes et qui a fait le grand saut à Strasbourg avec moi. Notre petit appart du 3 rue Spielmann nous aura amené un paquet de bons moments, et je suis très heureux de constater que notre lien tient le coup après toutes ces années. Son successeur, Charles Garang Gorille Archibalde, sitôt rencontré, sitôt adopté, aura prolongé le bonheur de cette colocation pendant quelques mois, à grands coups de Mario Kart, Stargate, catch, sushis et autres fromages.

Au cours de ma scolarité d'élève-ingénieur, j'ai eu le privilège de faire partie, avec Marion, Etienne, Céline, Hélène, Morgane, Elénonore et plusieurs de mes colocs, du Bureau des Elèves de l'ECPM. Cette expérience, fondamentale pour moi, reste l'un des plus beaux projets que j'ai eu à mener jusqu'ici. Merci à eux ! Je salue aussi Bernard Pillot, qui m'a toujours accordé sa confiance.

Je salue aussi tous mes camarades de l'ECPM, dont la liste serait trèèèès longue à énumérer ici ! Parmi eux, je tiens à remercier particulièrement Mansuy, Julien et Pierre. Ces trois acolytes m'auront accompagné de mon 1er à mon dernier jour à l'ECPM, en accumulant les souvenirs, du TIC au Batailon Club de Prague ! Merci Strasbourg, merci l'Alsace !

Je remercie chaleureusement le Pr Sylvain Canesi, qui m'a accueilli dans son équipe pour mon stage master à Montréal. Les conseils qu'il continue à me prodiguer me sont très utiles. Je salue aussi mes collègues de l'époque (en particulier Dédé, Guillaume et Amandine), ainsi que les colocataires de La Kave.

Je terminerai par les gens qui m'accompagnent depuis plus longtemps, à commencer par mes amis du lycée. « Questembertoises, questembertois », 10 ans qu'on se connaît pour la plupart, et ça continue. C'est une chance inouïe que d'avoir gardé ce groupe d'amis, chance cultivée par chacun d'entre nous au fil de nos retrouvailles. Chacun sa route, chacun ses projets artistiques ou professionnels, et pourtant nos rendez-vous nous rassemblent irrémédiablement. Merci à vous tous !

J'envoie mes plus sincères remerciements à Adélie, Paul, Maxence et Nadia, amis de Rennes que je ne vois pas assez souvent, mais qui ne quittent pas pour autant mon entourage.

Merci à Arnaud, Simon, Julie et Alice, amis de L'Huisserie et Laval qui me supportent depuis un paquet d'années maintenant ou qui m'ont « sorti du trou ». Leur amitié démontre par a+b que le proverbe « loin des yeux, loin du cœur » est loin d'être exact.

Finalement, je remercie ma famille pour son soutien et ses encouragements. Je veux remercier mes deux frères pour tolérer ma haine du football, mes accès de colère injustifiés et avoir supporté la distance géographique que j'ai imposée à notre fratrie. En tout dernier lieu, un IMMENSE MERCI à mes parents, qui ne se sont jamais opposés au moindre de mes projets d'études, qui m'ont apporté un soutien financier indispensable et une confiance inestimable. Il me semble que les lunettes de « Dr Binoclard » devraient me revenir désormais …

Sur Mars, La Chimie Prend l'Air.

Table des matières

Remerciements **5**

Table des matières **9**

Abbréviations & acronymes **13**

Introduction générale 17

Chapitre I : Iminosucres, multivalence et charpentes 21

1 Iminosucres : généralités **23**

1.1 Historique 23

1.2 Les iminosucres comme inhibiteurs de glycosidases 25

1.2.1 Les glycosidases 26

1.2.2 Mécanismes d'action des glycosidases 26

1.2.3 Mécanisme général d'inhibition des glycosidases par les iminosucres 28

1.3 Intérêt thérapeutique des iminosucres 29

1.3.1 Traitement des complications associées au diabète de type II 29

1.3.2 Les iminosucres comme agents anticancéreux 29

1.3.3 Les iminosucres comme antiviraux 29

1.3.4 Traitement de maladies génétiques 30

2 Multivalence : généralités **32**

2.1 La multivalence dans les interactions lectines-sucres 32

2.1.1 Introduction 32

2.1.2 Méthodes d'études 32

2.1.3 Mécanismes proposés 33

2.2 Les iminosucres multivalents dans l'inhibition de glycosidases 34

2.2.1 Premiers iminosucres divalents 34

2.2.2 Clusters et chimie « click » 36

2.2.3 Discussion mécanistique 41

2.3 Iminosucres multivalents et inhibition de glycosidases d'intérêt thérapeutique 44

2.3.1 β-Glucocérébrosidase (Maladie de Gaucher) 44

2.3.2 Glucosidases du réticulum endoplasmique (mucoviscidose) 45

2.3.3 α-Mannosidase II de l'appareil de Golgi 46

2.4 Les charpentes : clés de la multivalence 46
3 Néocyclodextrines préfonctionnalisées 48
3.1 Cyclodextrines natives 48
3.1.1 Généralités 48
3.1.2 Fonctionnalisation partielle de la face primaire par protections régiosélectives 49
3.1.3 Fonctionnalisation partielle de la face primaire par déprotections régiosélectives 52
3.2 Une approche modulaire 53
3.2.1 Cahier des charges 54
3.2.2 Chimie « click » et CuAAC 54
3.2.3 Analogues de cyclodextrines par chimie « click » 56
3.3 Stratégie *Sweet LEGO®* pour des iminosucres multivalents 62
4 Plan du travail de thèse 66

Chapitre II : Etude méthodologique d'une réaction d'ouverture de ponts 1,6-anhydro par $TMSN_3$ 67

1 Introduction 69
1.1 Intérêts des 1-azidoglycopyranoses 69
1.2 Synthèse des 1-azidoglycopyranoses 71
2 Ouverture stéréosélective de ponts 1,6-anhydro pour la synthèse d'azotures de glycosyle 74
2.1 Synthèse de 1,6-β-anhydropyranoses 75
2.2 Optimisation 76
3 Champ d'application 80
3.1 Synthèse des substrats 80
3.2 Application des conditions d'ouverture optimisées 82
4 Mécanisme 85
5 Application à la synthèse rapide d'un néo-pentasaccharide 90
6 Conclusion du Chapitre II 92

Chapitre III : Synthèse de modules *Sweet LEGO®* 93

1 Introduction 95
2 Premières étapes 98
3 Synthèse du module monovalent 103

3.1 Ouverture régiosélective du *para*-méthoxybenzylidène 103
3.2 Effet promoteur inattendu des alcools dans les alkylations difficiles 104
3.3 Schéma de synthèse global du module monovalent 106
4 Synthèse du module pentavalent 107
4.1 Ouverture régiosélective du *para*-méthoxybenzylidène 107
4.2 Alkylation de la position C-4' 108
4.3 Schéma de synthèse global du module pentavalent 111
5 Activations des modules 112
5.1 Module monovalent 112
5.1.1 Activation en C-4' : déprotection sélective TES/TIPS 112
5.1.2 Activation en C-1 : ouverture du pont 1,6-anhydro par $TMSN_3$ 112
5.1.3 Accès au module monovalent doublement activé (ON-ON) 114
5.2 Module divalent 114
5.3 Module pentavalent 115
5.3.1 Activation en C-4' : déprotection sélective TES/TIPS 115
5.3.2 Activation en C-1 : ouverture du pont 1,6-anhydro par $TMSN_3$ 115
5.3.3 Accès au module pentavalent doublement activé (ON-ON) 117
6 Conclusion du Chapitre III 118

Chapitre IV : (néo)Cyclodextrines et cyclopeptoïdes comme charpentes originales pour des iminosucres multivalents 119

1 Introduction 121
2 Synthèse de néocyclodextrines préfonctionnalisées 122
2.1 Synthèse par approche modulaire 123
2.1.1 En série méthoxy 123
2.1.2 En série propargyle 127
2.2 Synthèse par cyclooligomérisation 128
3 Synthèse de nouveaux clusters iminosucres 131
3.1 Clusters basés sur une charpente néocyclodextrine 132
3.2 Cluster basé sur une charpente cyclodextrine couplée à un dendron 133
3.3 Clusters basés sur des charpentes de type cyclopeptoïde 135
3.3.1 1ère génération 136
3.3.2 2ème génération : une valence démultipliée 138

4 Evaluation biologique 140

4.1 Inhibition de l'α-mannosidase de Jack bean 140

4.1.1 Introduction 140

4.1.2 Résultats 143

4.1.3 Analyse des résultats 145

4.2 Mucoviscidose 147

Conclusion générale 151

Bibliographie 157

Partie expérimentale PE-1

General methods and remarks PE-3

General procedure for inhibition assay PE-4

Anhydros, azides & neopentasaccharide PE-4

Modules synthesis – Methoxy series PE-19

Modules synthesis – Propargyl series PE-39

Iminosugar Click Clusters PE-57

Index des composés synthétisés PE-75

Abbréviations & acronymes

1N-ONJ	1-amino-5*N*,6*O*-oxométhylidènenojirimycine
1N-OMJ	1-amino-5*N*,6*O*-oxométhylidènemannojirimycine
α-1-*C*-DIX	α-1-*C*-nonyl-1,5-didésoxy-1,5-iminoxylitol
Å	Angström
Ac	Acétyl
Ac_2O	Anhydride acétique
$AcOH/AcO^-$	Acide acétique/Ion acétate
AIBN	Azobisisobutyronitrile
Ar	Aryl
BEMP	2-Tert-butylimino-2-diéthylamino-1,3-diméthylperhydro-1,3,2-diazaphosphorine
Bn	Benzyl
Bu	Butyl (linéaire *n*Bu, isobutyl *i*Bu, *sec*-butyl *s*Bu, tertiobutyl *t*Bu)
Bz	Benzoyl
cat.	Catalytique, ou « en quantité catalytique »
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CD	Cyclodextrine
CP	Cyclopeptoïde
CuAAC	Cycloaddition azoture-alcyne catalysée au cuivre (I) (*Copper(I)-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition*)
CFTR	*Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*, nom du gène dont la mutation cause la mucoviscidose
Cy	Cyclohexyl
Da	Dalton, unité de masse atomique (kilodalton kDa)
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène
DCE	1,2-Dichloroéthane
DCM	Dichlorométhane
DDQ	1,2-Dichloro-4,5-dicyano-1,4-benzoquinone
DIBAL-H	Hydrure de diisobutylaluminium (*Diisobutyl Aluminium Hydride*)
DIC	*N*,*N'*-diisopropylcarbodiimide
DIPEA	*N*,*N*-diisopropyléthylamine

DMAP	*N*,*N*-diméthylaminopyridine
DMC	Chlorure de 2-chloro-1,3-diméthylimidazolidinone
DMF	*N*,*N*-diméthylformamide
DMI	1,3-Diméthylimidazolidinone
DMJ	1-désoxymannojirimycine
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DNJ	1-désoxynojirimycine
EC_{50}	Concentration efficace médiane, il s'agit de la concentration à laquelle la moitié de l'effet maximal d'une substance est observée
éq.	Equivalent
ELLA	*Enzyme-Linked Lectin Assay*
ESI	Ionisation par électronébuliseur (*Electrospray Ionization*)
Et	Ethyl
Et_2O	Ether diéthylique
EtOH	Ethanol
Fmoc	Fluorènylméthyloxycarbonyl
HATU	1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxid hexafluorophosphate
HFIP	1,1,1,3,3,3-Hexafluoropropan-2-ol, ou Hexafluoroisopropanol
HMPA	Hexaméthylphosphoramide
GCase	β-Glucocérébrosidase
IC_{50}	Concentration inhibitrice médiane, il s'agit de la concentration d'inhibiteur nécessaire pour diviser la vitesse de réaction enzymatique par 2
K_i	Constante d'inhibition, c'est-à-dire la constante de dissociation du complexe enzyme-inhibiteur
K_M	Constante de Michaelis d'un couple enzyme-substrat
LDA	Diisopropylamidure de lithium (*Lithium Diisopropyl Amide*)
LiHMDS	Bis(triméthylsilyl)amidure de lithium (*Lithium Hexamethyldisilazane*)
M	Molaire (millimolaire mM, micromolaire µM, nanomolaire nM, picomolaire pM)
MALDI-TOF	*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Flight*
Me	Méthyl
MeCN	Acétonitrile

MeOH	Méthanol
MW	Micro-ondes (*Microwave*)
NaAsc	Ascorbate de sodium
NBS	*N*-bromosuccinimide
NCD	Néocyclodextrine
NEt_3 (ou Et_3N)	Triéthylamine
Pd/C	Palladium sur charbon
Ph	Phényl
PhMe	Toluène
PMA	Acide phosphomolybdique (*Phosphomolybdic Acid*)
PMB	*para*-Méthoxybenzyl
PMP	*para*-Méthoxyphényl
Pr	Propyl
quant.	Quantitatif
RE	Réticulum endoplasmique
rev	Révélateur
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire du proton (^{1}**H**) ou du carbone (^{13}**C**)
RP	*Relative inhibition Potency*, pouvoir inhibiteur relatif, mesure l'augmentation d'affinité d'un cluster par rapport à un analogue monovalent
RP/N	*Relative inhibition Potency per inhibitor unit*, pouvoir inhibiteur relatif par unité d'inhibiteur
RuAAC	Cycloaddition azoture-alcyne catalysée au ruthénium (II) (*Ruthenium(II)-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition*)
TA	Température ambiante
TBAF	Fluorure de tétrabutylammonium
TBAI	Iodure de tétrabutylammonium
TBS ou TBDMS	*tert*-butyldiméthylsilyl
TES	Triéthylsilyl
Tf	Trifluorométhanesulfonyl
TFA	Acide trifluoroacétique
TfOH/TfO^-	Acide trifluorométhanesulfonique/Ion trifluorométhanesulfonate, ou triflate
Tf_2O	Anhydride trifluorométhanesulfonique, ou anhydride triflique

THF	Tétrahydrofurane
TIPS	Triisopropylsilyl
TMS	Triméthylsilyl
Ts	*para*-Toluènesulfonyl, ou tosyl
TsOH/TsO$^-$	Acide *para*-toluènesulfonique/Ion *para*-toluènesulfonate, ou tosylate

Introduction générale

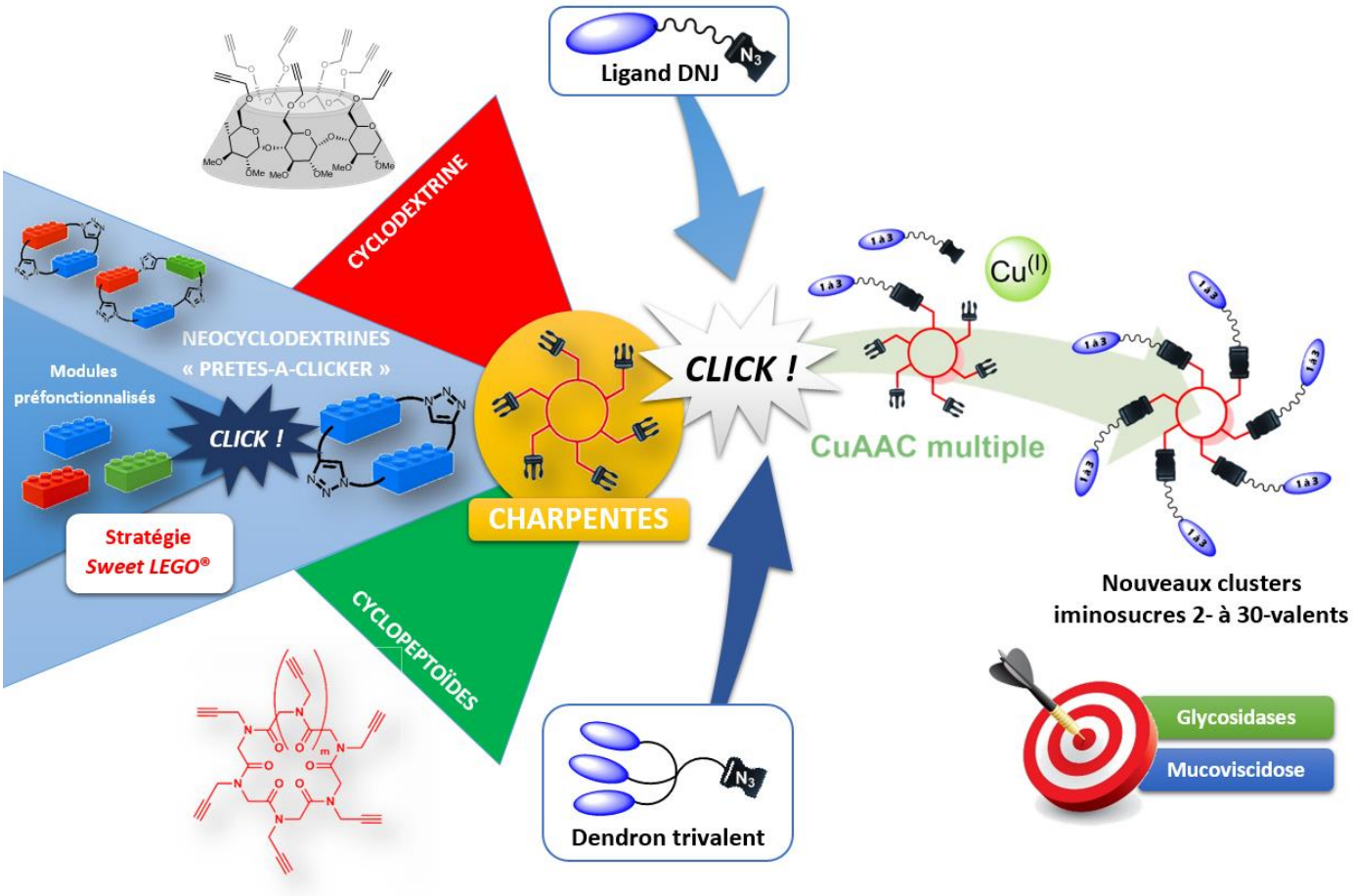
« Il n'existe qu'une Vertu, le Savoir,
et qu'un seul Vice, l'Ignorance. »

Socrate

Malgré l'intérêt considérable des iminosucres comme puissants inhibiteurs de glycosidases,[1] très peu d'exemples d'analogues multivalents de cette classe de composés étaient décrits il y a encore quelques années dans la littérature.[2] A partir de 2010, des résultats très prometteurs ont montré les premières preuves d'un effet multivalent fort dans l'inhibition des glycosidases, avec des gains d'affinité allant jusqu'à 4 ordres de grandeur en comparaison avec l'analogue monovalent.[3,4] Les composés présentant un effet multivalent puissant au début de ce projet étaient basés sur des charpentes fullerène et cyclodextrine avec des valences allant de 7 à 14. Plusieurs d'entre allaient ensuite démontrer leur potentiel en tant que « chaperons pharmacologiques » pour le traitement de maladies lysosomales[5,6] ou comme correcteurs de la protéine CFTR pour la mucoviscidose.[7]

Dans ce contexte, l'objectif de la thèse préparée consistait en la synthèse de nouveaux clusters basés sur des charpentes originales. En effet, la plateforme centrale joue un rôle primordial dans l'interaction récepteur-ligand puisqu'elle définit la valence, la taille, la forme, la flexibilité de la structure multivalente ainsi que la présentation des ligands.

Les charpentes facilement fonctionnalisables et/ou accessibles existent cependant en nombre limité. En particulier, les charpentes cyclodextrines ont donné de très bons résultats[4,6] mais restent par ailleurs difficiles à fonctionnaliser régiosélectivement. Ce travail de thèse a eu pour principal objectif la synthèse d'une librairie d'analogues de cyclodextrines préfonctionnalisées par une approche modulaire inédite basée sur la chimie « click ».



Chapitre I

Iminosucres, multivalence et charpentes

« L'intelligence ? Une question de chimie organique, rien de plus. »

Paul Léautaud

1 Iminosucres : généralités

1.1 Historique

Les glucides – plus communément appelés sucres – sont une classe de molécules organiques qui font partie, avec les protéines et les lipides, des constituants essentiels des êtres vivants et de leur nutrition. Notamment, leur transformation chimique permet de stocker de l'énergie sous forme d'amidon (plantes) ou de glycogène (animaux), ou encore de produire la cellulose (substance organique la plus abondante sur Terre) et la chitine qui constituent le squelette d'une grande partie des organismes vivants. En outre, les sucres interviennent dans de nombreux autres processus incluant les phénomènes de reconnaissance cellulaire (*via* des antigènes polyosides par exemple) ou de maturation des protéines. Au cours de l'évolution, la Nature a ainsi conçu un système complexe d'enzymes permettant l'assemblage des sucres mono-, oligo- ou polymériques et leur utilisation dans un grand nombre de mécanismes biologiques.

Du fait de l'importance capitale de ces substances, les glycoenzymes* (glycosidases, glycosyltransférases, …) représentent des leviers biochimiques fondamentaux : leur mutation est la cause de nombreuses maladies, mais une modulation à bon escient de leurs propriétés – et particulièrement par l'inhibition desdites enzymes – peut être l'origine de progrès thérapeutiques majeurs.

Afin de découvrir des inhibiteurs de ces glycoenzymes, permettant des études mécanistiques ou la découverte de nouveaux traitements, les scientifiques ont cherché des analogues structurels des sucres. Parmi les possibilités de modifications (***Figure 1***), le remplacement de l'atome d'oxygène endocyclique par un méthylène (carbasucres), un atome de soufre (thiosucres), de phosphore (phosphosucres) ou d'azote (iminosucres ou azasucres) apporte une modulation très variée des propriétés biologiques. Ces glycomimétiques peuvent notamment présenter une plus grande stabilité, une meilleure biodisponibilité et des affinités variables avec le site actif des enzymes visées. La plus grande valence des atomes de carbone, de phosphore et d'azote augmente aussi les possibilités de fonctionnalisation.

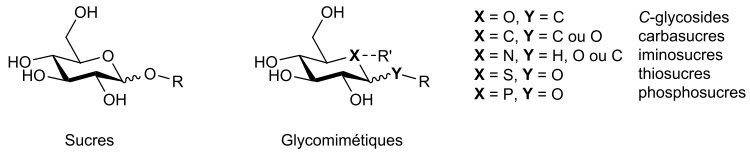


Figure 1 – *Structures générales des sucres et de leurs mimes (données en série D-gluco).*

Parmi ces glycomimétiques, les iminosucres[1] (plus formellement appelés iminoalditols) sont particulièrement intéressants. Cette famille de composés comportant un atome d'azote

* Dans la suite de cet ouvrage, le terme de « glycoenzyme » sera utilisé comme l'équivalent français de « carbohydrate-processing enzyme ».

endocyclique est subdivisée en cinq classes en fonction de leur squelette : mono- ou bicyclique, chacun des cycles pouvant comporter 5 ou 6 membres (*Figure 2*).

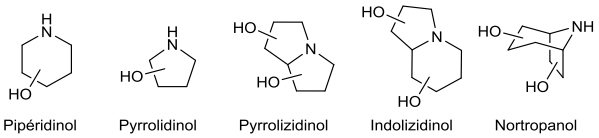


Figure 2 – *Les cinq grandes classes d'iminosucres.*

La synthèse d'iminosucres et d'autres hétéroses a été jusqu'au début des années 1960 un exercice purement académique rempli avec succès par Paulsen,[8] Hanessian[9] et Jones.[10] En 1966, l'isolement de la *nojirimycine* **1** (*Figure 4*) et la découverte de ses propriétés antibiotiques par Inouye *et al.*[11,12] furent accompagnés de la première synthèse de son analogue – la *désoxynojirimycine* (DNJ) **2** – par Paulsen.[13] L'intérêt des chimistes pour les iminosucres se trouva décuplé par l'isolement de la DNJ à partir de sources naturelles et la découverte de son caractère d'inhibiteur d'α-glucosidases par des chimistes de Bayer en 1976. En effet, la *moranoline* – issue d'extraits de Mûrier blanc (*Morus alba*, *Figure 3*) – entrant dans la composition de l'huile de Haarlem, premier médicament produit à l'échelle industrielle au XVII^{ème} siècle et recommandé pour le traitement des diabètes, fut identifiée comme étant la DNJ. Dans la médecine traditionnelle chinoise, les feuilles de mûriers – que l'on sait maintenant riches en iminosucres – servaient de remède contre le « Xiao-ke », c'est-à-dire le diabète.



Figure 3 – *Mûrier blanc (Morus alba).*

D'autres iminosucres naturels ont été caractérisés depuis (*Figure 4*) : la *fagomine* **3** isolée à partir du sarrasin, le 2,5-didésoxy-2,5-imino-D-mannitol (DMDP) **4** extrait d'une plante légumineuse tropicale (*Derris elliptica)*, la *castanospermine* **5** et l'*australine* **7** (isolées de *Castanospermum australe*) ou encore la *swainsonine* **6** (isolée de *Swainsona*). Ces exemples appartenant à différentes classes d'iminosucres illustrent la diversité structurelle des iminosucres naturels. A ce jour, plus d'une centaine de composés de type iminosucre ont pu être isolés à partir de plantes, de bactéries et de champignons.[14,15]

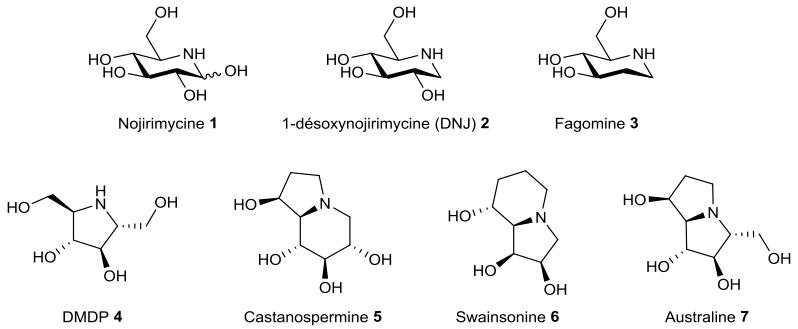


Figure 4 – *Exemples d'iminosucres naturels.*

L'intérêt de la communauté scientifique pour les iminosucres a d'abord résidé dans leur évaluation comme agents anti-cancéreux ou anti-VIH dans les années 1980, pour élargir de plus en plus le spectre de leurs applications thérapeutiques (maladie lysosomales, mucoviscidose, …). Pour ces raisons, la synthèse d'iminosucres présentant des structures originales (contraintes ou non) ainsi que leur évaluation biologique ont connu un renouveau certain depuis la fin des années 1990.[1,16,17] La commercialisation de deux médicaments basés sur des dérivés de la DNJ, le Glyset® en 1996 par Pfizer (pour le traitement des complications associées au diabète de type II) et le Zavesca® en 2003 par Actélion (premier traitement oral pour la maladie de Gaucher de type I, une maladie lysosomale), est le symbole de cet engouement (voir I-1.3).

1.2 Les iminosucres comme inhibiteurs de glycosidases

Depuis la découverte des propriétés biologiques de la DNJ **2** en 1966, les efforts synthétiques mis en œuvre pour préparer de nouvelles structures de type iminosucre furent motivées par la perspective de découverte de nouveaux agents thérapeutiques contre les multiples maladies dans lesquelles des glycoenzymes sont impliquées. En effet, à l'instar d'autres glycomimétiques, les iminosucres sont à même d'imiter l'état de transition[18] – chargé ou non – de la réaction enzymatique, ou encore de former de fortes interactions électrostatiques avec les sites actifs chargés.[19] Le spectre des enzymes inhibées par les iminosucres s'est progressivement élargi : ne comprenant que les glycosidases dans les années 1970,[20,21] et les glycosyltransférases à partir de 1992[22–24], il inclura ensuite successivement les enzymes du métabolisme des nucléosides[14] puis les nucléotide-sucre mutases[25], les glycogène phosphorylases,[26] les métalloprotéinases[27] et finalement les kinases.[28] Ces nombreuses cibles enzymatiques justifient l'utilisation des iminosucres sur une gamme de cibles thérapeutiques de plus en plus variée : le diabète de type II au milieu des années 1970, puis les maladies virales et cancers dans les années 1980, suivies des maladies lysosomales et même plus récemment de la mucoviscidose.[29]

Compte tenu de l'ampleur du panel d'enzymes pour lesquelles les iminosucres présentent une activité inhibitrice, nous ne nous intéresserons dans ce manuscrit qu'à l'inhibition des glycosidases. Celles-ci restent en effet les plus étudiées et sont impliquées dans un grand nombre de maladies. Cela implique notamment les cibles thérapeutiques auxquelles le laboratoire s'intéresse, à savoir les maladies lysosomales et la mucoviscidose, cette dernière étant la maladie génétique rare la plus répandue dans la population caucasienne.

1.2.1 Les glycosidases

Les glycosidases sont les enzymes catalysant l'hydrolyse de la liaison glycosidique dans les glucides. Elles sont essentiellement impliquées dans le catabolisme de substances osidiques (incluant la production d'énergie), mais les α-glucosidases et α-mannosidases en particulier jouent aussi un rôle capital dans la maturation des glycoprotéines, dans le réticulum endoplasmique ou l'appareil de Golgi.[17] La plupart fonctionnent à pH neutre, même s'il existe des cas particuliers pour lesquels le pH optimal peut descendre jusqu'à 2,2.[19,30] La variabilité de leur poids moléculaire témoigne de leur diversité structurelle : la gamme s'étirant de 20 à plus de 100 kDa, la majorité des glycosidases ont un poids moléculaire compris entre 40 et 70 kDa.

Afin de classer ces enzymes, les biologistes utilisent la classification par numéro EC (*Enzyme Commission*), qui caractérise non pas une enzyme, mais la réaction qu'elle promeut. Ainsi, cette classification sépare les enzymes catalysant l'hydrolyse des liaisons *O*- ou *S*-glycosidiques (groupe EC 3.2.1.x) de celles agissant sur les liaisons *N*-glycosidiques (groupe EC 3.2.2.x). Cependant, une enzyme jouant plusieurs rôles se retrouve avec plusieurs numéros EC, ce qui ne simplifie pas la classification !

Une autre méthode de classification définit des « familles GH » en fonction de la séquence des glycosidases – et donc de leur repliement en trois dimensions – ce qui permet des conjectures utiles quant à la fonction de certaines enzymes encore peu ou pas étudiées. En 2014, la base de données CAZy[31,32] (Carbohydrate-Active enZymes) regroupe les 190 000 glycosidases connues à ce jour en 133 familles. Les familles sont triées en 19 « clans » au sein desquels les membres partagent des similarités dans leur structure tertiaire, résidus catalytiques et mécanismes. Les familles d'un clan sont supposées être issues d'une histoire évolutive commune.

1.2.2 Mécanismes d'action des glycosidases

La liaison glycosidique est la liaison covalente des polymères biologiques la plus stable. Son temps de demi-vie vis-à-vis de l'hydrolyse spontanée dans la cellulose est estimé à 4,7 millions d'années.[33] Les glycosidases catalysent cette réaction d'hydrolyse avec des constantes de vitesses remarquables allant jusqu'à 1000 s^{-1}. Depuis les années 1950, les biologistes se sont intéressés à la compréhension de leurs modes d'action.

Concernant le site d'action, les glycosidases peuvent être de type *endo*, c'est-à-dire qu'elles catalysent l'hydrolyse de liaisons glycosidiques au milieu d'un oligosaccharide pour en donner deux autres plus petits, ou *exo* lorsqu'elles agissent aux extrémités d'un oligoside pour couper un sucre terminal, le plus souvent à l'extrémité non-réductrice (***Figure 5***).

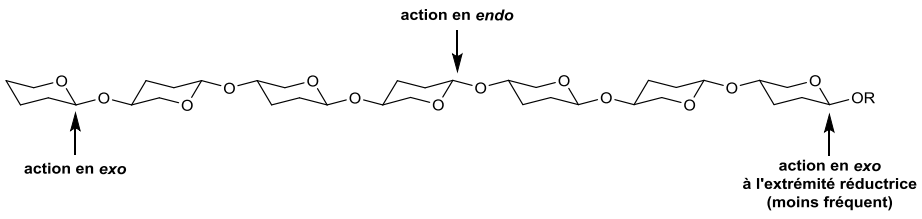


Figure 5 – *Site d'action des glycosidases "endo" ou "exo" dans un oligoside (schéma adapté de Cazypedia).*[34]

Dès 1923, Kuhn[35] publia les premières hypothèses de mécanisme mais c'est en 1953 que Koshland[36] fut le premier à distinguer deux mécanismes d'hydrolyse selon la stéréochimie des réactifs et produits : l'un avec inversion de configuration du carbone en position anomérique, le second avec rétention de configuration (***Schéma 1***).

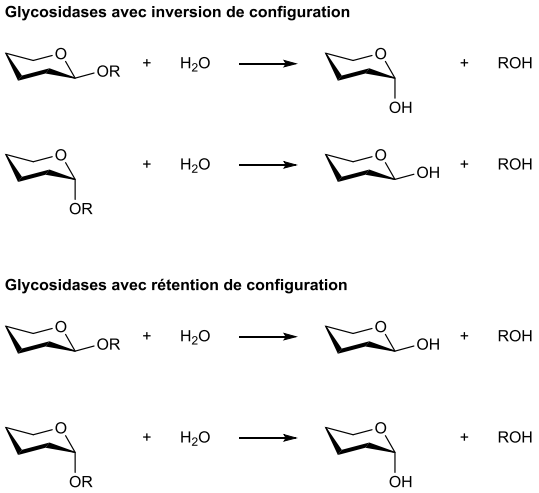


Schéma 1 – *Les deux types de glycosidases (schéma adapté de Cazypedia).*[34]

En 1963, Vernon et Banks[37] firent l'hypothèse d'une protonation rapide et réversible de l'atome d'oxygène glycosidique, suivie une hétérolyse formant un intermédiaire de type oxocarbénium. Actuellement, les mécanismes sont bien établis[38], même si des variations sont discutées.[39,40] Dans la majorité des cas, le site actif présente deux résidus carboxyliques dont l'un est sous forme de carboxylate.

Mécanisme d'hydrolyse enzymatique avec inversion de configuration

Dans le cas des glycosidases impliquant une inversion de configuration, la distance entre les deux résidus du site actif – souvent de type glutamate – est généralement comprise entre 6 et 12 Å, avec une moyenne autour de 10,5 Å.[34] Un des résidus – sous sa forme COOH – permet l'activation de l'atome d'oxygène glycosidique par protonation, tandis que le second – sous sa forme carboxylate – exacerbe le caractère nucléophile d'une molécule d'eau par catalyse générale acide/base (***Schéma 2***). Celle-ci peut cohabiter avec le glycoside dans le site actif, dont la largeur est suffisante. L'hydrolyse est réalisée avec le passage par un seul état de transition de type oxocarbénium. Il est à noter des discussions sur la régénération du site actif[40] : pour terminer le cycle catalytique, les deux résidus doivent échanger un proton, ce qui peut par exemple impliquer un transfert *via* une (ou plusieurs) autre(s) molécule(s) d'eau une fois que les produits de l'hydrolyse ont quitté le site actif.

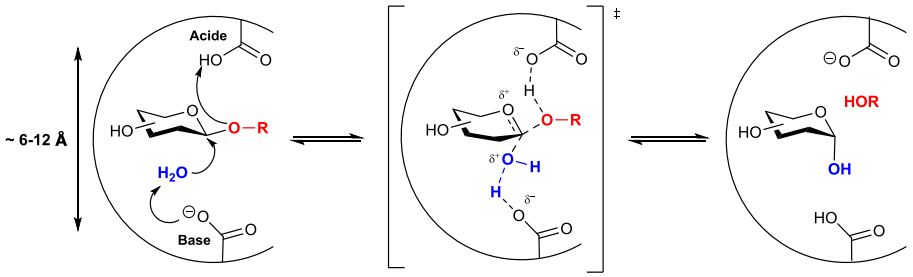


Schéma 2 – *Mécanisme d'hydrolyse enzymatique d'une liaison glycosidique avec inversion de configuration.*

Mécanisme d'hydrolyse enzymatique avec rétention de configuration

Dans le cas des glycosidases impliquant une rétention de configuration, la distance entre les deux résidus est plus courte, de l'ordre de 5,5 Å,[34] rendant le site actif trop exigu pour permettre la cohabitation simultanée d'une molécule d'eau et de l'alcool libéré. Ainsi, l'hydrolyse procède en deux temps (***Schéma 3***) et les deux résidus – souvent de type aspartate dans ce cas – n'ont pas la même

fonction : l'un joue un rôle acido-basique en activant d'abord la liaison glycosidique puis une molécule d'eau, tandis que le second est idéalement disposé comme un nucléophile. Dans un premier temps, ce dernier s'insère sur le carbone anomérique *via* un état de transition de type oxocarbénium pour former un intermédiaire glycosyl-enzyme lié de façon covalente. Dans un second temps, l'alcool libéré est remplacé par une molécule d'eau qui peut attaquer le second intermédiaire oxocarbénium selon le même principe. Les deux inversions successives expliquent l'apparente rétention de configuration.

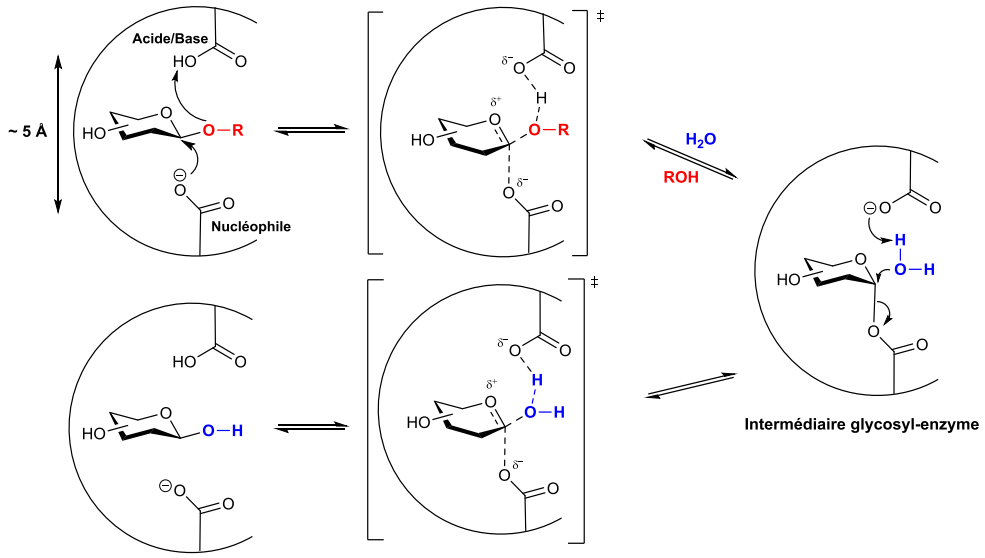


Schéma 3 – *Mécanisme d'hydrolyse enzymatique d'une liaison glycosidique avec rétention de configuration.*

1.2.3 Mécanisme général d'inhibition des glycosidases par les iminosucres

Les mécanismes présentés ci-dessus permettent de comprendre en quoi les iminosucres se révèlent être de bons inhibiteurs de glycosidases. En effet, leur structure polyol mime efficacement les substrats osidiques, et l'atome d'azote endocyclique peut se protoner à pH physiologique (par exemple, le pK_A de la DNJ protonée avoisine 6,5),[41,42] formant alors de fortes interactions électrostatiques avec le résidu carboxylate du site actif. Ces caractéristiques font des iminosucres des inhibiteurs compétitifs réversibles des glycosidases, dont les constantes d'inhibition peuvent être inférieures à 1 pM.[43]

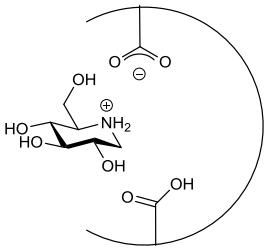


Figure 6 – *Exemple de la DNJ comme inhibiteur de glycosidase.*

1.3 Intérêt thérapeutique des iminosucres

Au regard de leur capacité à inhiber des glycosidases, les iminosucres présentent une activité sur une grande variété de maladies, dont les plus emblématiques sont présentées ci-dessous. L'accent sera mis sur les cibles thérapeutiques du laboratoire, à savoir la maladie de Gaucher et la mucoviscidose. Le mécanisme de cette dernière maladie sera détaillé dans le **Chapitre IV** (voir IV-4.2).

1.3.1 Traitement des complications associées au diabète de type II

Premièrement, les iminosucres sont tout indiqués pour le traitement de diabètes basés sur l'inhibition de glucosidases intestinales. C'est dans ce contexte que le premier médicament de type iminosucre à avoir été commercialisé fut le Glyset® **8** (***Figure 7***) par la société Pfizer en 1996 pour le traitement des complications associées au diabète de type II.[44]

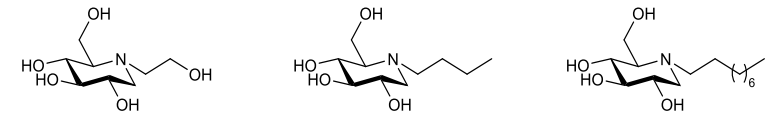


Figure 7 – *Dérivés N-alkylés de la DNJ.*

1.3.2 Les iminosucres comme agents anticancéreux

La *swainsonine* **6** (***Figure 8***), toxine produite par plusieurs espèces de plantes du genre *Fabaceae* (*Oxytropis* et *Astragalus* en Amérique du Nord, *Swainsona* en Australie), est connue pour être un puissant inhibiteur de l'α-mannosidase II de l'appareil de Golgi et un poison pour le bétail consommant ces plantes. Elle a été évaluée pour son activité antitumorale sur plusieurs cibles,[45–48] mais dans une étude clinique en phase II pour le traitement de carcinomes rénaux, une faible efficacité combinée à des effets secondaires indésirables (fatigue, anorexie, nausées, diarrhées ainsi que des symptômes neurologiques) ont provoqué l'arrêt de l'évaluation de cet iminosucre comme anticancéreux.[46]

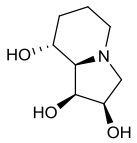


Figure 8 – *Swainsonine.*

1.3.3 Les iminosucres comme antiviraux

Les glucosidases I et II du réticulum endoplasmique (RE) se sont aussi révélées être des cibles enzymatiques importantes pour les iminosucres. En effet, celles-ci sont impliquées dans la reconnaissance des protéines en cours de maturation, *via* des mécanismes de qualité-contrôle.[49] En agissant sur ces glucosidases, il est donc possible d'empêcher la maturation de certaines protéines virales, qui sont alors dégradées.[49]

Cette voie de traitement a donné lieu à des tests impliquant différents iminosucres comme antiviraux. Parmi les succès les plus marquants, les dérivés *N*-alkylés de la DNJ (*N*-butyl-DNJ **9** et *N*-nonyl-DNJ **10**, ***Figure 7***) ont montré des activités antivirales contre les virus de l'hépatite B (VHB) et de

l'hépatite C (VHC).[49] En particulier, **9** s'est aussi révélé actif contre le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) par inhibition de la glucosidase I du RE,[50] lui valant une campagne de tests cliniques.[51,52] Malgré l'arrêt des essais, l'étude a permis d'apprendre beaucoup sur les effets secondaires de cette molécule chez l'homme : le traitement a été globalement toléré par la plupart des malades, avec des problèmes gastro-intestinaux (diarrhées, douleurs abdominales, …) comme effets secondaires principaux.[49]

Un autre iminosucre, la *castanospermine* **5** (***Figure 9***), et son analogue la 6-*O*-butanoylcastanospermine (Celgosivir® **12**, ***Figure 9***) ont aussi été évalués pour leurs propriétés antivirales contre le VIH.[53] Le Celgosivir® présente une activité intéressante *in vivo*, notamment car la chaîne acyle semble lui conférer une meilleure capacité de pénétration cellulaire.[54] Cette molécule exhibe d'ailleurs une activité envers plusieurs virus d'intérêts capitaux, dont celui de l'hépatite C pour lequel des essais cliniques en phase II ont été réalisés.[55] Cependant, le développement a été interrompu car les tests ne montrent aucune amélioration significative par rapport au traitement existant. Actuellement, le Celgosivir® est évalué en phase Ib pour le traitement du virus de la dengue.[56]

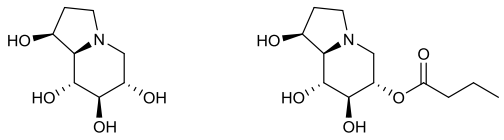


Figure 9 – *Castanospermine et Celgosivir®.*

1.3.4 Traitement de maladies génétiques

Les applications comprennent aussi des maladies génétiques rares, notamment les maladies lysosomales (maladies de Gaucher, Fabry, Tay-Sachs, …) qui sont provoquées par la déficience de glycosidases impliquées dans le catabolisme de glycolipides.[17] Dans le cas de la maladie de Gaucher, une première approche thérapeutique consiste à injecter aux patients une version recombinante de l'enzyme déficiente (*Enzyme Replacement Therapy*).[57] Cette thérapie restant onéreuse et nécessitant une hospitalisation régulière, un nouveau traitement pour le type I de la maladie a vu le jour dans les années 2000 : basé sur le *miglustat* **9** (***Figure 7***), il empêche la formation du glycolipide accumulé chez les malades (*Subtrate Reduction Therapy*).[58] Depuis 2003, ce médicament est commercialisé comme traitement oral par la société Actélion sous le nom Zavesca®. En parallèle, cette compagnie a conduit des essais cliniques en phase II avec **9** comme correcteur de la protéine CFTR, dont la mutation *delF508* est responsable de la mucoviscidose.[59] Ici encore, le mécanisme d'action semble faire appel à l'inhibition des glucosidases I et II du RE.

Finalement, les iminosucres trouvent leur utilité dans une nouvelle approche thérapeutique ayant vu le jour à la fin des années 1990 : le concept de chaperon pharmacologique.[60,61] En 1999, Asano et Fan ont en effet montré que la présence à une concentration sub-inhibitrice d'un puissant inhibiteur compétitif de l'enzyme concernée permet de restaurer une partie de l'activité.[60] En stabilisant ou en modifiant son repliement, le chaperon permettrait le sauvetage de la protéine mutée et mal repliée (mais fonctionnelle) des mécanismes de qualité-contrôle du RE.[61] Actuellement, plusieurs iminosucres ont démontré leur potentiel dans cette stratégie[62] (***Figure 10***). La société Amicus Therapeutics évalue depuis 2009 la 1-désoxygalactonojirimycine **13** comme

chaperon pour la maladie de Fabry et a mené des essais cliniques en phase II avec la DNJ **2** comme chaperon pour la maladie de Pompe.[63] Pour la maladie de Gaucher, les dérivés *N*-alkylés de la DNJ (incluant le Zavesca® **9**), le α-1-*C*-nonyl-1,5-didésoxy-1,5-iminoxylitol **14** ou encore l'*isofagomine* **15** – qui a été testée en phase II[64] – ont prouvé leur intérêt comme chaperon de la β-glucocérébrosidase, enzyme responsable de la maladie.[17,62]

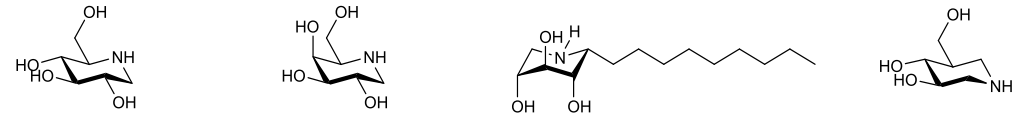


Figure 10 – *Exemples de chaperons pharmacologiques prometteurs pour le traitement des maladies de Fabry, Pompe et Gaucher.*

La recherche de chaperons plus efficaces ou plus sélectifs reste un enjeu majeur, et d'autres modes d'actions sont en cours d'investigation.

2 Multivalence : généralités

Les iminosucres apparaissent comme des agents thérapeutiques prometteurs et utilisables sur une large variété de maladies. Cependant, lorsque l'activité envers une cible enzymatique est suffisante pour induire des effets curatifs, leur sélectivité généralement faible limite leur application. Un axe de recherche pour augmenter d'une part l'affinité des iminosucres pour leur(s) cible(s), et d'autre part leur sélectivité, serait de mettre à profit les mécanismes de la multivalence, bien connus pour les interactions lectines-sucres.

2.1 La multivalence dans les interactions lectines-sucres

2.1.1 Introduction

Les interactions protéines-glucides jouent un rôle primordial dans la fixation des bactéries, virus ou toxines sur les membranes cellulaires. Cependant, l'affinité des glucides monovalents pour leurs récepteurs – nommés lectines – est très basse, typiquement dans la gamme du millimolaire.[65] Pourtant, les processus biologiques associés nécessitent des affinités et des sélectivités bien supérieures. C'est notamment le cas dans les phénomènes de reconnaissance cellulaire mettant en jeu des antigènes ou des anticorps. Pour contrebalancer ces faibles interactions, la Nature a développé des systèmes oligo- et polymériques afin d'augmenter l'affinité de tels systèmes pour les récepteurs concernés. C'est ce que Lee et Lee ont nommé en 1995 « l'effet de cluster »,[66] que l'on connaît aussi sous le nom « d'effet multivalent ».

Ces termes qualifient le phénomène observé lorsque l'affinité (mesurée par la constante de dissociation K_d) d'un système comportant N ligands (ou « épitopes ») pour un récepteur est supérieure à N fois l'affinité du ligand monovalent pour ce même récepteur. Les gains d'affinité (*relative potency*, RP) peuvent être gigantesques. C'est le cas par exemple de clusters de globotriose envers les récepteurs d'une Shiga-toxine,[67] dont le gain d'affinité atteint huit ordres de grandeur, et jusqu'à cinq ordres de grandeur en rapportant ce gain d'affinité au nombre de ligands (*relative potency per ligand unit*, RP/N).[67,68] Depuis le premier exemple de glycodendrimère décrit par Roy *et al.* en 1993,[56,69] des milliers de glycoclusters ont été synthétisés et évalués sur des lectines variées, permettant d'accumuler des informations sur les modes de liaisons et les paramètres déterminants.[65] Les charpentes (ou plateformes) utilisées, allant de systèmes aromatiques à des dendrons aliphatiques, en passant par des nanoparticules, semblent être décisives.[56] L'un des exemples les plus marquants d'application de l'effet multivalent des sucres sur des cibles thérapeutiques est l'inhibition des homologues de Shiga-toxines issues d'*E. coli* par le cluster décamérique STARFISH : celui-ci a montré une inhibition de l'ordre du sub-nanomolaire, plus d'un million de fois supérieure à celle d'un analogue monovalent, permettant une utilisation comme agent thérapeutique empêchant l'adhésion des bactéries aux cellules.[70] De manière générale, le puissant effet multivalent des sucres et son application dans différentes stratégies thérapeutiques ont été abondamment étudiés[68,71,72] pour comprendre comment de telles augmentations d'affinité sont possibles.

2.1.2 Méthodes d'études

La difficulté de l'analyse des mécanismes de l'effet multivalent réside dans l'obtention de données thermodynamiques précises. Différentes méthodes d'analyse sont utilisées, selon les cibles

biologiques visées. Parmi elles, les plus communes sont les tests d'inhibition de l'hémagglutination (HIA pour *Hemagglutination Inhibition Assay*), les tests ELLA (*Enzyme-Linked Lectin Assay*), la titration calorimétrique isotherme (ITC pour *Isothermal Titration Calorimetry*) et la résonance des plasmons de surface (SPR pour *Surface Plasmon Resonance*).[71]

2.1.3 Mécanismes proposés

Plusieurs mécanismes ont été avancés pour expliquer ces augmentations d'affinités (***Figure 11***).[73,72,71] Elles peuvent être dues à plusieurs effets simultanés, selon la nature du récepteur (notamment s'il dispose de plusieurs sites de liaison).

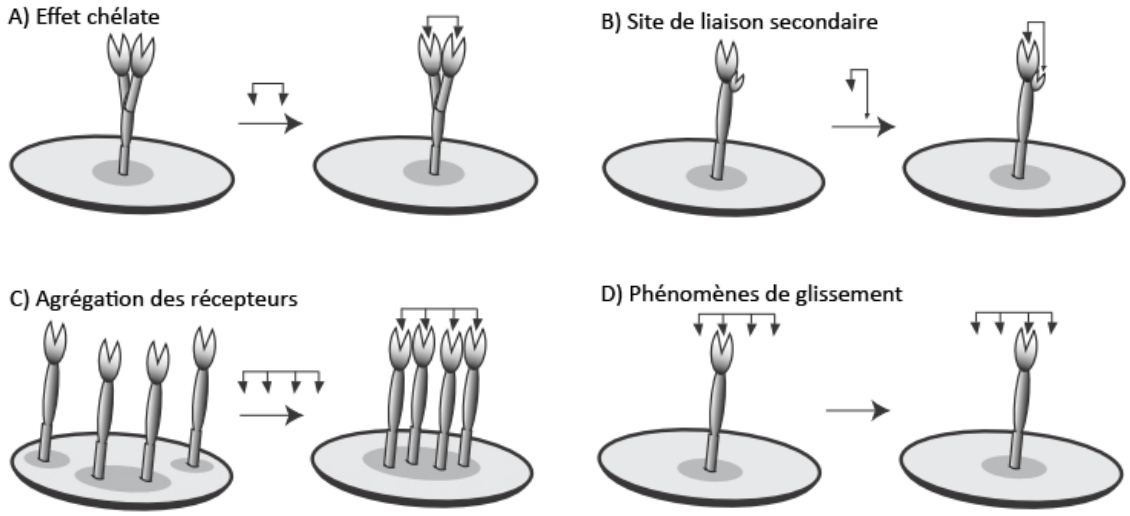


Figure 11 – *Les mécanismes expliquant l'effet multivalent.*[72]

L'effet chélate (A)

Un composé présentant plusieurs ligands peut se lier à un récepteur possédant deux sites de reconnaissance ou plus. Dans cette configuration, la majeure partie du coût énergétique, à savoir le coût entropique, est payé lors de la liaison du premier ligand, la seconde devenant « intramoléculaire ». L'effet chélate conduit ainsi à la réduction de la vitesse globale de dissociation.

Site de liaison secondaire (B)

Si le récepteur présente un site de liaison secondaire en plus du site principal, un composé multivalent (ou « cluster ») verra son affinité augmenter d'autant que la liaison secondaire renforce la liaison principale. Il s'agit en fait d'un cas particulier de l'effet chélate. Le site secondaire peut-être indépendant du site principal ou une extension de celui-ci.

Agrégation des récepteurs (C)

Dans le cas où les récepteurs sont mobiles à la surface de la membrane qu'ils recouvrent, un cluster pourra agréger les récepteurs et se lier à plusieurs d'entre eux, ce qui peut modifier le signal transmis par les récepteurs. Cet effet favorise aussi l'interaction avec des ligands supplémentaires, et donc l'effet chélate.

Phénomènes de glissement (ou « effet de rattachement statistique ») (D)

Un composé multivalent comportant N ligands se lie de façon non-covalente avec un récepteur. Dès lors que le ligand quitte le site de liaison, N-1 autres exemplaires de ce ligand sont très proches du site de liaison et peuvent être fixés à leur tour, allongeant le temps d'interaction du cluster avec sa

cible. Cet effet peut être vu comme une augmentation de la concentration locale en ligand autour du récepteur.

Autres effets

Il faut aussi envisager des effets de stabilisation stérique due à l'encombrement induit par le cluster autour du récepteur, qui empêcherait l'interaction de ce dernier avec un autre ligand monovalent. La liaison simultanée d'un cluster à des récepteurs distincts peut aussi provoquer des phénomènes de précipitation et de formation d'agglomérats.[74]

Ces différents effets permettent ainsi d'expliquer les augmentations d'affinité si impressionnantes observées, les effets chélate et d'agrégation étant cités comme ayant l'impact le plus important. C'est ainsi la nature même des récepteurs qui rend possibles les effets multivalents forts.[72] C'est la curiosité et la perspective de décupler le pouvoir inhibiteur d'un composé qui a poussé les chimistes à s'intéresser à la multivalence sur des protéines ne possédant *a priori* qu'un seul site de reconnaissance, moins accessible que celui des lectines : les enzymes avec leur site actif.

2.2 Les iminosucres multivalents dans l'inhibition de glycosidases[2,75]

Si l'on prend pour cible une enzyme, le composé multivalent correspondant doit posséder des ligands capables de se lier au site actif, c'est-à-dire des inhibiteurs de cette enzyme. Les iminosucres étant de bons inhibiteurs de glycosidases, ces cibles enzymatiques sont apparues comme très pertinentes pour diriger la conception d'iminosucres multivalents.

Malgré l'intérêt des iminosucres comme inhibiteurs de glycosidases et leur analogie évidente avec les glucides classiques, très peu de clusters employant ces ligands ont été synthétisés avant 2009.[2] Ce manque d'intérêt pour cette classe de composés peut être expliqué par plusieurs facteurs. Premièrement, à la différence des lectines, les glycosidases ne disposent théoriquement que d'un récepteur unique (le site actif), excluant dès lors l'effet chélate, principal moteur de l'effet multivalent.[72] Deuxièmement, ce site actif peut être assez difficile d'accès pour des clusters volumineux et à haut poids moléculaire. Troisièmement, les iminosucres sont des glycomimétiques bien plus difficiles à synthétiser – en termes de nombre d'étapes et de fonctionnalisation – que les glycosides habituellement utilisés en multivalence.

2.2.1 Premiers iminosucres divalents

Il faut donc attendre 1998 pour voir les premiers iminosucres divalents (**17a-e**) synthétisés par Johns et Johnson (***Figure 12***).[76] Cependant, parmi ces cinq bis-imino-*C*-glycosides en série DMJ liés par un bras espaceur variable, seul **17a** fut testé sur un panel de sept glycosidases et montra des valeurs d'IC_{50} de 20 et 49 µM pour l'inhibition d'une amyloglucosidase et d'une α-mannosidase, respectivement. Aucun analogue monovalent n'ayant été préparé ni testé, il n'est pas possible d'attester l'existence d'un potentiel effet multivalent.

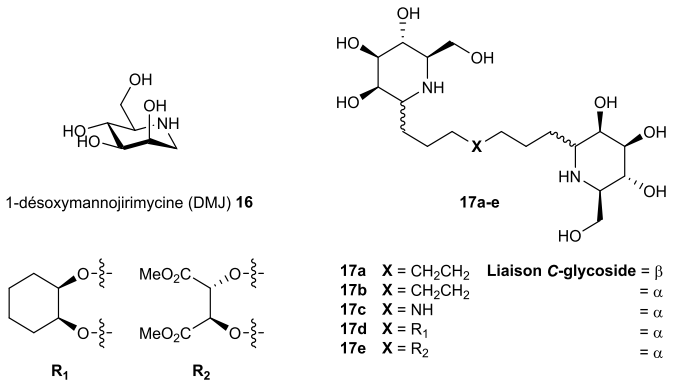


Figure 12 – *Premier iminosucres divalents, espaceur alkyl variable.*

Un an plus tard, Bols *et al.* rapportèrent la synthèse supportée de la première bibliothèque combinatoire d'iminosucres basés sur le motif 1-azafagomine (***Figure 13***).[77] Au sein de cette étude, dont l'objectif premier ne concernait pas la multivalence, les auteurs ont tout de même préparé le composé tétravalent **19** – basé sur le diamino-acide *ornithine* – dans le but « d'évaluer l'effet de la multivalence sur l'inhibition de glycosidases ». Si **19** présente une inhibition certaine de la β-glucosidase d'amande douce (K_i = 70 µM), l'effet multivalent n'a pu être mesuré étant donné le très faible potentiel inhibiteur de l'analogue monovalent le plus proche **18** (K_i > 1 mM).

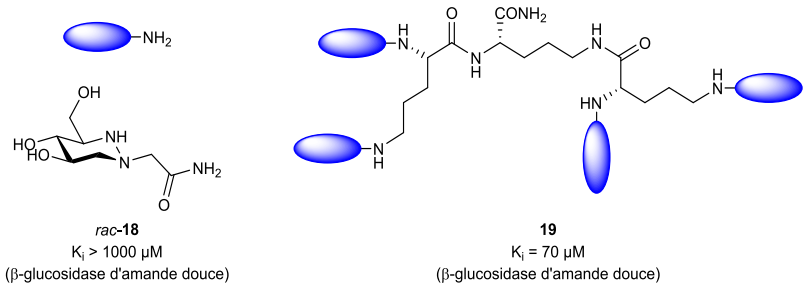


Figure 13 – *Premier iminosucre tétravalent, charpente ornithine.*

Le groupe de Le Merrer a publié en 2003 la synthèse et l'évaluation sur quatre glycosidases commerciales de quatre composés pseudo-di- et pseudo-trisaccharides, dont le dimère **20** (***Figure 14***).[78] Cet iminosucre divalent, dont les deux résidus pseudoglycosides de type azépane en série D-*manno* sont reliés par une chaîne alkyle polyhydroxylée dérivée du D-mannitol, n'a montré une activité inhibitrice que dans le cas de l'α-fucosidase (rein de bœuf). Ce résultat ne représente cependant aucune augmentation d'affinité significative par rapport au plus proche analogue monovalent **21**, rapporté dans une étude précédente.[79]

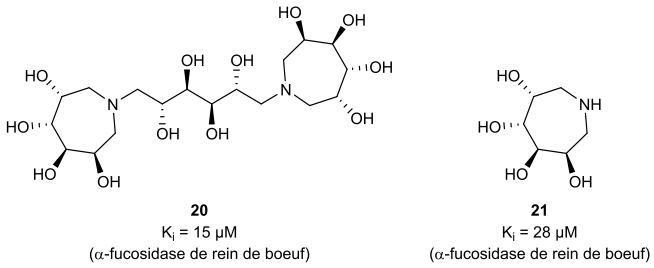


Figure 14 – *Un iminosucre divalent du groupe de Le Merrer, charpente alkyle polyhydroxylée, et son analogue monovalent le plus proche.*

En 2009, Overkleeft *et al.* ont décrit quatre iminosucres dimériques (**22-25**) basés sur un espaceur comportant une structure adamantane, ainsi que les analogues monovalents correspondants **22'-25'** (***Figure 15***).[80] Cependant, les rares augmentations d'affinités (RP) ne dépassent pas 1 une fois rapportées au nombre de ligands (RP/N), indiquant probablement un simple effet statistique. Dans la plupart des cas, la dimérisation est même plutôt préjudiciable pour le pouvoir inhibiteur.

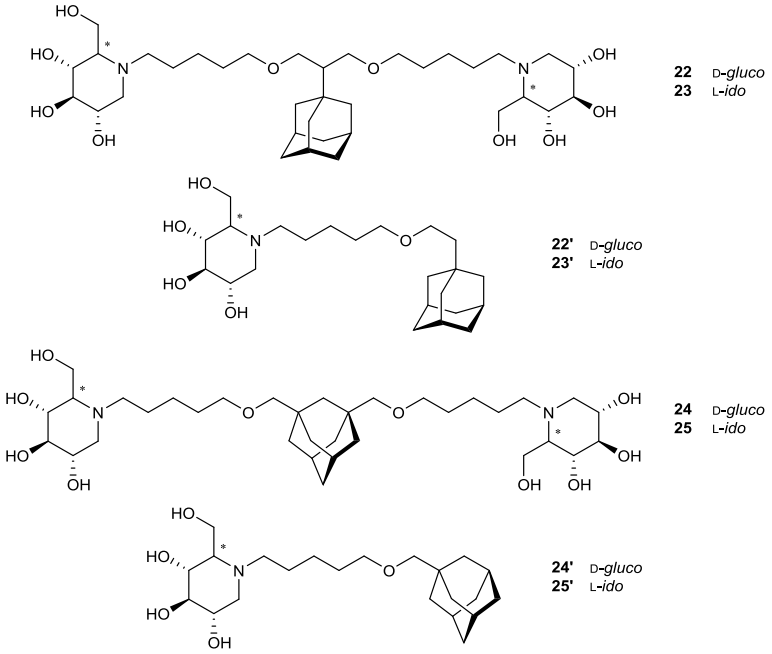


Figure 15 – *Iminosucres mono- et divalents d'Overkleeft et al., charpente alkyl-adamantane.*

2.2.2 Clusters et chimie « click »

La synthèse des iminosucres multivalents a bénéficié du développement de la chimie « click », et notamment de son représentant le plus utilisé, à savoir la réaction de CuAAC (pour *Copper(I)-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition*).[81,82] Celle-ci permet en effet de greffer en conditions douces un grand nombre de ligands muni d'une fonction alcyne ou azoture sur une charpente présentant la fonction complémentaire, et ce avec une excellente chimio- et régiosélectivité (voir 3.2.2). Des hautes valences peuvent ainsi être atteintes plus facilement, et la synthèse devient très divergente, ce dernier point expliquant le relativement grand nombre de clusters publiés en seulement cinq ans.

Cette nouvelle stratégie a permis au groupe de Gouin et Kovensky de réaliser en 2009 la première étude systématique de l'effet multivalent sur l'inhibition de glycosidases. En couplant un dérivé de la DNJ portant un espaceur alkyl court (C_3) portant un azoture terminal avec différentes charpentes acétyléniques dérivés d'oligoéthylène glycol, une petite série de clusters di- et trivalents (**27** et **28**) a pu être préparée (***Figure 16***), comprenant à dessein les analogues monovalents (**26**). Le pouvoir inhibiteur de ces composés sur un panel de sept glycosidases commerciales a ensuite été déterminé.[83]

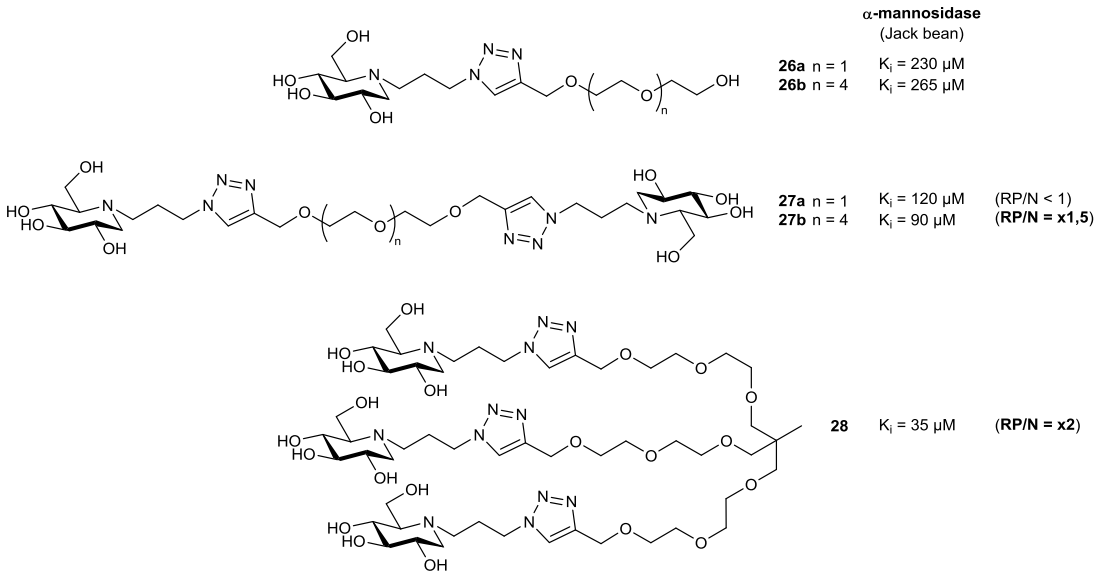
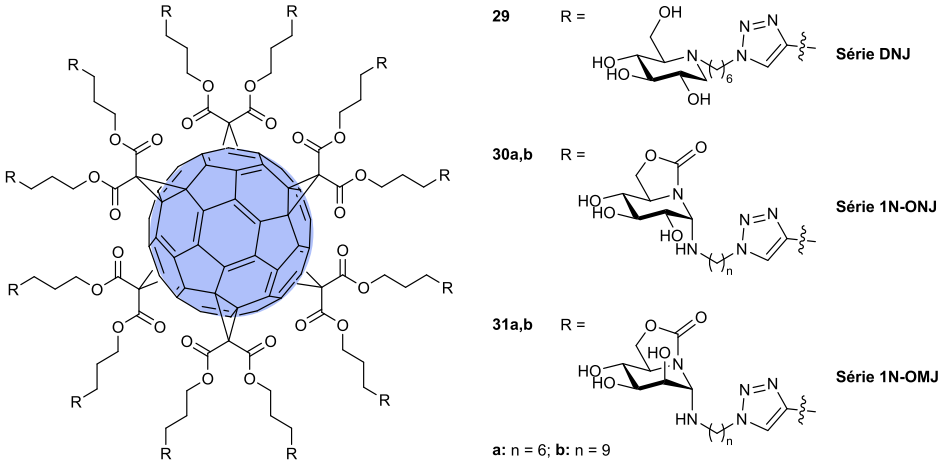


Figure 16 – *Première étude systématique de l'effet multivalent avec des iminosucres.*

Le premier effet multivalent quantifiable pour un cluster iminosucre a été mesuré pour l'inhibition de l'α-mannosidase de Jack bean avec **27b** et **28,** par comparaison avec **26b** et **26a** respectivement. Ces augmentations d'affinités de 1,5 et 2 par iminosucre (respectivement) restent modestes mais significatives.

Un progrès très important, de deux ordres de grandeur, a été réalisé l'année suivant cette étude, avec la publication par notre groupe du cluster dodécavalent **29** (***Figure 17*** et ***Tableau 1***) basé sur une structure fullerène exhibant une augmentation d'affinité spectaculaire : une amélioration d'un facteur 2147, soit 179 par unité de ligand (α-mannosidase de Jack bean).[3] Cette découverte majeure dans le domaine est d'autant plus significative que l'étude montre de plus que l'effet multivalent n'est pas restrictif d'une enzyme particulière, puisque trois autres glycosidases parmi les onze testées ont aussi présenté un effet multivalent (α-galactosidase de café vert, isomaltase de levure boulangère et naringinase de *Penicillium decumbens*).



Les analogues monovalents correspondants aux clusters **29-31** sont de la forme R-CH_2-CH_2-CH_3

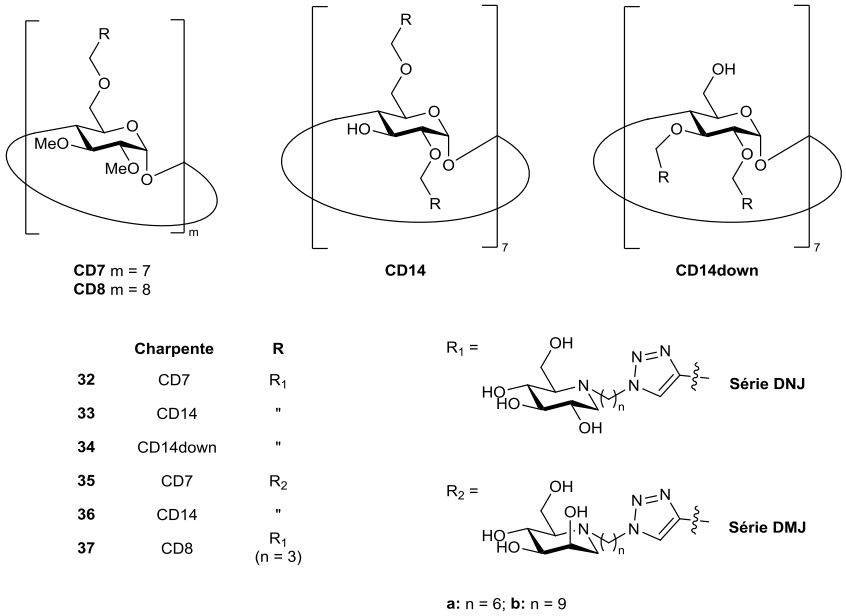
Figure 17 – *Clusters iminosucres dodécavalents, charpente fullerène.*

Tableau 1 – *Constante d'inhibition des composés dodécavalents **29-31** et de leur analogues monovalents envers l'α-mannosidase de Jack Bean.*

Entrée	K_i (µM)	K_i monovalent (µM)	RP	RP/N
29	0,15	322	x 2147	x 179
30a	2,0	596	x 298	x 25
30b	0,81	451	x 557	x 46
31a	0,085	4,5	x 53	x 4,5
31b	0,66	1,8	x 3	< 1

Plus récemment, García-Fernández, Nierengarten, Ortiz-Mellet *et al.* ont publié quatre composés similaires (**30** et **31,** ***Figure 17*** et ***Tableau 1***), en modifiant la nature du ligand et en variant la longueur de l'espaceur.[84] Les ligands de type 1-amino-5*N*,6*O*-oxométhylidènenojirimycine (1N-ONJ), inhibiteur sélectif des α-glucosidases, et son analogue en série D-*manno* (1N-OMJ), censé promouvoir fortement l'inhibition des α-mannosidases, ont été choisis pour étudier les mécanismes d'action de l'effet multivalent chez les iminosucres. Il ressort des tests d'inhibitions, menés sur neuf glycosidases commerciales, que la structure du ligand est déterminante : les clusters **30** exhibent un effet multivalent « négatif » sur toutes les enzymes exceptée l'α-mannosidase, tandis que les clusters **31** ont généralement montré une augmentation d'affinité modeste envers plusieurs glycosidases, y compris sur l'α-mannosidase de Jack bean. De manière intéressante, l'effet multivalent des ligands 1N-OMJ est 5 à 185 fois moins fort que celui généré avec les ligands 1N-ONJ. Les auteurs invoquent un changement de mode de liaison lorsque le nombre de ligands augmente et postulent des interactions non-spécifiques (voir I-2.2.3 ci-dessous). Il faut noter ici que les ligands 1N-ONJ et 1N-OMJ comprennent un atome d'azote tertiaire et désactivé, lui retirant sa capacité de protonation à pH physiologique.

Dans le but de poursuivre l'étude de l'influence des paramètres architecturaux (plateforme, longueur d'espaceur, orientation des ligands, …) sur l'effet multivalent, notre groupe s'est lancé dans la synthèse de clusters basés sur une charpente β-cyclodextrine (***Figure 18***). Comme nous le verrons en détail plus tard (voir I-3.1.1), ces composés présentent de nombreux avantages, le principal résidant dans la différence de réactivité des fonctions hydroxy présentes sur leurs deux faces, permettant un degré de fonctionnalisation variable. Ainsi, les trois plateformes hepta- à tétradécavalentes **CD7**, **CD14** et **CD14down** ont été préparées. La greffe de ligands en série DNJ et DMJ, avec deux longueurs d'espaceur différentes (C_6, C_9) a été réalisée suivant la stratégie de chimie « click » décrite précédemment. L'étude systématique des clusters synthétisés a alors permis une analyse de relation structure-activité rigoureuse (composés **32-36**).[4,85] Un composé modèle pour lequel les ligands ont été remplacés par un groupement hydroxy a aussi été préparé puis testé, afin d'écarter l'éventuelle participation des triazoles ou de la charpente elle-même dans l'inhibition observée.[85] Fin 2013, le groupe de Gouin a aussi préparé le cluster **37**, basé sur une charpente γ-cyclodextrine, avec un espaceur court (C_3).[86]



Les analogues monovalents correspondants aux clusters **32-36** sont de la forme R-CH_2-CH_2-CH_3.
L'analogue monovalent correspondant au cluster **37** est de la forme R_1-CH_2-OH avec n = 3.

Figure 18 – *Clusters iminosucres hepta- à tétradécavalents, charpente cyclodextrine.*

Tableau 2 – *Constante d'inhibition des composés **32** à **37** et de leurs analogues monovalents envers l'α-mannosidase de Jack Bean.*

Entrée	Charpente	Ligand	Espaceur	K_i (μM)	K_i monovalent (μM)	RP	RP/N
32a	CD7	DNJ	C_6	7,7	322	x 42	x 6
32b	"	"	C_9	0,36	188	x 522	x 75
33a	CD14	"	C_6	0,5	322	x 644	x 46
33b	"	"	C_9	0,022	188	x 8546	x 610
34a	CD14down	"	C_6	0,67	322	x 480	x 34
34b	"	"	C_9	0,068	188	x 2765	x 197
35a	CD7	DMJ	C_6	0,49	118	x 241	x 34
35b	"	"	C_9	0,73	111	x 152	x 22
36b	CD14	"	C_9	0,07	111	x 1586	x 113
37	CD8	DNJ	C_3	23	400	x 17	x 2,2

Les mesures de la constante d'inhibition (α-mannosidase de Jack bean, ***Tableau 2***) des clusters en série DNJ ont montré que le pouvoir inhibiteur augmente d'un ordre de grandeur lorsque la valence passe de 7 à 14, ou lorsque la longueur de l'espaceur est incrémentée de 6 à 9 atomes de carbone. Dans le même sens, l'espaceur plus court du composé octavalent **37** en fait un inhibiteur moins puissant que **32**, pourtant de plus faible valence.[4,86] Combinant les paramètres optimaux, le cluster tétradécavalent **33b** (K_i = 22 nM) possédait en 2011, année du début de ce travail de thèse, l'effet multivalent le plus fort pour un inhibiteur de glycosidase : une augmentation d'affinité proche de quatre ordres de grandeur, soit plus de 600 par unité de ligand.[4] Il devance son isomère **34b**,[85] indiquant une forte influence de la répartition spatiale des ligands, paramètre bien étudié pour les interactions lectines-sucres. Les clusters en série DMJ, dont la configuration (série D-*manno*) correspond aux substrats nominaux de l'α-mannosidase de Jack bean, semblent suivre des règles légèrement différentes : si l'augmentation de la valence permet au cluster 14-valent **36b** d'atteindre un K_i de 70 nM et un effet multivalent notable (RP/N = 113), la longueur d'espaceur la plus courte (C_6) semble être favorable pour ce ligand, puisqu'un meilleur effet multivalent est observé pour **35a**

(C_6) par rapport à **35b** (C_9) (RP/N = 34 contre 22, respectivement). De plus, l'effet multivalent obtenu avec le cluster heptavalent **35a** (DMJ) est près de 6 fois supérieur à celui observé avec son analogue **32a** en série DNJ (RP/N = 34 contre 6, respectivement), tandis que la relation s'inverse pour les clusters 14-valents **33b** (DNJ) et **36b** (DMJ) (RP/N = 610 contre 113, respectivement). Alors qu'un ligand peu affin (série DNJ) donne des augmentations d'affinité croissantes avec la valence, il semble à première vue étonnant que le ligand plus affin (série DMJ) se trouve limité dans cet effet, soulignant donc une forte interdépendance de la triade ligand/espaceur/valence.

D'autres charpentes basées sur des sucres (glucose, galactose, tréhalose), une porphyrine ou différents conformères d'un calix[4]arène ont été utilisées par le groupe de Gouin pour une série de tests d'inhibition de glycosidases avec un seul ligand (DNJ) et une seule longueur d'espaceur (C_3).[86] Le résultat le plus probant concerne le cluster tétravalent **38** (K_i = 0,5 µM sur l'α-mannosidase de Jack bean, ***Figure 19***), qui montre un effet multivalent rapporté au nombre de ligands (RP/N = 200) remarquable pour une si petite valence. Un effet multivalent a été mesuré pour l'inhibition de trois autres glycosidases, même si son intensité envers les différentes enzymes varie beaucoup suivant la charpente.

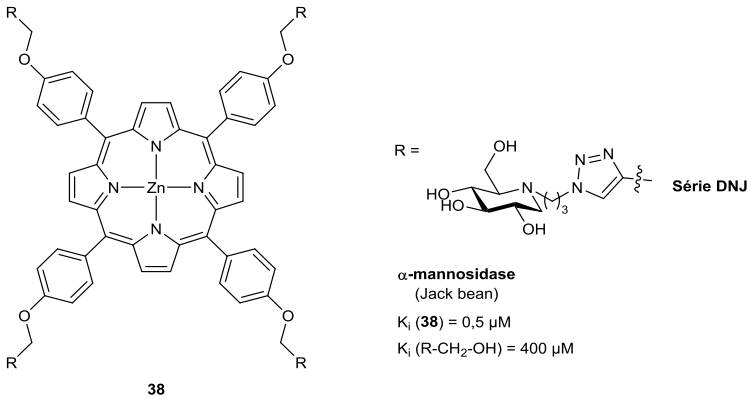


Figure 19 – *Cluster tétravalent, charpente porphyrine.*

En 2014, les premiers exemples de nanoparticules décorées par des iminosucres ont été générés par auto-assemblage de différents ratios de glycopolypeptides portant des iminosucres (**39**) ou des ligands galactose (**40**). Ces structures de type micelle (***Schéma 4***), d'une taille de 50 nm d'après les mesures de microscopie à force atomique, ont montré une augmentation d'affinité envers l'α-mannosidase de Jack bean allant jusqu'à x3440 pour **41e** et **41f** par rapport à l'analogue monovalent (***Tableau 3***).[87] C'est aussi l'une des premières études montrant un possible effet de plateau (pas d'augmentation d'affinité entre **41e** et **41f**) pour l'effet multivalent.

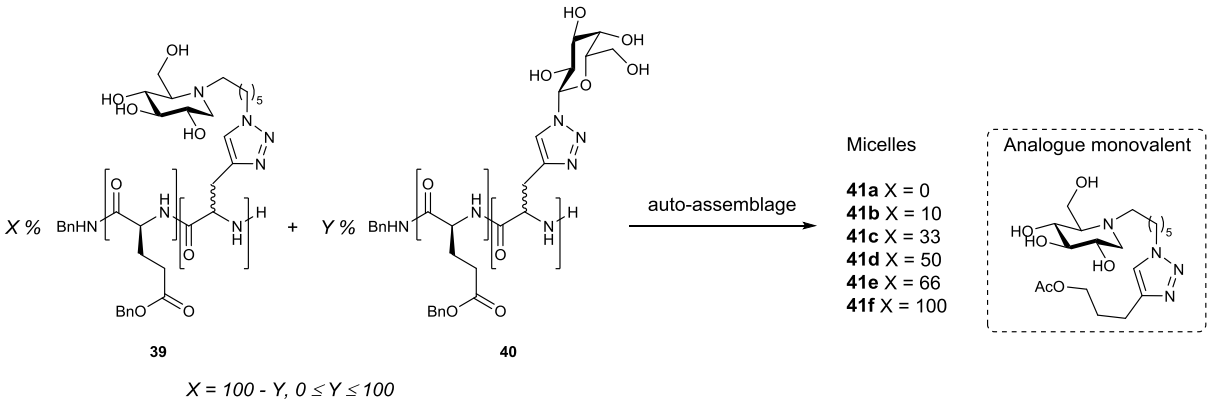


Schéma 4 – *Préparation de nanoparticules décorées avec des iminosucres par auto-assemblage de glycopolypeptides.*

Tableau 3 – *Constante d'inhibition des nanoparticules **41a-f** et de leur analogue monovalent envers l'α-mannosidase de Jack Bean.*

Entrée	X (%)	K_i (µM)	K_i monovalent (µM)	RP
41a	0	-	516	-
41b	10	7,0	"	x 74
41c	33	1,2	"	x 430
41d	50	0,6	"	x 860
41e	66	0,15	"	x 3440
41f	100	0,15	"	x 3440

Finalement, une récente étude de Robina, Cardona *et al.* a porté sur la synthèse et l'évaluation d'une librairie de clusters tri- à nonavalents portant un ligand pyrrolizidine, obtenus en couplant le dérivé 6-azido-6-*epi*-6,7-désoxycasuarine **43** (***Figure 20***) à une variété de charpentes.[88] L'utilisation de ce ligand bicyclique était motivée par l'idée de cibler particulièrement les enzymes d'intérêt thérapeutique de type glucoamylase. Les résultats d'inhibition sur 8 glycosidases commerciales, dont l'amyloglucosidase d'*Aspergillus niger*, ne démontrent cependant aucun effet multivalent par comparaison avec les composés **42-44** (***Figure 20***), choisis comme analogues monovalents.

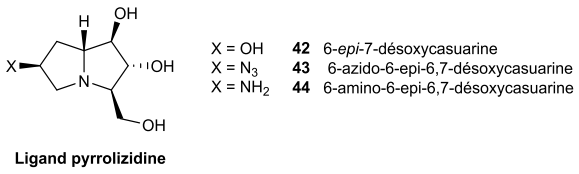


Figure 20 – *Ligands pyrrolizidine utilisés par Robina et al.*

2.2.3 Discussion mécanistique

Les résultats décrits ci-dessus montrent sans ambiguïté l'existence d'un effet multivalent des iminosucres comme inhibiteurs de glycosidases. Cependant, ces enzymes ne disposent que d'un seul site actif, écartant *a priori* le phénomène de chélation décrit plus haut (voir I-2.1.3). En plus des autres mécanismes connus pour les lectines, l'une des principales hypothèses avancée par García-Fernández, Nierengarten, Ortiz-Mellet *et al.* pour expliquer les augmentations d'affinité spectaculaires observées pour l'α-mannosidase de Jack bean consiste en la prise en compte d'interactions non-spécifiques des clusters avec la surface de l'enzyme.[84] Ces interactions faibles pourraient renforcer les interactions spécifiques avec le site actif et augmenter ainsi l'affinité globale du cluster pour l'enzyme (***Figure 21***, A). Pour les glycosidases dont le site actif est profond (***Figure 21***, B), cet effet pourrait même être le seul en jeu : en interagissant dans une région proche de l'entrée

du site actif, le cluster en bloquerait l'accès, causant une inhibition par gène stérique. D'après les auteurs, ce phénomène ne pourrait donner lieu qu'à des augmentations d'affinités faibles à moyennes, loin des valeurs observées pour l'α-mannosidase de Jack bean, qui répond le mieux à la multivalence.[84]

Cette métalloenzyme particulière, appartenant à la famille GH38 et catalysant l'hydrolyse de liaisons glycosidique α-[1,2], α-[1,3] et α-[1,5] de résidus mannose avec rétention de configuration, est connue pour sa large tolérance de substrats. D'un poids moléculaire important (230 kDa), elle serait d'après Kumar et Gaikwad un dimère dont le site actif serait formé par l'association de deux sous-unités de taille différente.[89] Une justification plausible de son extrême susceptibilité vis-à-vis de clusters iminosucres serait liée au fait qu'elle présente à proximité du site actif d'autres sites de reconnaissance de sucres, ses substrats naturels étant des glycoconjugués. Dans ce cas, l'effet chélate décrit pour les lectines pourrait être invoqué (voir ci-dessous).

L'analyse du mode de liaison des clusters les plus affins représente donc une démarche essentielle pour comprendre l'effet multivalent des iminosucres en détail. Des mesures de titration calorimétrique isotherme sur les composés **32b**, **33b**, **35b**, **36a** et **36b** ont montré une stœchiométrie de liaison proche de 1 (à l'exception de **36b**).[85]

En parallèle, Nierengarten, Ortiz-Mellet *et al.* ont utilisé les clusters **30a,b** (qui présentent une affinité à la fois pour les lectines et les glycosidases) dans des tests d'inhibition compétitive enzyme-lectine (ELLA) modifiés.[84] Dans ces tests, une lectine et une glycosidase sont en compétition pour se lier à **30a,b**, en présence ou non d'un puissant inhibiteur compétitif mono- ou multivalent de la glycosidase. L'analyse des résultats suggère des modes de liaison très différents selon l'enzyme utilisée : en fonction de l'accessibilité du site actif, des interactions spécifiques (site actif) ou non-spécifiques sont mises en jeu, ce qui expliquerait en partie la grande dépendance du pouvoir inhibiteur des clusters **29-31** vis-à-vis des différentes enzymes testées.[84,90] Par exemple, les tests réalisés avec l'α-mannosidase de Jack bean – dont le site actif serait peu profond et facile d'accès – montreraient que l'augmentation spectaculaire d'inhibition de **30a,b** est due à une combinaison d'interactions spécifiques et non-spécifiques (***Figure 21***, A), tandis que pour l'α-glucosidase maltase – dont le site actif serait profond et peu accessible – il s'agirait uniquement d'interactions non-spécifiques bloquant l'entrée du site actif (***Figure 21***, B), ne conduisant qu'à peu ou pas d'augmentation d'affinité.[84]

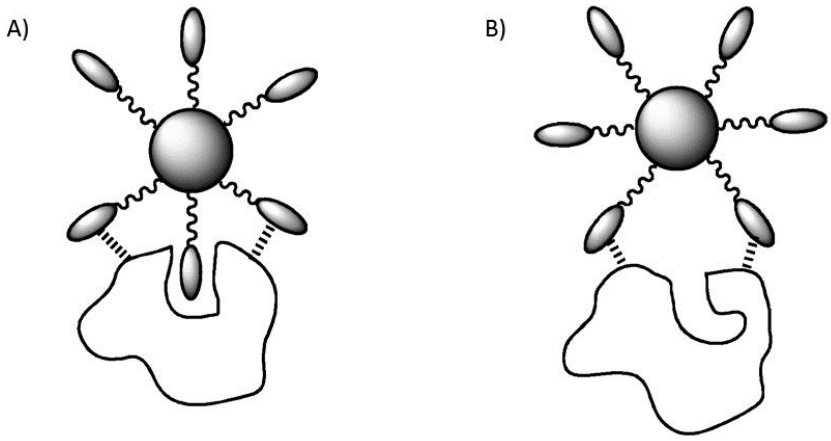


Figure 21 – *Différents modes de liaison.*[2]

Gouin *et al.* ont pour leur part réalisé des expériences de diffusion dynamique de la lumière (DLS pour *Dynamic Light Scattering experiments*) et de microscopie à force atomique (AFM) sur leurs composés comportant un espaceur à trois atomes de carbone. Dans le cas de l'α-mannosidase, ces analyses ont révélé la formation d'agrégats d'autant plus volumineux que l'inhibiteur testé exhibe un effet multivalent important, notamment dans le cas du cluster porphyrine **38**.[86] A l'inverse, les glycosidases peu sensibles à l'effet multivalent – par exemple l'α-glucosidase de levure de boulanger – n'ont pas généré d'agrégats. Ces résultats vont dans le sens d'un phénomène de liaisons intermoléculaires entre les clusters et plusieurs enzymes à la fois (« cross-linking »), qui serait favorisé par le caractère dimérique de l'enzyme.

Finalement, une étude de l'effet multivalent sur l'α-L-fucosidase conduite par Robina *et al.*[91] a permis d'obtenir des structures par diffraction des rayons X du composé **45** (***Figure 22***) lié à l'enzyme. Un des ligands de ce cluster trivalent, seul dans le panel testé à démontrer un effet multivalent (d'un facteur 2,3) sur deux α-L-fucosidases (rein de bœuf et *Bacteroides thetaiotaomicron*), est clairement localisé dans le site actif, et l'absence de densité électronique détectable au-delà du cycle benzénique central semble exclure toute interaction avec des sites secondaires qui stabiliseraient la structure.

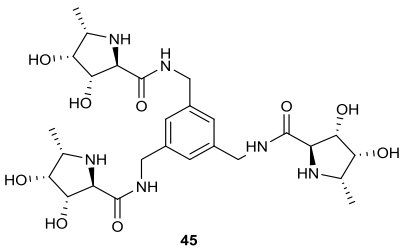


Figure 22 – *Inhibiteur trivalent d'α-L-fucosidases, charpente aromatique.*

2.3 Iminosucres multivalents et inhibition de glycosidases d'intérêt thérapeutique

2.3.1 β-Glucocérébrosidase (Maladie de Gaucher)

Parmi les chaperons pharmacologiques actuellement évalués pour la β-glucocérébrosidase (GCase) – dont la mutation est responsable de la maladie de Gaucher – la *N*-nonyl-DNJ **10**, le α-1-*C*-DIX **14** et les dérivés de l'isofagomine **15** font partie des plus prometteurs (voir I-1.3.4, ***Figure 10***, p. 31). Suite à la découverte de l'effet multivalent exhibé par les clusters iminosucres-cyclodextrines **32** et **33** (voir I-2.2.2, ***Figure 18***) dont le ligand est une DNJ *N*-alkylée, l'idée d'évaluer ces composés comme inhibiteurs de la GCase s'est imposée rapidement. L'objectif était de démultiplier l'effet chaperon de la *N*-nonyl-DNJ **10** (***Figure 7***, p. 29), puisque d'après une règle expérimatentale établie par Fan et Asano, l'effet chaperon est d'autant plus fort que l'inhibiteur utilisé est puissant.[92] Logiquement, une première évaluation de clusters portant plusieurs exemplaires de **10** a été réalisée. Elle a permis de déterminer que ces composés présentaient un effet multivalent sur l'enzyme étudiée, la Cérédase® (GCase recombinante). Là aussi, les clusters disposant de l'espaceur le plus long (C_9) ont réalisé les meilleures inhibitions, avec **32b** (IC_{50} = 8 nM) respectivement 80 et 200 fois plus puissant que la *N*-nonyl-DNJ **10** et son analogue monovalent. De plus, les tests *in vivo* sur des fibroblastes porteurs de la mutation N370S ont montré que **32b** induisait une augmentation d'activité significative de la GCase (augmentation de 60% de l'activité résiduelle de l'enzyme à 10 µM par rapport à des cellules non traitées), confirmant de fait l'existence d'un effet chaperon ainsi que la pénétration cellulaire de **32b** et son accès au réticulum endoplasmique et/ou au lysosome.[5]

Ces résultats prometteurs ont dès lors motivé une évaluation plus systématique, impliquant une librairie de clusters beaucoup plus conséquente.[6] En plus des charpentes cyclodextrines, des plus petites valences (plus « *drug-like* ») ont été atteintes à l'aide d'une simple structure pentaérythritol. Un ligand de type α-1-*C*-DIX (**14**, ***Figure 10***, p. 31), inhibiteur puissant de la GCase, a aussi été introduit (**46** à **49**, ***Figure 23***). Des analogues de type prodrogue, portant des fonctions acétates ont également été synthétisés pour améliorer la pénétration cellulaire (**47b**, ***Figure 23***).

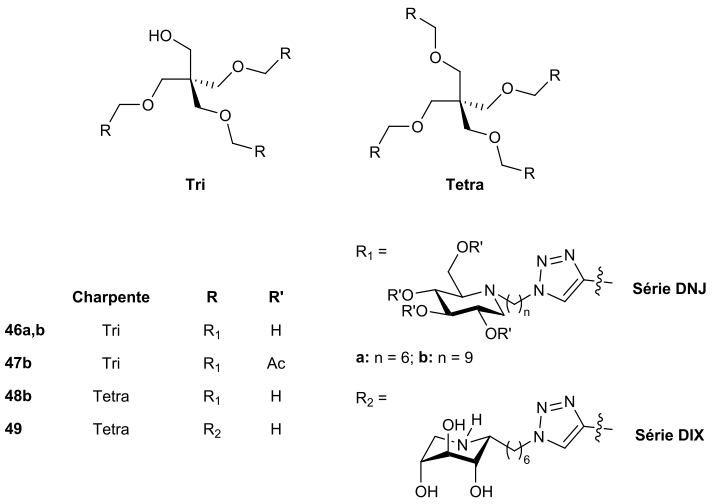


Figure 23 – *Chaperons multivalents pour la maladie de Gaucher et la mucoviscidose, charpente pentaérythritol.*

Parmi les 14 clusters testés, seuls **32b** et **49** ont démontré de faibles mais significatifs effets multivalents sur la GCase placentaire humaine (RP/N ≈ 2).[6] La non-reproductibilité des résultats

obtenus précédemment avec **32b** sur la Cérédase® (RP/N = 29 pour **32b**)[5] s'est avérée particulièrement décevante. La plupart des composés ont démontré un effet chaperon, même faible, avec un maximum de x3,3 à 10 µM obtenu pour **48b**.[6] Ces résultats encourageants s'accompagnent d'une piste intéressante : **47b** a promu une augmentation d'activité supérieure à son analogue déacétylé **46b** (x3,0 contre x2,4 respectivement), et à une concentration plus faible d'un ordre de grandeur (1 µM contre 10 µM respectivement).[6] Cette observation peut s'expliquer par un comportement de type prodrogue : les groupements acétates favorisent la pénétration cellulaire, puis son retirés *in situ* par les estérases du milieu cellulaire. Cependant, ces résultats ne démontrent aucun effet multivalent sur l'effet chaperon, puisque celui de la *N*-nonyl-DNJ est déjà de x3,2 à 10 µM.[6]

2.3.2 Glucosidases du réticulum endoplasmique (mucoviscidose)

Une librairie semblable de clusters a aussi été testée comme correcteurs de la protéine CFTR, dont la mutation est responsable de la mucoviscidose (voir IV-4.2).[7] Cette étude a été, là aussi, motivée par les résultats spectaculaires obtenus pour la multivalence dans l'inhibition de glycosidases commerciales (voir I-2.2.2).[3,4] En effet, l'efficacité du *miglustat* **9** (voir I-1.3, ***Figure 7***, p. 29) a été étudiée en 2011 (tests cliniques en phase II)[93] pour son utilisation en tant que correcteur de la protéine *delF508*-CFTR mutée. Le sauvetage de cette protéine pourrait être dû à la capacité de **9** à inhiber les glucosidases I et II du RE (voir IV-4.2).[29,94,95] Naturellement, les clusters de *miglustat* sont apparus très attractifs pour évaluer l'existence d'un potentiel effet multivalent sur l'activité correctrice de la protéine *delF508*-CFTR.

Des résultats remarquables ont été obtenus pour les composés trivalents **46a** (EC_{50} = 1 µM) et **46b** (EC_{50} = 0,5 µM) (***Figure 23***), qui se sont révélés respectivement 110 et 225 fois plus puissants que le *miglustat* **9** (EC_{50} = 112 µM),[7] démontrant ainsi le premier effet multivalent sur la correction de *delF508*-CFTR. En revanche, les analyses consacrées à la détermination du mode d'action de ces clusters ont montré que, contrairement à l'hypothèse de départ, le potentiel correcteur de **46a,b** n'était pas dû à un effet multivalent sur l'inhibition des glucosidases I et II du RE. Une interaction avec la calnexine est cependant suggérée par des expériences de compétition,† pour les composés multivalents **46a,b** comme pour leur analogue monovalent.[7] L'évaluation de dérivés de **46a,b** portant une fonction fluorescente (*via* la fonction alcool libre) pourrait permettre de mieux comprendre les mécanismes d'action encore mal connus des correcteurs de CFTR.[96]

† Expériences de compétition pour l'induction d'un effet potentiateur, menées avec la technique d'efflux d'iodure pour :
1) déterminer la cible biologique de **46b** et son analogue monovalent (par compétition avec des inhibiteurs connus des différentes cibles possibles) ;
2) déterminer si **46b** a le même mode d'action que son analogue monovalent.

2.3.3 α-Mannosidase II de l'appareil de Golgi

Des inhibiteurs puissants de l'α-mannosidase II de l'appareil de Golgi (GM-II) comme la *swainsonine* **6** (voir *Figure 4*, p. 25) ont un fort potentiel comme agent anti-cancéreux, en bloquant la biosynthèse des protéines *N*-glycanes. Cependant, l'inhibition simultanée de l'α-mannosidase lysosomale (LM), très apparentée, cause des symptômes d'α-mannosidose.[86] Cette mauvaise sélectivité limite donc l'application de telles molécules comme agents thérapeutiques.

Les différentes études ont montré que les glycosidases ne réagissent pas toutes avec la même intensité à la multivalence. Dans ce contexte, Gouin *et al.* ont misé sur une possible sélectivité d'inhibition envers ces enzymes-clés en évaluant deux de leurs composés tétravalents (dont **38**) pour l'inhibition des analogues de GM-II et LM.[86] Ce cluster à charpente porphyrine a montré un effet multivalent (RP/N > 3,5) et une sélectivité pour GM-II. Ceci dit, aucune inhibition de LM n'a été détectée à 1 mM pour la référence monovalente, atténuant en partie la portée du résultat précédent.

2.4 Les charpentes : clés de la multivalence

Tirant profit des récents développements dans le domaine de la chimie « click » et de son utilisation déjà validée par de multiples exemples de glycodendrimères,[56,97] la majorité des clusters iminosucres préparés à ce jour l'ont été *via* une réaction de CuAAC.[2] Une stratégie convergente de synthèse de clusters iminosucres a logiquement émergé de façon univoque : la préparation de charpentes polyacétyléniques sur lesquelles différents ligands *N*-azidoalkylés sont facilement greffés en grand nombre. La stratégie inverse, si elle n'a pas été de mise pour les iminosucres, est aussi possible et est aussi largement utilisée.[97–99]

Ainsi, la conception des charpentes polyacétyléniques devient un enjeu capital pour les études à venir dans le domaine, d'autant plus que les études présentées ci-dessus soulignent toutes l'importance de la plateforme utilisée pour construire un cluster iminosucre, puisqu'elle détermine plusieurs paramètres :

- valence,
- taille,
- forme, topologie (orientation des ligands),
- rigidité, flexibilité,
- pénétration cellulaire,
- solubilité.

Tout d'abord, la valence est évidemment l'un des paramètres clé pour expliquer les effets sur des enzymes modèles et/ou les appliquer sur des glycosidases d'intérêt thérapeutique. Jusqu'ici, la plus grande valence pour un cluster iminosucre atteint une valeur de 14 avec les composés basés sur une β-cyclodextrine polypropargylée comme **33** ou **34**. De plus, ces deux composés illustrent à merveille l'impact décisif de la répartition dans l'espace des ligands (topologie). Même si les points de comparaison manquent encore, le caractère rigide ou non de la charpente semble jouer un rôle dans l'obtention d'effets multivalents forts : les clusters porphyrine **38** ou fullerène **29** en sont de bons exemples avec des valeurs de RP/N autour de 200. Il est probable que la pénétration cellulaire des clusters soit un paramètre décisif pour une application thérapeutique, expliquant pourquoi les charpentes de petites tailles – plus « *drug-like* » – donnent en général de meilleurs résultats dans les tests cellulaires, comme en témoignent les composés tri- et tétravalents **46**-**49** dérivés du

pentaérythritol. La solubilité et l'accessibilité synthétique des charpentes rentrent aussi en compte dans la conception des clusters. Par exemple, les plateformes polyhydroxylées présentent à la fois l'avantage d'être propargylées relativement facilement, et d'apporter un surcroît de solubilité dans l'eau si certaines fonctions hydroxy restent libres. En outre, la structure de la charpente en elle-même représente un paramètre de variabilité supplémentaire. La présence d'une cavité particulière, comme dans les cyclodextrines ou les porphyrines, n'a pourtant pas encore été exploitée pour les iminosucres, tout comme la fluorescence de plateformes aromatiques.

Le grand nombre de paramètres dépendant de la charpente incite donc à poser une série de questions. Jusqu'à quel point, notamment pour les grandes valences, la charpente a-t-elle un impact sur l'effet multivalent d'un cluster iminosucre ? A-t-elle plus d'influence pour les petites ou les grandes valences ? La flexibilité de la charpente peut-elle permettre aux clusters, en se déformant, d'accéder plus facilement au site actif des enzymes visées, et ainsi générer des augmentations d'affinité supérieures ?

Au début de ce travail de thèse, c'est le cluster iminosucre de plus grande valence (cluster **33b**) qui possédait le meilleur effet multivalent sur l'α-mannosidase de Jack bean (RP/N = 610). Augmenter encore la valence peut-il permettre de surpasser ce résultat ?

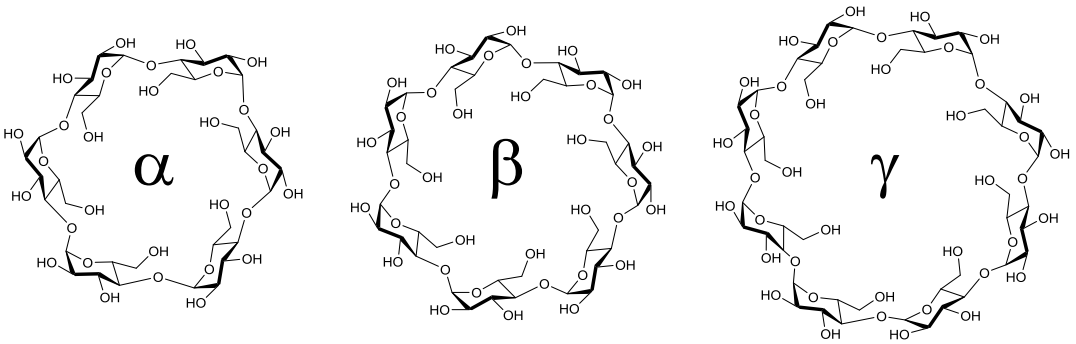
Pour répondre à ces questions, de nouveaux clusters iminosucres ont été préparés et évalués au cours de ce travail de thèse (voir IV-3 et IV-4). En parallèle, nous avons poursuivi le travail fructueux commencé avec les charpentes cyclodextrines. En effet, parmi les différentes charpentes utilisées dans la multivalence des iminosucres, les cyclodextrines combinent avantageusement les différents éléments présentés ci-dessus (valence, cavité, topologie, …). Elles sont donc des plateformes de choix pour poursuivre l'étude de l'effet multivalent dans l'inhibition de glycosidases.

3 Néocyclodextrines préfonctionnalisées

3.1 Cyclodextrines natives

3.1.1 Généralités

Les cyclodextrines[100] (CD) sont des oligosaccharides cycliques issus de la dégradation de l'amidon par plusieurs microorganismes, dont la bactérie *Bacillus macerans*. Les représentants de cette famille les plus connus comptent 6, 7 ou 8 unités D-glucose (α-, β- et γ-CD respectivement, ***Figure 24***) reliées entre elles par une liaison α-[1,4]. Elles sont produites à l'échelle industrielle, l'α- et la γ-CD étant utilisées dans l'industrie alimentaire. Des macrocycles constitués de 9 unités glucose (δ-CD) ou plus ont été isolés, mais leur utilisation est limitée du fait qu'ils ne forment pas une cavité bien définie.[101]



	α	β	γ
Diam. Int.	0,47-0,53 nm	0,60-0,65 nm	0,75-0,83 nm
Diam. Ext	1,46 nm	1,54 nm	1,75 nm
Vol. Cavité	0,104 nm^3	0,156 nm^3	0,257 nm^3
Solubilité dans H_2O à TA	145 g/L	18,5 g/L	232 g/L

Figure 24 – *Cyclodextrines communes.*[100]

Au 1er juillet 2014, la base de données SciFinder recense plus de 70000 références contenant le terme « cyclodextrine » (depuis 1951). Cette pléthore d'études consacrées à cette classe de composés donne une idée de la variété des applications des cyclodextrines dans les différents domaines scientifiques. L'intérêt des chercheurs pour ces cyclomaltoses tient pour beaucoup à leur structure. Leur forme de cône tronqué s'accompagne en effet de plusieurs caractéristiques particulières :

- une face plus étroite, dite « face primaire », comptant autant de fonctions hydroxy primaires que d'unités glucose (OH-6) ;
- une face plus large, dite « secondaire », comptant deux fois plus de fonctions hydroxy secondaires que d'unités glucose (OH-2 et OH-3) ;
- une cavité rendue hydrophobe grâce aux atomes d'hydrogène H-3 et H-5 qui pointent vers l'intérieur de la cyclodextrine ;
- une solubilité dans l'eau favorisée par la structure polyol (pour α- et γ-CD).

Ces caractéristiques, variables selon la taille (α-, β- ou γ-CD), ont fait des cyclodextrines des charpentes de choix pour de nombreuses applications. Pour leur cavité hydrophobe, les CD sont amplement utilisées comme molécules hôtes dans les complexes d'inclusion, notamment dans le domaine de la chimie supramoléculaire.[101] La fonctionnalisation, complète ou partielle, des faces polyhydroxylées est d'une utilité synthétique indéniable : pour la synthèse de ligands (ou

« cavitands ») aux propriétés finement ajustées,[102] pour la catalyse[103–105] ou encore dans la multivalence des sucres et des glycomimétiques.[106]

La perfonctionnalisation ou la fonctionnalisation régiosélective des groupes en position 2, 3 ou 6 est désormais acquise et certaines méthodes sont mêmes utilisées industriellement.[107] En revanche, la différenciation régiosélective de plusieurs positions sur une même face est autrement plus délicate. Ce domaine étant abondamment décrit par des spécialistes,[107,108] nous ne proposons ici qu'un bref aperçu de deux stratégies plus ou moins récentes utilisées pour la di- et tri-différenciation‡ de la face primaire des CD : tout d'abord par protection régiosélective de groupes hydroxy sur des CD natives, ou bien par déprotection régiosélective de CD perbenzylées.

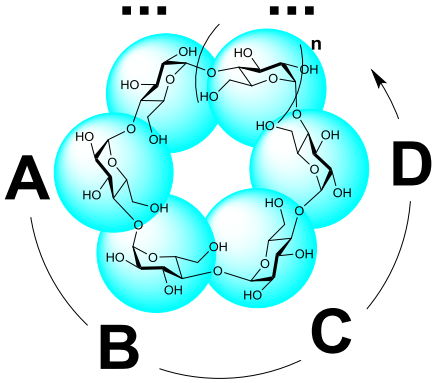


Figure 25 – *Labellisation relative des positions sur la face primaire des CD (vue du dessous par la face secondaire).*

3.1.2 Fonctionnalisation partielle de la face primaire par protections régiosélectives

La première stratégie consiste à protéger sélectivement une ou plusieurs fonctions hydroxy sur une CD native. Par exemple, la formation de groupements partants sulfonates pontants de longueur et de rigidité variables, suivie de leur déplacement par un nucléophile est une stratégie bien décrite par Tabushi et Fujita.[108–110] Le choix des chlorures de sulfonyl utilisés détermine la régiosélectivité du dérivé formé (***Figure 26***).

‡ Par abus de langage, le terme « différenciation » sera utilisé pour parler de la différenciation régiosélective de 2 positions ou plus sur la face primaire d'une cyclodextrine.

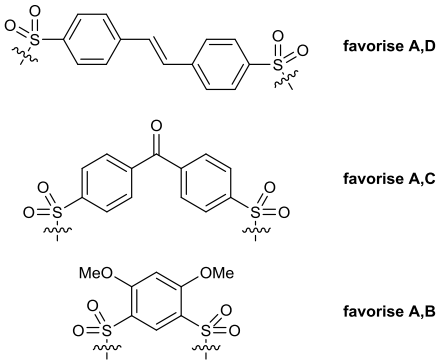


Figure 26 – *Exemples de groupements sulfonyl utilisés pour la différenciation régiosélective d'α- ou β-CD.*

Si des méthodes à faible rendement - nécessitant des purifications difficiles – existaient déjà, Armspach et Matt ont décrit en 1998 une stratégie de groupement protecteur très encombré, nommé « supertrityl » (**50**), permettant la différenciation de l'α-CD (***Schéma 5***).[111] Après la première protection, l'encombrement favorise la seconde protection sur une position éloignée, en C ou D. La méthylation des alcools restants facilite la purification par chromatographie flash. Le régioisomère [A,B] et des produits trisubstitués sont aussi isolés, mais dans des quantités faibles. Les auteurs confirment que cette méthode fonctionne à l'échelle du gramme. La déprotection sélective des supertrityls par une solution aqueuse de HBF_4 dans l'acétonitrile permet alors de fonctionnaliser les différents produits purs.[112]

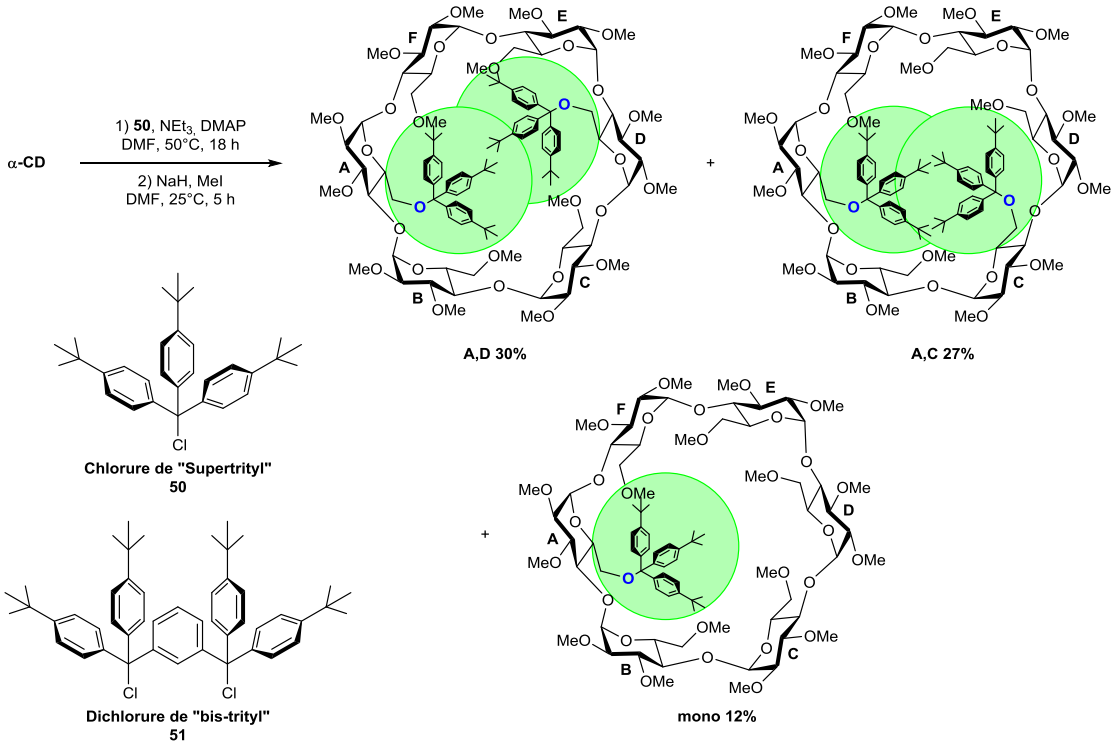


Schéma 5 – *Stratégie "Supertrityl" pour la différenciation de l'α-CD.*

Afin de préparer sélectivement les CD [A,B]-différenciées, les auteurs ont développé une autre méthode basée sur un « bis-trityl » pontant (**51**, ***Schéma 5***).[113] Une combinaison des deux stratégies a été décrite récemment pour la synthèse régiosélective de CD différenciées en [A,B:D,E] (***Schéma 6***).[114] La déprotection des bis-trityls par HBF_4 aqueux, la mésylation du tétraol obtenu et le

déplacement des groupements partants donne accès à une large gamme de composés di-différenciés sur 4 des 7 positions de la β-CD.

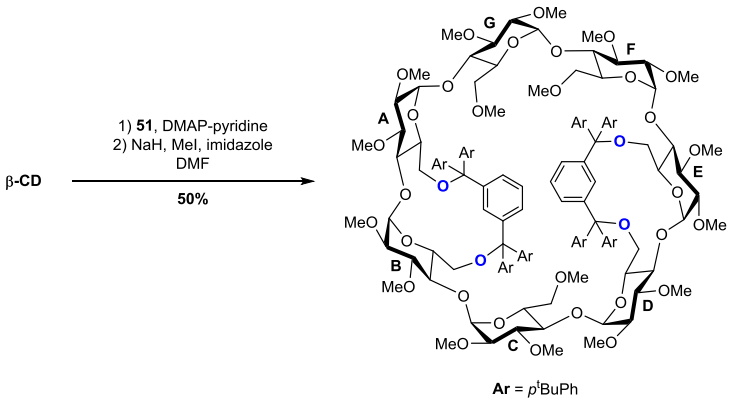


Schéma 6 – *Exemple de double pontage [A,B:D,E] de β-CD.*

En particulier, le remplacement des bis-trityls par des sulfates pontants a rendu cette stratégie encore plus utile avec la publication par le même groupe de leur ouverture régiosélective par différents nucléophiles (α- et β-CD).[115] Si les phosphures donnent d'excellentes régiosélectivités, les résultats sont plus nuancés avec les phtalimidures, azotures ou thioacétates. La régiosélectivité de l'ouverture est expliquée par un encombrement stérique différent des atomes de carbones C-6^A et C-6^B (***Schéma 7***). La méthode a été élargie récemment à la di- et tétrafonctionnalisation des γ-CD.[116]

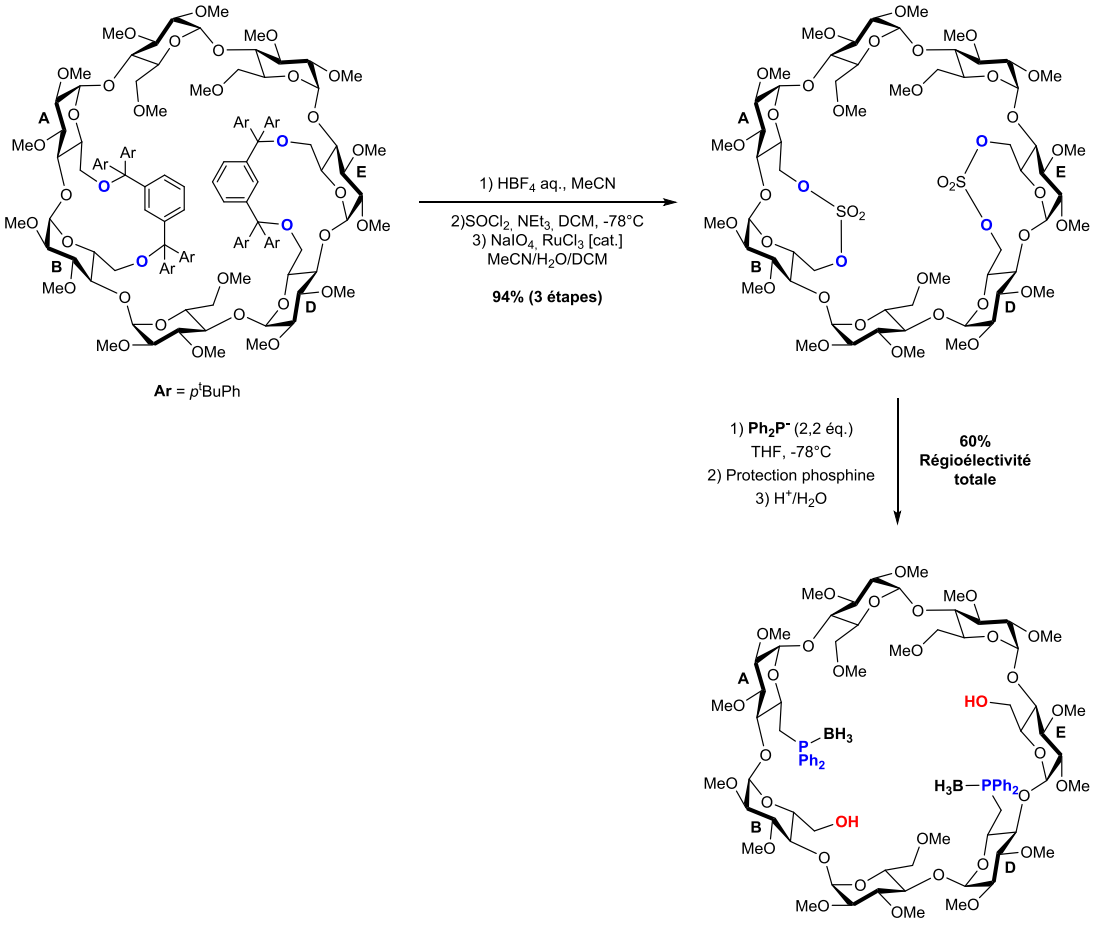


Schéma 7 – *Ouverture régiosélective de ponts sulfates sur la face primaire de β-CD.*

3.1.3 Fonctionnalisation partielle de la face primaire par déprotections régiosélectives

La seconde stratégie repose au contraire sur des déprotections régiosélectives de CD perbenzylées. En découvrant l'utilité du DIBAL-H et TIBAL pour des réactions de dé-*O*-benzylation de sucres perbenzylés, Sollogoub et Sinaÿ[117] ont rendu possible la différenciation progressive des fonctions hydroxy de la face primaire de CD perbenzylées. En effet, la bis-dé-*O*-benzylation de type [A,D] réalisée sur des α- ou β-CD par un excès de DIBAL-H permet d'obtenir les diols correspondant avec un excellent rendement. La première déprotection forme un oxyde de diisobutylaluminium encombré, et celui-ci va favoriser l'éloignement maximum d'une deuxième déprotection (***Schéma 8***).[107,118]

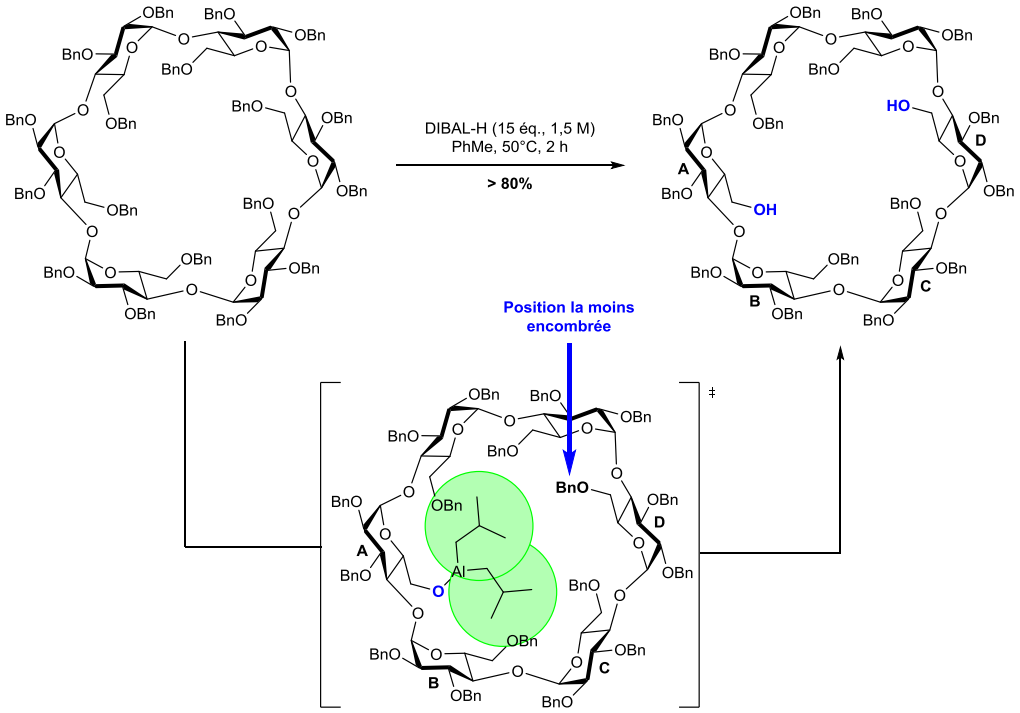


Schéma 8 – *Utilisation de DIBAL-H pour la différenciation régiosélective d'α-CD.*

Mieux encore, les auteurs ont constaté qu'en installant un espaceur pontant les deux positions libérées, une seconde bis-déprotection régiosélective au DIBAL-H est possible dans le sens horaire (« *clockwise* », lorsqu'on regarde la face primaire du dessus).[117] En effet, la décompression stérique des positions déprotégées facilite l'accès de DIBAL-H sur une seule des positions adjacentes. La bis-déprotection suit alors les mêmes règles que précédemment. Cet approfondissement de la stratégie trouve son apogée dans une méthode de tridifférenciation – dite de « pont à bascule » – utilisant la métathèse des oléfines (***Schéma 9***).[119]

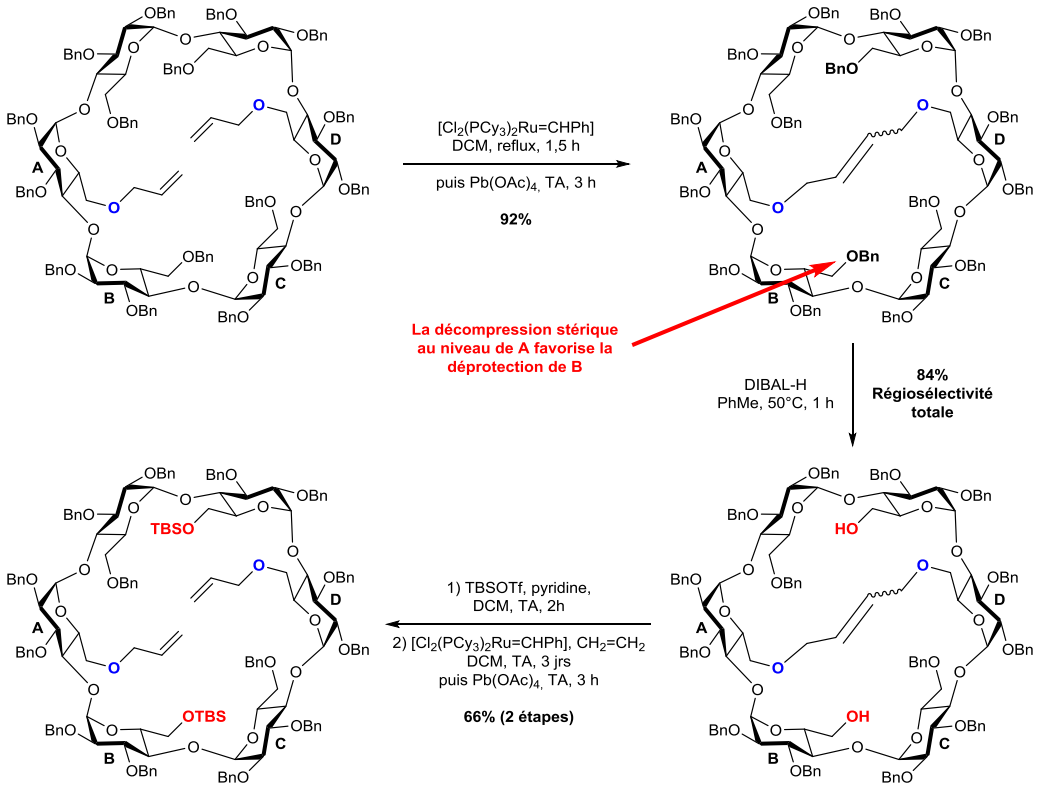


Schéma 9 – *Stratégie du « pont à bascule » pour la synthèse de CD tridifférenciées.*

3.2 Une approche modulaire

Même en considérant l'éventail de plus en plus large des stratégies de différenciation sur la face primaire des CD, seul un faible nombre de combinaisons hétérofonctionnalisées est accessible à l'heure actuelle. Les spécialistes estiment que la possibilité de différencier chaque glucose selon une méthode rapide et efficace, but ultime de ce domaine de la chimie, ne sera pas disponible avant longtemps.[107] De plus, les stratégies décrites ci-dessus requièrent tout de même un nombre d'étapes non négligeable, ainsi que des réactifs non triviaux. Ces raisons nous ont incité à développer une approche complètement différente. Une alternative à la fonctionnalisation et à la différenciation des CD natives serait la synthèse modulaire et/ou itérative de CD ou néo-CD déjà préfonctionnalisées : il est plus aisé de fonctionnaliser et analyser un mono- ou disaccharide qu'une CD complète. Une telle approche modulaire aurait l'avantage de donner accès, de manière divergente, à une variété de néo-oligosaccharides cycliques ou linéaires de taille et de valence facilement ajustable, tout en différenciant les faces.

Depuis la première synthèse totale de l'α-cyclodextrine par Ogawa *et al.* en 1985,[120] quantité de travaux ont décrit la synthèse d'oligosaccharides variés, cycliques ou non. Cette abondante recherche des années 1980-1990 a été efficacement compilée par Stoddart *et al.*[121] et en conclusion, ces derniers insistent sur l'idée d'une approche modulaire conduisant à des cyclooligosaccharides dont la fonctionnalité sur les chaînons alterne. Cependant, les remarquables efforts synthétiques réalisés n'ont pas forcément contourné simultanément tous les désavantages associés à cette stratégie : nombreuses étapes de synthèse, rendements de cyclisation bas, régiosélectivité variable, mélange d'anomères ou de macrocycles difficiles à séparer…[122] Il convient donc de concevoir une approche radicalement différente, avec un cahier des charges bien défini.

3.2.1 Cahier des charges

Afin de préparer des CD préfonctionnalisées, il faudra donc :

1) synthétiser des intermédiaires mono- ou oligosaccharides déjà différenciés, ou portant des protections orthogonales appropriées. La différenciation devra être la plus économe possible en étapes et être réalisée avec de hauts rendements ;
2) préparer un panel de quelques blocs à moyenne ou haute valeur ajoutée, qui seront alors à disposition pour synthétiser une librairie de charpentes néocyclodextrines préfonctionnalisées ;
3) que la liaison entre ces modules se fasse avec de hauts rendements, de façon chimiosélective, régiosélective et en conditions douces pour préserver d'éventuels groupements protecteurs sensibles ;
4) que cette liaison, si possible de type α-[1,4] afin de mimer la liaison présente dans les CD natives, puisse être créée par cyclooligomérisation ou par couplage itératif suivi d'une macrocyclisation.

Au regard de ces conditions, il apparaît que le récent concept de « chimie click » se présente comme une réponse adaptée pour les phases de couplage et/ou de cyclisation.

3.2.2 Chimie « click » et CuAAC

En 2001, Sharpless *et al.* introduisent le concept de chimie « click ».[123] Pour rentrer dans cette catégorie, la réaction doit être *« de champ d'application large, donner de très hauts rendements, ne générer que des sous-produits inoffensifs éliminables par des méthodes non-chromatographiques, et être stéréospécifique […]. Les caractéristiques d'un tel processus incluent des conditions de réaction simples (idéalement insensibles à l'eau ou l'oxygène), des produits de départ et réactifs facilement accessibles, l'utilisation de solvants bénins (comme l'eau), facilement éliminables ou pas de solvant du tout, et un isolement du produit simple. La purification, si nécessaire, doit être effectuée par une méthode non-chromatographique, comme la cristallisation ou la distillation, et le produit doit être stable dans des conditions physiologiques »*. Les conclusions de la réflexion soulignent l'intérêt de se concentrer sur des réactions impliquant la création de liaisons carbone-hétéroatome, à défaut de liaisons carbone-carbone. Ostracisant de fait la chimie des énolates, pourtant si riche, les auteurs conseillent entre autres l'utilisation de composés insaturés dans des réactions de cycloadditions, notamment 1,3-dipolaires.

Ce n'est donc pas une surprise de voir émerger l'année suivante une réaction très performante répondant aux critères de la chimie « click »,[124] version améliorée de la réaction de Huisgen[125] : la cycloaddition [3+2] azoture-alcyne 1,3-dipolaire catalysée au cuivre (I), connue sous l'acronyme anglais CuAAC (***Schéma 10***). La découverte pratiquement simultanée de cette réaction par Meldal *et al.*[81] et Sharpless *et al.*[82] marque un tournant dans l'histoire de la chimie. La possibilité de créer régiosélectivement des liens 1,4-triazole dans des conditions douces a permis aux chimistes d'élaborer des structures nouvelles et aux biochimistes de synthétiser des bioconjugués beaucoup plus aisément. Cette réaction est devenue l'un des outils les plus utilisés dans la chimie, en particulier en glycochimie.[97] Sa polyvalence a aussi fait son succès dans d'autres domaines à l'interface avec la chimie, comme les sciences des matériaux ou la biologie.[126,127] De façon complémentaire, une version alternative par catalyse avec des complexes demi-sandwich de ruthénium permet d'obtenir la régiosélectivité opposée (RuAAC).[128,129]

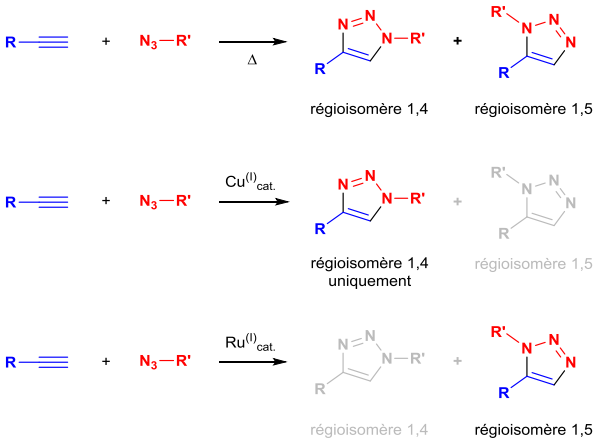


Schéma 10 – *Réaction de Huisgen, CuAAC et RuAAC.*

La CuAAC permet donc de « clicker » par cycloaddition [3+2] une molécule portant un alcyne terminal avec une autre portant un groupement azoture. Le produit de la réaction est un conjugué dans lequel les deux entités sont reliées par un 1,4-triazole.

Le mécanisme de la catalyse, qui augmente la vitesse de la réaction jusqu'à sept ordres de grandeur, a été débattu pendant une dizaine d'année.[126] Récemment, le groupe de Fokin a publié dans *Science* un mécanisme révisé (***Schéma 11***) faisant intervenir deux atomes de cuivre (I), avec une étude rigoureuse justifiant la régiosélectivité.[130] D'après les auteurs, la première étape consiste en la complexation d'un premier atome de cuivre par la liaison triple. Ensuite, la formation de l'acétylure de cuivre et la complexation d'un second atome de cuivre sont simultanées. La coordination réversible de l'atome N-1 de l'azoture sur le second atome de cuivre permet l'attaque nucléophile de l'acétylure sur l'atome N-3 de l'azoture, et ainsi la formation de la première liaison covalente C-N (***Schéma 11***). Ensuite, le métallacycle intermédiaire formé subit une réduction de cycle pour former la seconde liaison covalente C-N, et donner un triazolure de cuivre. Finalement, un échange cuivre-proton a lieu et fournit le régioisomère [1,4].

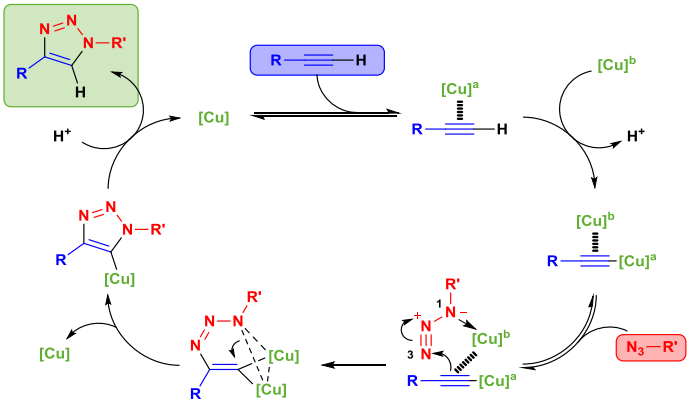


Schéma 11 – *Cycle catalytique de la CuAAC.*[130]

Il est important de noter que les alcynes non terminaux protégés par un groupement silylé ne sont pas réactifs dans les conditions de la CuAAC.[82] Le mécanisme ci-dessus, en faisant intervenir un acétylure de cuivre, permet d'expliquer cette absence de réactivité des alcynes protégés. La RuAAC et la réaction de Huisgen non-catalysée peuvent, elles, être réalisées avec des alcynes disubstitués.

Un avantage notable de la CuAAC est la formation de 1,4-triazoles disubstitués. En effet, ce motif mime assez bien les différentes caractéristiques électroniques d'une liaison amide Z (entre autres)[131] (*Figure 27*) :

- le carbone électrophile du carbonyle de l'amide est mimé par le carbone quaternaire du triazole ;
- le caractère accepteur de liaison H de l'atome d'oxygène du carbonyle de l'amide est mimé par l'atome d'azote portant un doublet non liant du triazole ;
- le caractère donneur de liaison H de l'amide est mimé par la liaison C-H du triazole.

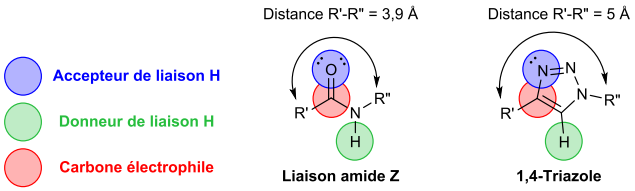


Figure 27 – *Les 1,4-triazoles comme bioisostères des liaisons amide Z.*

Cependant, la distance entre les deux substituants est environ 20% plus élevée dans le cas du triazole. Il existe bien évidemment une autre différence majeure : le triazole forme un lien stable, peu enclin à être rompu, en contraste fort avec la liaison amide qui est sensible à l'hydrolyse, notamment enzymatique, dans les milieux biologiques. Les triazoles sont aussi considérés comme bioisostères d'autres éléments structuraux présents dans le vivant, comme les motifs *trans*-oléfiniques par exemple.[131] Ces caractéristiques renforcent l'intérêt d'utiliser la CuAAC et les liens qu'elle engendre dans la conjugaison de substances actives entre elles ou avec des charpentes, des vecteurs, etc…

3.2.3 Analogues de cyclodextrines par chimie « click »

La douceur des conditions de CuAAC, sa régiosélectivité et sa chimiosélectivité font de cette réaction un candidat de choix pour créer des néocyclodextrines par une approche modulaire. En outre, des résultats de Crich *et al.*[132] et Dondoni *et al.*[133] suggèrent que le remplacement, dans les oligosaccharides, d'une unité monosaccharide interne par un triazole préserve l'orientation des résidus externes et la longueur globale des chaînes.[134] L'usage de la chimie « click » en tandem de la glycochimie est désormais une stratégie largement utilisée.[97,135] Dès lors, plusieurs groupes ont déjà construit des analogues de CD en utilisant la CuAAC.

Westermann *et al.*[136] ont décrit en 2005 les macrocycles « sucrés » **52-54** (*Figure 28*), synthétisés en liant par CuAAC deux exemplaires de dérivés 6-désoxy-6-azido-D-glucose par un dialcyne terminal, puis en cyclisant les composés par métathèse des oléfines.

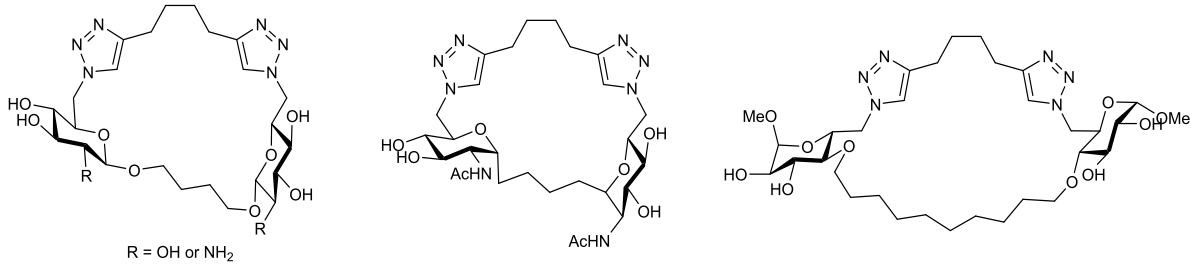


Figure 28 – *Macrocycles « sucrés » de Westermann et al.*

Leyden et Murphy[137] ont utilisé un principe similaire en 2009, mais en condensant d'abord deux exemplaires de l'acide 1-β-azido-6-glucuronique **55** sur avec une diamine, puis en cliquant un dialcyne pour générer le macrocycle **56** (*Schéma 12*). Ces composés ne sont pas à proprement parler des analogues de CD, d'autant plus que les stratégies utilisées produisent des composés dépourvus d'une quelconque symétrie axiale.

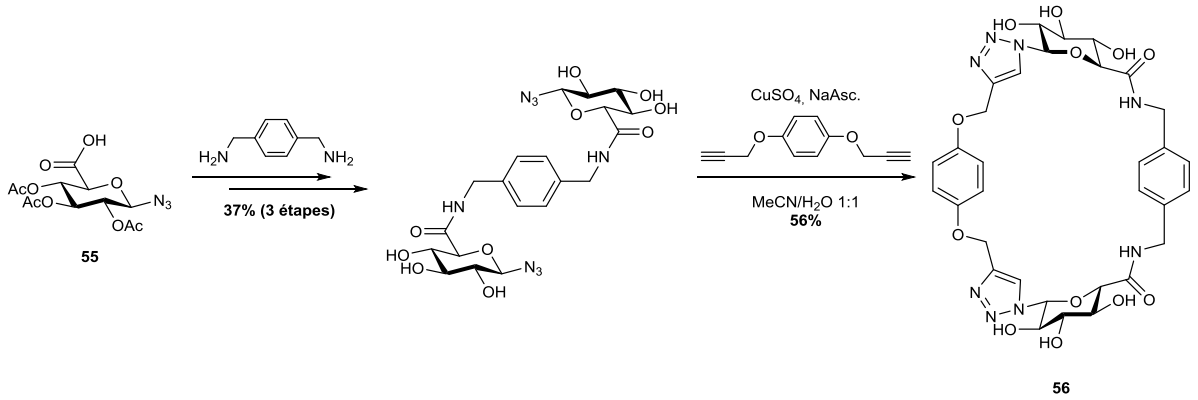


Schéma 12 – *Synthèse d'un macrocycle contenant un motif D-glucose par CuAAC.*

Dans le but de synthétiser des récepteurs artificiels pour de petites biomolécules, Billing et Nilsson[138] ont préparé en 2005 le macrocycle **58** par cyclodimérisation du monomère 6-désoxy-6-azido-D-glucosamine **57** (*Schéma 13*). Muni en position 2 d'un espaceur de type aminoacide terminé par une cétone α,β-acétylénique, celui-ci a cyclisé en présence de $Cu^{(I)}$ dans l'acétonitrile pour donner un composé hybride, là encore difficilement classifiable comme analogue de CD. Cependant, la symétrie C_2, la liaison [2,6] et l'utilisation de la CuAAC en conditions diluées sont des premiers pas constructifs.

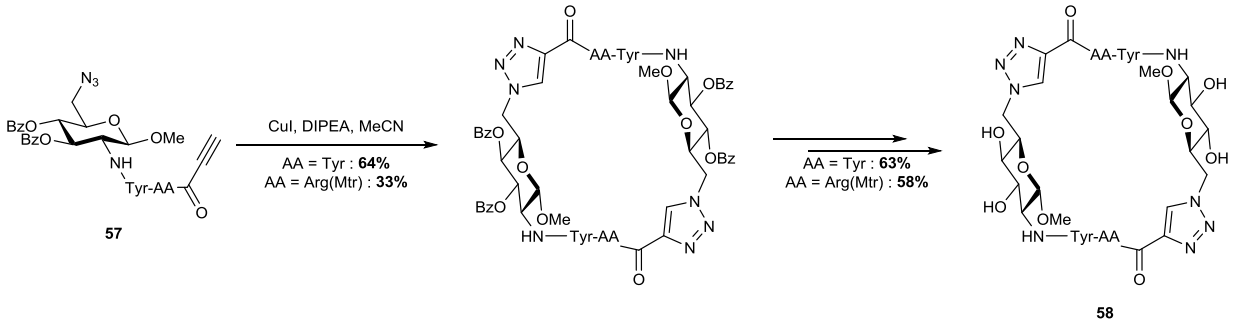


Schéma 13 – *Synthèse de macrocycles hybrides sucres/aminoacides par Billing et Nilsson.*

Les premiers véritables analogues de CD synthétisés par chimie « click » ont été préparés à la même époque par le groupe de Gin.[122,139] La cyclotrimérisation de **59** et la cyclodimérisation de **60** et **61** ont respectivement donné **62**, **63** et **64** avec des rendements moyens à bons (*Schéma 14*). Ces composés ont été obtenus en mélange avec des homologues cyclooligomériques et/ou polymériques. Le dimère de **59** n'est pas observé, car la cyclisation est rendue impossible par la trop grande tension de cycle. Ici, le lien est bien de type α-[1,4] et les macrocycles comportent deux faces distinctes, l'une portant des alcools primaires, la seconde les alcools secondaires. Hormis le lien triazole, La configuration D-*manno* reste la seule différence majeure avec les CD natives. Rigoureusement, les auteurs ont associé des mesures de dosage par spectrométrie UV/visible ou par

déplacement de signal RMN pour attester de la formation de complexe d'inclusions. Si **64** conserve les propriétés d'hôte des β-CD,[122] les cavités de **62** et **63** se sont révélées trop exiguës pour permettre l'entrée de la plupart des petites molécules organiques.[139] Dans leur analyse, les auteurs recommandent l'installation de groupes protecteurs orthogonaux pour des transformations régiosélectives, avec la chimie supramoléculaire en perspective.[139]

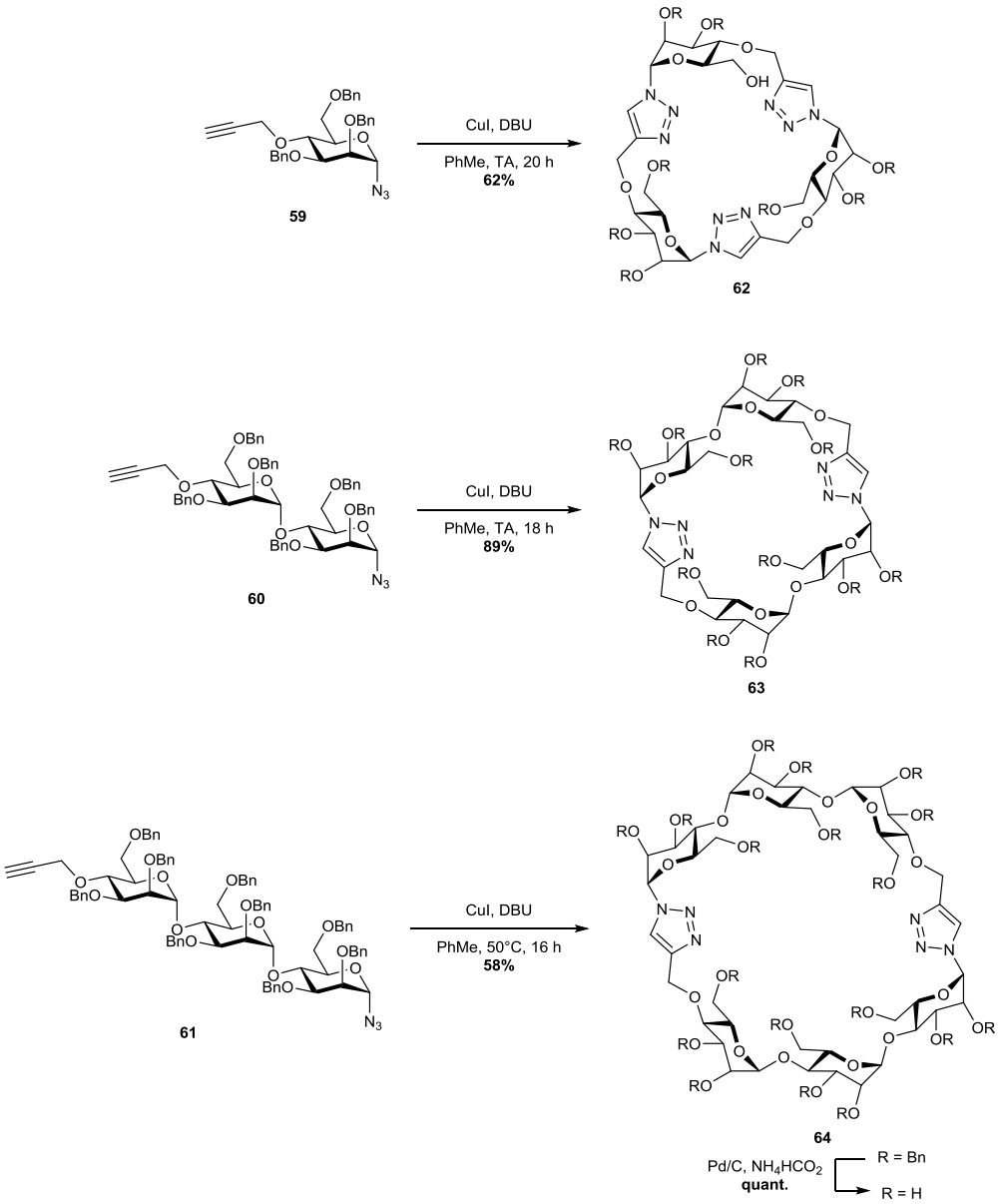


Schéma 14 – *Synthèse des premières véritables néocyclodextrines construites par CuAAC.*

Avec le dessein de tester leur sialylation par *Trypanosoma cruzi trans-sialidase*, Campo, Field et *al.*[140] ont utilisé en 2010 des conditions de CuAAC employant du cuivre métallique pour synthétiser les néo-CD **66-67** à partir du 1-β-azido-6-*O*-propargyl-D-galactose **65**, et **69-70** à partir du 1-β-*O*-propargyl-6-azido-D-galactose **68** (***Schéma 15***). Selon la concentration du milieu réactionnel, les cyclooligomérisations ont fourni des ratios variables de cyclodimère et -trimère, accompagnés d'espèces homologues cyclooligo- et/ou polymériques. La purification par HPLC a cependant permis l'isolement des différents produits dans des rendements globalement faibles. Même si elles ne disposent que d'une seule face polyhydroxylée et d'un lien β-[1,6], les glycomacrocycles **66**, **67**, **69**

et **70** peuvent être considérés comme des néo-CD du fait de leur symétrie axiale C_2 ou C_3. En outre, leur intérêt comme charpente est directement illustré par leur fonctionnalisation enzymatique par des groupes sialyles en position 3. L'articulation associée au lien [1,6] alloue une flexibilité supplémentaire et permet la formation de **66** et **69** par cyclodimérisation, ce qui s'est révélé impossible pour le lien [1,4] de **59** (*Schéma 14*).

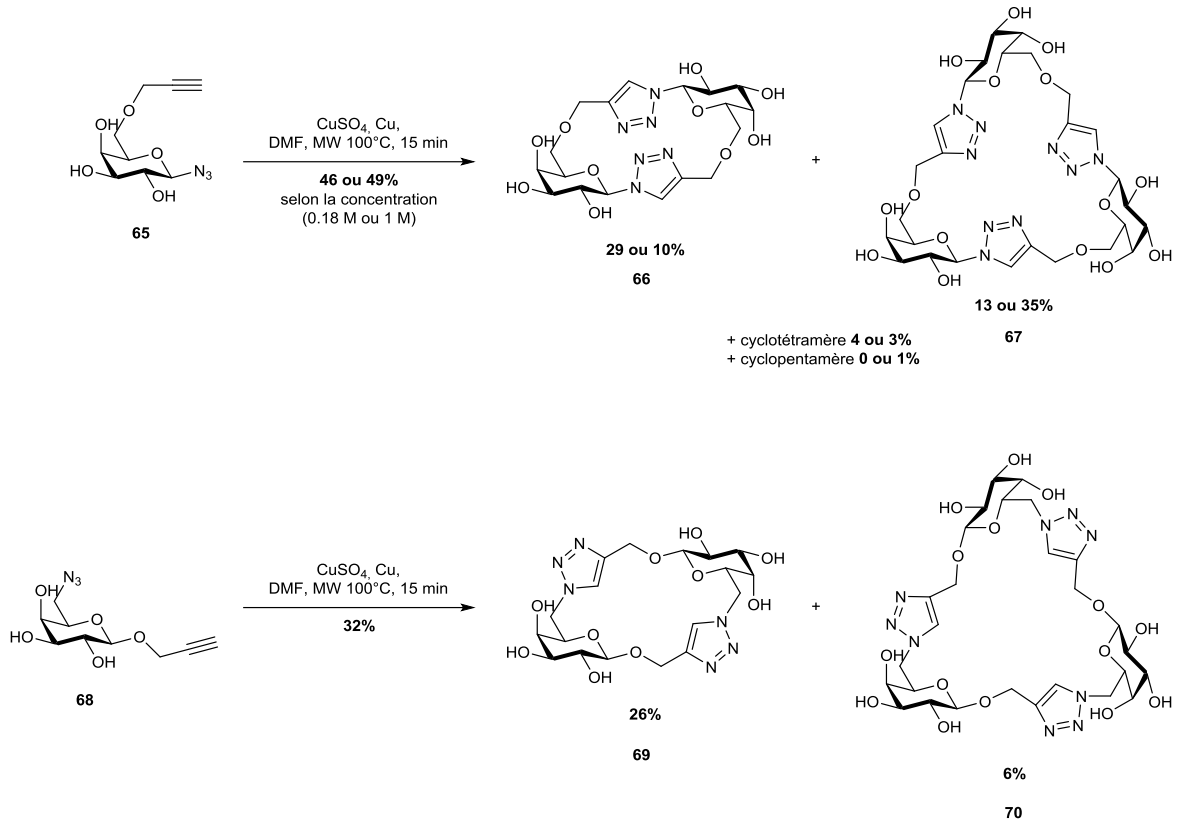


Schéma 15 – *Néocyclodextrines par cyclooligomérisation en lien β-[1,6].*

La cyclooligomérisation montre ses limites (prévisibles) dans les deux exemples précédents, avec l'obtention de mélanges souvent difficiles à purifier. Une alternative consiste en la synthèse itérative d'un oligosaccharide linéaire, suivie d'une macrocyclisation. Cette stratégie a été brillamment mise en pratique pour la synthèse d'analogues de CD par Chen *et al.* en 2009.[141] L'utilisation de motifs acide sialique (choisi pour augmenter la solubilité du composé final), galactose, lactose et de réactions enzymatiques couplées à la CuAAC ont conduit à la synthèse de plusieurs macrocycles de tailles variées (*Figure 29*) – avec des rendements de macrocyclisation par CuAAC faibles (30%) à très bons (91%). Les résultats indiquent une forte influence de la concentration du précurseur linéaire dans le milieu réactionnel. A 1 mM, les macrocycles à 3 motifs ou moins (comme **71-73**) se sont toujours formés préférablement aux dimères, tandis que les structures possédant 4 motifs ou plus ont montré une dimérisation plus importante (dans un ratio 2:1 en faveur du monomère cyclique). L'incorporation de deux motifs différents (par exemple dans **74**) est très intéressante, allant dans le sens d'une différenciation des positions de la néo-CD. L'étude de leur comportement supramoléculaire a révélé une capacité variable d'encapsulation de molécules hydrophobes, dépendante de la taille de la cavité.

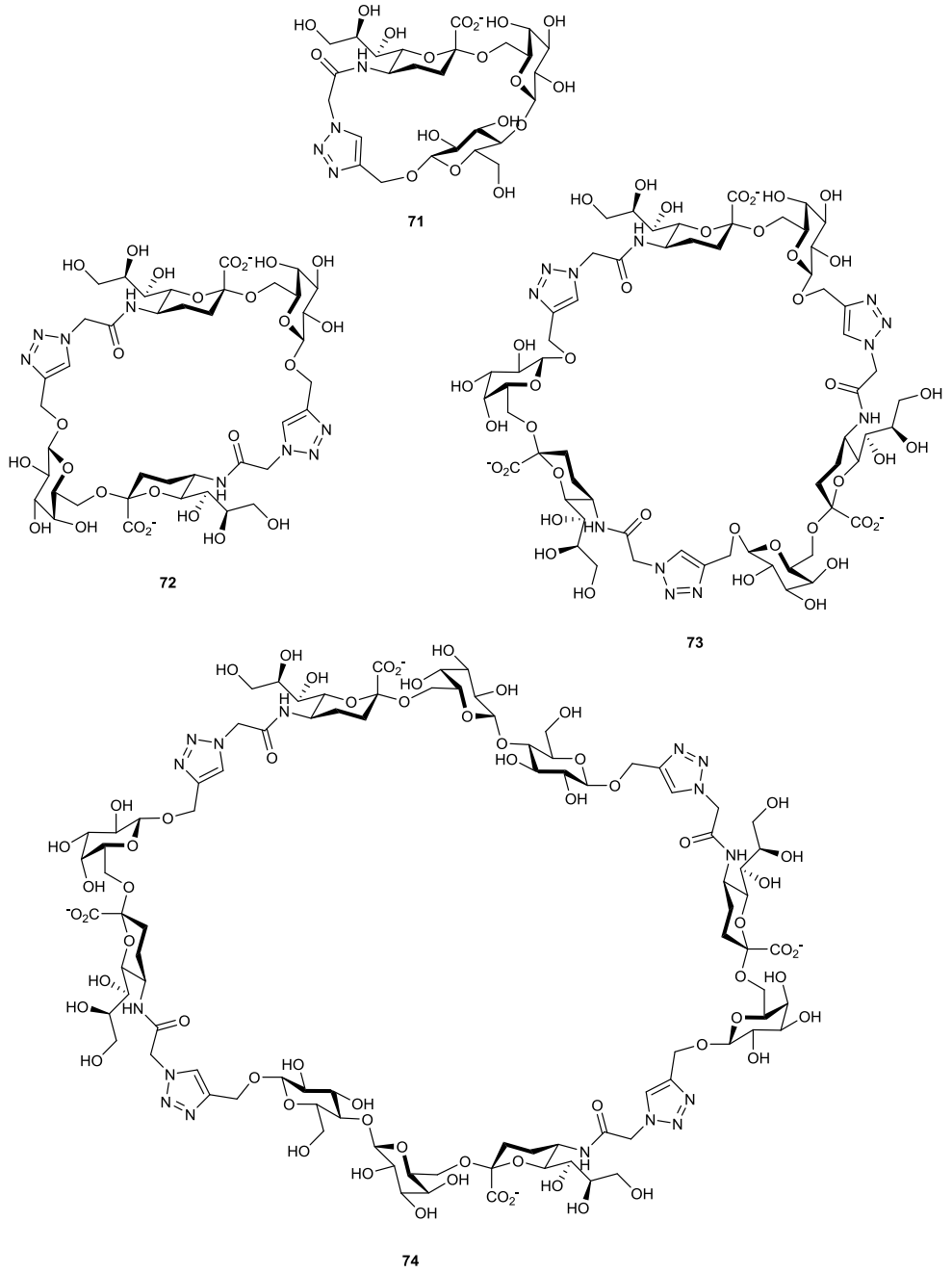


Figure 29 – *Exemples de néocyclodextrines construites par utilisation itérative de la CuAAC.*

Finalement, le groupe de Dondoni et Marra a mis au point une stratégie itérative dans laquelle les chaînons sont des unités D-glucose reliées entre elles directement par CuAAC en lien α-[1,6].[142] Les synthons **75** et **76** (*Schéma 16*) sont issus d'une synthèse divergente et ensuite couplés par une première CuAAC. Le dimère résultant est « activé » à l'une ou l'autre des deux extrémités, soit par déplacement d'un tosylate par un azoture (**77**) ou par déprotection de l'alcyne anomérique (**80**). Pour obtenir le cyclodimère **78**, l'alcyne terminal de **77** est ensuite déprotégé par un fluorure de tétrabutylammonium pour permettre la macrocyclisation par CuAAC en haute dilution (1 mM) avec un excellent rendement. Le cyclotétramère est obtenu de façon très convergente en cliquant **77** et **80** pour donner le pseudo-tétrasaccharide **81**. Ce dernier est « activé » des deux côtés simultanément, puis cyclisé dans les mêmes conditions que précédemment pour donner **83** avec un bon rendement. Le cyclohexamère **87** est préparé selon la même méthode convergente. Dans ce

dernier exemple d'approche, aucune différenciation des différents modules n'a été introduite. Les néo-CD générées disposent d'un lien triazole α-[1,6], de chaînons en série D-glucose, mais d'une seule face polyhydroxylée.

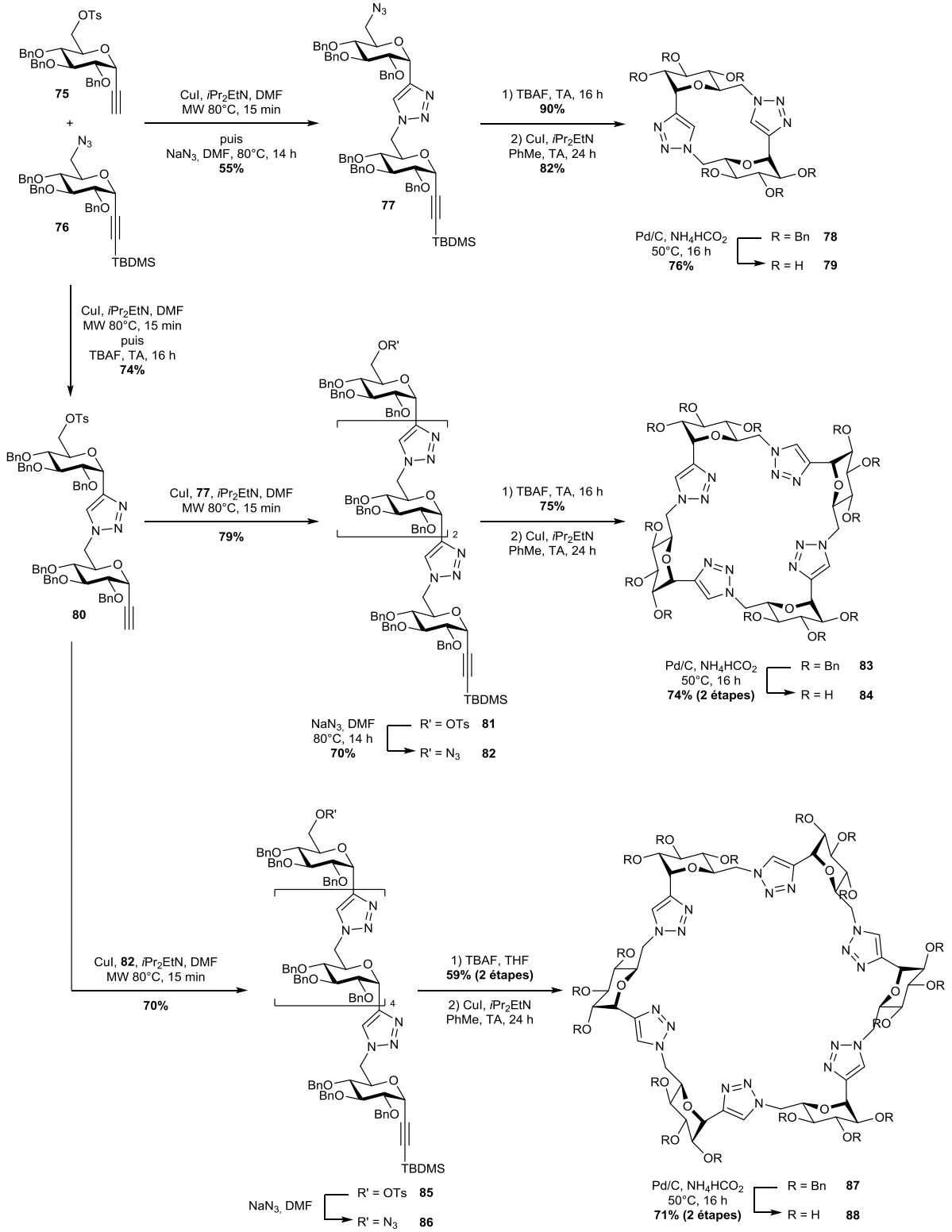


Schéma 16 – *Synthèse modulaire, itérative de néocyclodextrines par Dondoni et al.*

Il apparaît que les stratégies de synthèse itératives terminées par une macrocyclisation, bien que plus longues en termes d'étapes, se révèlent efficaces par un choix judicieux de

protections/activations autorisant des couplages par CuAAC convergeant rapidement vers les cibles, dont la macrocyclisation est réalisée systématiquement avec de bons rendements.

Par contre, parmi les analogues de cyclodextrines préparés par CuAAC décrits à l'heure actuelle, aucun ne présente à la fois un lien α-[1,4], des chaînons en série D-glucose et deux faces polyhydroxylées (primaire et secondaire). Les exemples les plus proches restent les néocyclodextrines de Gin *et al.*[122,139]

Finalement, la différenciation des différents groupes hydroxy préalablement à la macrocylisation a été peu étudiée.

3.3 Stratégie *Sweet LEGO*® pour des iminosucres multivalents

Au cours de ce travail de thèse, afin d'explorer les possibilités offertes par l'effet de cluster dans l'inhibition de glycosidases, nous nous sommes donc intéressés à la synthèse d'iminosucres multivalents. Les résultats obtenus au cours des 4 dernières années ont démontré l'intérêt dans ce domaine des cyclodextrines comme charpentes fonctionnalisées (l'effet multivalent le plus fort pour un cluster iminosucres ayant été obtenu pour une charpente CD). Malheureusement, leur fonctionnalisation régiosélective est difficile et il n'existe pour l'instant pas de méthode de synthèse modulaire de cyclodextrines préfonctionnalisées.

En nous inspirant des travaux décrivant la synthèse de néocyclodextrines par chimie « click », nous avons conçu une approche modulaire, dite « *Sweet LEGO*® », pour la synthèse de néo-CD préfonctionnalisées par CuAAC.

Nous avons choisi de travailler, à l'instar de Gin *et al.*,[139] avec un disaccharide plutôt qu'un monosaccharide, afin d'atteindre rapidement une taille similaire à celle d'une CD natives tout en restant raisonnablement fonctionnalisable. Le maltose est composé de deux unités D-glucose reliées entre elles par une liaison glycosidique α-[1,4]. En outre, le maltose est en lui-même une sous-unité des CD, qu'on appelle aussi « cyclomaltoses ». Il paraît donc tout indiqué comme unité de base de notre approche (voir ***Schéma 17***, **A**).

Cette unité maltose devra disposer d'un azoture et d'un alcyne à chacune de ses deux extrémités. Afin d'imiter au mieux les CD natives, nous préfèrerons une liaison α-[1,4]. De fait, l'une des fonctions devra se trouver en position anomérique, et la seconde en position 4'. C'est en raison de la ressemblance électronique des azotures avec les halogènes, ainsi que la relative facilité d'installation d'un propargyle en position 4' par simple *O*-alkylation, que nous avons décidé de préparer des composés 1-α-azido-4'-*O*-propargylmaltose (voir ***Schéma 17***, **B**). Les autres positions pourront donc être différenciées par préfonctionnalisation (voir ***Schéma 17***, **C**).

L'activation sélective de l'une ou l'autre des extrémités d'un néo-oligosaccharide, par l'introduction d'un azoture et par la déprotection d'un alcyne, se présente comme une stratégie efficace et convergente. Nous proposons donc de masquer l'azoture par un groupe protecteur, et l'alcyne terminal par un groupement silylé (voir ***Schéma 17***, **D**).

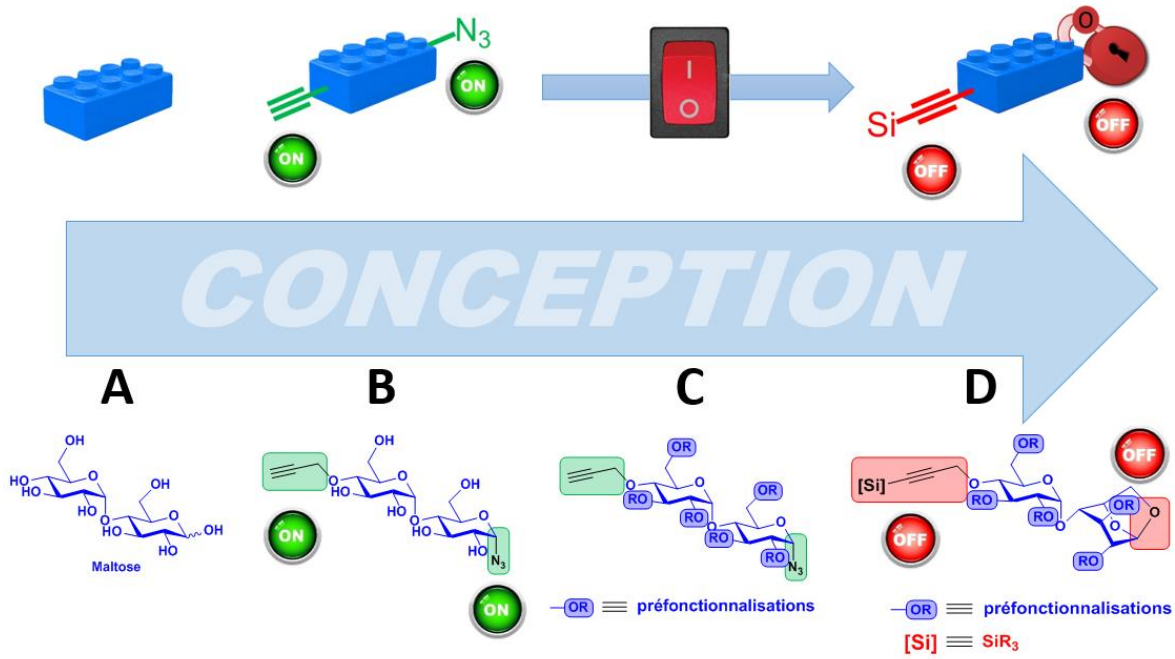


Schéma 17 – *Conception de modules préfonctionnalisés basés sur une unité maltose.*

Plusieurs modules préfonctionnalisés sont envisageables, en variant par exemple leur valence (***Figure 30***). Une fois synthétisés, ces blocs préfonctionnalisés pourront être activés à l'une ou l'autre de leurs extrémités pour donner deux unités « prêtes-à-clicker » à partir d'un seul monomère (***Schéma 18***). Une fois assemblées par CuAAC, elles donnent une nouvelle entité qui peut être utilisée selon une stratégie itérative semblable à celle développée par Dondoni *et al.*[142] Cette oligmérisation contrôlée par couplage successif de modules mono-activés complémentaires est au cœur de notre approche modulaire.

Finalement, en activant simultanément les deux extrémités d'un oligomère, les formes cycliques – analogues préfonctionnalisés de cyclodextrines – devraient être accessibles par macrocyclisation dans des conditions de CuAAC en haute dilution (***Schéma 18***).

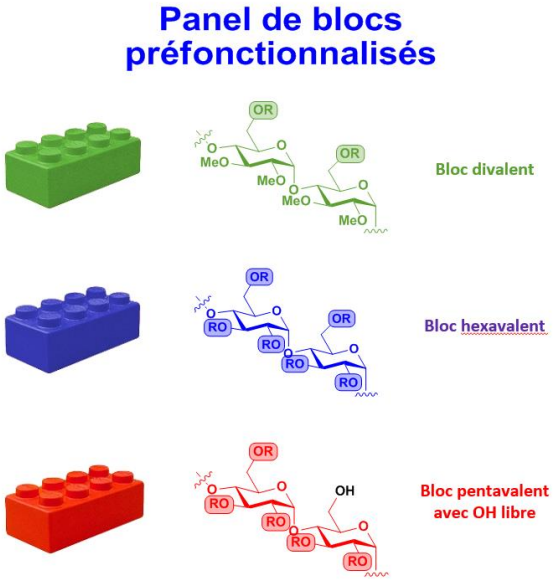


Figure 30 – Exemple de panel de blocs préfonctionnalisés.

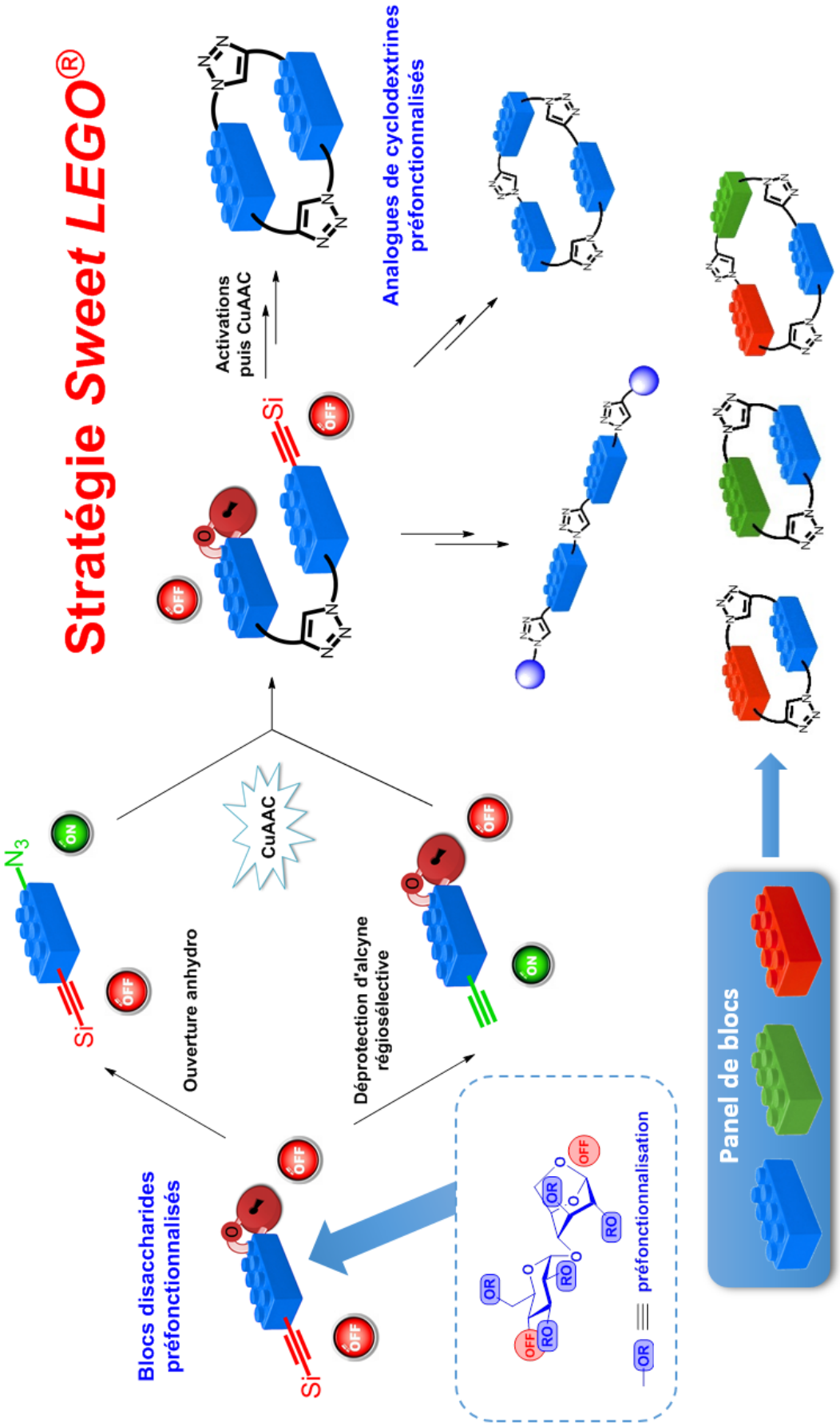


Schéma 18 – *Stratégie Sweet LEGO®.*

Une possibilité pour une première approche de préfonctionnalisation, inspirée des cyclodextrines multivalentes déjà présentées, serait d'installer des propargyles à des positions choisies, de manière à utiliser de nouveau la CuAAC pour post-dérivatiser les néo-CD (*Figure 31*). Il faudra donc utiliser des alcynes protégés orthogonalement selon que ceux-ci sont destinés à construire la charpente (position 4') ou à être postdérivatisés.

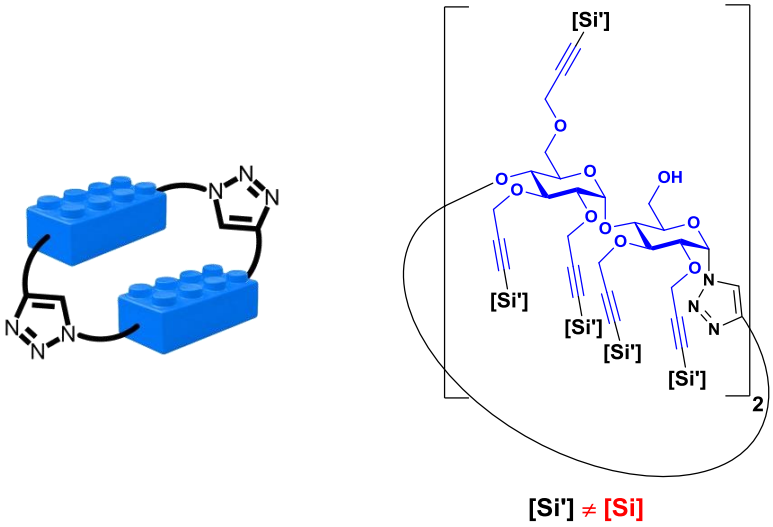


Figure 31 – *Un exemple de néocyclodextrine préfonctionnalisée.*

La stratégie décrite ci-dessus requiert donc deux activations clés (*Schéma 19*):

1) une déprotection sélective d'alcynes protégés par des groupements silylés orthogonaux ;
2) l'ouverture d'un pont 1,6-anhydro pour introduire un azoture.

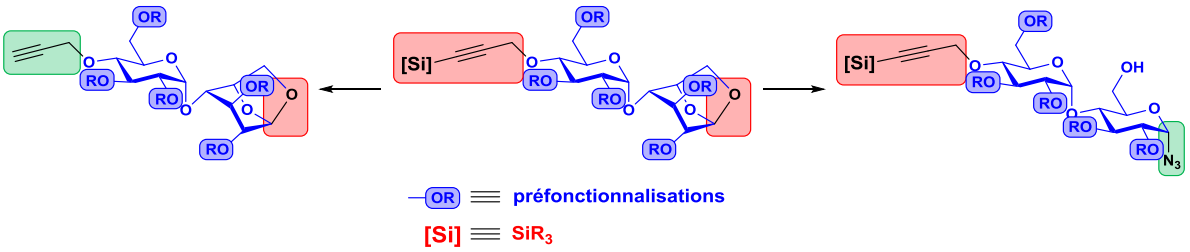


Schéma 19 – *Activations clés de la stratégie Sweet LEGO®.*

Concernant les alcynes, les groupes de Pale[143] et Aucagne[144] ont déjà publié des méthodes de déprotection sélective d'alcynes protégés par des groupements silylés avec des sels d'argent. L'alcyne en position 4', destiné à construire la charpente, sera protégé par un groupement triméthylsilyl (TMS) ou triéthylsilyl (TES), tandis que les alcynes nécessaires à la post-dérivatisation seront protégés par des groupements triisopropylsilyl (TIPS) beaucoup plus encombrés et stables (*Schéma 20*).

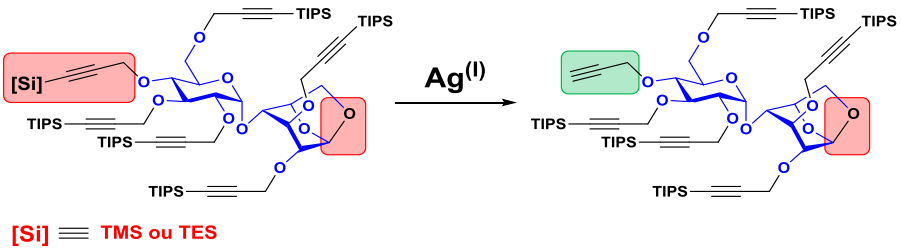


Schéma 20 – *Déprotection régiosélective de l'alcyne en position 4'.*

En revanche, la mise au point d'une réaction d'ouverture stéréosélective de ponts 1,6-anhydro par un azoture reste à effectuer (***Schéma 21***).

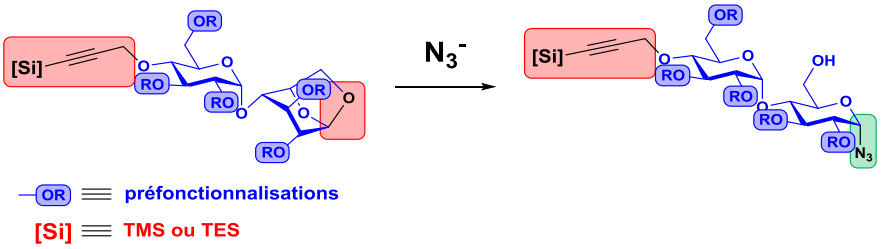


Schéma 21 – *Ouverture stéréosélective d'un pont 1,6-anhydro par un azoture.*

4 Plan du travail de thèse

Dans le **Chapitre II**, nous présenterons le développement d'une réaction d'ouverture stéréosélective de ponts 1,6-anhydro par un azoture. L'optimisation des conditions de la réaction sera décrite, puis nous verrons le champ d'application de ces conditions sur des substrats d'intérêt. Ces résultats nous permettront de discuter du mécanisme de la réaction. Finalement, un exemple d'application mettra en valeur la réaction dans une stratégie de synthèse rapide et convergente d'un néo-pentasaccharide.

L'étude méthodologique étant au service de notre stratégie *Sweet LEGO*® (***Schéma 21***) nous décrirons dans le **Chapitre III** la synthèse de deux blocs préfonctionnalisés. Les difficultés de synthèse seront brièvement évoquées, pour se concentrer sur les phénomènes chimiques les plus intéressants.

Pour terminer, le **Chapitre IV** sera consacré à la synthèse de clusters iminosucres, leur caractérisation ainsi que leur évaluation comme inhibiteurs de glycosidases. Ceci inclura la synthèse proprement dite de néocyclodextrines préfonctionnalisées, et leur post-fonctionnalisation avec des ligands iminosucres. D'autres plateformes (β-Cd, cyclopeptoïdes) seront utilisées pour créer des clusters de valence variée. Les résultats des tests biologiques *in vitro* seront également détaillés dans cette partie.

Chapitre II

Etude méthodologique d'une réaction d'ouverture de ponts 1,6-anhydro par $TMSN_3$[145]

« L'arc-en-ciel qui dure un quart d'heure,
personne ne l'admire plus. »

Georges Brassens

1 Introduction

1.1 Intérêts des 1-azidoglycopyranoses

Les azotures peuvent réagir comme électrophiles ou nucléophiles, et intervenir comme partenaire dans des réactions de cycloaddition. De plus, leur relative stabilité en fait des substrats de choix pour la synthèse d'autres fonctions azotées (amines, amides, urées, carbodiimides, etc).[146] La présence d'une telle fonctionnalité en position anomérique des sucres est donc d'un intérêt synthétique indéniable.

L'utilisation d'azotures de glycosides anomériques dans des cycloadditions 1,3-dipolaires est désormais courant, notamment *via* la réaction de CuAAC.[97] Un exemple marquant de glycocluster décrit par Nierengarten, Vidal *et al.* illustre très bien l'utilité des azotures de glycosyles dans le domaine de la multivalence (***Schéma 22***).[147] Cependant, la réaction de Huisgen non-catalysée a aussi été mise à profit avec succès pour la synthèse de glycosyl-triazoles. Parmi les nombreux exemples décrit dans la littérature,[146] on peut citer leur utilisation comme précurseurs d'agents antinéoplasiques par El-Masoudi et Al-Soud (***Schéma 23***).[148] Enfin, une méthode de conversion des glycosyl triazoles en fluorures développée par Bröder et Kunz en 1993[149] fait des azotures de glycosyle des synthons particulièrement judicieux pour la synthèse de glycanes.[150]

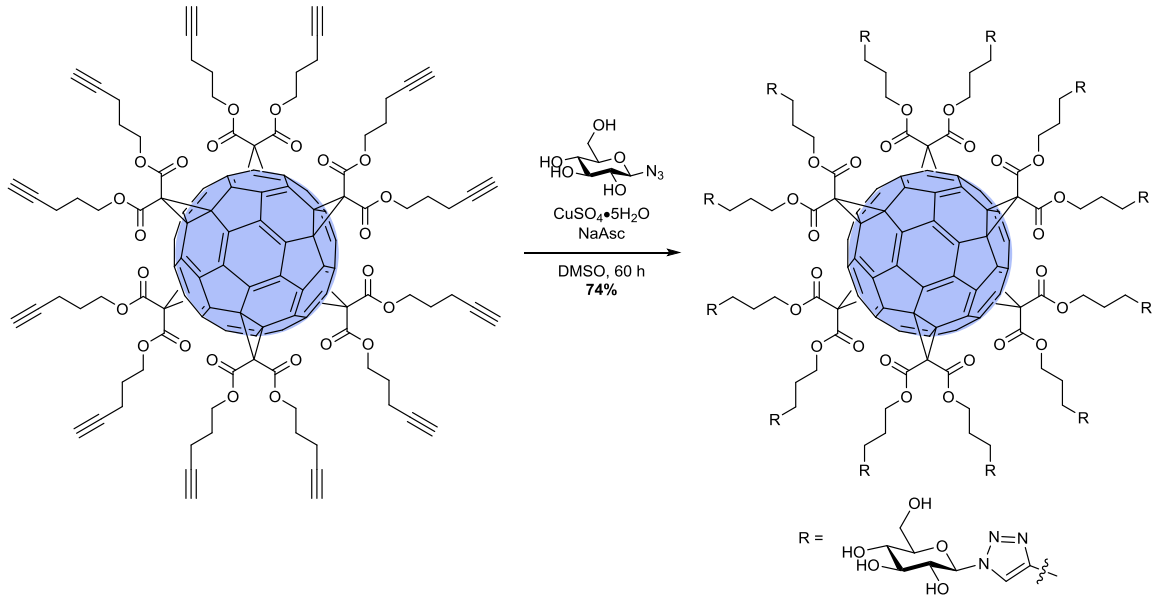


Schéma 22 – *Exemple d'utilisation d'un azoture de glycoside pour la synthèse de glycoclusters.*

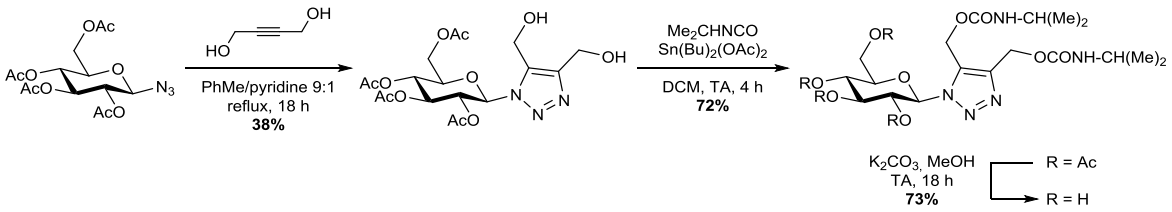


Schéma 23 – *Exemple d'utilisation d'un azoture de glycoside comme précurseur d'agents antinéoplasiques.*

Outre la réactivité associée à leur caractère de dipôle [1,3], la polyvalence des azotures comme précurseurs de fonctions azotées a encouragé leur utilisation dans la synthèse de nombreux glycoconjugués.[146] Même si des phénomènes d'anomérisation sont régulièrement évoqués,[146] la

réduction par hydrogénation des azotures de glycosyle fournit les glycosylamines correspondantes[151] et démontre leur intérêt comme amines masquées. Les glycosylamines formées peuvent alors être converties en diverses fonctions. Par exemple, Li et Danishefsky ont décrit en 2008 la synthèse de glycopeptides par réaction d'un dérivé d'acide aspartique avec des glycosylisonitriles issus des azotures correspondants (***Schéma 24***).[152]

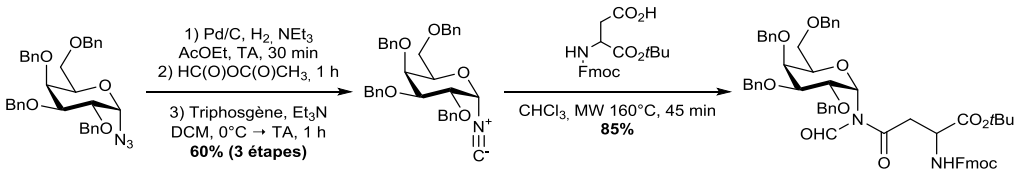


Schéma 24 – *Synthèse d'un glycopeptide à partir d'un azoture de glycoside.*

Parallèlement, la réduction des azotures par des phosphines – selon une réaction de Staudinger – produit des iminophosphoranes qui peuvent être convertis, directement ou non, en une large gamme de composés azotés.[146] Dans le cas de triarylphosphines, l'effet inductif attracteur du cycle pyranose contribue à la stabilisation de la charge négative portée par l'atome d'azote.[153] La réaction de ces cas particuliers de glycosides dans différentes conditions produit des urées bicycliques,[154] des oxazolines[155] ou des carbodiimides[153] (***Schéma 25***). Ces deux dernières entités peuvent alors être transformées en amides et urées correspondants. La conversion en un pot d'azotures de gluco- et galactosyles en glycosylamides a été mise au point en 2006 par Bianchi et Bernardi[156] (***Schéma 26***).

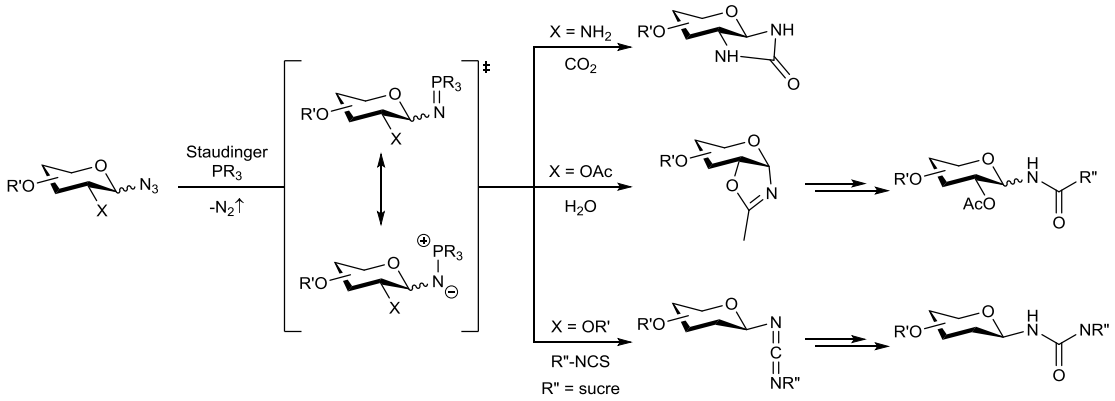


Schéma 25 – *Exemples d'utilisation de la réaction de Staudinger sur les azotures de glycosyle.*

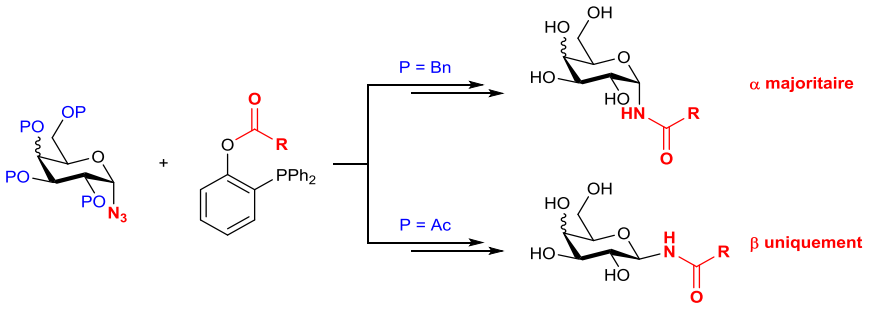


Schéma 26 – *Conversion en un pot d'azotures en glycosylamides.*

Les azotures de glycosyle peuvent aussi être transformés en *N*-bromoglycosylimines, selon une méthode radicalaire mise au point par Praly *et al.* en 1992 (***Schéma 27***).[157] Ces dérivés sont, entre autres, des précurseurs d'aldononitriles.[158]

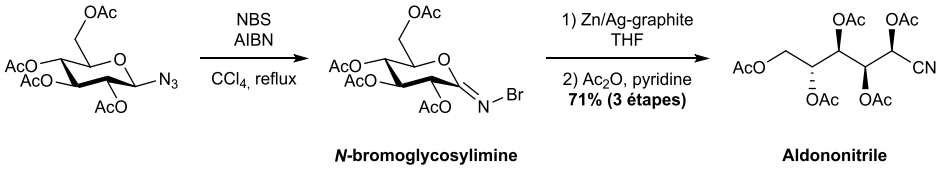


Schéma 27 – *Conversion successive d'un azoture de glycoside en N-bromoglycosylimine, puis en aldononitrile.*

1.2 Synthèse des 1-azidoglycopyranoses

Les azotures de glycosyle sont connus depuis le début du XX^{ème} siècle[159] et de nombreuses méthodes existent pour leur préparation.[146,160]

A partir de 1971 et du travail de Paulsen,[161] les stratégies utilisées recourent généralement au déplacement par substitution nucléophile de type S_N2 d'halogénures de glycosyle par un azoture métallique[146,160–162] (notamment azoture de sodium) ou par un azoture organique (notamment $TMSN_3$) en présence d'un acide de Lewis.[156,160,161] L'activation du $TMSN_3$ par des sources de fluorures (catalytiques ou non) a aussi été décrite.[163] L'utilisation de catalyseurs de transfert de phase est souvent nécessaire, compte tenu de la faible solubilité des azotures métalliques.[146] L'instabilité des produits de départ halogénés a conduit à des améliorations successives,[146] et une méthode pratique de synthèse d'azotures de glycosyles acétylés en un pot à partir de sucres non protégés a été mise au point par Misra *et al.* en 2006 (***Schéma 28***).[164]

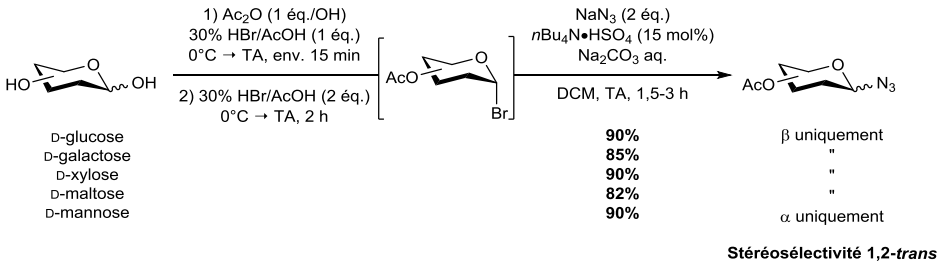


Schéma 28 – *Synthèse en un pot d'azotures de glycosyles à partir de sucres non protégés.*

La stéréosélectivité de la réaction est dictée par l'assistance d'un groupement acétate en position 2, qui assure l'attaque de type S_N2 de l'azoture sur la face opposée (***Schéma 29***). Ce type de stratégie, bien qu'efficace, ne permet généralement de former que des azotures de glycosyle 1,2-*trans*, même si des contre-exemples existent (***Schéma 30***).[165]

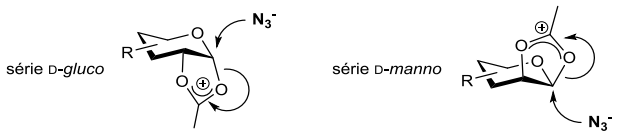


Schéma 29 – *Intermédiaire acyloxonium justifiant la stéréosélectivité de la réaction avec un azoture.*

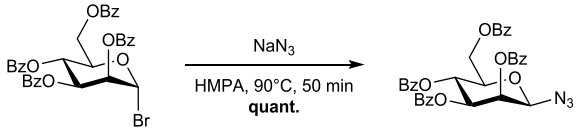


Schéma 30 – *Exemple d'obtention d'un β-azoture benzoylé 1,2-cis.*

Une alternative encore plus directe consiste en la synthèse *in situ* de sels de phosphonium, qui sont déplacés par l'azoture de lithium (***Schéma 31***).[166]

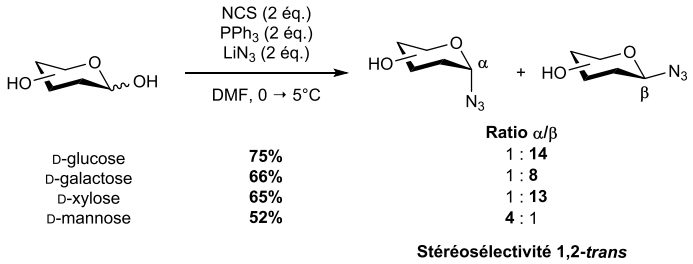


Schéma 31 – *Synthèse d'azotures de glycosyle par Larabi, Demailly et al.*

Sabesan et Neira ont aussi décrit en 1992 la réaction de glycosylphosphates avec NaN_3 ou avec une combinaison de triflate de triméthylsilyl (TMSOTf) et de $TMSN_3$.[167] Le principal avantage de leur méthode réside dans la stabilité plus importante des glycosylphosphates, dont les deux anomères (α et β) peuvent être préparés, ce qui est rarement le cas pour les halogénures, du fait d'un effet anomère plus important.[167] Leur étude inclut des composés protégés par des groupements benzyles, acétyles et benzoyles, les deux derniers groupements impliquant une diminution de la vitesse de réaction.[167]

Enfin, la conversion d'esters anomériques (notamment 1-*O*-acetylés) de sucres en leurs azotures correspondants peut être effectuée à l'aide $TMSN_3$ avec un catalyseur de type acide de Lewis, mais la sélectivité dépend des groupements protecteurs, notamment en position 2 (***Schéma 32***).[151,156,165,168]

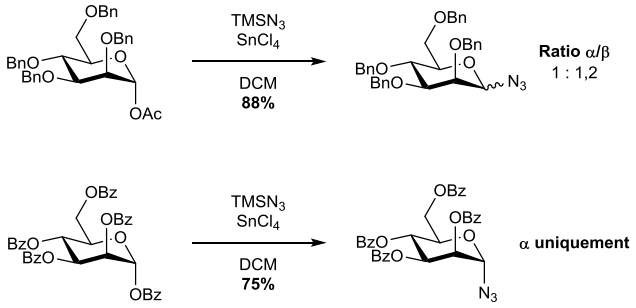


Schéma 32 – *Exemples de synthèse d'azoture de glycosyle à partir d'un ester anomérique.*[151,165]

Le groupe de Murphy a appliqué ces conditions sur des acides, esters et amides glucuroniques, mettant en valeur la participation prioritaire d'un groupement carboxyle présent en position 6 par rapport à un groupement acétate en position 2 (***Schéma 33***).[169] Les anomères α et β sont alors obtenus avec de très bonnes diastéréosélectivités. Plus récemment, cette méthode a été étendue par le même groupe à des composés 1,6-anhydro issus de la cyclisation intramoléculaire d'acides glucuroniques[170,171] ou des amides correspondants,[172] intermédiaires réactionnels isolés précédemment.[169] La nature du groupement en position 2 se révèle ici encore décisive quant à la stéréochimie de l'azoture formée majoritairement.

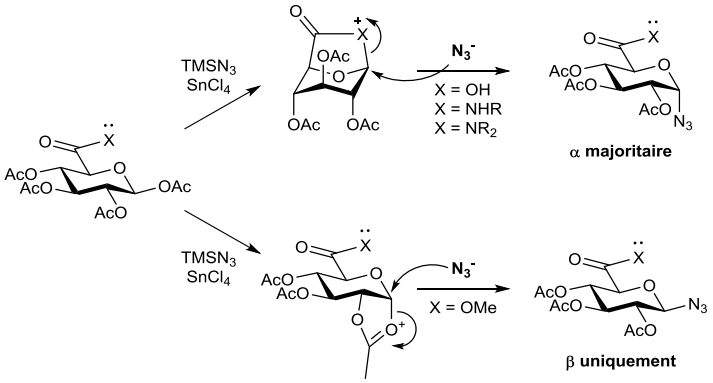


Schéma 33 – *Synthèse d'acides et d'esters 1-azido-6-glucuroniques.*

2 Ouverture stéréosélective de ponts 1,6-anhydro pour la synthèse d'azotures de glycosyle

Les différentes méthodes décrites ci-dessus pour la synthèse d'azotures restent très dépendantes des groupements protecteurs utilisés, notamment concernant l'issue stéréochimique de la réaction sur le carbone anomérique. De plus, la synthèse des précurseurs peut se révéler assez longue (protections sélectives, puis activation du carbone anomérique)[167] ou rendue difficile par l'instabilité des intermédiaires (halogénures de glycosyle).[146,161] Particulièrement, l'obtention d'α-azidoglycosyles en série D-*gluco* avec une stéréosélectivité élevée n'est pas aisée, et une technique alternative reste donc à développer.

Les travaux de Murphy *et al.* sur la synthèse d'azotures de glycosyle *via* l'ouverture d'acides 6,1-glucopyranuroniques par $TMSN_3$ en présence d'un acide de Lewis ont montré que la participation d'un groupement nucléophile en position 6 pouvait induire de bonnes diastéréosélectivités pour l'introduction d'un azoture sur le carbone anomérique.[169,170] De plus, Zhu *et al.* ont décrit récemment la synthèse totalement stéréosélective d'α-glycosyl thiols *via* l'ouverture de ponts 1,6-anhydro par $(TMS)_2S$ dans des conditions impliquant un acide de Lewis (***Schéma 34***).[173] Les auteurs attribuent l'excellent contrôle de la stéréosélectivité à une substitution nucléophile d'ordre 2 sur le carbone anomérique, provoquant l'ouverture du pont et la libération d'un alcool libre.

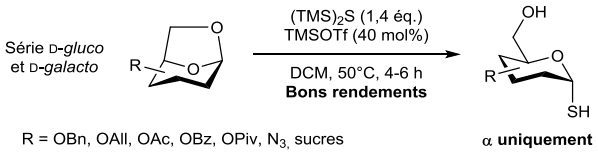


Schéma 34 – *Synthèse stéréosélective d'α-glycosyl thiols par ouverture de ponts 1,6-anhydro.*

Les composés de type 1,6-anhydro nous sont apparus dès lors comme des substrats de choix pour développer une méthode de synthèse stéréosélective d'α-azidoglycosides. Le seul exemple d'une telle réaction dans la littérature, tiré d'un brevet de Wang *et al.* de 2009, décrit l'utilisation d'une combinaison de $TMSN_3$ et TMSOTf dans l'acétonitrile, avec une très mauvaise sélectivité (***Schéma 35***).[174]

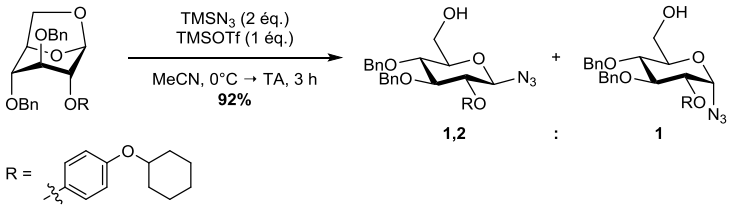


Schéma 35 – *Unique précédent d'une réaction d'ouverture de pont 1,6-anhydro par un azoture.*

En considérant l'excellente diastéréosélectivité de la réaction rapportée par Zhu *et al.*,[173] nous avons supposé que l'optimisation de la réaction d'ouverture de pont 1,6-anhydro par un azoture devait être possible. Dans le cadre du développement d'une synthèse modulaire de néo-CD (voir I-3.3), ces conditions permettraient alors la synthèse efficace d'α-azotures de glycosyles possédant un alcool primaire en C-6, et disponible pour une post-dérivatisation. Le groupement 1,6-anhydro a donc été choisi comme motif pour l'introduction d'α-azotures en position anomérique.

2.1 Synthèse de 1,6-β-anhydropyranoses

Les anhydrosucres anomériques sont des dérivés saccharidiques dans lesquels le carbone anomérique forme un acétal avec deux des fonctions hydroxy de la molécule, formant ainsi des bicycles. Dans le cas des 1,6-β-anhydropyranoses,[175,176] en plus de l'alcool en position 5 formant le cycle pyranose, c'est le groupement hydroxy en position 6 qui forme l'acétal, pour donner un bicycle [3.2.1] (***Figure 32***). Formellement, cette cyclisation supplémentaire implique la « perte » d'une molécule d'eau dans la formule brute, d'où le nom de cette classe de composés.

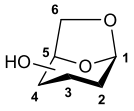


Figure 32 – *Structure générale des 1,6-β-anhydropyranoses.*

Leur structure bicyclique rigide leur confère une configuration de chaise inversée $^{1}C_{4}$ inhabituelle, changeant de fait la réactivité des différentes fonctions alcool. En série D-*gluco*, celles-ci sont alors orientées selon une direction axiale, et non plus équatoriale. De plus, ces composés sont le plus souvent cristallins, ce qui facilite grandement leurs utilisation et purification.[176] Le 1,6-anhydro-β-D-glucopyranose (aussi appelé *levoglucosan* en raison de son importante activité optique lévogyre) a été isolé par Tanret en 1894,[177] qui évalua correctement son caractère d'anhydride de glucose (d'où l'appellation « *glucos-an* ») à partir de sa formule brute $C_6H_{10}O_5$. Ce composé est issu de la pyrolyse d'oligo- et polysaccharides. D'autres 1,6-anhydropyranoses (D-*manno* et D-*galacto*) sont respectivement des produits de la pyrolyse de graines de noix de palmier à ivoire (*Phytelephas macrocarpa*)[178] et d'α-lactose monohydrate.[179] Si la synthèse par pyrolyse de monosaccharides permet d'obtenir les dérivés 1,6-anhydro correspondants, elle n'offre que des rendements limités, après des purifications laborieuses.

Afin de préparer ces composés d'une manière efficace, trois principales voies synthétiques ont été développées.

Synthèse par activation d'un alcool et déplacement assisté par une base

La première, décrite par Fraser-Ried en 1989,[180] consiste en l'activation de l'alcool en position 6 par tosylation, suivie d'une substitution nucléophile intramoléculaire par le groupement hydroxy anomérique, promue par une base (***Schéma 36***). Cléophax *et al.* ont proposé en 2003 une méthode pratique, sans solvant, suivant une approche analogue.[181] La stratégie inverse, à savoir l'activation de la position anomérique suivie de la substitution par l'alcoolate en position 6 est aussi possible.[182]

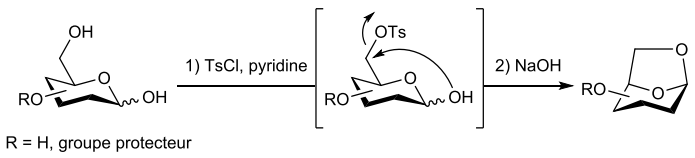


Schéma 36 – *Synthèse d'1,6-β-anhydropyranoses par déplacement intramoléculaire d'un groupement partant.*

Synthèse par traitement acide de groupements partants anomériques

Un seconde voie de synthèse propose le traitement acide (de Brønsted ou de Lewis) de composés présentant un groupement partant en position anomérique (***Schéma 37***), provoquant la formation d'un intermédiaire glycosyl oxonium.[175,176] Rao *et al.* ont étudié l'emploi des tétrachlorures d'étain et de titane,[183] les groupes de Micheel[184] et Schmidt[185] ont préféré l'acide paratoluènesulfonique,

tandis que l'utilisation de *N*-bromosuccinimide est aussi possible.[186] L'usage de l'acétonitrile comme solvant semble promouvoir un effet stabilisant de l'intermédiaire oxocarbénium, comme le décrivent Åberg *et al.* (***Schéma 38***).[187]

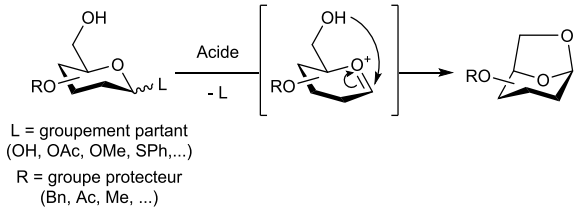


Schéma 37 – *Synthèse d'1,6-β-anhydropyranoses par traitement acide.*

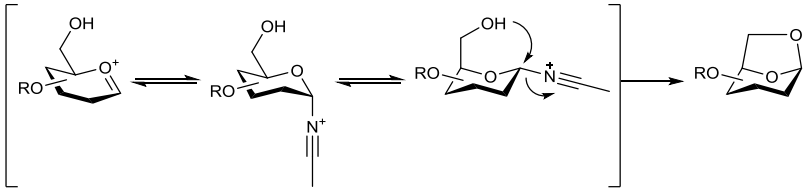


Schéma 38 – *Mécanisme proposé de stabilisation de l'ion oxocarbénium par l'acétonitrile.*

Synthèse *via* un glycal

Finalement, les 1,6-β-anhydropyranoses peuvent aussi être préparées par le réarrangement de Ferrier intramoléculaire de glycals dont seul l'alcool en position 6 serait déprotégé.[175,188] L'hydratation ou la dihydroxylation de l'alcène résultant fournit les 1,6-anhydropyranoses désirés. D'autres réactions avec les glycals apportent des variantes à cette stratégie,[175] comme l'iodation en position 2 par IDCP.[189]

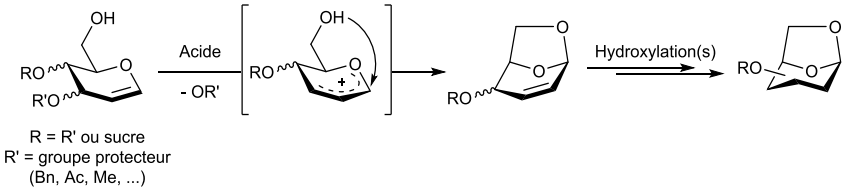


Schéma 39 – *Synthèse d'1,6-β-anhydropyranoses par réarrangement de Ferrier intramoléculaire.*

2.2 Optimisation

Nous décrirons dans cette partie l'optimisation des conditions d'une réaction d'ouverture de pont 1,6-anhydro par un azoture, catalysée par un acide de Lewis (***Schéma 40***). Nous avons supposé que, comme pour la réaction de Zhu *et al.* (***Schéma 34***),[173] le contrôle de la stéréosélectivité serait assuré par une substitution nucléophile de type S_N2 sur le carbone anomérique *via* la face inférieure de la molécule, pour fournir exclusivement l'anomère α.

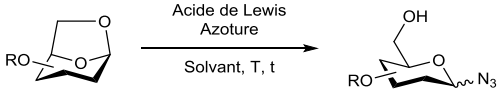


Schéma 40 – *Schéma global de la réaction étudiée.*

Nous avons choisi l'anhydroglucose perbenzylé **91** comme substrat d'étude, essentiellement pour sa facilité d'accès (une seule étape à partir de l'anhydroglucose commercial **89**, ***Schéma 41***) et sa ressemblance avec le substrat utilisé par Wang *et al.* dans l'unique exemple d'une telle réaction (***Schéma 35***).[174]

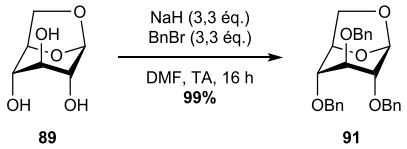


Schéma 41 – *Synthèse du substrat d'étude **91**.*

Tout d'abord, aucune conversion n'a été observée lors du traitement de **91** par NaN_3 (2 éq.) et TMSOTf (1 éq.) dans l'acétonitrile, même en rajoutant un excès de NaN_3. L'emploi de $TMSN_3$, manifestement plus soluble, a permis d'obtenir les diastéréomères **92α** et **92β** avec un bon rendement et une bonne stéréosélectivité (4:1) en faveur de l'anomère α (***Tableau 4***, entrée 1). Une petite quantité du sous-produit **93** (10%) sous la forme d'un mélange de diastéréomères, issu de la *O*-glycosylation *in situ* de **92** par **91**, a aussi été isolée.

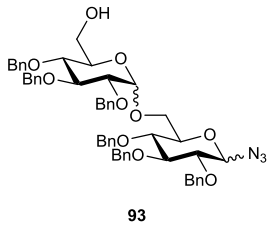


Figure 33 – *Produit secondaire.*

Un excès de TMSOTf n'améliore pas la conversion, mais a au contraire tendance à dégrader le substrat (***Tableau 4***, entrée 2). En revanche, porter la quantité de $TMSN_3$ à 20 équivalents résulte en une augmentation du rendement et de la sélectivité (***Tableau 4***, entrée 3), et prévient la formation de **93**. Afin d'évaluer l'influence d'une diminution de la température, les conditions décrites en entrée 3 ont aussi été reproduites à 0°C, mais n'ont résulté qu'en une légère baisse de la sélectivité (3,8:1).

L'allongement du temps de réaction, s'il n'influence pas le rendement, induit par contre une baisse de la stéréosélectivité (***Tableau 4***, entrées 3-5). Dans ces conditions, l'usage stœchiométrique de TMSOTf n'est plus nécessaire (***Tableau 4***, entrées 6-7) la réaction est bien catalytique en acide de Lewis, mais diminuer la quantité à 10 mol% ralentit la réaction. Un bon compromis entre temps de réaction court (moins d'1h), rendements élevés et une forte stéréosélectivité a été réalisé avec l'emploi de 10 équivalents de $TMSN_3$ et de 0,5 équivalent TMSOTf (***Tableau 4***, entrée 8).

L'influence de la nature de l'acide de Lewis utilisé a été évaluée par le remplacement du TMSOTf par ZnI_2, $BF_3{\cdot}Et_2O$ ou $AlCl_3$ (***Tableau 4***, entrées 9-11). L'emploi de ZnI_2 dans le DCE a nécessité un temps de réaction allongé (1 jour) et un chauffage à 40°C (***Tableau 4***, entrée 9), sans améliorer la sélectivité. L'usage de $BF_3{\cdot}Et_2O$ a pratiquement aboli la stéréosélectivité, favorisant même légèrement la formation de l'anomère β (ratio 1:1,2 ; ***Tableau 4***, entrée 10). Le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ a conduit à de mauvais rendement et sélectivité (***Tableau 4***, entrée 11), après plusieurs jours à 40°C. Une combinaison de $BF_3{\cdot}Et_2O$ et de TMSOTf a également été testée, puisqu'elle favorise la formation de $BF_2OTf{\cdot}Et_2O$, décrit comme un acide de Lewis plus puissant que ses composants séparés.[190] Cet effet est encore plus exacerbé dans l'acétonitrile, l'espèce $BF_2OTf{\cdot}CH_3CN$ étant apparemment un bon transporteur d'acide de Lewis. L'utilisation de cette combinaison dans le DCE conduit en 1 jour à des résultats (rendement 87%, ratio α/β de 4,8:1 ; ***Tableau 4***, entrée 12) obtenus plus rapidement dans d'autres conditions, tandis que le remplacement du DCE par l'acétonitrile provoque principalement la dégradation du substrat par un acide devenu « trop fort » (***Tableau 4***, entrée 13), même en

diminuant sa quantité (*Tableau 4*, entrée 14). L'influence de l'encombrement de l'acide de Lewis a aussi été testée en remplaçant TMSOTf par le plus volumineux TBDMSOTf, sans qu'aucune amélioration significative de l'issue de la réaction ne soit observée (*Tableau 4*, entrée 15).

La variation de la concentration du milieu réactionnel a induit de moins bonnes stéréosélectivités, que ce soit en la diminuant (*Tableau 4*, entrée 16) ou en l'augmentant (*Tableau 4*, entrée 17). L'étude de ce paramètre était motivée par la récente description par Kononov *et al.* de l'influence de la formation dans le milieu réactionnel de « supramères » dans l'issue des réactions de glycosylations.[191]

Finalement, l'emploi de toluène comme solvant de la réaction a considérablement augmenté le temps de réaction nécessaire pour la conversion complète de **91** (48h à 40°C), mais a en revanche permis d'obtenir un rendement quasiment quantitatif (97% ; *Tableau 4*, entrée 18). Une combinaison de toluène et d'acétonitrile (3:1, v/v) permet d'améliorer la sélectivité (8,7:1) et d'accélérer la réaction (16h à 40°C ; *Tableau 4*, entrée 19). Un mélange isochore (1:1, v/v) augmente drastiquement la vitesse de réaction, mais est plutôt préjudiciable au rendement et à la stéréosélectivité (*Tableau 4*, entrée 20).

Au regard des résultats présentés ci-dessus, nous avons arrêté deux types de conditions, chacune employant 10 équivalents de $TMSN_3$ et 0,5 équivalent de TMSOTf, avec une concentration de 0,1 mol/L mais dans des solvants différents (*Schéma 42*) :

1) **Dans l'acétonitrile**, favorisant des hautes stéréosélectivités et des temps de réactions courts de l'ordre d'1h à température ambiante (conditions « ***rapides*** ») ;
2) **Dans le mélange optimisé toluène/acétonitrile 3:1 (v/v)**, favorisant des hauts rendements, mais avec des temps de réactions plus longs (de l'ordre d'1 jour) à 40°C (conditions « ***lentes*** »).

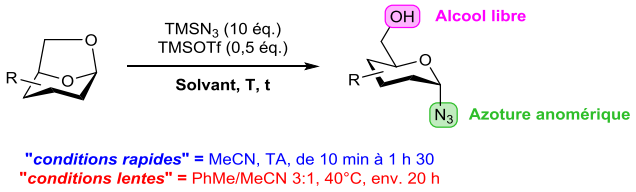
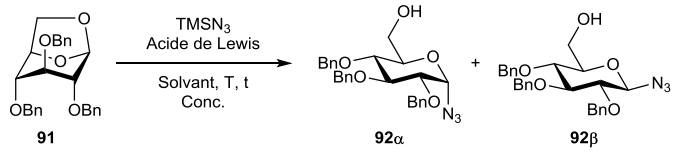


Schéma 42 – *Conditions de réaction optimisées.*

Afin d'explorer le champ d'application de la réaction, ces conditions ont été appliquées à des substrats 1,6-β-anhydropyranoses choisis pour tester l'influence de divers paramètres électroniques, stéréochimiques et stériques. Cette étude a également permis d'évaluer la chimiosélectivité et la robustesse de cette réaction d'ouverture de ponts 1,6-anhydro.

Tableau 4 – *Optimisation des conditions de la réaction de **91** avec $TMSN_3$.*



Entrée	$TMSN_3$ (Nbre d'éq.)	Acide de Lewis (Type – Nbre d'éq.)		Solvant	[91] (mol/L)	T	t (h)	Rdt (%)	Ratio α/β		
1	2	TMSOTf	1	MeCN	0,2	TA	1,15	76	4,1	:	1
2	2	"	5	"	0,1	TA	47	33	5,6	:	1
3	20	"	1	"	0,1	TA	0,75	86	4,4	:	1
4	20	"	1	"	0,1	TA	2,25	80	4,0	:	1
5	20	"	1	"	0,1	TA	48	89	2,7	:	1
6	20	"	0,1	"	0,1	TA	2	75	4,0	:	1
7	20	"	0,5	"	0,1	TA	1,5	85	4,3	:	1
8	**10**	**"**	**0,5**	**"**	**0,1**	**TA**	**0,4**	**88**	**10,5**	**:**	**1**
9	20	ZnI_2	1	DCE	0,1	40 °C	26	76	5,0	:	1
10	20	$BF_3{\cdot}Et_2O$	1	MeCN	0,1	40 °C	66	63	1	:	1,2
11	20	$AlCl_3$	1	"	0,1	40 °C	66	50	2,8	:	1
12	20	TMSOTf/ $BF_3{\cdot}Et_2O$	1/1	DCE	0,1	TA	26	87	4,8	:	1
13	20	"	1/1	MeCN	0,1	TA	1	37	3,5	:	1
14	20	"	0,2/0,2	MeCN	0,1	TA	19	50	2,5	:	1
15	20	TBDMSOTf	1	"	0,2	TA	0,4	79	8,1	:	1
16	10	TMSOTf	0,5	"	0,02	TA	0,9	85	6	:	1
17	10	"	0,5	"	0,2	TA	0,3	88	3,9	:	1
18	10	"	0,5	PhMe	0,1	40 °C	48	97	6,5	:	1
19	**10**	**"**	**0,5**	**PhMe/MeCN 3:1**	**0,1**	**40 °C**	**16**	**95**	**8,7**	**:**	**1**
20	10	"	0,5	PhMe/MeCN 1:1	0,1	40 °C	1,5	84	6,2	:	1

3 Champ d'application

3.1 Synthèse des substrats

L'acétylation du 1,6-β-anhydroglucopyranose **89** a été réalisée dans des conditions classiques pour donner **94** avec un très bon rendement (*Schéma 43*) dans l'idée d'évaluer l'effet électroattracteur des groupements acétate ainsi que leur éventuelle participation.

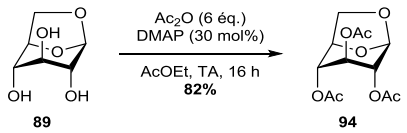


Schéma 43 – *Synthèse du dérivé peracétylé **94**.*

Dans le contexte de l'utilisation de la CuAAC pour la synthèse de glycoconjugués,[97] les substrats **95** (réactif envers la CuAAC) et **96** (non-réactif envers la CuAAC) pourraient servir de charpentes trivalentes intéressantes (*Schéma 44*). Le composé **96** peut aussi être vu comme un substrat modèle pour évaluer la faisabilité d'une étape clé de notre stratégie *Sweet LEGO*® (ouverture d'un pont 1,6-anhydro en présence d'alcynes silylés, voir I-3.3). Le trialcyne **95** a été préparé par propargylation de **89** dans les conditions de Williamson classiques avec un rendement quantitatif. L'obtention de **96** s'est révélée beaucoup moins triviale que nous ne l'imaginions. Dans une première approche, une propargyl-silylation directe de l'anhydroglucose **89** avec le (3-bromopropyn-1-yl)triméthylsilane **97a** (*Figure 34*) a été tentée, mais nos multiples essais utilisant différentes bases (NaH, BaO/$Ba(OH)_2$, KOH, EtMgBr, …) n'ont pas permis d'obtenir le produit attendu. En effet, les groupements TMS protégeant les alcynes sont peu stables en présence de bases fortes.[144,192] Nous nous sommes alors tournés vers la triple protection de **95** par des groupements TMS. Si la TMS-silylation d'un seul alcyne est réalisable *via* la formation de l'alcynure (par un organolithien ou magnésien) avec de bons rendements, la protection simultanée de plusieurs alcynes est autrement plus délicate.[193] Des tests avec le butyl lithium (*n*-BuLi) et TMSCl comme électrophile n'ont pas fourni le produit **96** attendu, mais uniquement de la dégradation. D'après Klemer et Kohla, le *n*-BuLi ($pK_A \approx 50$) serait assez fort pour déprotoner **95** en position 5 et provoquer l'ouverture du pont 1,6-anhydro.[194] Le remplacement du BuLi par du LDA[195] (DiisopropylAmidure de Lithium, $pK_A \approx 36$), plus encombré, a permis d'obtenir **96** avec de faibles rendements non reproductibles (0-29%). Le sous-produit majoritaire isolé semble être **97b** (*Figure 34*).

Finalement, nous avons utilisé une méthode en conditions douces adaptée de celle proposée par Yamaguchi *et al.*[196] utilisant des sels d'argent et du 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène (DBU). Les essais conduits successivement avec différents sels d'argent (I) (chlorure, nitrate, triflate) ont montré que l'utilisation d'une quantité catalytique d'AgOTf en présence d'un excès de DBU et de TMSCl au reflux du THF permet d'obtenir **96** avec un bon rendement (*Schéma 44*).

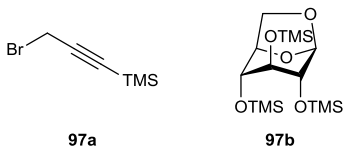


Figure 34 – *(3-bromopropyn-1-yl)triméthylsilane **97a** et sous-produit **97b**.*

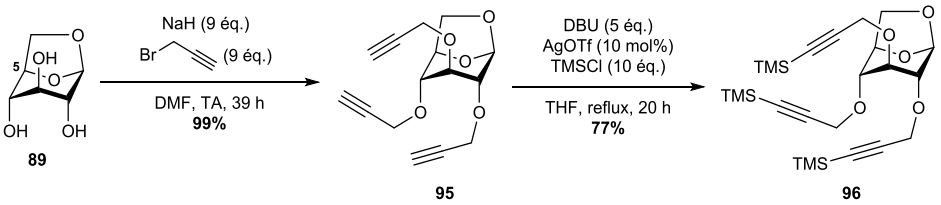


Schéma 44 – *Synthèse de substrats propargylés.*

Afin d'évaluer l'influence sur la réaction de la stéréochimie en position 2, des dérivés en série D-*manno* (**99**, **100** et **101** ; ***Schéma 45*** et ***Schéma 46***) et 2-désoxy (**103** et **104** ; ***Schéma 47***) ont été préparés. Le 1,6-β-anhydromannose **98** a été synthétisé selon la méthode décrite par Fraser-Reid *et al.* (***Schéma 36***),[180] puis directement perbenzylé et peracétylé sans purification préalable (***Schéma 45***).

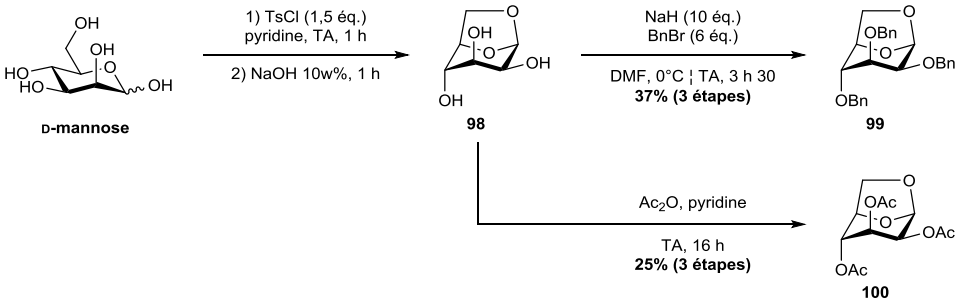


Schéma 45 – *Synthèse de substrats en série D-manno.*

Une procédure utilisant le tétrachlorure d'étain ($SnCl_4$) décrite par Ohrui, Meguro *et al.*[197] permet la dé-*O*-benzylation régiosélective de **99** en position 2 et l'obtention de l'alcool **101** avec un bon rendement (***Schéma 46***).

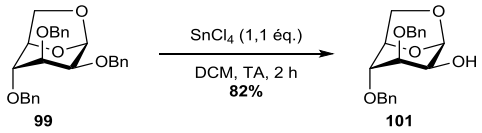


Schéma 46 – *Dé-O-benzylation régiosélective de l'anhydromannose perbenzylé.*

L'activation de la fonction hydroxy de **101** par l'anhydride triflique, puis la substitution du groupement partant formé (sans purification) par l'azoture de sodium fournit le 2-azido-2-désoxy-1,6-β-anhydroglucopyranose **104** (***Schéma 47***) selon la procédure décrite par Ohrui, Meguro *et al.*[197] Parallèlement, la réduction par nBu$_4$N·BH$_4$ de l'intermédiaire **102** produit le 2-désoxy-1,6-β-anhydroglucopyranose **103** selon un mode opératoire adapté de Yang *et al.* (***Schéma 47***).[198]

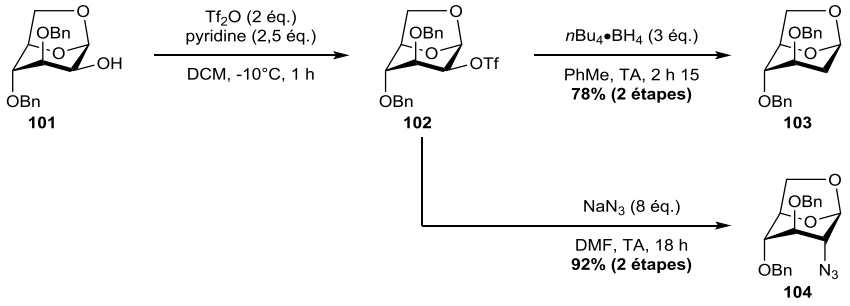


Schéma 47 – *Synthèse de dérivés en série 2-désoxy.*

Finalement, le substrat perbenzylé disaccharidique **106** est préparé en deux étapes à partir du D-maltose (*Schéma 48*). L'étape de formation de l'anhydro, adaptée de Shoda *et al.*,[199] sera détaillée dans le **Chapitre III** (voir III-2, *Schéma 62*).

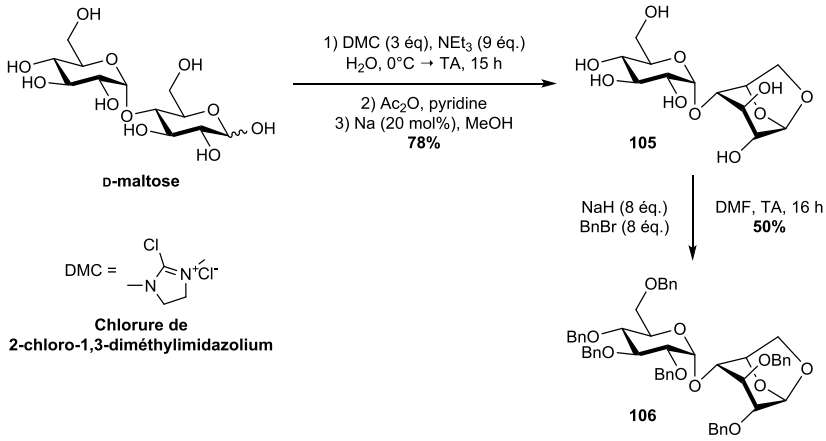


Schéma 48 – *Synthèse d'un substrat disaccharidique perbenzylé.*

3.2 Application des conditions d'ouverture optimisées

La *Figure 35* rassemble les résultats (ratio α/β, rendement) de l'application des conditions « ***rapides*** » et « ***lentes*** » définies lors de la phase d'optimisation (voir 2.2, *Schéma 42*). Seuls les anomères α, qui sont généralement obtenus majoritairement, sont représentés.

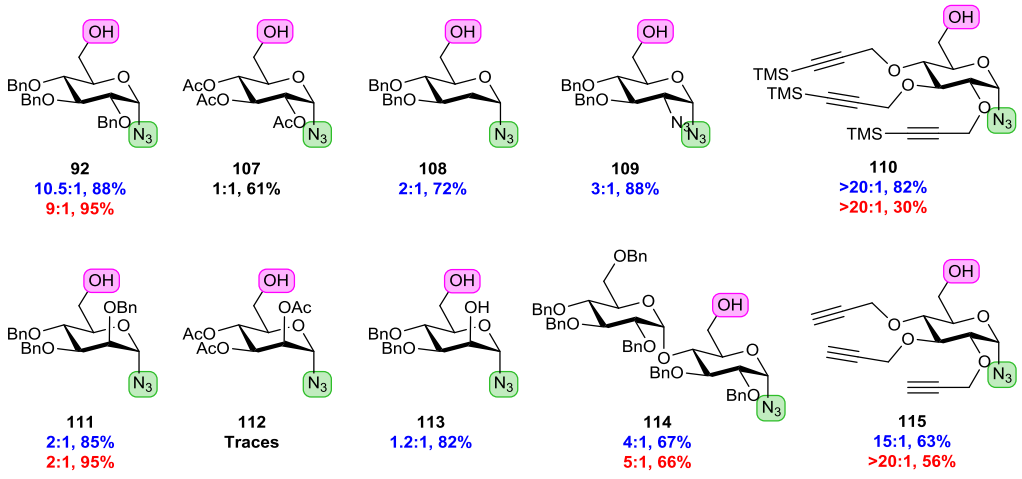


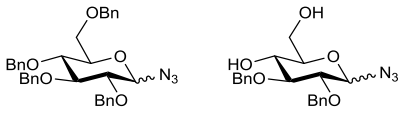
Figure 35 – *Champ d'application de la réaction d'ouverture de ponts 1,6-anhydro par un azoture.*

Le remplacement des groupes protecteurs benzyles par des acétates induit, comme nous l'avions anticipé, une importante diminution de la réactivité pour **94** (*Schéma 43*). En effet, la formation du probable intermédiaire oxocarbénium est défavorisée par ces groupements électroattracteurs et requiert l'utilisation des conditions « ***rapides*** » en chauffant en plus le milieu réactionnel à 40°C pendant plusieurs jours. Par contre, le contrôle de la stéréosélectivité est perdu et **107** est isolé avec un rendement moyen comme mélange équimolaire inséparable des deux anomères (ratio α/β 1:1, 61%). Les conditions « ***lentes*** » n'ont pas permis la conversion de l'anhydroglucose peracétylé **94**.

Avec les conditions « ***rapides*** », les substrats tri- et di-benzylés en série D-*manno* **99** et **101** ont fourni les azotures correspondants **111** (2:1, 85%) et **113** (1,2:1, 82%) avec de bons rendements mais de mauvaises diastéréosélectivités. Comme nous l'avions observé pour l'anhydroglucose perbenzylé **91**, les conditions « ***lentes*** » appliquées à l'analogue en série D-*manno* **99** offrent un très bon rendement (2:1, 85%), mais sans variation de l'issue stéréochimique. Là encore, l'acétylation des fonctions hydroxy réduit drastiquement la réactivité de **100**, les azotures **112** n'étant observés qu'à l'état de traces (par RMN ^{1}H), même avec les conditions plus efficaces.

Les substrats en série 2-désoxy **103** et **104** fournissent les azotures **108** (2:1, 72%) et **109** (3:1, 88%) avec de bons rendements mais de mauvaises diastéréosélectivités.

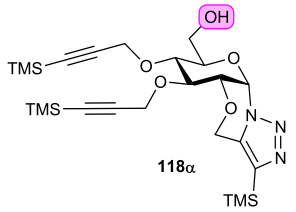
Enfin, le maltosan perbenzylé **106** en série D-*gluco* est converti en azotures **114** avec de bonnes sélectivités (4:1 à 5:1), mais avec un rendement moyen (66-67%), quelles que soient les conditions utilisées. En effet, une partie du substrat et/ou des produits formés subit une coupure de la liaison glycosidique, comme en témoignent les sous-produits isolés **116** et **117** (***Figure 36***).



116 **117**

Figure 36 – *Sous-produits issus de la coupure de la liaison glycosidique de **106** et/ou **114**.*

Finalement, l'utilisation des conditions « ***lentes*** » sur le substrat tripropargyle **96** a permis d'obtenir **110α** avec une diastéréosélectivité totale mais un très mauvais rendement (>20:1, 30%). En effet, le produit majoritaire de la réaction s'est avéré être le composé tricyclique **118α** (***Figure 37***), issu de la cycloaddition [3+2] de Huisgen régiosélective en faveur du 1,5-triazole de l'α-azoture avec l'alcyne propargylique situé en position 2. La pré-organisation des deux fonctions, induite par leur juxtaposition sur la face α, abaisse la haute barrière énergétique habituellement due à un facteur entropique très négatif[200,201] et à l'énergie nécessaire à la distorsion du dipôle [1,3].[202,203] Une version sans TMS de cette « réaction click intramoléculaire » a été décrite en 2011 par Vankar *et al.*[204] et plusieurs autres études rapportent des variantes avec un groupe TMS[205,206] ou même des réactions de polymérisation en phase solide.[207] L'utilisation des conditions « ***rapides*** » permettent cependant d'éviter cette réaction secondaire et d'obtenir **110α** comme unique produit de la réaction avec un très bon rendement (>20:1, 82%), l'anomère β n'étant observé qu'à l'état de traces dans le spectre RMN du brut réactionnel. La conservation de **110α** au congélateur (-18°C) ralentit grandement la réaction de Huisgen.



118α

Figure 37 – *Produit de cyclisation de Huisgen intramoléculaire.*

Des observations semblables sont faites pour le substrat tripropargylé **95** mais avec des rendements moyens en **115α** quelles que soient les conditions utilisées (conditions « ***rapides*** » = 15:1, 63% ;

conditions « ***lentes*** » = >20:1, 56%). Nous avons ensuite vérifié que le chauffage de **115α** à 80°C dans le toluène pendant 19 h conduit au triazole **119α** avec 72% de rendement (***Schéma 49***).

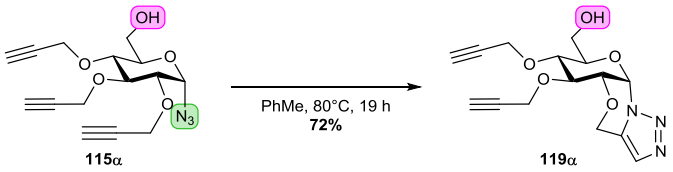


Schéma 49 – *Cycloaddition de Huisgen intramoléculaire.*

4 Mécanisme

Afin d'expliquer les diastéréosélectivités observées (et notamment l'abolition de la sélectivité avec des groupements acétate), nous supposons un mécanisme de type S_N1 impliquant la formation d'un intermédiaire oxocarbénium, promue par l'acide de Lewis, sur lequel le nucléophile s'additionne sous contrôle cinétique (***Schéma 50***).[145] Cette hypothèse se place donc en contraste fort avec le mécanisme d'ouverture de ponts 1,6-anhydro par $(TMS)_2S$ de Zhu *et al.*, qui postulaient une substitution S_N2 concertée du fait, *inter alia*, de l'absence d'influence des groupements acétate sur la sélectivité.[173]

Dans notre cas, nous pensons que l'issue stéréochimique de la réaction est gouvernée par les substituants : ceux-ci influencent la stabilité des intermédiaires oxocarbénium en conformation demi-chaise $^4H_3$ et $^3H_4$ (***Schéma 50***), ainsi que les états de transition lors de l'approche du nucléophile, selon le principe de Curtin-Hammet.[208] Celui-ci stipule que, pour une réaction dont les deux intermédiaires réactionnels (des conformères par exemple) s'interconvertissent rapidement et conduisent irréversiblement chacun à un produit différent, le ratio des produits dépend à la fois de la différence d'énergie entre les deux intermédiaires et de la différence d'énergie libre des états de transition correspondants. La distribution des produits ne reflète donc pas forcément la distribution des intermédiaires à l'équilibre. Dans notre cas, les deux intermédiaires réactionnels s'interconvertissant rapidement seraient les conformères oxocarbénium $^4H_3$ et $^3H_4$.

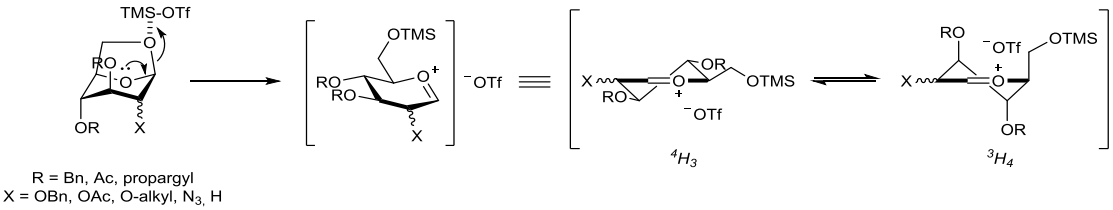


Schéma 50 – *Mécanisme d'ouverture du pont 1,6-anhydro, promue par TMSOTf.*

Sur chacun d'entre eux, l'attaque du nucléophile pourrait se faire sur la face supérieure (β) ou la face inférieure (α) (***Schéma 51***). Cependant, les états de transition correspondants ne sont pas équivalents : les attaques équatoriales conduisent à des états de transition très haut en énergie de type « bateau croisé », très défavorables, tandis que les attaques axiales conduisent à des états de transition de type « chaise », favorables car plus bas en énergie. Les attaques axiales seront donc favorisées (***Schéma 51***).

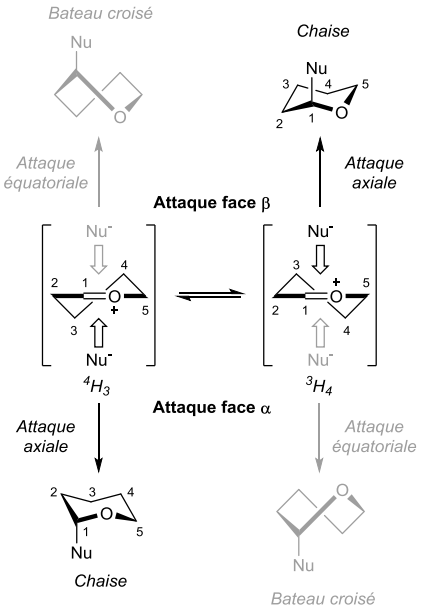


Schéma 51 – *Les différentes issues de l'attaque d'un nucléophile sur les deux conformères demi-chaise d'un oxocarbénium.*

Si dans les cycles à 6 membres non chargés de type cyclohexane, la conformation préférée est dirigée par des effets stériques et favorise en général celle qui minimise les interactions 1,3-diaxiales (***Schéma 52***), Woerpel *et al.* ont réalisé des études permettant de déterminer l'influence de substituants sur des intermédiaires oxocarbénium dans des réactions de *C*-glycosylation et sont arrivés à des conclusions plutôt contre-intuitives.[209–211]

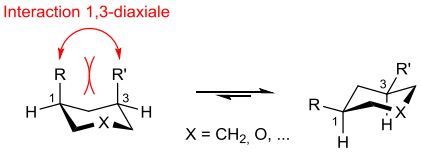


Schéma 52 – *Les interactions 1,3-diaxiales favorisent les conformations avec les substituants équatoriaux.*

En effet, en réalisant des 1-*C*-allylations de tétrahydropyranes monosubstitués à partir des acétates anomériques correspondants, Woerpel a montré tout d'abord que la fonctionnalisation en C-3 et C-4 par des groupements alkoxy favorise non pas le conformère dans lequel les substituants sont pseudo-équatoriaux, mais bien celle où ils sont pseudo-axiaux : l'atome d'oxygène du substituant est alors assez proche du carbocation pour générer une interaction électrostatique stabilisante (***Schéma 53***).[209,212] L'attaque d'un nucléophile se fera donc sur le conformère demi-chaise le plus stable, favorisant une diastéréosélectivité *trans* pour la fonctionnalisation en C-4, et *cis* pour la fonctionnalisation en C-3.[209] Dans le second cas, l'approche du nucléophile est donc légèrement défavorisée, ce qui explique les légèrement moins bonnes sélectivités observées par Woerpel.[209]

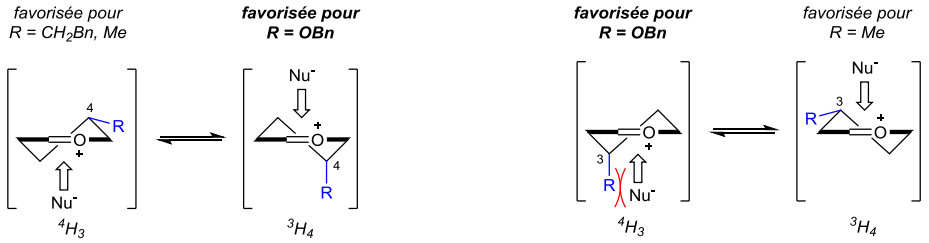


Schéma 53 – *Effets stabilisants des substituants en C-4 et C-3 dans des intermédiaires oxocarbénium demi-chaise.*

La fonctionnalisation en C-2 induit une stabilisation différente, favorisant le conformère cation pyranosyl pour lequel le substituant alkoxy est équatorial : dans cette configuration, la liaison C-H axiale électrodonneuse stabiliserait le carbocation par hyperconjugaison avec son orbitale 2p (***Schéma 54***).[209,212]

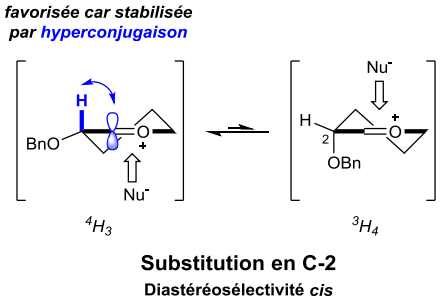


Schéma 54 – *Effets stabilisants des substituants en C-2 dans les intermédiaires oxocarbénium demi-chaise.*

La fonctionnalisation en C-5 n'apporte pas d'effet stabilisant, mais l'approche du nucléophile sur le conformère présentant ce substituant en axial est défavorisée par une interaction de type *syn*-pentane (***Schéma 55***).[211,213] Il en résulte une diastéréosélectivité *trans* modérée. De plus, dans le cas d'une substitution en C-3 et C-5 sur la même face simultanément (comme dans tous nos substrats), une interaction *syn*-butanol déstabilisante (1,8 kcal/mol) augmente la diastéréosélectivité (***Schéma 55***).[211,214]

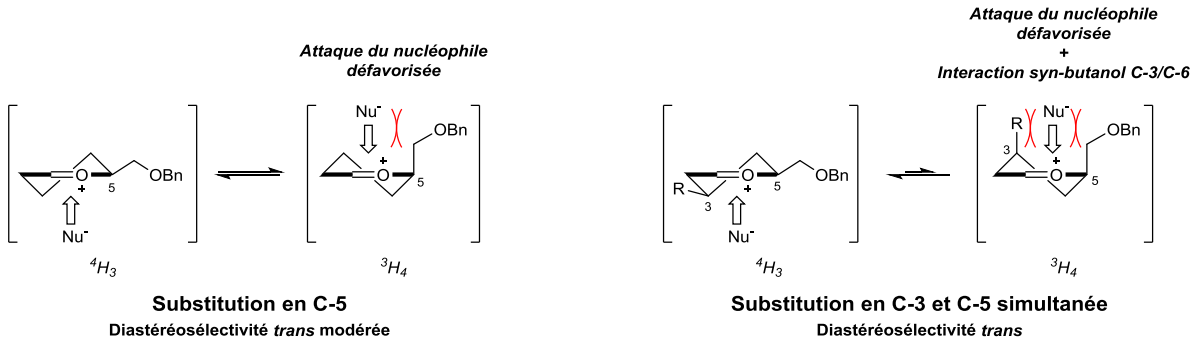


Schéma 55 – *Gêne stérique induite par le substituant en C-5 dans les intermédiaires oxocarbénium demi-chaise.*

La très haute sélectivité α de l'ouverture des dérivés tri-*O*-alkylé de l'anhydroglucose (**91**, **95** et **96**, ***Figure 35***) peut donc être rationnalisée en considérant que l'intermédiaire oxocarbénium adopte principalement la forme demi-chaise $^4H_3$, stabilisée par hyperconjugaison, dans laquelle tous les substituants sont pseudo-équatoriaux, ce qui ne gêne donc pas l'approche selon une trajectoire axiale du nucléophile sur la face α (***Schéma 56***). En effet, bien que l'autre conformation bénéficie de

l'effet stabilisant des groupes alkoxy en C-3 et C-4, elle présente les substituants dans des directions engendrant une grande contrainte stérique, à la fois entre les substituants en C-3 et C-5 (interaction *syn*-butanol, ***Schéma 55***) et avec le nucléophile suivant une trajectoire axiale (***Schéma 53*** et ***Schéma 55***). De plus, dans cette conformation $^{3}H_{4}$, la stabilisation par hyperconjugaison est perdue, la liaison C-H en position 2 étant équatoriale (***Schéma 54***).

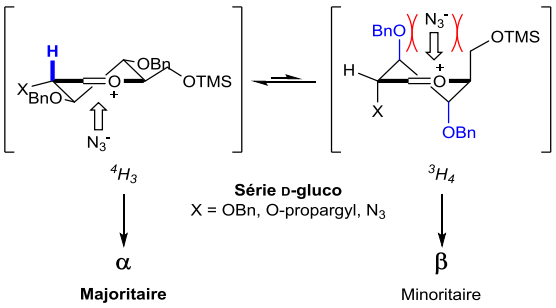


Schéma 56 – *Origine de la stéréosélectivité α en série D-gluco.*

La moins bonne sélectivité observée pour les substrats en série D-*manno* ou 2-désoxy (**99**, **101** et **103**, ***Figure 35***) peut alors s'expliquer par une stabilisation réduite de $^{4}H_{3}$ et/ou une stabilisation augmentée de $^{3}H_{4}$ (***Schéma 57***). Un calcul d'Amat et Carbó-Dorca indiquait que dans le cation mannosyl non substitué, $^{3}H_{4}$ est favorisée par 4,0 kcal/mol.[211,215] Dans tous les cas, la magnitude de la sélectivité est difficile à anticiper.

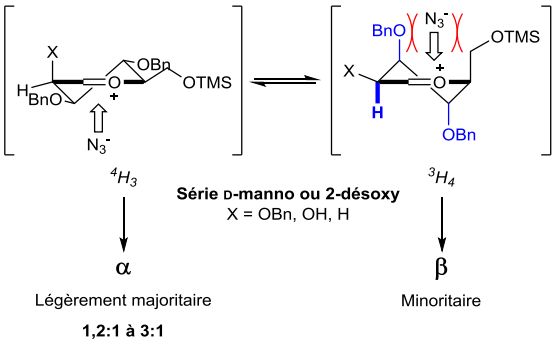


Schéma 57 – *Origine de la stéréosélectivité α en série D-manno ou 2-désoxy.*

Cependant, les explications données ci-dessus sont à nuancer. En effet, elles sont fondées sur l'hypothèse de l'irréversibilité de la réaction d'ouverture d'anhydro. Or, des expériences réalisées au laboratoire ont montré que les composés tribenzylés purs **92** et **111** pouvaient subir une anomérisation[216,217] et même redonner les produits de départs **91** et **99** lorsqu'on les replace dans les conditions de la réaction pendant plusieurs jours (***Schéma 58***). Ces observations semblent indiquer que les paramètres cinétiques (et particulièrement le temps de réaction) sont aussi à considérer pour rationaliser l'issue stéréochimique de la réaction.

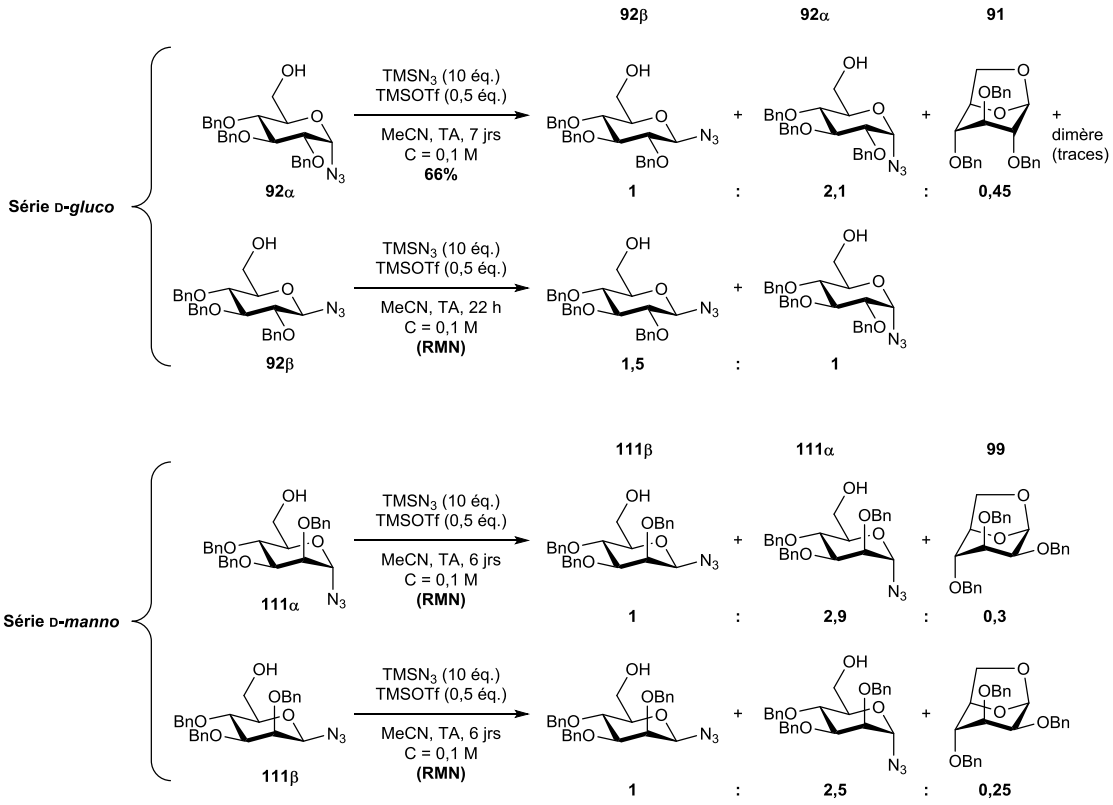


Schéma 58 – *Anomérisations dans les conditions de réaction.*

5 Application à la synthèse rapide d'un néo-pentasaccharide

Le potentiel synthétique de la réaction d'ouverture avec $TMSN_3$ a alors été démontré par la synthèse expéditive d'un néo-pentasaccharide selon une stratégie « click-click », en seulement 3 étapes à partir du 1,6-anhydropyranose **96** (*Schéma 44*). Pour cela, deux synthons ont été préparés au préalable (*Schéma 59*). Le composé commercial **120** a été 6-*O*-propargylé dans des conditions de Williamson classiques pour donner **121** avec un très bon rendement.[218] L'alcool libre de **111α**, obtenu par ouverture de l'anhydro **104** *via* nos conditions optimisées, a été protégé orthogonalement par un PMB selon un protocole inspiré de celui de Jakab *et al.*[219]

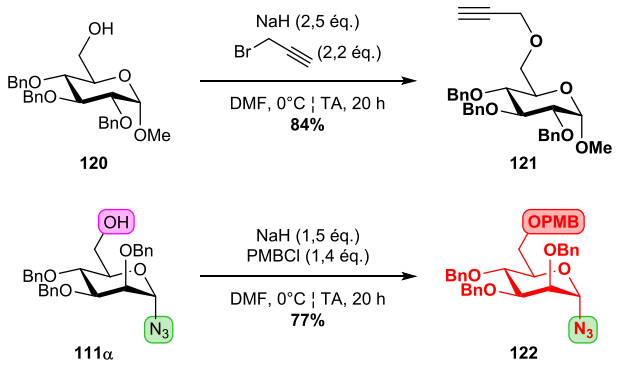


Schéma 59 – *Préparation des synthons **121** et **122**.*

L' α-azoture de glucosyle **110α** est obtenu très sélectivement par ouverture du pont 1,6-anhydro de **96**, et avec un très bon rendement en suivant les conditions « ***rapides*** » mises au point précédemment (*Schéma 60*). Une première réaction de CuAAC à température ambiante permet de « clicker » **110α** et **121** (*Schéma 60*), la formation du produit de cycloaddition intramoléculaire **118α** (*Figure 37*) empêchant cependant d'atteindre un rendement supérieur à 70%. Ensuite, **123** est désilylé *in situ* par le fluorure de tétrabutylammonium (TBAF) et 3 exemplaires du dérivé D-*manno* **122** sont « clickés » simultanément sur le néo-disaccharide intermédiaire pour donner **124** avec un rendement non optimisé de 63% (*Schéma 60*). Au-delà de la rapidité de cette approche, l'intérêt de l'ouverture de ponts 1,6-anhydro par $TMSN_3$ réside dans la libération simultanée d'une fonction alcool en position 6, qui peut être fonctionnalisée ou protégée orthogonalement par la suite (*Schéma 60*).

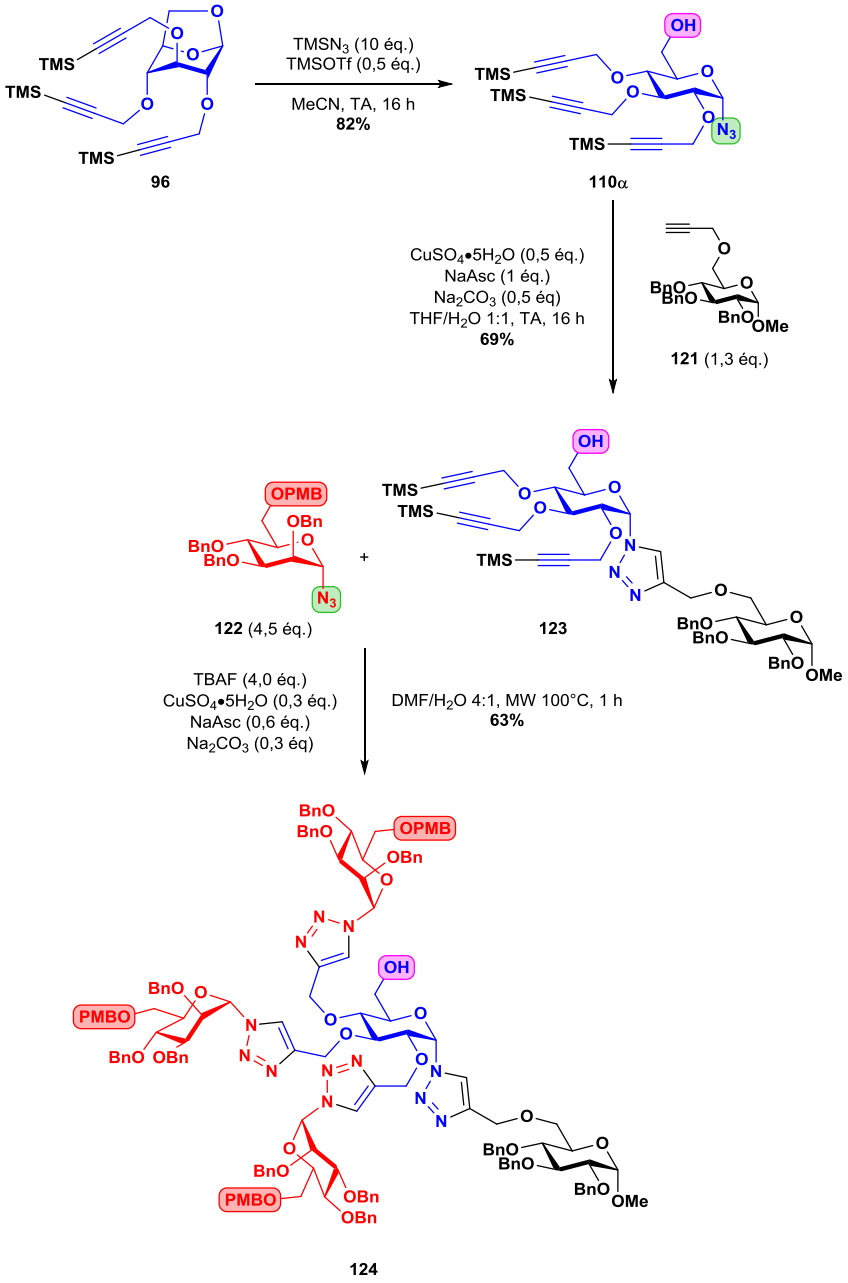


Schéma 60 – *Synthèse rapide du néo-pentasaccharide **124**.*

6 Conclusion du Chapitre II

Dans de ce chapitre, nous avons décrit l'étude d'une réaction d'ouverture de ponts 1,6-anhydro par l'azidotriméthylsilane ($TMSN_3$) catalysée par le trifluorométhanesulfonate de triméthylsilyle (TMSOTf). Après avoir étudié sur un substrat modèle l'influence des différents paramètres sur le rendement et l'issue stéréochimique de la réaction (nature et quantité de l'azoture, nature et quantité de l'acide de Lewis, température, temps de réaction, concentration), nous avons défini deux conditions-types dans des solvants différents et les avons appliquées à un panel de substrats d'intérêt pour lesquels les groupes protecteurs, la fonctionnalité et/ou la stéréochimie en C-2 était variable. L'analyse des résultats a montré que la diastéréosélectivité de la réaction est fortement liée à la configuration absolue et à la nature des substituants en C-2. En série D-*gluco*, d'excellentes diastéréosélectivités ont pu être obtenues, ce qui est un résultat encourageant dans le cadre de notre projet.

L'issue stéréochimique de la réaction, sous contrôle cinétique, peut être rationnalisée en partie par l'attaque de l'azoture selon une trajectoire axiale sur le conformère le plus réactif et/ou stable d'un cation oxocarbénium intermédiaire, selon un mécanisme de type S_N1 et en accord avec le modèle de Woerpel.[209,211]

L'application de cette méthodologie à la synthèse rapide d'oligosaccharides dans le contexte de la chimie « click » a ensuite été démontrée par la préparation expéditive d'un néo-pentasaccharide relativement complexe, portant un alcool libre et trois autres protégés orthogonalement.

Chapitre III

Synthèse de modules *Sweet LEGO®*

« […] Souvenez-vous que dans les champs de l'observation,
le hasard ne favorise que les esprits préparés. »

Louis Pasteur

1 Introduction

Dans le **Chapitre I** (voir I-3.3), nous avons défini la structure générale des blocs – ou « modules » – qui serviront de base à la synthèse de néocyclodextrines[§] par approche *Sweet LEGO®*. Il s'agit d'un disaccharide, permettant d'atteindre rapidement une taille similaire à celle d'une cyclodextrine (CD) native tout en restant plus facilement fonctionnalisable que ces dernières (***Figure 38***).

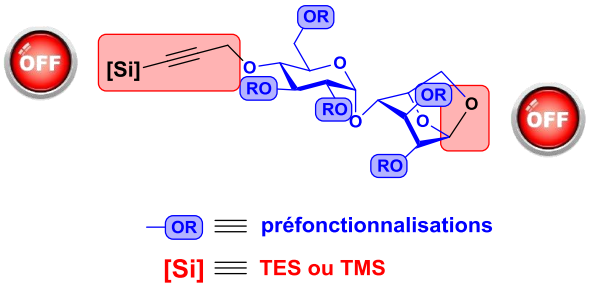


Figure 38 – *Structure générale des modules Sweet LEGO®.*

Afin de simplifier la description des modules, nous proposons la numérotation des positions figurant sur la ***Figure 39***. Les fonctions hydroxy secondaires en position 2, 3, 2′ et 3′ formeront la face « secondaire » de la néo-CD. Les fonctions hydroxy primaires en positions 6 et 6′ formeront la face « primaire » de la néo-CD. La position 4′ portera un propargyle protégé par un groupement TES (la déprotection non souhaitée des groupements TMS en milieu basique décrites dans le **Chapitre II** a motivé ce choix), la position 1 sera protégée par un pont 1,6-anhydro (mode OFF ; ***Figure 38***) puis portera un azoture (mode ON) après la réaction d'ouverture par $TMSN_3$ (voir **Chapitre II**).

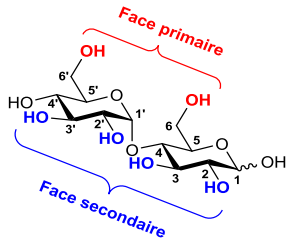


Figure 39 – *Numérotation des positions et termes spécifiques.*

Comme premières cibles de la stratégie, nous proposons de synthétiser un module dit « monovalent » (**125** ; ***Figure 40***) ne portant qu'une position préfonctionnalisée, et un module dit « pentavalent » portant 5 positions préfonctionnalisées (**126** ; ***Figure 40***).

Le module monovalent **125** portera donc un propargyle silylé (TES) en position 4′, un pont 1,6-anhydro, une préfonctionnalisation propargyle silylé (TIPS) sur la face primaire en position 6′. Les alcools de la face secondaires seront simplement alkylés par des groupes méthoxy. Ce module a été

[§] Le terme de « néocyclodextrine » sera utilisé pour tout analogue de CD construit par CuAAC.

choisi comme composé modèle, de par sa structure relativement simple, afin de développer le concept de l'approche *Sweet LEGO®*.

Le module pentavalent **126** aura une structure semblable, mais la face secondaire sera elle aussi préfonctionnalisée (propargyles silylés [TIPS]), portant la valence du module à une valeur de 5. Ce module a été choisi comme seconde cible, car sa valence élevée permettrait d'atteindre des composés multivalents portant un grand nombre d'iminosucres greffés sur une néo-CD basée sur ce motif.

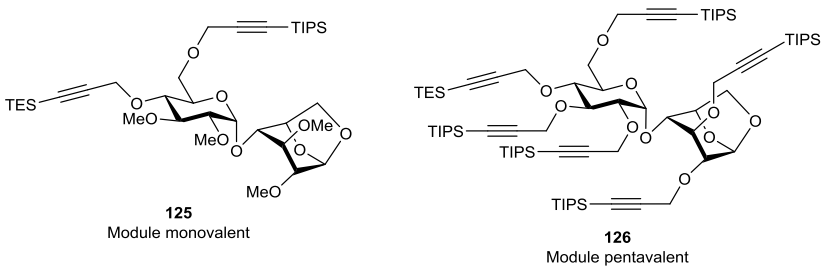


Figure 40 – *Modules cibles de la stratégie.*

Pour chacun de ces deux modules, l'alcool libéré lors de l'ouverture de l'anhydro (voir **Chapitre II**) pourra permettre de porter la valence à 2 et 6, respectivement, ou bien d'apporter une différenciation sur la face primaire des néo-CD.

Afin de les préparer, nous proposons une stratégie de synthèse initiale (***Schéma 61***) partant du D-(+)-maltose, peu cher (environ 100€/kg). La première étape consisterait en la formation du pont 1,6-anhydro,[199] protégeant de fait les positions 1 et 6 pour le reste de la synthèse. L'isolement des positions 4' et 6' par un benzylidène[220] (**127**) permettrait ensuite d'alkyler sélectivement les positions de la face secondaire du module pour introduire un méthyle (**128**) ou un propargyle silylé (TIPS) (**129**). La déprotection du benzylidène[221] (**130** et **131**), suivie d'une alkylation régiosélective[222,223] isolerait alors la position 4' (**132** et **133**), qui serait alkylée par un propargyle silylé (TES)[224] pour donner **125** ou **126**.

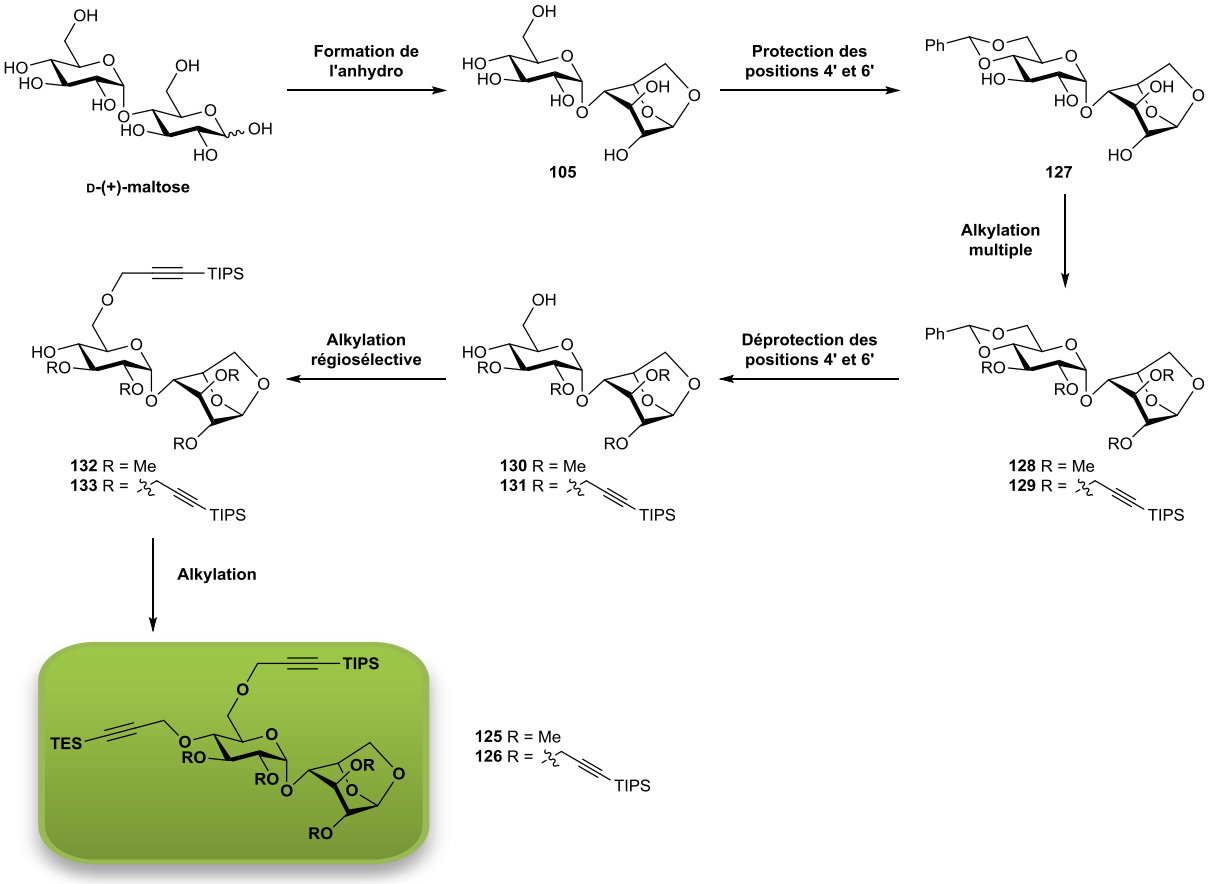


Schéma 61 – *Stratégie de synthèse initiale des modules **125** et **126**.*

2 Premières étapes

Shoda *et al.* ont décrit une méthode de préparation de 1,6-β-anhydropyranoses utilisant le chlorure de 2-chloro-1,3-diméthylimidazolium (DMC ; ***Schéma 62***) dans l'eau afin de générer *in situ* un bon groupe partant en position anomérique, rapidement déplacé intramoléculairement.[199] Un excès de triéthylamine sert de piège à protons. Si cette méthode est très efficace pour préparer des anhydropyranoses avec d'excellents rendements à partir des sucres nus correspondants, la purification des produits obtenus est autrement plus délicate. En effet, le D-(+)-maltose est quantitativement converti (spectre RMN ^{1}H du brut réactionnel) mais la grande polarité du 1,6-β-anhydromaltose **105** (ou « *maltosan* ») empêche sa séparation d'un sous-produit de la réaction, à savoir le chlorhydrate de triéthylammonium. La 1,3-diméthyl-2-imidazolidinone est quant à elle extraite assez facilement, car soluble dans les solvants organiques. Dans leur mode opératoire, les auteurs préconisaient une purification par HPLC, ce qui n'est pas adapté pour une synthèse sur plusieurs dizaines de grammes.

Après plusieurs tentatives d'extractions infructueuses (différentes variations de pH, extraction Soxhlet), nous avons donc opté pour une méthode d'acétylation-déacétylation du brut réactionnel (***Schéma 62***), dont la recristallisation de l'intermédiaire peracétylé **134** est connue.[225,226] La déacétylation catalysée par le méthanolate de sodium est réalisée avec un rendement quantitatif. Cette procédure a été appliquée avec succès à l'échelle de 35g.

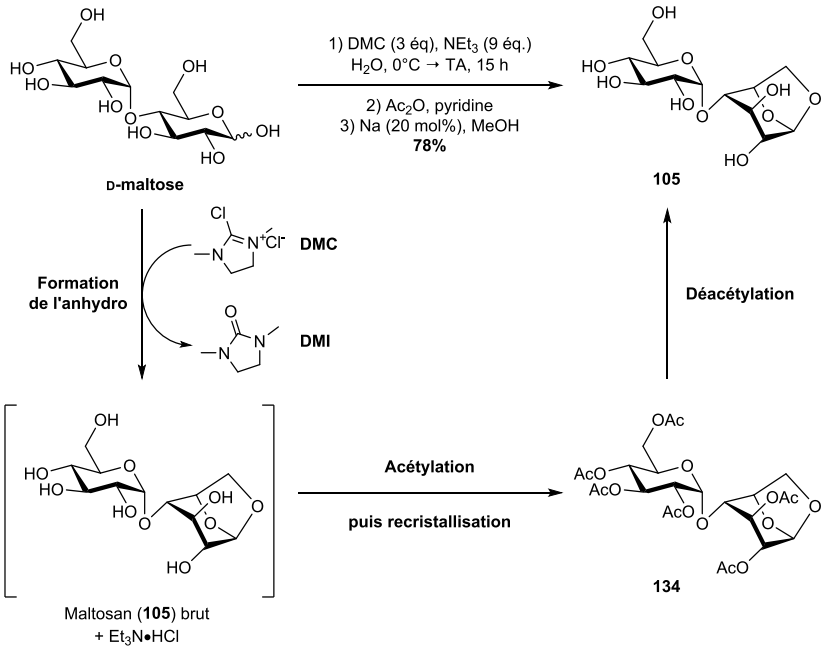


Schéma 62 – *Synthèse du maltosan **105**.*

La protection des alcools en positions 4' et 6' est effectuée par la mise en place d'un acétal de type benzylidène avec un rendement moyen, en utilisant des conditions inspirées de celles de Vasella *et al.*[227] (***Schéma 63***). Selon les conditions réactionnelles employées, **127** est obtenu en mélange avec le substrat de départ **105**, ou alors avec des dérivés portant deux benzylidènes.

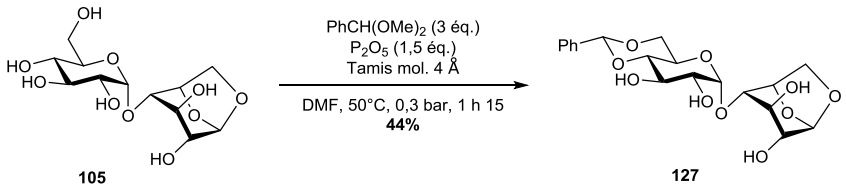


Schéma 63 – *Synthèse du benzylidène **127**.*

La préparation du composé tétraméthylé **128** est alors effectuée facilement par méthylation des 4 fonctions hydroxy restantes de **127** dans des conditions de Williamson classiques (***Schéma 64***). Le benzylidène est alors déprotégé pour libérer les positions 4' et 6', par traitement de **128** avec l'acide trifluoroacétique[228] (***Schéma 64***) pour donner **130** avec un rendement de 62%. Ce composé polaire n'est que peu soluble dans les solvants organiques usuels.

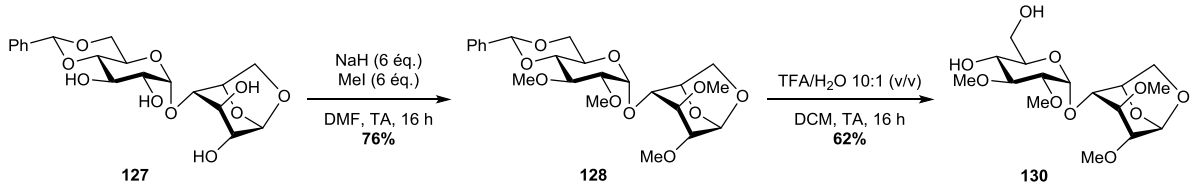


Schéma 64 – *Synthèse du précurseur tétraméthylé **130**.*

En utilisant des conditions décrites par Boulineau et Wei[222,223] pour la benzylation régiosélective de l'alcool primaire d'un 1,3-diol, nous avons tenté de propargylsilyler** régiosélectivement la position 6' du diol **130**. Malheureusement, la faible solubilité de ce dernier dans le toluène n'a pas permis d'obtenir **132**.

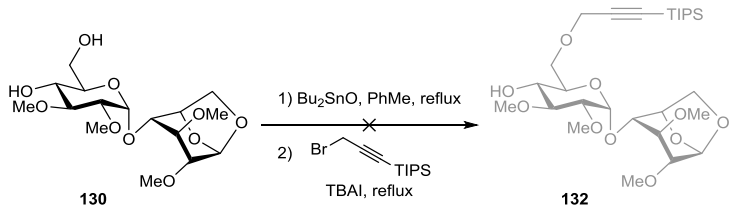


Schéma 65 – *Tentative d'alkylation régiosélective de **130**.*

Nous nous sommes alors tournés vers la synthèse du module pentavalent, dont la polysubstitution par des propargyles silylés (TIPS) devrait améliorer la solubilité dans les solvants organiques. A partir du tétrol **127**, le composé **129** pourrait être obtenu par propargylsilylation des 4 alcools de la face secondaire. Or, notre expérience de propargylsilylation multiple lors de l'étude méthodologique décrite dans le **Chapitre II** (voir II-3.1) nous a encouragés à effectuer cette synthèse en deux étapes. Le tétrol **127** est donc tétrapropargylé quantitativement dans les conditions classiques de Williamson pour donner le disaccharide tétrapropargylé **135**, dont les 4 alcynes terminaux sont

** Le terme « propargylsilyler » sera utilisé pour décrire la réaction d'un alcool avec un bromure de propargyle dont l'alcyne est protégé par un groupement silylé.

ensuite protégés par un groupement silylé TIPS par réaction des alcynures avec TIPSCl à basse température (*Schéma 66*). Le produit **129** est alors obtenu avec un excellent rendement (70%) sur deux étapes.

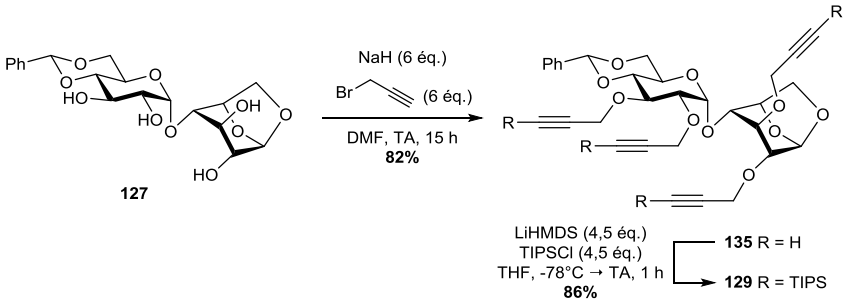


Schéma 66 – *Synthèse du précurseur tétrapropargylsilylé **129**.*

Les composés tétrapropargylés **135** et **129** sont alors traités à l'acide trifluoroacétique dilué[228] pour déprotéger les benzylidènes et donner les diols **136** et **131** correspondants avec des rendements corrects. Le composé **136** portant 4 alcynes terminaux est préparé en prévision de difficultés de synthèse liées à l'encombrement stérique important induit par les groupements TIPS de **131**.

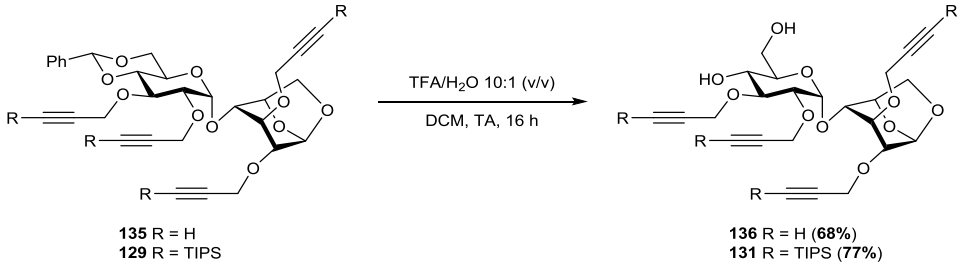


Schéma 67 – *Déprotection des benzylidènes **135** et **129**.*

Les conditions de Boulineau et Wei[222,223] pour la benzylation régiosélective d'un alcool primaire d'un 1,3-diol ont été appliquées au substrat **131** (*Schéma 68*), sans succès malgré la solubilité améliorée par rapport au composé méthylé correspondant (**130**). De nombreux autres essais employant différentes bases et du bromure de propargyle (silylé ou non) ont été réalisés, à très basses températures ou jusqu'au reflux dans différents solvants (*Schéma 68*). Aucun de ces essais n'a permis d'isoler **133** ou son régioisomère. En effet, soit la base est trop forte et dégrade les groupements TIPS, soit la substitution S_N2 des alcools sur le bromure de propargyle – réaction que l'on sait sensible à l'encombrement stérique – n'a pas lieu et le produit de départ **131** est recouvré intact.

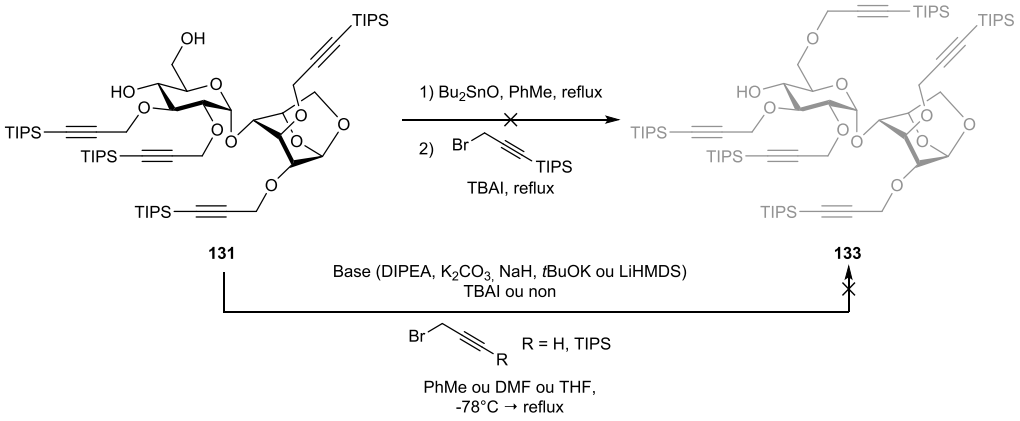


Schéma 68 – *Tentatives d'alkylations régiosélectives du diol **131**.*

L'hypothèse de l'encombrement stérique trop important de **131** a motivé un test d'alkylation de son analogue désilylé **136** avec un seul équivalent de bromure de propargyle en conditions diluées : nous espérions ainsi favoriser l'alkylation de l'alcool en position 6', primaire et donc en théorie plus réactif vis-à-vis d'une substitution nucléophile S_N2. Le mélange obtenu confirme cette hypothèse, puisque **137a** est majoritaire (32%) devant le régioisomère **137b** (19%) et le produit de dialkylation **138** (15%). Cependant, les deux régioisomères **137a** et **137b** ne sont pas séparables par chromatographie sur colonne de silice.

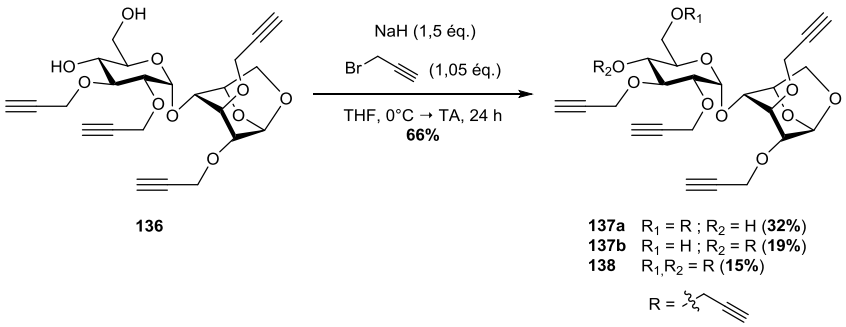


Schéma 69 – *Tentative d'alkylation régiosélective de **136**.*

Une alternative consiste en l'ouverture régiosélective des benzylidènes **135** et **129** par un réducteur comme le DIBAL-H[229–231] ou le borane[231,232]. Malheureusement, les essais conduits sur **129** ont dégradé le produit. L'utilisation de borane-THF sur **135** semble avoir complètement converti le substrat, mais aussi dégradé le produit attendu, tandis que l'usage du DIBAL-H a laissé le substrat intact, même après 3 jours de réaction. Aucun des composés **139-142** n'a donc pu être isolé.

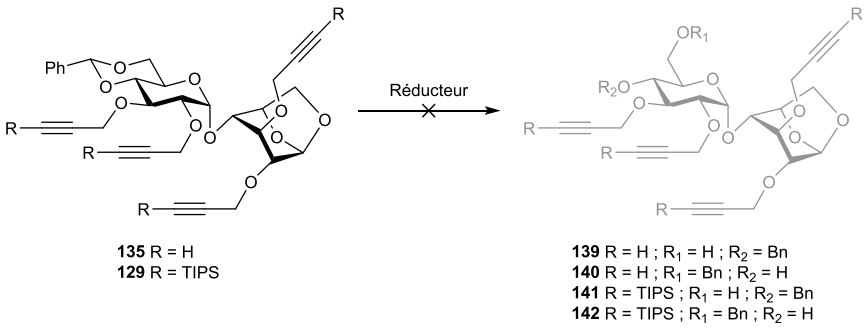


Schéma 70 – *Tentatives d'ouverture régiosélective des benzylidènes **135** et **129**.*

En considérant l'efficacité modérée des voies de synthèse choisies, les difficultés rencontrées dans l'alkylation (régiosélective ou non) des positions 4' et 6', ainsi que les échecs dans la réduction régiosélective de benzylidènes, nous avons choisi de modifier la densité électronique du benzylidène en introduisant un substituant *para*-méthoxy sur le phényle. Ce substituant électrodonneur facilite la réduction régiosélective du *para*-méthoxybenzylidène par le DIBAL-H.[233] Nous avons donc préparé le nouvel intermédiaire **143** (***Schéma 71***) avec un excellent rendement, obtenu directement par cristallisation dans un mélange DCM/H_2O selon un protocole décrit par Koyama *et al.*[234]

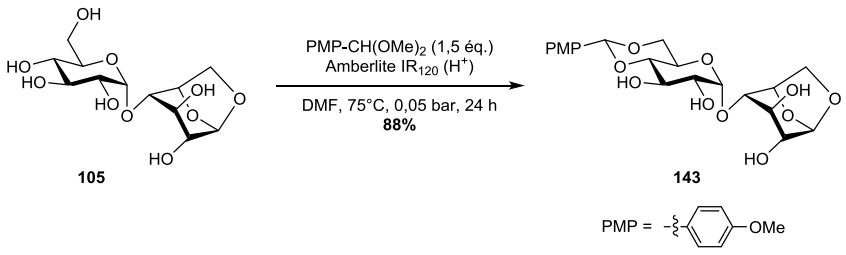


Schéma 71 – *Synthèse du para-méthoxybenzylidène **143**.*

La nouvelle stratégie de synthèse implique donc l'ouverture régiosélective du *para*-méthoxybenzylidène par le DIBAL-H[233] afin d'isoler la position 4' ou 6' sélectivement. A ce stade, la synthèse devient divergente, selon les groupements qui sont installés sur les 4 alcools.

3 Synthèse du module monovalent

3.1 Ouverture régiosélective du *para*-méthoxybenzylidène

Le *para*-méthoxybenzylidène **143** est méthylé quantitativement dans des conditions de Williamson classiques pour donner **144** (*Schéma 72*). L'ouverture du benzylidène par réduction régiosélective de l'acétal en éther est réalisée avec du DIBAL-H dans le DCM en suivant un protocole décrit par Vásquez *et al.*,[233] avec de bons rendements mais des régiosélectivités variables (*Schéma 72* et *Tableau 5*). En effet, les deux régioisomères **145** et **146** sont obtenus sous la forme d'un mélange de produits que nous n'avons pas pu séparer à ce jour.

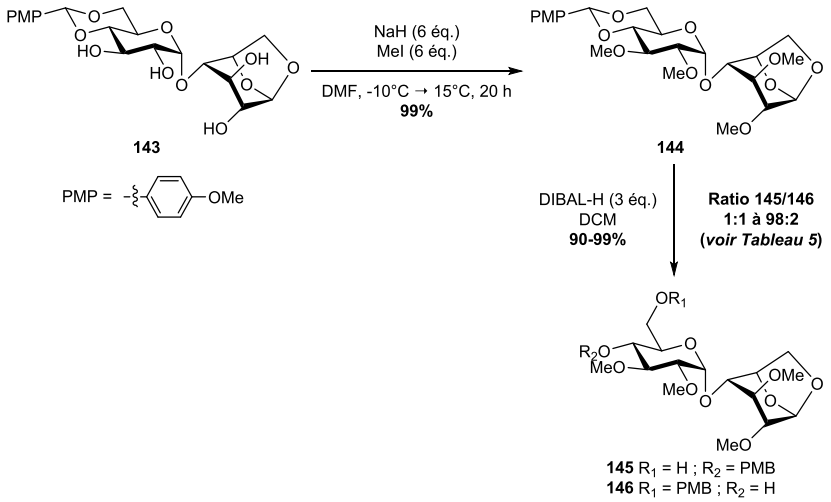


Schéma 72 – *Synthèse et ouverture du para-méthoxybenzylidène tétraméthylé **144**.*

La régiosélectivité de la réaction (déterminée par RMN ^{1}H) est difficilement contrôlable avec une addition au goutte-à-goutte du DIBAL-H sur une solution de **144** dans le DCM, même à basse température, à 0°C ou en imposant une remontée lente de la température (*Tableau 5*, entrées 1-4). Néanmoins, l'addition inverse de **144** sur une solution de DIBAL-H à température ambiante donne **145** avec une excellente régiosélectivité (*Tableau 5*, entrée 5).

Tableau 5 – *Conditions d'ouverture régiosélective du para-méthoxybenzylidène tétraméthylé **144**.*

Entrée	Addition	Température	Temps	Ratio 145/146
1	Goutte-à-goutte de DIBAL-H sur **144**	-55°C à 10°C	4 h	50 : 50
2	"	-78°C à 10°C	4 h	75 : 25
3	"	-78°C à 10°C	5 h	40 : 60
4	"	0°C	3 h	70 : 30
5	**Inverse**	**TA**	**5 min**	**98 : 2**

La régiosélectivité observée est cohérente avec un mécanisme impliquant la compétition entre deux sites de coordination du DIBAL-H (*Schéma 73*). En effet, celui-ci peut interagir avec les deux atomes d'oxygène de l'acétal, en position 4' et 6'. L'interaction la plus stable thermodynamiquement est formée avec l'oxygène 4', car une interaction supplémentaire avec l'oxygène 3' est possible (mais pas simultanément, la valence de l'aluminium n'étant que de 4). Cependant, la position 6' est moins encombrée et l'interaction du DIBAL-H est donc plus facile sur ce site, conduisant au produit cinétique. Avec l'emploi des conditions décrites en entrée 5 du *Tableau 5* (addition rapide inverse),

cette seconde voie est favorisée. La migration irréversible de l'hydrure fournit alors **145** comme produit cinétique largement majoritaire.

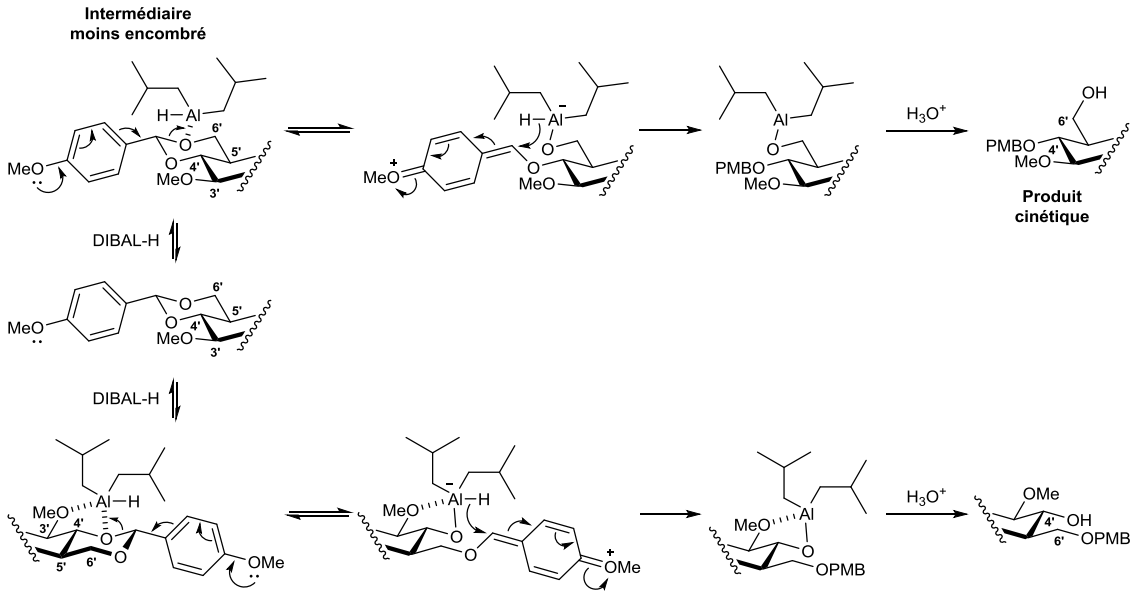


Schéma 73 – *Proposition de mécanisme justifiant la régiosélectivité de la réduction au DIBAL-H de* ***143****.*

3.2 Effet promoteur inattendu des alcools dans les alkylations difficiles

L'alcool **145** est propargylsilylé quantitativement dans des conditions de Williamson classiques dans le THF (*Schéma 74*). Aucune dégradation n'est observée ici. L'éther *para*-méthoxybenzylique **147** est ensuite déprotégé rapidement avec un bon rendement par réaction avec la 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) (*Schéma 74*). L'alcool **132** (*Schéma 61*) est alors finalement obtenu.

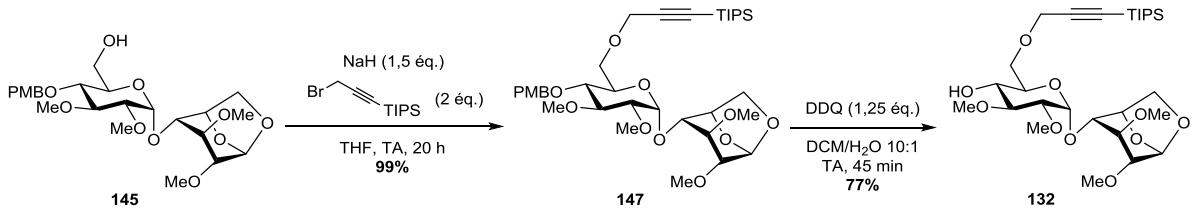


Schéma 74 – *Propargylsilylation et déprotection de* ***145****.*

La dernière étape consistait initialement en la propargylsilylation directe de **132**. Forts de nos expériences de propargylation d'alcools secondaires ainsi que des nombreux essais de propargylsilylation avec des groupements silylés peu résistants aux conditions basiques fortes, nous avons choisi une méthode en deux temps plus sûre (*Schéma 75*) : la propargylation de l'alcool libre dans des conditions de Williamson classique, suivie de la silylation quantitative de l'alcyne vrai par une base forte et TESCl.

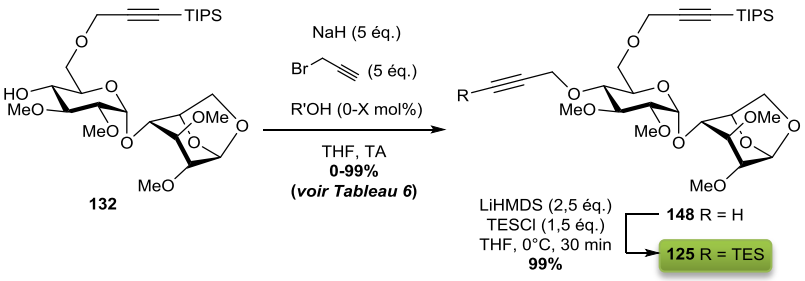


Schéma 75 – *Alkylation puis silylation de **132**.*

Cependant, l'étape d'alkylation en position 4' a montré une grande dépendance à la quantité de matière engagée : réalisée sans problème sur très petite quantité (***Tableau 6***, entrée 1), aucune conversion n'est observée après 42h par CCM du milieu réactionnel à l'échelle du gramme (***Tableau 6***, entrée 2). Cependant, après traitement post-réactionnel (ajout de méthanol, puis extraction), le spectre RMN ^{1}H du brut réactionnel indique une conversion de 25% environ (***Tableau 6***, entrée 2). Nous avons supposé que le méthanol utilisé lors du traitement pouvait avoir eu un effet promoteur ou solubilisant. Sur la base de cette hypothèse, la réaction a été relancée en ajoutant quelques gouttes de méthanol. La conversion complète de **132** en **148** est alors observée en seulement 1h avec un bon rendement après purification (***Tableau 6***, entrée 3). Dès lors, une étude comparative a été réalisé sur trois expériences (***Tableau 6***, entrées 4-6) en ajoutant dans deux d'entre elles une quantité catalytique d'un alcool : le méthanol (***Tableau 6***, entrée 5) et l'hexafluoroisopropanol (HFIP, entrée 6 du ***Tableau 6***), choisi pour son caractère particulier, acide et peu nucléophile.[235] Les résultats inattendus observés indiquent une conversion totale en présence d'un alcool, et une conversion nulle dans le cas contraire.

Tableau 6 – *Conditions de 4'-O-alkylation de **132**.*

Entrée	Echelle	Additif	Temps	Rendement
1	25mg	-	21 h	95%
2	800mg	-	42 h	0% (CCM) env. 25% (RMN ^{1}H après traitement avec MeOH)
3	800mg	MeOH >1 éq.	1 h	83%
4	1g	-	20 h	0%
5	1g	MeOH 10 mol%	20 h	99%
6	1g	HFIP 10 mol%	20 h	96%

Sans parler de « catalyse alcoolique », l'existence d'un effet promoteur du méthanol ou de l'HFIP est ici clairement démontrée. Il pourrait simplement s'agir d'une activation de l'hydrure de sodium par amélioration de sa solubilité. La formation de méthanolate de sodium en solution semble inévitable, et la substitution nucléophile de cette espèce sur le bromure de propargyle aurait pour conséquence de piéger le bon nucléophile qu'est le méthanolate sous la forme d'éther méthylpropargylique difficilement isolable (température d'ébulition = 61°C). Ce scénario serait incompatible avec nos observations puisqu'une quantité catalytique de méthanol est suffisante (***Tableau 6***, entrées 5 et 6). Néanmoins, le méthanolate pourrait jouer le rôle d'un intermédiaire basique en permettant une déprotonation de l'alcool 4' éventuellement impossible pour le NaH, cette position étant réputée peu réactive.

Cet effet promoteur mérite d'être investigué par de plus amples expériences, en comparant par exemple les conditions décrites ici et celles impliquant directement du méthanolate de sodium, et en analysant consciencieusement d'éventuels sous-produits.

3.3 Schéma de synthèse global du module monovalent

Finalement, le module monovalent **125** est synthétisé en 8 étapes à partir du D-(+)-maltose, avec 50% de rendement global (*Schéma 76*).

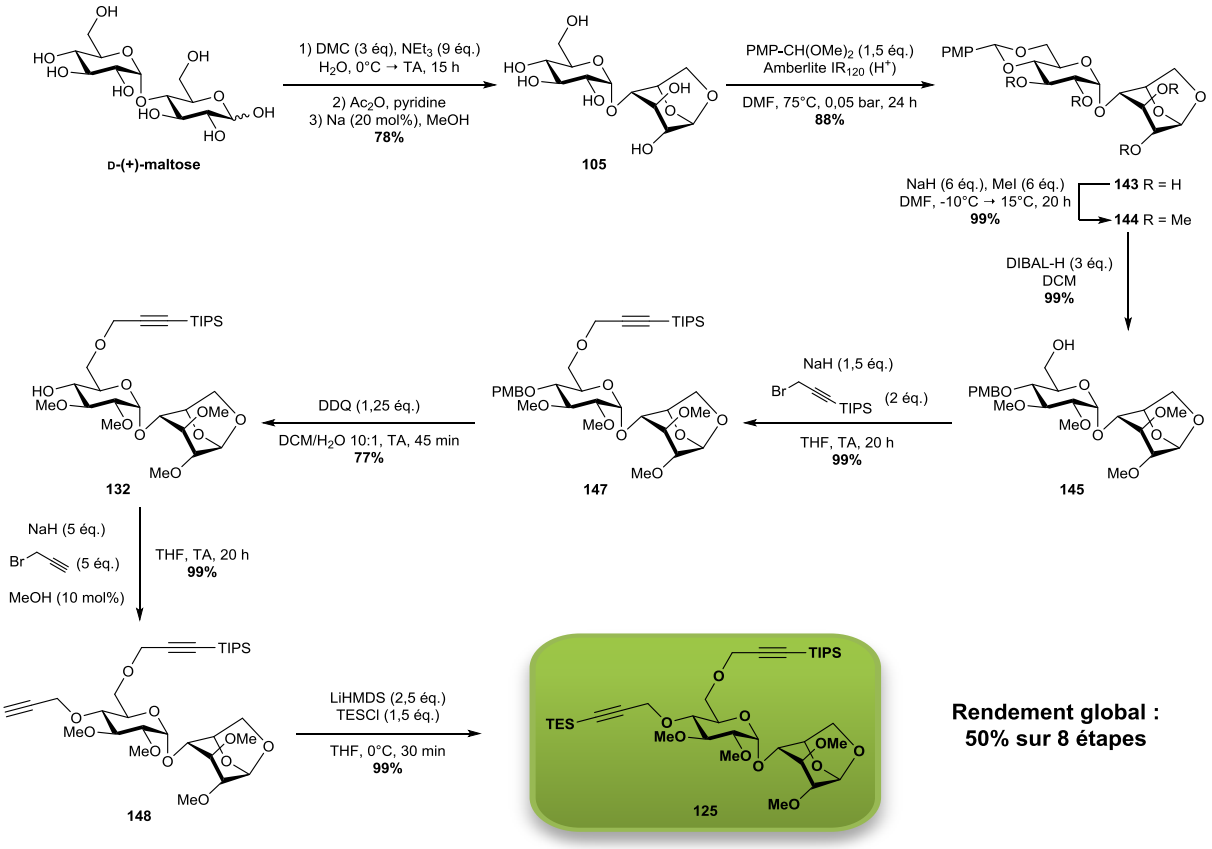


Schéma 76 – *Synthèse du module monovalent **125**.*

4 Synthèse du module pentavalent

En parallèle du développement de la synthèse du module monovalent **125**, une voie de synthèse du module pentavalent **126** a aussi été mise au point.

4.1 Ouverture régiosélective du *para*-méthoxybenzylidène

La tétrapropargylation à partir du tétrol **143** est effectuée dans des conditions de Williamson classiques avec un rendement quantitatif (*Schéma 77*). L'ouverture réductrice du *para*-méthoxybenzylidène obtenu **149** est réalisée dans des conditions proposées par Vásquez *et al.*[233] avec un rendement quantitatif et une régiosélectivité complète. Celle-ci peut être rationalisée en considérant le mécanisme et les explications proposés dans le *Schéma 73* (p. 104). Le substituant propargylique en position 3' de **149** engendre une gêne stérique trop importante (par rapport au méthyle de **144** ; *Schéma 72*) interdisant la coordination du DIBAL-H sur l'atome d'oxygène en position 4'. Il n'est donc pas nécessaire ici d'avoir recours à une addition inverse pour favoriser la formation de l'alcool primaire **150**.

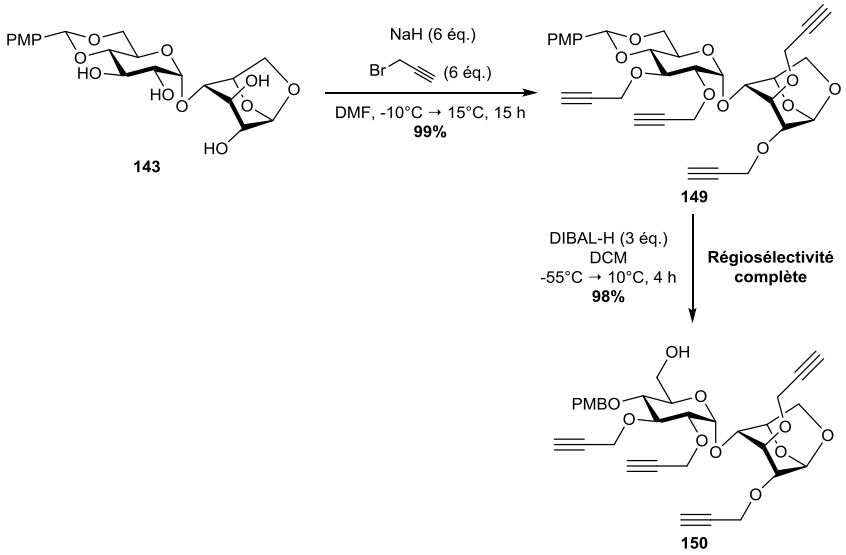


Schéma 77 – *Synthèse et ouverture du para-méthoxybenzylidène tétrapropargylé **149**.*

L'alcool isolé en position 6' de **150** est propargylé presque quantitativement dans des conditions de Williamson dans le THF à reflux (*Schéma 78*). Le dérivé **151** obtenu est penta-silylé par déprotonation des alcynes vrais avec LiHMDS puis addition de TIPSCl avec 68% de rendement (soit 93% par fonction alcyne ; *Schéma 78*). L'éther *para*-méthoxybenzylique **153** est déprotégé rapidement et efficacement par oxydation au DDQ pour fournir l'intermédiaire **133** (*Schéma 78*). En parallèle, en prévision des difficultés à venir quant à la *O*-alkylation de l'alcool position 4', l'intermédiaire **151** est lui aussi déprotégé par le DDQ pour donner **152**, moins encombré que son analogue **133** (*Schéma 78*).

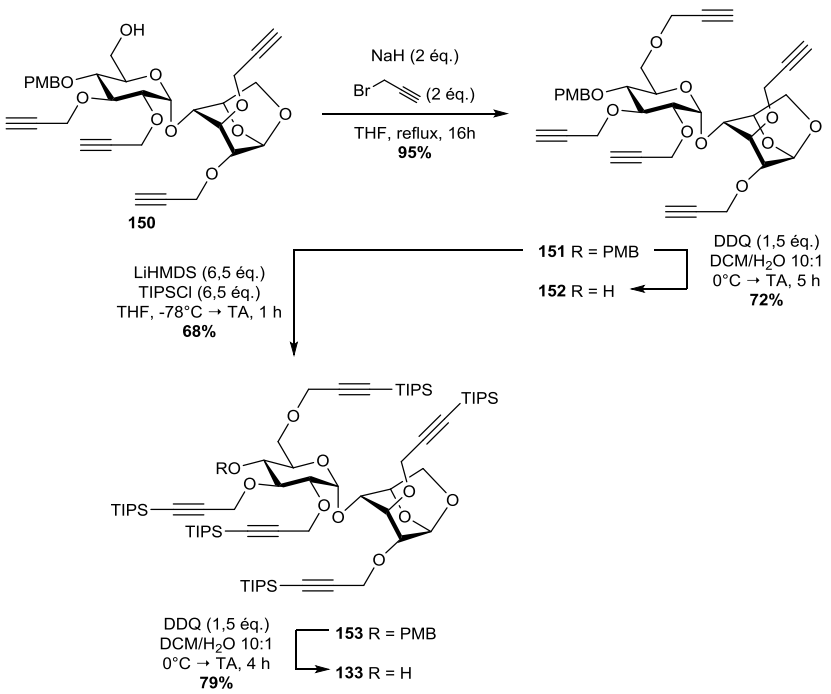


Schéma 78 – *Préparation des précurseurs silylé (**133**) et désilylé (**152**) du module pentavalent **126**.*

4.2 Alkylation de la position C-4'

Comme nous l'avions anticipé, les tentatives de 4'-*O*-alkylation du composé **133** se sont soldées par des échecs. L'utilisation de bases fortes (LiHMDS, MeMgBr) choisies pour leur compatibilité avec les groupements TIPS n'a conduit à aucune conversion du produit de départ, même à reflux et quel que soit le bromure de propargyle utilisé (silylé [TES] ou non ; ***Schéma 79***). Un essai de propargylation en conditions acides a aussi été réalisé[236–238] après préparation du trichloroacétimidate nécessaire (***Schéma 79***).[238,239] Aucune conversion n'a alors été observée. L'encombrement stérique apporté par les 5 groupements TIPS empêche toute interaction efficace vis-à-vis d'une S_N2.

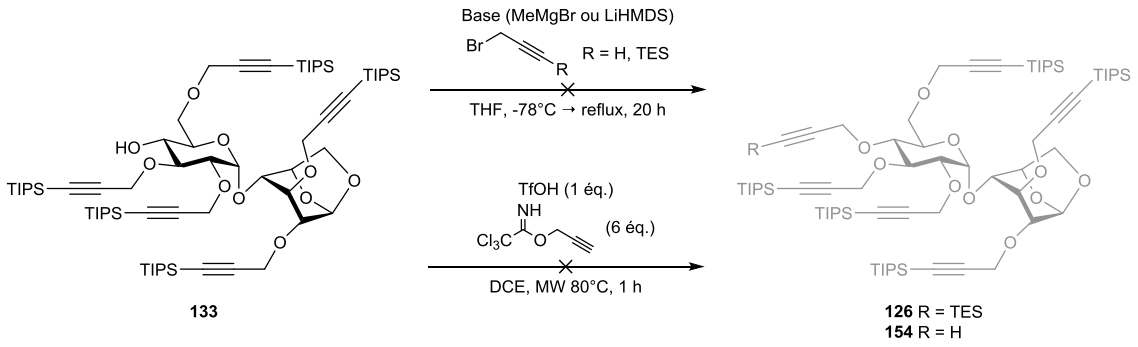


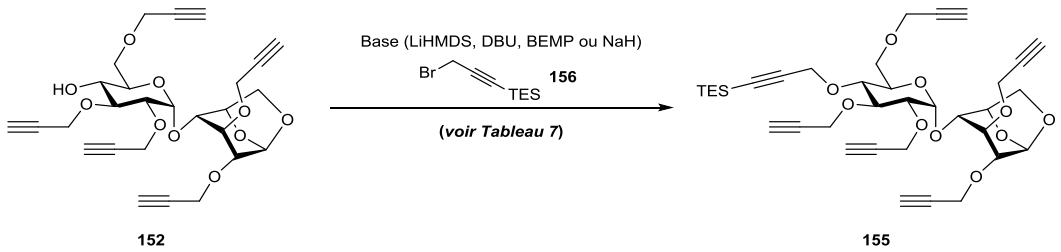
Schéma 79 – *Tentatives d'alkylations de **133**.*

Les essais d'alkylation ont été effectués sur le dérivé désilylé **152** (***Schéma 80***), beaucoup moins encombré. Dans ce nouveau plan de synthèse, l'introduction d'un propargyle silylé en position 4' devient la seule manière de conserver la différenciation des positions propargylées. Les premiers essais utilisant le LiHMDS ont permis d'obtenir une faible quantité de **155** (13-15% ; entrée 1-2 du ***Tableau 7***), mais sans récupérer entièrement le reste de produit de départ engagé. En supposant que le groupement TES est dégradé par les bases nucléophiles (même si LiHMDS l'est déjà très peu), nous avons souhaité utiliser des bases fortes les moins nucléophiles possibles. Nous avons retenu le DBU

et le BEMP (*Figure 41*), bases azotées neutres conjuguées très peu nucléophiles. L'emploi de DBU ($pK_{BH+} \approx 12$ dans DMSO) n'a provoqué aucune conversion après 2 jours de chauffage à 60°C (*Tableau 7*, entrée 3). En revanche, l'utilisation de BEMP ($pK_{BH+} \approx 28$ dans MeCN)[240] selon une procédure de Sproat *et al.*[241] a permis d'obtenir **155** avec un rendement comparable à celui obtenu avec LiHMDS (*Tableau 7*, entrée 4). Le produit est obtenu en mélange avec **157** (*Figure 41*), analogue *O*-silylé de **152**. La concentration du milieu réactionnel, l'allongement du temps de réaction et l'emploi de TBAI comme catalyseur de la substitution nucléophile permettent d'augmenter le rendement en **155** à 36% (*Tableau 7*, entrée 5). Un chauffage à 140°C dans un tube scellé provoque la dégradation des produits et réactifs (*Tableau 7*, entrée 6), et l'irradiation au four à micro-ondes n'apporte pas d'amélioration (*Tableau 7*, entrée 7). Il apparaît que les rendements sont meilleurs lorsque la réaction est conduite légèrement en-dessous du reflux (*Tableau 7*, entrée 8), et la difficile élimination de **157** par chromatographie sur gel de silice est contournée par un traitement acide du brut réactionnel permettant de dé-*O*-silyler l'alcool 4'. Doubler la quantité de base résulte en la complète désilylation de **155** pour donner le composé non régio-différencié **138** (*Tableau 7*, entrée 9) (*Figure 41*). Finalement, c'est en additionnant le BEMP au milieu réactionnel en un goutte-à-goutte lent que le meilleur rendement est obtenu (60% soit >99% par rapport au taux de conversion ; *Tableau 7*, entrée 10).

Il est probable que la formation du sous-produit *O*-silylé **157** (*Tableau 7*, entrées 4, 5 et 7) soit due à la dégradation du bromure de propargyle silylé **156** et/ou du produit **155** par le BEMP, libérant Et_3SiX dans le milieu. La formation du composé désilylé **138** (*Tableau 7*, entrée 9) est cohérente avec cette explication.

A la suite de nos observations de l'effet accélérateur d'*O*-propargylations par un alcool (voir III-3.2), nous avons voulu évaluer son potentiel sur la propargylsilylation de **152** (*Tableau 7*, entrées 11 et 12). Les résultats semblent indiquer que l'utilisation d'1 équivalent (et non une quantité catalytique) de HFIP ou de méthanol provoque la dégradation des produits. En attendant une étude plus poussée de ces conditions, les meilleures conditions restent celles décrites en entrée 10 du *Tableau 7*.



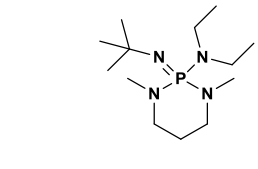
152 **155**

Schéma 80 – *Propargylsilylation directe de **152**.*

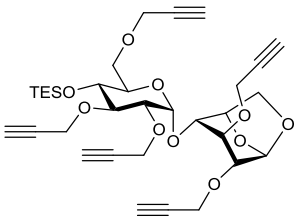
Tableau 7 – *Conditions de propargylsilylation directe de **152**.*

Entrée	Base (éq.)	Additifs (éq.)	156 (éq.)	Solvant (Conc.)	T	t	Conv.[a]	155	Autre
1	LiHMDS (1)	-	7,5	THF (0,1M)	-78°C → reflux (65°C)	20 h	51%	13%	-
2	LiHMDS (3)	TBAI (0,15)	4	THF (0,1M)	Reflux (65°C)	5 jrs	69%	15%	-
3	DBU (5)	-	5	MeCN (0,02M)	60°C	2 jrs	0%	-	-
4	BEMP (2)	-	4	MeCN (0,03M)	Reflux (81°C)	3 jrs	46%	12%	**157** (12%)
5	BEMP (2)	TBAI (0,05)	2,5	MeCN (0,5M)	Reflux (81°C)	4 jrs	57%	36%	**157** (16%)
6	BEMP (2)	TBAI (0,05)	2,5	MeCN (0,2M)	Tube scellé (140°C)	2 jrs	100%	13%	-
7	BEMP (2)	TBAI (0,05)	2,5	MeCN (0,4M)	MW (100°C)	5 h	67%	12%	**157** (12%)
8	BEMP (2)	TBAI (0,05)	3,5	MeCN (0,5M)	75°C	3 jrs	67%	31%	-
9	BEMP (4)	TBAI (0,05)	2,5	MeCN (0,5M)	75°C	1 jr	55%	-	**138** (45%)
10	**BEMP (2) en 4h**	**TBAI (0,05)**	**2,5**	**MeCN (0,5M)**	**75°C**	**6 h**	**60%**	**60%**	**-**
11	NaH (2)	HFIP (1)	2,1	THF (0,06M)	TA	2 jrs	61%	36%	-
12	NaH (2)	MeOH (1)	3	THF (0,06M)	TA	18 h	78%	33%	-

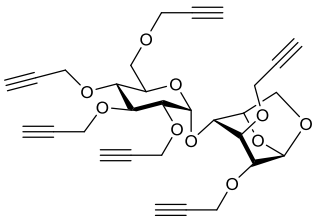
[a] : Le taux de conversion (**Conv.**) est basé sur la quantité de substrat **152** recouvré après purification.



BEMP
(2-*t*Butylimino-2-diéthylamino-1,3-dimethylperhydro-1,3,2-diazaphosphorine)



157



138

Figure 41 – *Structure du BEMP et sous-produits la propargylsilylation de **152**.*

Enfin, le module pentavalent **126** est obtenu par penta-silylation de **155** avec LiHMDS et TIPSCl dans le THF à basse température avec un rendement de 60% (soit 90% par alcyne).

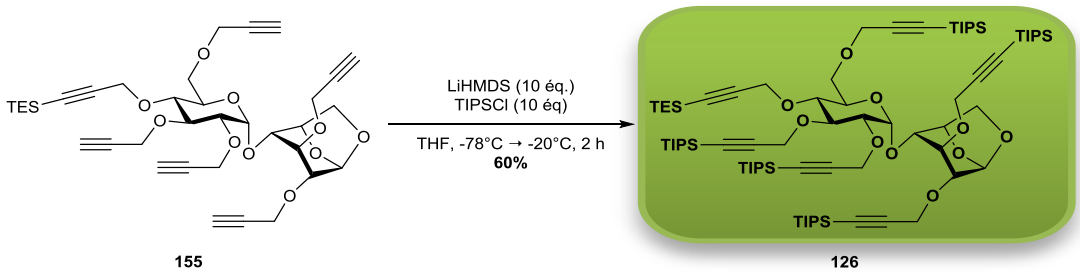


Schéma 81 – *Silylation de **155**, dernière étape de la synthèse du module pentavalent **126**.*

4.3 Schéma de synthèse global du module pentavalent

Finalement, le module pentavalent **126** est synthétisé en 8 étapes à partir du D-(+)-maltose, avec 16% de rendement global (*Schéma 82*).

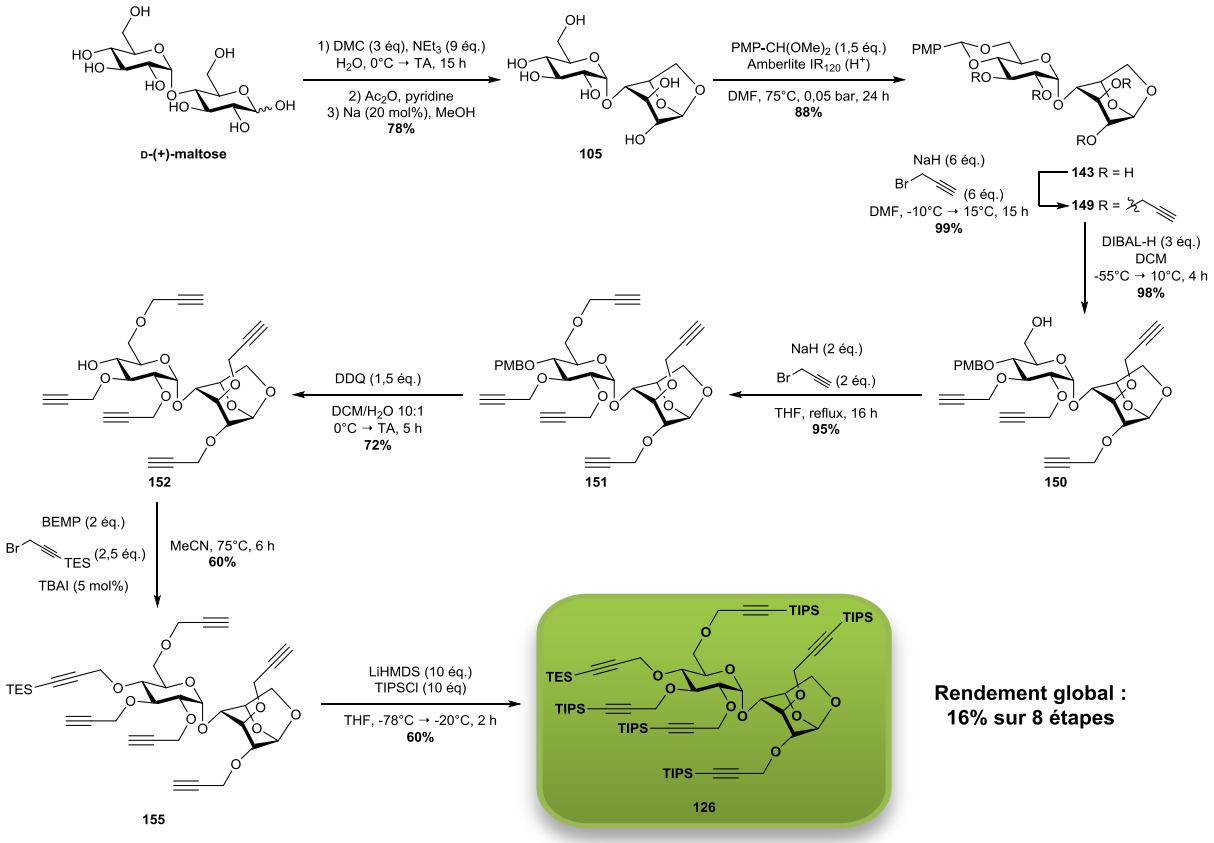


Schéma 82 – *Synthèse du module pentavalent **126**.*

5 Activations des modules

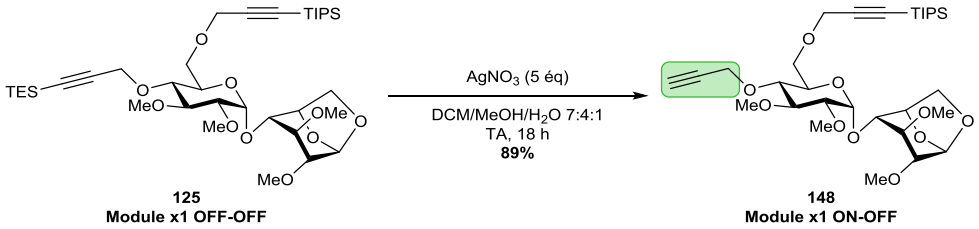
Les modules **125** et **126** synthétisés, il reste à appliquer la méthodologie d'Aucagne *et al.*[144] pour activer l'alcyne en position 4', et à appliquer les conditions développées pour l'ouverture de ponts 1,6-anhydro par $TMSN_3$ (voir **Chapitre II**) afin d'installer l'α-azoture en position anomérique. L'activation par $TMSN_3$ peut éventuellement être suivie d'une *O*-propargylsilylation de l'alcool libéré en position 6, afin d'augmenter la valence du module d'une unité. D'autre part, l'activation simultanée des deux extrémités fournit des modules appropriés pour la synthèse de néo-CD par cyclooligomérisation.

A partir d'ici, pour des raisons de clareté, les modules seront caractérisés par leur valence (nombre de préfonctionnalisations) et l'état d'activation de chacune de leurs extrémités. Par exemple, le module monovalent **125** sera nommé **module x1 OFF-OFF**, et le module pentavalent **126** sera nommé **module x5 OFF-OFF**.

5.1 Module monovalent

5.1.1 Activation en C-4' : déprotection sélective TES/TIPS

L'alcyne silylé (TES) en position 4' du **module x1 OFF-OFF 125** est déprotégé sélectivement de l'alcyne silylé (TIPS) en position 6' avec $AgNO_3$[143,144] pour donner le **module x1 ON-OFF 148** avec un très bon rendement (***Schéma 83***). Le module **125** est ici utilisé comme un substrat modèle pour tester l'étape clé de déprotection sélective TES/TIPS. Cette réaction n'a en effet que peu d'intérêt synthétique pour la synthèse du **module x1 ON-OFF 148**, celui-ci étant un précurseur de **125** (voir ***Schéma 76***). Ces conditions seront appliquées par la suite sur des substrats oligomériques.



125
Module x1 OFF-OFF

148
Module x1 ON-OFF

Schéma 83 – *Activation ON-OFF du module monovalent.*

5.1.2 Activation en C-1 : ouverture du pont 1,6-anhydro par $TMSN_3$

L'application des conditions développées pour l'ouverture de ponts 1,6-anhydro par $TMSN_3$[145] sur le **module x1 OFF-OFF 125** résulte malheureusement très rapidement en la coupure de la liaison glycosidique (***Schéma 84*** et entrée 1 du ***Tableau 8***), comme cela avait été observé partiellement pour le disaccharide **106** (voir II-3.2). Les anomères du monosaccharide **158** sont observés dans le brut réactionnel, mais pas les anomères de **159**, beaucoup plus polaires et sans doute solubles dans les phases aqueuses du traitement de la réaction. Ces produits témoignent du fait que les groupements méthoxy, moins volumineux que les groupements benzyles de **106**, ne protègent pas suffisamment la liaison glycosidique par encombrement stérique : la réaction a lieu à la fois sur l'anhydro et l'acétal en position 1' (indiquée dans le ***Schéma 84***).

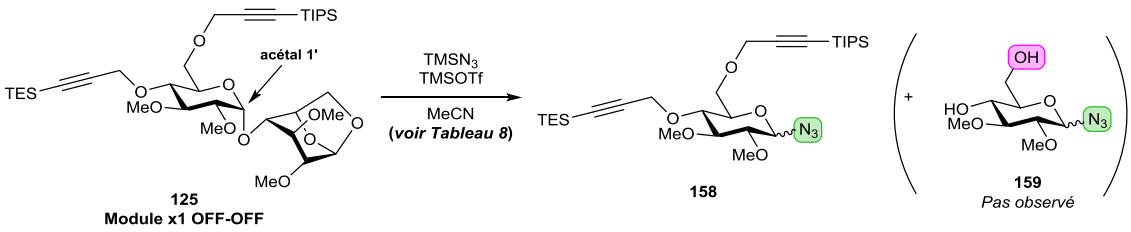


Schéma 84 – *Sous-produits de coupure de **125** dans les conditions d'ouverture du pont 1,6-anhydro par $TMSN_3$.*

Nous avons pensé que l'ajout d'une base permettrait de modérer l'acidité de nos conditions d'ouverture, et ainsi de défavoriser la réaction sur l'acétal 1'. Notre expérience au laboratoire nous a déjà démontré la compatibilité de la triéthylamine NEt_3 et du TMSOTf,[242] aussi avons-nous choisi de tester cette base en premier.

La réaction se révèle effectivement sensible à la présence d'une base (***Schéma 85*** et ***Tableau 8***), et l'emploi de 80% de NEt_3 par rapport au TMSOTf inhibe totalement l'ouverture de l'anhydro, même avec un temps de réaction considérablement allongé (***Tableau 8***, entrée 2). A l'inverse, l'emploi de 50% de NEt_3 par rapport au TMSOTf ne permet pas de bloquer la coupure de la liaison glycosidique (***Tableau 8***, entrée 3). Finalement, c'est en utilisant 60% de NEt_3 par rapport au TMSOTf (soit 0,3 éq.) dans une solution diluée[††] que les produits **160** (***Schéma 85***, seul l'anomère α correspondant au **module x1 OFF-ON** est représenté) sont isolés et séparés avec un excellent rendement et une bonne diastéréosélectivité (***Tableau 8***, entrée 4).

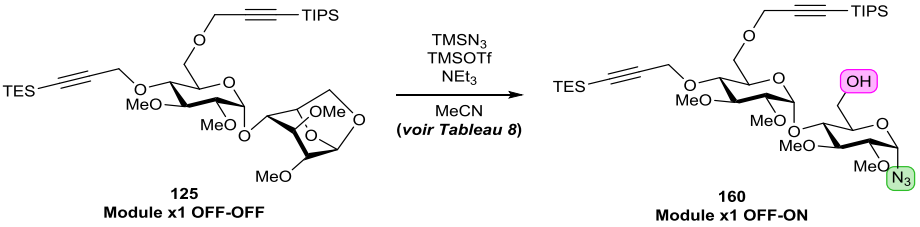


Schéma 85 – *Activation OFF-ON du module monovalent.*

Tableau 8 – *Conditions d'activation OFF-ON du module monovalent.*

Entrée	TMSOTf (éq.)	NEt_3 (éq.)	Temps	Rendement	Produit	α	:	β
1	0,5	-	15 min	70%	**158**	2	:	1
2	0,5	0,4	3 jrs	-	**125**	Pas de conversion		
3	0,5	0,25	13 h	-	**158**	Non mesuré		
4	0,5	0,3	4 h 30	94%	**160**	4,5	:	1

[††] L'emploi d'une solution diluée améliore grandement la précision sur la quantité de réactifs introduits.

5.1.3 Accès au module monovalent doublement activé (ON-ON)

Les conditions d'ouverture de l'anhydro par $TMSN_3$ tamponnées par NEt_3 ont été appliquées avec succès au **module x1 ON-OFF 148** afin de préparer avec un rendement quantitatif et une bonne diastéréosélectivité le **module x1 ON-ON 161α** (*Schéma 86*), qui permettra la synthèse par cyclooligomérisation des premières néocyclodextrines préfonctionnalisées (voir IV-2.2).

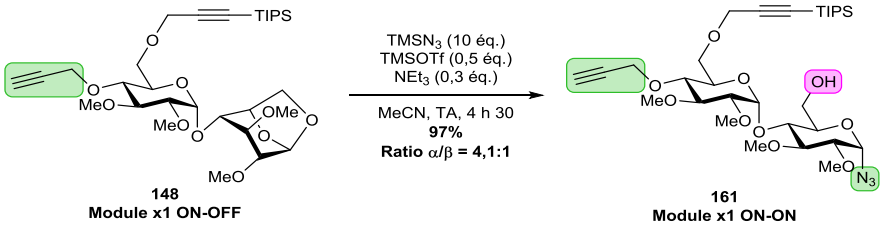


Schéma 86 – *Accès au **module x1 ON-ON 161**.*

5.2 Module divalent

L'alcool libre du **module x1 OFF-ON 160α** peut être alkylé pour porter la valence du module à 2. Ainsi, la propargylsilylation de **160α** dans les conditions de Williamson à température ambiante dans le THF a permis d'obtenir le **module x2 OFF-ON 162** avec un bon rendement (*Schéma 87*). Sur une échelle plus importante (environ 300 mg), l'ajout de méthanol s'est une fois de plus révélé nécessaire pour observer la conversion (voir III-3.2). L'emploi de HFIP n'a quant à lui pas provoqué de conversion.

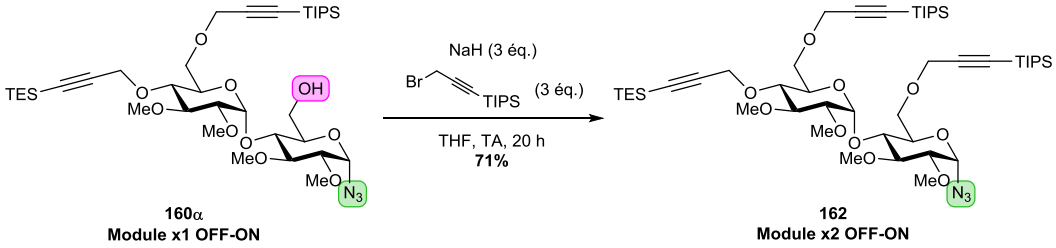


Schéma 87 – *Synthèse du **module x2 OFF-ON** par alkylation du **module x1 OFF-ON**.*

De la même manière, la 6-*O*-propargylsilylation de l'alcool libre du **module x1 ON-ON 161α** a fourni avec un très bon rendement le **module x2 ON-ON 163** activé à ses deux extrémités (*Schéma 88*). Ce module pourra être utilisé pour la synthèse directe par cyclooligomérisation de néocyclodextrines préfonctionnalisées (voir IV-2.2).

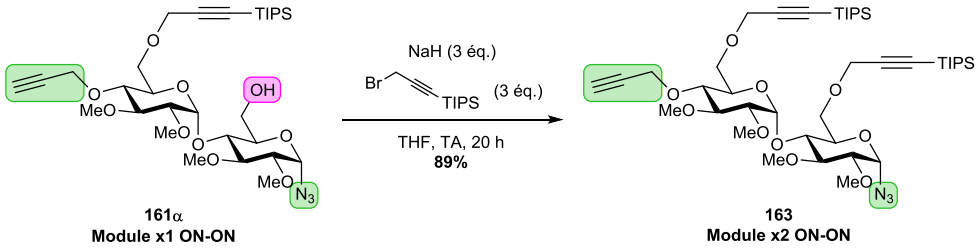
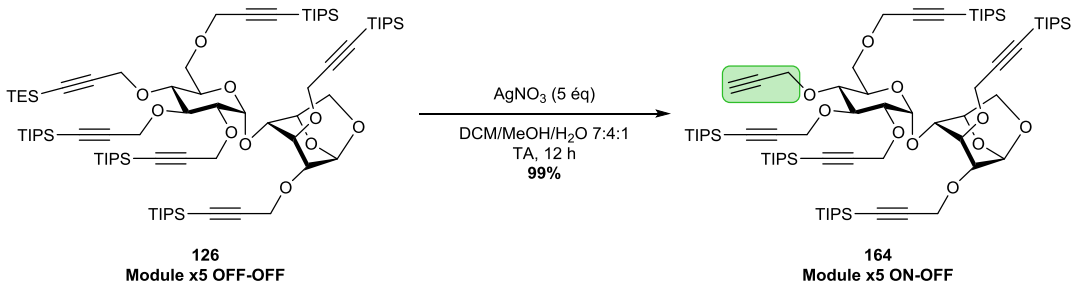


Schéma 88 – *Synthèse du **module x2 ON-ON** par alkylation du **module x1 ON-ON**.*

5.3 Module pentavalent

5.3.1 Activation en C-4' : déprotection sélective TES/TIPS

L'alcyne silylé (TES) en position 4' du **module x5 OFF-OFF 126** est déprotégé sélectivement en présence des 5 autres alcynes silylés (TIPS) en position 2, 3, 2', 3' et 6' avec $AgNO_3$,[143,144] pour donner le **module x5 ON-OFF 164** avec un excellent rendement de 99% (*Schéma 89*).



126
Module x5 OFF-OFF

164
Module x5 ON-OFF

Schéma 89 – *Activation ON-OFF du module pentavalent.*

5.3.2 Activation en C-1 : ouverture du pont 1,6-anhydro par $TMSN_3$

L'application des conditions développées pour l'ouverture de ponts 1,6-anhydro par $TMSN_3$[145] (voir **Chapitre II**) sur le **module x5 OFF-OFF 126** s'est révélée problématique (*Schéma 90* et *Tableau 9*). Les essais conduits avec les conditions développées lors de l'étude méthodologique ont fourni le **module x5 OFF-ON 165α** attendu avec une excellente diastéréosélectivité, le produit **165β** n'étant pas isolé (*Tableau 9*, entrée 1). Cependant, les rendements restent faibles et non reproductibles en raison de la formation intempestive par cycloaddition intramoléculaire du triazole **166** (*Figure 42*, α largement majoritaire).

Cette réaction parasite est favorisée par des temps de réactions importants et/ou le chauffage du milieu réactionnel (voir II-3.2). Or ici, la conversion du produit de départ **126** est étonnamment lente, voire même complètement stoppée après les premières heures de réaction. Ce phénomène pourrait être dû à l'encombrement stérique important dû aux 6 groupements silylés, ainsi qu'à la mauvaise solubilité de **126** dans le solvant de la réaction, l'acétonitrile.

Dans le but d'améliorer la solubilité du produit de départ sans changer radicalement le solvant, décisif pour cette réaction (voir II-2.2), différentes combinaisons ont été envisagées avec l'ajout au milieu réactionnel de 10 à 20% (volume) de toluène (PhMe), d'éther diéthylique (Et_2O) ou encore de dichlorométhane (DCM). Avec PhMe et Et_2O, la solubilité est visiblement améliorée (milieu réactionnel limpide et homogène) mais sans effet significatif sur le rendement. L'utilisation de DCM inhibe complètement la réaction. Finalement, l'emploi de propionitrile (EtCN) s'est révélé le plus pratique, sans toutefois conduire à une amélioration du rendement.

Les expériences menées en parallèle pour l'activation OFF-ON du **module x1 OFF-OFF 125** (voir III-5.1.2) indiquent que la réaction est sensible à la présence d'une base. Or les sous-produits de cycloaddition intramoléculaire contiennent des 1,2,3-triazoles, qui sont des bases faibles.[243] Les sous-produits de la réaction empoisonneraient donc le milieu réactionnel, expliquant alors qu'aucune conversion importante n'ait pu être atteinte.

Selon ce raisonnement, il faudrait donc maintenir le substrat dans les conditions de réaction habituelles, mais en diluant les sous-produits hétérocycliques formés, afin qu'ils n'empoisonnent pas

le milieu. La concentration du milieu réactionnel a donc été divisée par 5. Afin de conserver la même concentration de réactifs autour du substrat, leurs quantités ont été proportionnellement augmentées. Dans ces conditions, les épimères séparables **165** sont obtenus avec un rendement quantitatif, ainsi qu'une bonne diastéréosélectivité en faveur du **module x5 OFF-ON 165α** (*Tableau 9*, entrée 2).

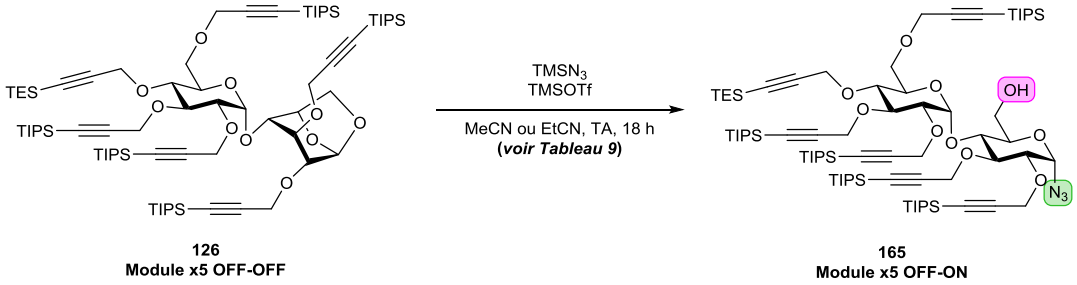


Schéma 90 – *Activation OFF-ON du module pentavalent.*

Tableau 9 – *Conditions d'ouverture du pont 1,6-anhydro **126.***

Entrée	$TMSN_3$ (éq.)	TMSOTf (éq.)	Solvant	Conc. (M)	165α	165β	Détails
1	10	0,5	MeCN	0,03	42%	Pas isolé	**166** observés
2	50	10	EtCN	0,006	81%	17%	Ratio α/β = 4,8:1

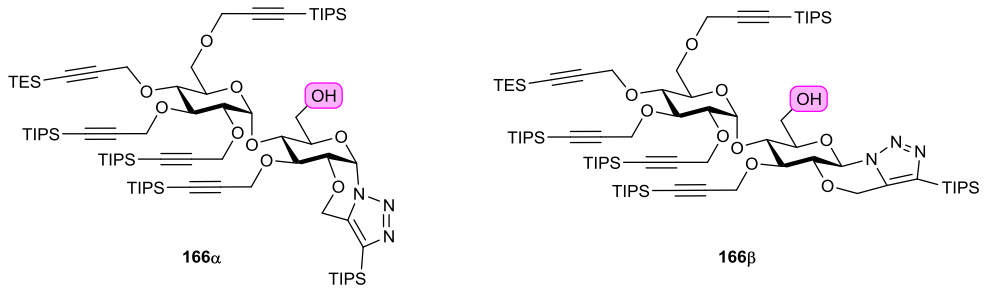


Figure 42 – *Produits de cycloaddition intramoléculaire de **165**.*

Le **module x5 OFF-ON 165α** peut être conservé au congélateur (-18°C) pendant plusieurs mois, limitant ainsi la vitesse de la cycloaddition intramoléculaire. En revanche, l'isolement de **165β** a permis de vérifier que la vitesse de cycloaddition est très importante pour l'anomère β (*Figure 43*), probablement à cause d'une préorganisation de type *trans*-décaline moins tendue. En effet, en seulement 24 h à température ambiante, la moitié de l'échantillon de **165β** est transformée. Le produit **166β** est obtenu pur en 96 h et une caractérisation complète a pu être effectuée.

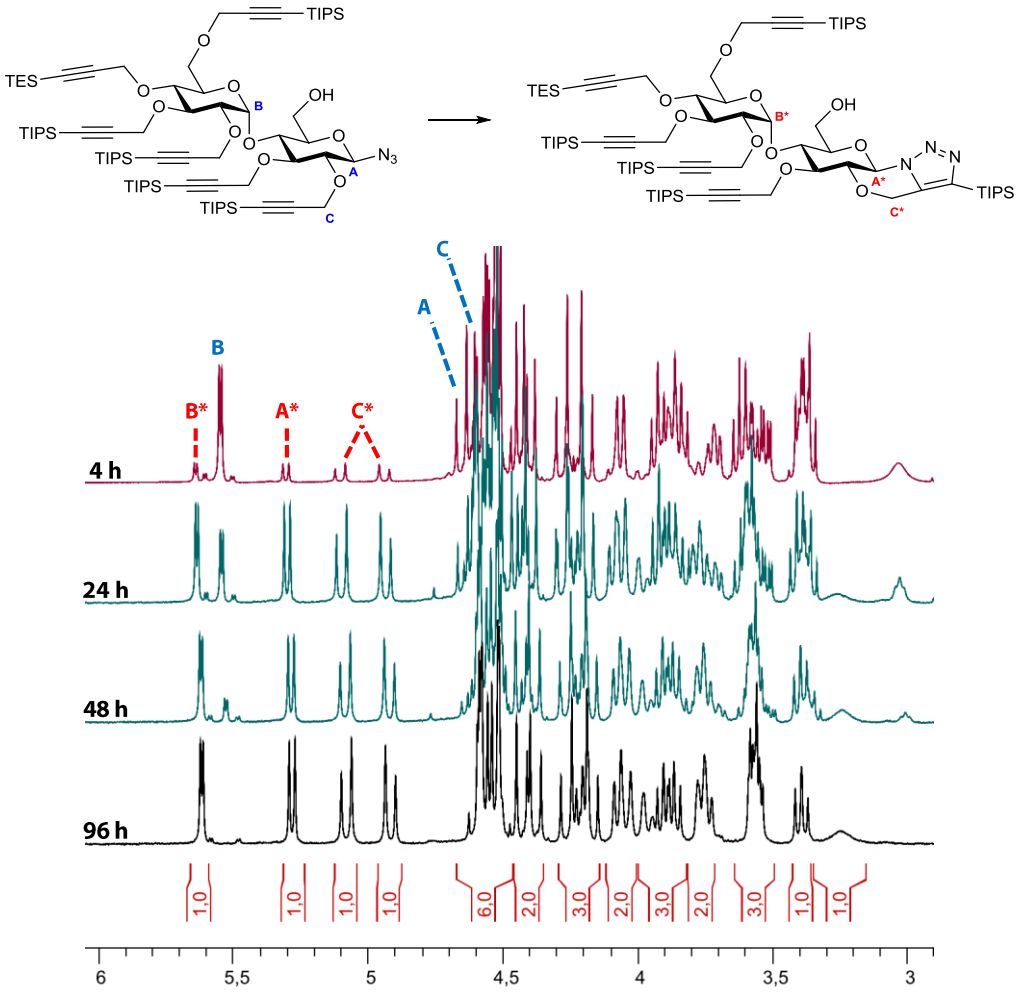


Figure 43 – *Cycloaddition intramoléculaire progressive de **165β** en **166β** observée en RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz).*

5.3.3 Accès au module pentavalent doublement activé (ON-ON)

L'alcyne silylé (TES) en position 4' du **module x5 OFF-ON 165α** est déprotégé sélectivement en présence des 5 autres alcynes silylés (TIPS) en position 2, 3, 2', 3' et 6' avec $AgNO_3$,[144] pour donner le **module x5 ON-ON 167** avec un rendement *quasi* quantitatif (***Schéma 91***). Ce dernier pourra être engagé dans la synthèse par cyclooligomérisation de néocyclodextrines préfonctionnalisées (voir IV-2.2).

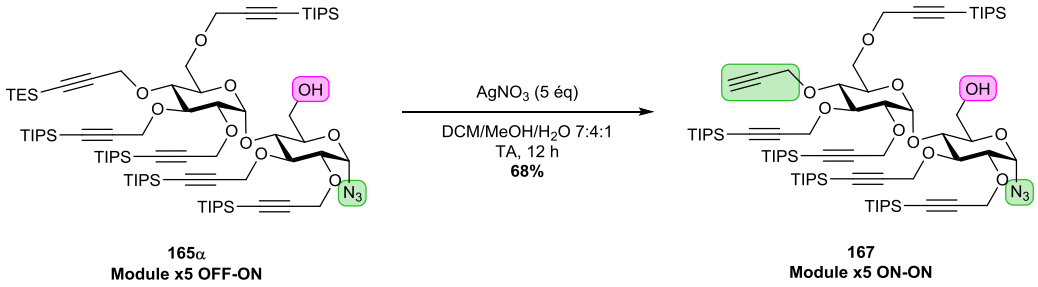


Schéma 91 – *Accès au **module x5 ON-ON 167**.*

6 Conclusion du Chapitre III

Dans ce chapitre, nous avons décrit la synthèse des modules monovalent **125** et pentavalent **126** choisis pour valider la stratégie *Sweet LEGO*® présentée au **Chapitre I**, ainsi que l'activation chimio- et régiosélective des deux extrémités de ces modules.

De nombreux écueils de réactivité ou de mauvaises régiosélectivités ont impliqué la modification des voies synthétiques imaginées initialement. Notamment, l'introduction d'une étape d'ouverture réductrice régiosélective de *para*-méthoxybenzylidènes s'est révélée très efficace. Les problèmes d'alkylation de l'alcool en position 4' liés à sa faible réactivité et à son encombrement ont été résolus progressivement, notamment par la mise en évidence d'un effet promoteur des alcools dans les réactions de *O*-propargylation difficiles.

Une fois les modules mono- et pentavalents en main, l'activation de chacune de leurs extrémités a été testée. Les conditions de déprotection sélective d'alcynes décrites par Aucagne *et al.*[144] ont prouvé leur efficacité et aucune optimisation n'a été nécessaire. En revanche, l'application des conditions d'ouverture de ponts 1,6-anhydro par $TMSN_3$ développées dans le **Chapitre II** a nécessité une mise au point supplémentaire pour chacun des modules. La coupure de la liaison glycosidique de **125** a été résolue par l'ajout d'une quantité optimisée de triéthylamine. La cyclisation par cycloaddition intramoléculaire de **165** a pu être évitée en utilisant de larges excès de réactifs en conditions diluées. Cette dernière solution est loin d'être optimale du fait de la grande quantité de réactifs utilisée. La synthèse d'un module sans alcyne en position 2 permettrait de contourner le problème (***Figure 44***).

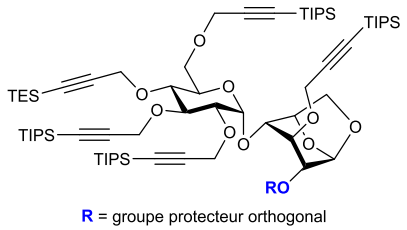


Figure 44 – *Module cible pour éviter les réactions de cycloaddition intramoléculaire.*

Finalement, plusieurs modules mono-, di- et pentavalents activés à l'une ou l'autre extrémité ont été préparés pour être engagés dans la synthèse modulaire de néo-CD préfonctionnalisées (voir IV-2.1, ***Figure 46***). Les modules ON-ON activés à leurs deux extrémités ont également été synthétisés pour être engagés dans la synthèse de néo-CD préfonctionnalisées par cyclooligomérisation (voir IV-2.2).

Chapitre IV

(néo)Cyclodextrines et cyclopeptoïdes comme charpentes originales pour des iminosucres multivalents[244,245]

"Any man who can drive safely while kissing a pretty girl is simply not giving the kiss the attention it deserves."

Albert Einstein

1 Introduction

Dans ce chapitre, nous décrirons dans un premier temps les deux stratégies mises en œuvre pour la synthèse de néocyclodextrines (néo-CD) préfonctionnalisées. Ensuite, la synthèse de clusters iminosucres basés sur des charpentes originales sera présentée. Elle inclura naturellement les néo-CD préalablement décrites, mais aussi des cyclopeptoïdes polyalcynes issus d'une collaboration avec le groupe du Pr Irene Izzo (Université de Salerno, Italie).[245–248] La préparation de clusters iminosucres de valences inédites *via* une stratégie convergente de dendrons « clickables » sera aussi décrite.[244] Finalement, l'évaluation des propriétés biologiques des clusters sera exposée.

Pour des raisons de clarté lors des tests biologiques, les clusters synthétisés se verront attribuer un code permettant d'identifier facilement les paramètres clés du cluster (charpente, valence, ligand, longueur de l'espaceur). Ce code aura la structure suivante :

[Charpente][Valence]-[Ligand][Espaceur]

Par exemple, le code **CD7-DNJC$_6$** désigne le cluster cyclodextrine (CD) de valence 7, portant le ligand DNJ avec un espaceur à 6 atomes de carbone, c'est-à-dire le composé **32a** (voir I-2.2.2, ***Figure 18***). Il est à noter que le seul ligand utilisé dans ce travail de thèse est le ligand DNJ.

2 Synthèse de néocyclodextrines préfonctionnalisées

La *Figure 45* ci-dessous résume les modules préparés (voir III-5) et disponibles pour la stratégie *Sweet LEGO®* présentée dans le **Chapitre I** (voir I-3.3).

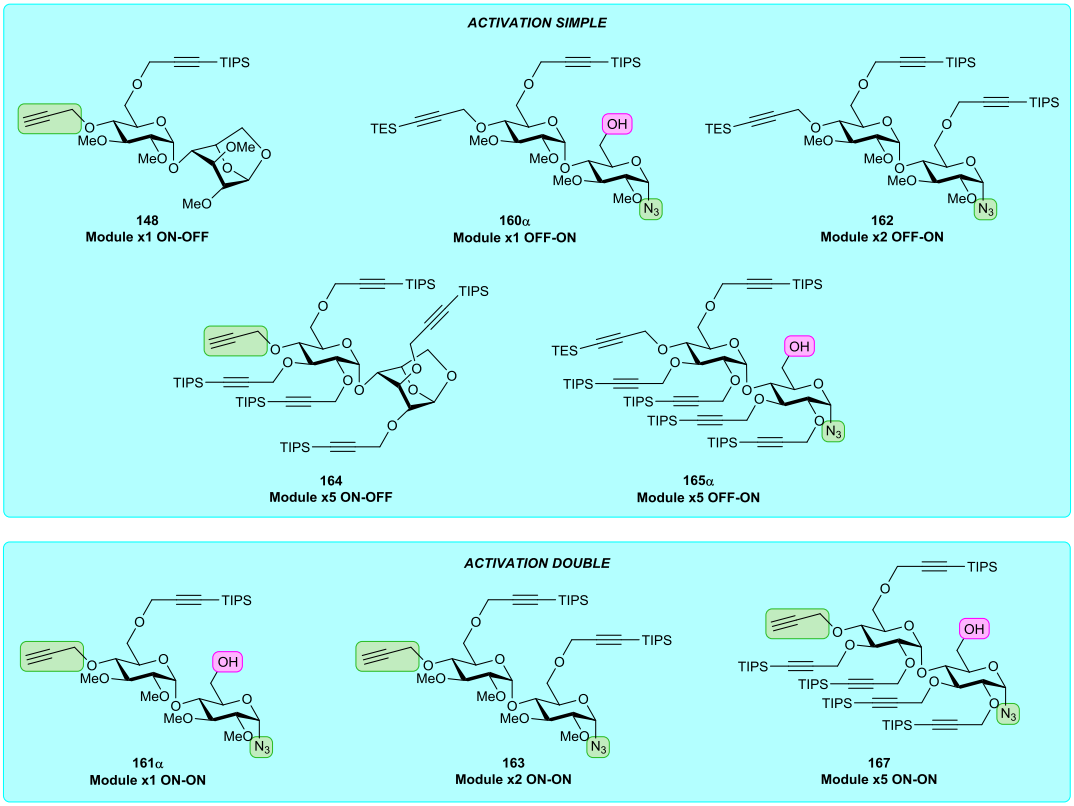


Figure 45 – *Modules disponibles pour la stratégie Sweet LEGO®.*

Les modules activés à une seule extrémité (**148**, **160α**, **162**, **164** et **165α**) devraient donner accès, *via* deux CuAAC successives (couplage intermoléculaire puis macrocylisation intramoléculaire, voir I-3.3, *Schéma 18*), aux néocyclodextrines di- à décavalentes **168** à **171** (*Figure 46*). Les analogues linéaires pourraient alors être préparés facilement à partir des intermédiaires précédant la macrocyclisation. Une fois la stratégie validée, des composés à 3 modules (identiques ou non) ou plus devraient être accessibles par itération de la procédure.

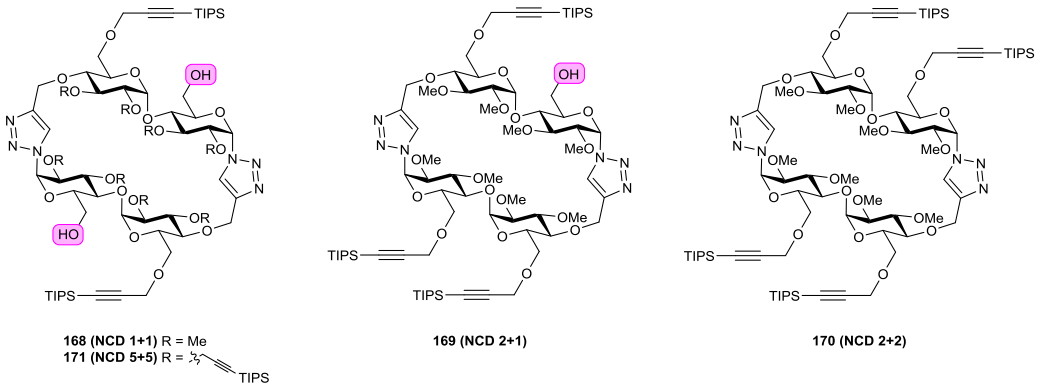


Figure 46 – *Cibles de la stratégie de synthèse Sweet LEGO® par approche modulaire et/ou par cyclooligomérisation.*

Les modules activés à leurs deux extrémités (**161α**, **163** et **167**) devraient quant à eux donner directement accès, *via* cyclooligomérisation par CuAAC (voir I-3.3, ***Schéma 18***), aux néocyclodextrines symétriques di-, tétra- et décavalentes **168**, **170** et **171** (***Figure 46***). D'après les travaux décrits dans le **Chapitre I** (voir I-3.2.3), il sera aussi très probable d'observer, voire d'isoler, des cyclooligomères à 3 modules ou plus.

2.1 Synthèse par approche modulaire

2.1.1 En série méthoxy

Le couplage des **modules x1 OFF-ON 160α** et **ON-OFF 148** est effectué par CuAAC avec un rendement modeste de 60% (***Schéma 92***), mais non encore optimisé. Le chauffage par irradiation aux micro-ondes – méthode efficace et largement utilisée par notre équipe pour la synthèse de clusters[4,7] – se révèle ici peu adapté, tout comme nous l'avions observé pour la synthèse de **124** (voir II-5, ***Schéma 60***) : les azotures en position anomérique semblent moins réactifs que ceux en bout de chaînes alkyles, probablement pour des raisons d'encombrement stérique et de stabilisation par effet anomère. Néanmoins le **module 1+1 OFF-OFF 172** a été obtenu et caractérisé.

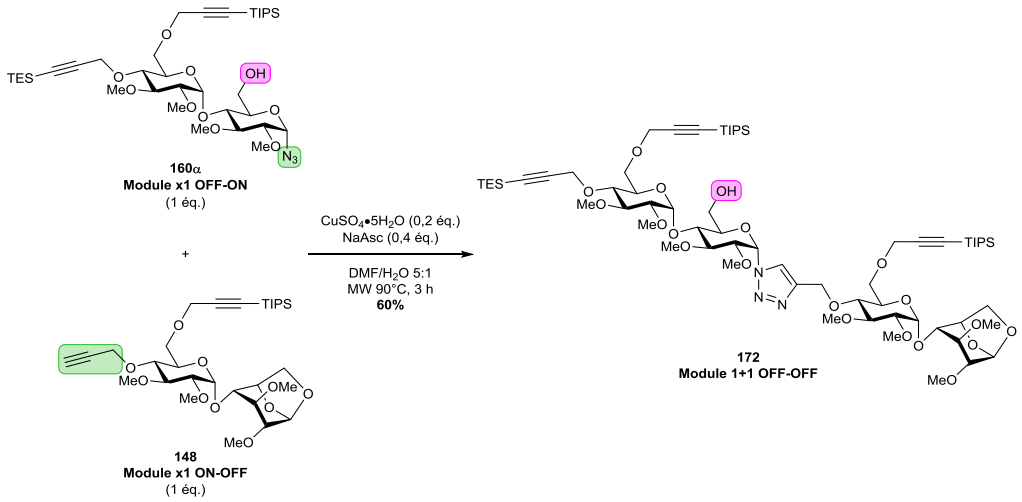


Schéma 92 – *Synthèse du* ***module 1+1 OFF-OFF****.*

Malheureusement, l'une des étapes clé de notre stratégie *Sweet LEGO*® (ouverture du pont 1,6-anhydro par $TMSN_3$) s'est révélée problématique avec l'anhydro **172**. Dans les conditions développées dans le **Chapitre II** (voir II-2.2) et optimisées dans le **Chapitre III** (voir III-5.1.2), aucune trace de l'azoture **173** n'est en effet observée (***Schéma 93***). Si une apparente conversion du substrat de départ est constatée par CCM du milieu réactionnel, l'analyse du spectre RMN ^1H du brut réactionnel indique une conversion nulle, et ce même avec un excès du mélange $TMSOTf/NEt_3$ et un temps de réaction prolongé (***Schéma 93*** et ***Tableau 10***). L'apparente conversion observée par CCM pourrait s'expliquer par la silylation de l'alcool primaire, puis l'hydrolyse de l'éther silylé lors du traitement.

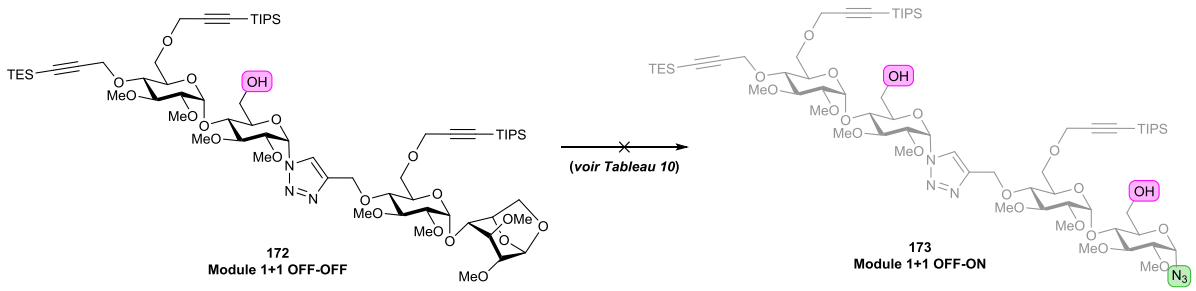


Schéma 93 – *Activation OFF-ON du* ***module 1+1 OFF-OFF 172****.*

Tableau 10 – *Conditions d'activation OFF-ON du* ***module 1+1 OFF-OFF 172****.*

Entrée	$TMSN_3$ (éq.)	TMSOTf (éq.)	NEt_3 (éq.)	Solv. (Conc.)	T	t	Rendement
1	10	0,5	0,4	MeCN (10 mM)	TA	5 h 30	Pas de conversion
2	10	1,5	1,2	MeCN (10 mM)	TA	23 h	Pas de conversion

Afin de désactiver cette éventuelle réaction parasite, l'alcool primaire doit être protégé ou alkylé. La synthèse du **module 2+1 OFF-OFF 174** est alors effectuée par couplage *via* CuAAC des **modules x2 OFF-ON 162** et **x1 ON-OFF 148** (***Schéma 88***). Après plusieurs essais, l'utilisation du mélange THF/H_2O 1:1 à température ambiante pendant 21 h a donné un très bon rendement.

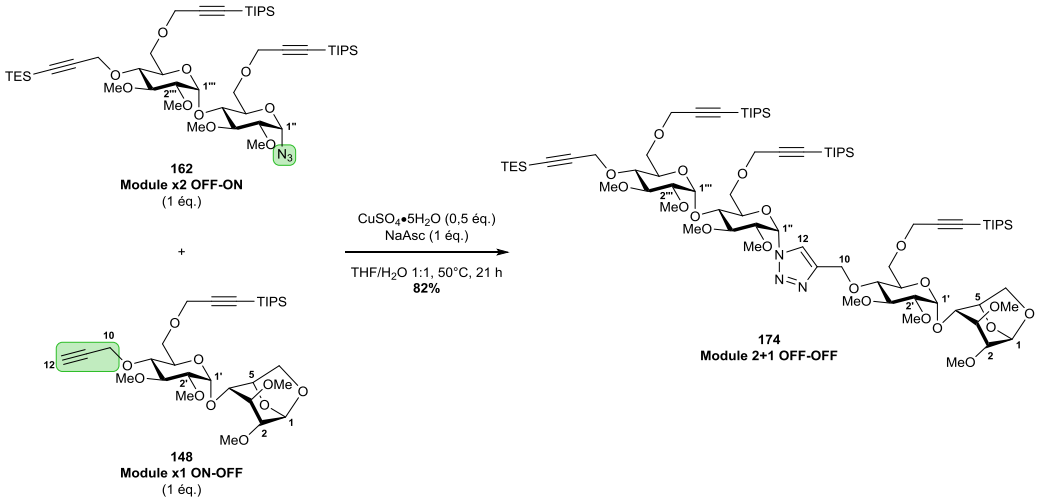


Schéma 94 – *Synthèse du* ***module 2+1 OFF-OFF 174****.*

L'analyse du spectre RMN ^1H du **module 2+1 OFF-OFF 174** montre le proton aromatique caractéristique du triazole (noté 12, ***Figure 47***) ainsi qu'un déblindage des protons attenants à celui-ci (notés 1'' et 10, ***Figure 47***). La plupart des autres protons conservent le même déplacement chimique.

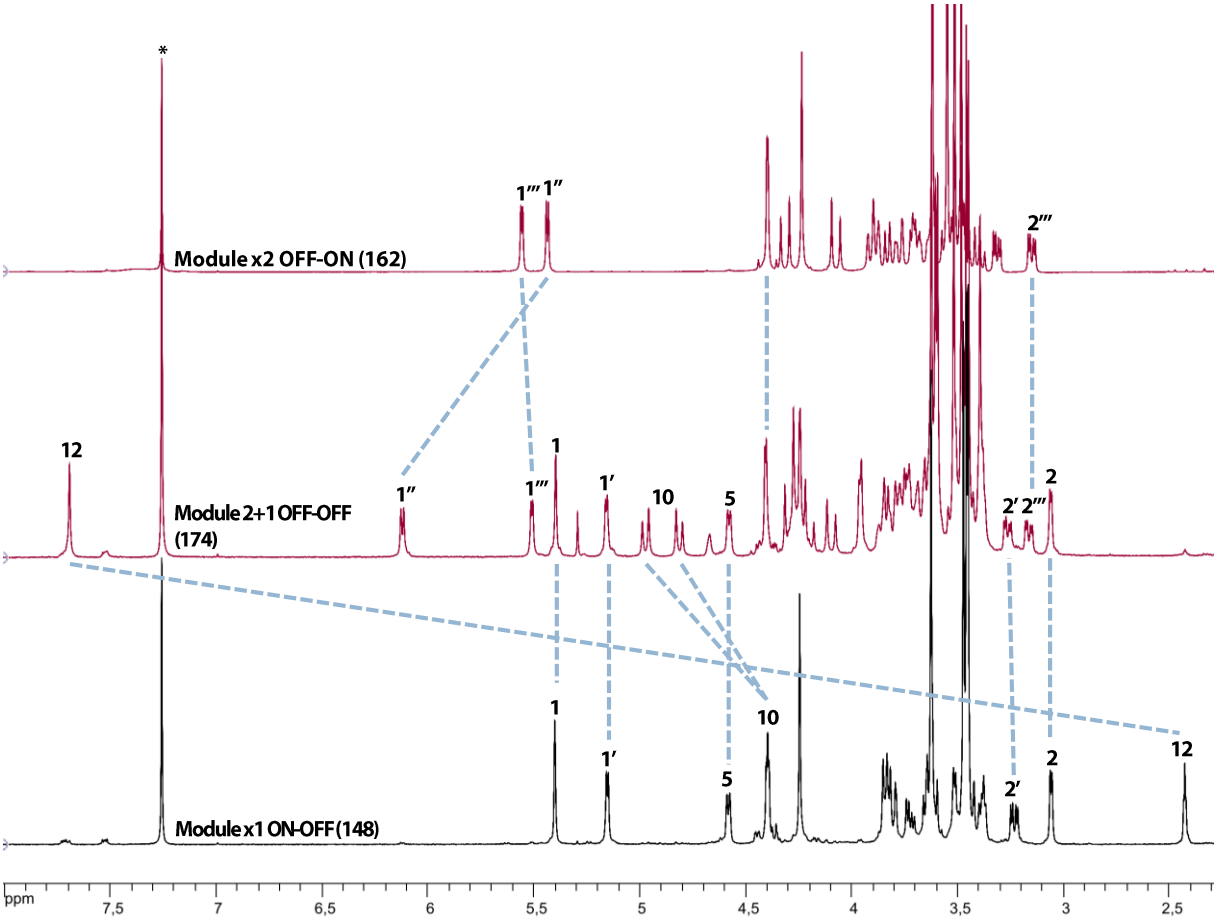


Figure 47 – *Spectres RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) des **modules x2 OFF-ON** et **x1 ON-OFF** et du produit de couplage par CuAAC : le **module 2+1 OFF-OFF**.* indique le pic résiduel de chloroforme.*

Malgré l'absence d'alcool primaire, l'ouverture de l'anhydro par $TMSN_3$ ne fonctionne toujours pas (***Schéma 95***). De plus, lorsqu'on place le substrat **174** en large excès de réactifs, la coupure des liaisons glycosidiques est observée, à l'instar du **module x1 OFF-OFF 125** (voir III-5.1.2). Les composés **158** et **176** sont ainsi isolés (***Figure 48***). Ces résultats indiquent que le problème vient plutôt de la présence d'un triazole faiblement basique[243] dans la molécule, qui pourrait inhiber la réaction d'ouverture (voir III-5.3.2).

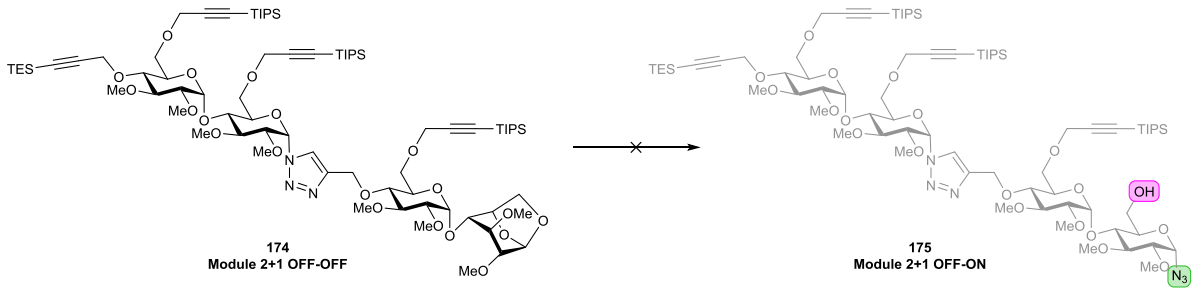


Schéma 95 – *Activation OFF-ON du **module 2+1 OFF-OFF 174**.*

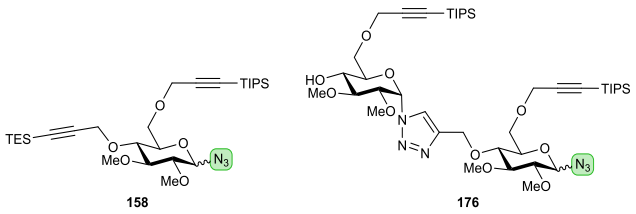
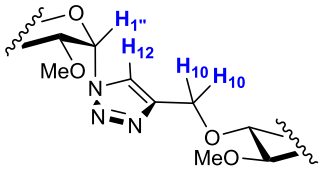


Figure 48 - *Sous-produits isolés issus de coupure de **174**.*

Nous avons donc imaginé activer le **module 2+1 OFF-OFF 174** en protonant le triazole par traitement avec une solution d'acide chlorhydrique dans l'éther, suivi d'une évaporation sous vide poussé. La formation de l'ion triazolium est suggérée par l'élargissement des pics caractéristiques des protons attenants à l'hétérocycle protoné visibles en RMN ^{1}H (***Figure 49***).



174

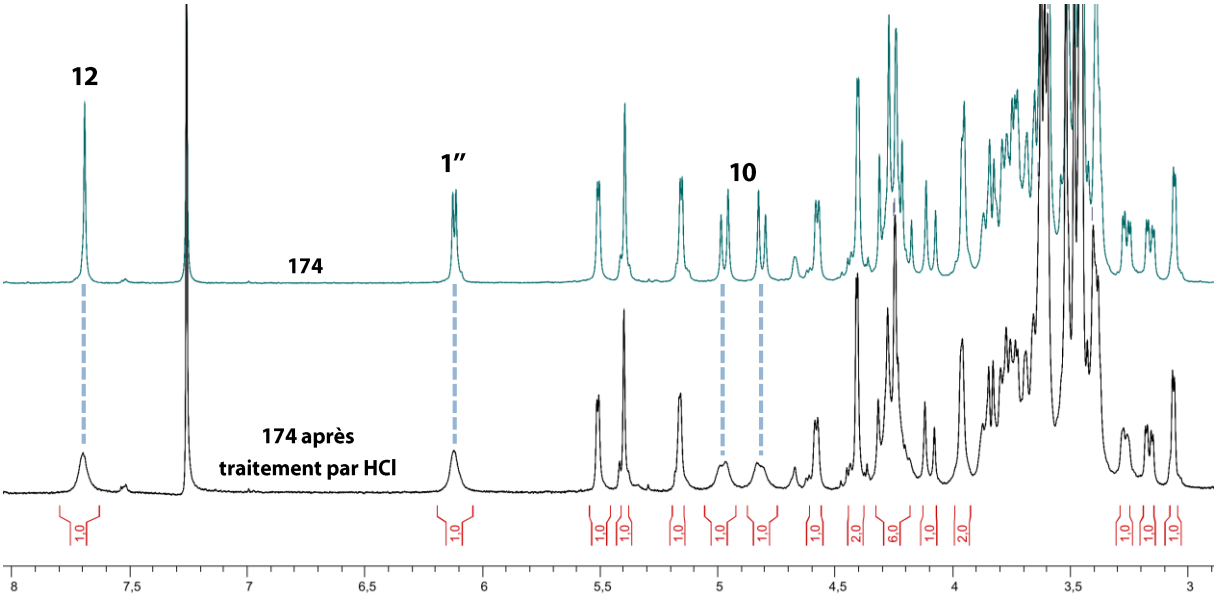


Figure 49 – *Spectres RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) de **174** avant et après traitement par HCl·Et_2O, suggérant la protonation du triazole.*

Les essais conduits sur **174** traité par HCl·Et_2O ont alors conduit à l'observation d'un nouveau produit présentant les pics caractéristiques attendus en RMN ^{1}H, ainsi qu'une bande d'absorption en IR à 2113 cm^{-1} caractéristique des azotures. Malheureusement, la conversion incomplète‡‡ du substrat de

‡‡ Les essais, généralement non-reproductibles, n'ont pas permis d'obtenir une conversion élevée sans dégrader le substrat.

départ et la polarité très similaire du nouveau produit ont rendu impossibles sa détection par CCM ou son isolement.

2.1.2 En série propargyle

Le **module 5+5 OFF-OFF 177** est obtenu en couplant *via* CuAAC le **module x5 ON-OFF 164** (stable) avec le **module x5 OFF-ON 165α** (relativement instable à TA, voir III-5.3.2) fraîchement préparé. Le rendement modeste de 65% reste à améliorer en optimisant les conditions réactionnelles. Le choix de celles-ci est crucial : le chauffage de la réaction est prohibé, car il favorise la cycloaddition intramoléculaire qui convertit irréversiblement le **module x5 OFF-ON 165** en composé tricyclique **166α** (voir III-5.3.2, ***Figure 42***).

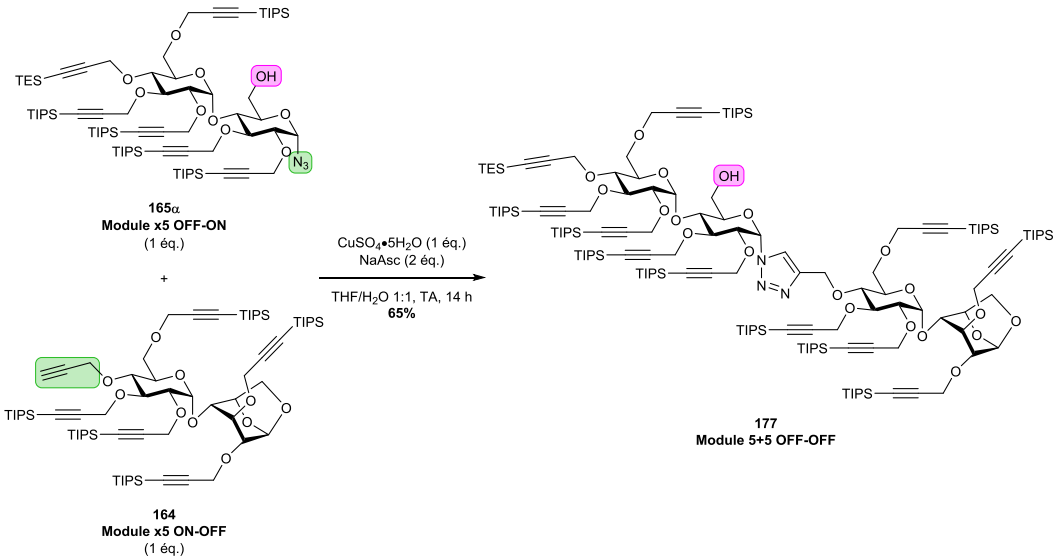


Schéma 96 – *Synthèse du **module 5+5 OFF-OFF 177**.*

L'activation OFF-ON par ouverture du pont 1,6-anhydro du **module 5+5 OFF-OFF 177** ne fonctionne pas non plus et les 6 essais réalisés dans différentes conditions (avec ou sans traitement préalable par HCl, emploi de MeCN ou EtCN comme solvants) n'ont pas permis d'observer la formation du **module 5+5 OFF-ON 178** (***Schéma 97***). La lenteur de la réaction ne facilite pas la tâche, puisque si **178** se forme, il est progressivement transformé, de façon irréversible, en son analogue polycyclique par cycloaddition intramoléculaire.

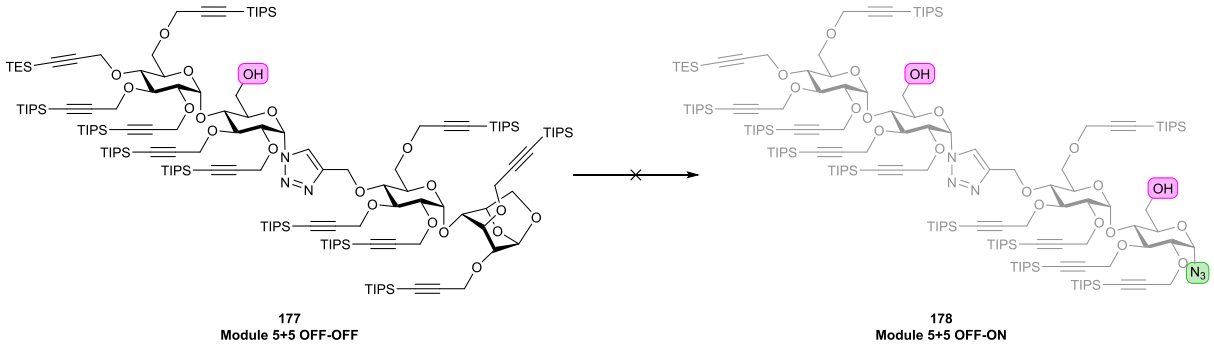


Schéma 97 – *Activation OFF-ON du **module 5+5 OFF-OFF 177**.*

L'application des conditions d'ouverture de ponts 1,6-anhydro aux **modules 1+1** (**172**), **2+1** (**174**) et **5+5** (**177**) n'a pas fonctionné, malgré les nombreux essais et variations. L'échec de cette étape clé de la stratégie *Sweet LEGO®* empêche pour l'instant tout progrès dans la synthèse de néocyclodextrines préfonctionnalisées par approche modulaire.

2.2 Synthèse par cyclooligomérisation

En parallèle de la synthèse par approche modulaire, nous avons développé une voie d'accès aux néo-CD préfonctionnalisées par cyclooligomérisation.

Dans un premier temps, la **module x1 ON-ON 161** (*Schéma 98*) a été exposé aux conditions décrites par Gin *et al.*,[122,139] étant donnée la ressemblance de notre composé avec le disaccharide **60** (voir I-3.2.3, *Schéma 14*). Malheureusement, les conditions de CuAAC employant le CuI et le DBU en conditions diluées dans le toluène n'ont pas permis d'isoler le produit, même si des traces sont observables en RMN ^{1}H (*Tableau 11*, entrée 1).

L'emploi du mélange classique de sulfate de cuivre et d'ascorbate de sodium (NaAsc) dans des conditions diluées a engendré la polymérisation du module, rendant la réaction improductive (*Tableau 11*, entrée 2). La méthode la plus efficace trouvée à l'heure actuelle consiste en l'addition au goutte-à-goutte d'une solution diluée de **161α** à une solution concentrée de $CuSO_4$/NaAsc. Selon la concentration des deux solutions, la néo-CD dimérique préfonctionnalisée **168** est finalement obtenue avec 34% de rendement (*Tableau 11*, entrée 3), ou alors en mélange avec son analogue trimérique **179** (*Tableau 11*, entrée 4). Dans les deux cas, la purification est rendue très difficile par la formation simultanée d'un mélange inséparable de cycloligomères de plus grande taille. L'addition inverse de Cu(I) sur une solution diluée de **161α** n'a donné aucune conversion : il semble que le mélange $CuSO_4$/NaAsc ne soit pas très stable lorsqu'il est employé en quantités stœchiométriques (*Tableau 11*, entrée 5).

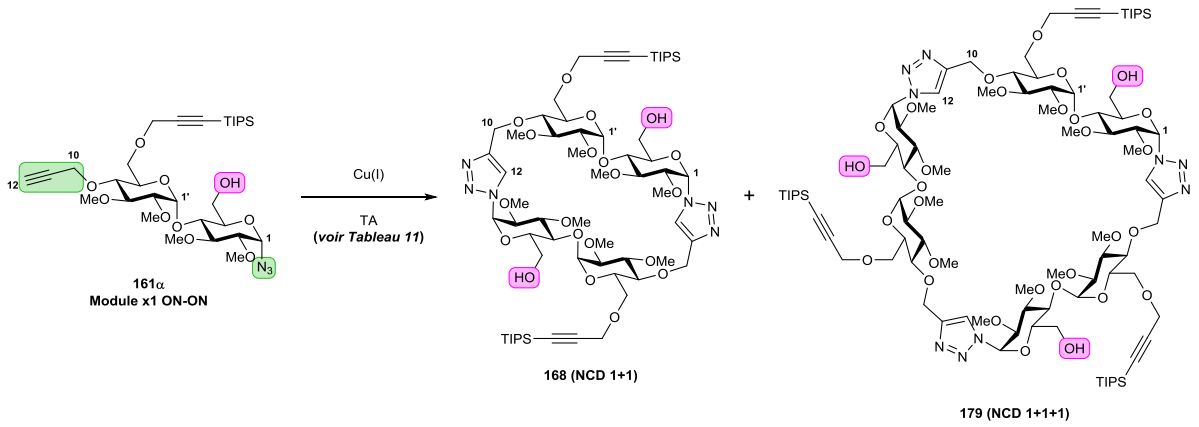


Schéma 98 – *Synthèse des premières néo-CD préfonctionnalisées par cyclooligomérisation du* ***module x1 ON-ON****.*

Tableau 11 – *Conditions de cyclooligomérisation de **161** en néo-CD préfonctionnalisées.*

Entrée	Type	Conditions	[161α] (mM)	[Cu] (éq./mL)	T/t	NCD 1+1 (168)	NCD 1+1+1 (179)
1	Classique	DBU (20 éq.) CuI (2 éq.) PhMe	5,0	0,2	7 jrs	Traces	-
2	Classique	$CuSO_4$ (0,5 éq.) NaAsc (1 éq.) THF/H_2O	6	0,12	14 h	5%	-
3	Addition de **161α** sur Cu(I)	$CuSO_4$ (10 éq.) NaAsc (20 éq.) THF/H_2O	3,5	2[a] à 0,66[b]	1 h (addition) +16 h	34%	n.i.[c]
4	Addition de **161α** sur Cu(I)	$CuSO_4$ (10 éq.) NaAsc (20 éq.) THF/H_2O	4,6	1[a] à 0,14[b]	3 h (addition)	42%	9%
5	Addition de Cu(I) sur **161α**	$CuSO_4$ (1 éq.) NaAsc (2 éq.) THF/H_2O	1,4	0,5	14 h (addition)	Pas de conversion	

[a] : concentration initiale ; [b] : concentration finale ; [c] : non isolé.

Les conditions mises au point, bien que non optimales en termes de rendement, permettent d'obtenir dans le même pot les néo-CD préfonctionnalisées **168** et **179** possédant respectivement 4 et 6 unités glucopyranoses, séparables par chromatographie sur colonne de silice. Ces composés peuvent donc être préparés en seulement 8 étapes à partir du maltose, avec 18% et 4% de rendement global, respectivement. La relative simplicité des spectres RMN ^{1}H des nouvelles charpentes **NCD 1+1 168** et **NCD 1+1+1 179** témoigne de leur symétrie (***Figure 50***).

Les analyses réalisées (RMN ^{1}H, ^{13}C, DEPT, COSY, HSQC, HMBC, DOSY, spectre infrarouge, pouvoir rotatoire et spectres de masse) ont permis de caractériser ces deux composés, et de s'assurer qu'il ne s'agissait pas d'oligomères de masse plus importante, ni de composés acycliques. Les spectres de masse de haute résolution ESI-HRMS correspondants sont cohérents avec les structures di- et trimériques visées, comme en atteste la présence des ions majoritaire mono- et dichargés $[M+H]^+$ et/ou $[M+2H]^{2+}$ (voir ***PE-36*** et ***PE-37***). L'ionisation par électrospray étant une méthode douce, il est peu probable que les signaux interprétés soient issus de la fragmentation d'oligomères plus lourds. En revanche, l'analyse des spectres de masse de permet pas d'exclure les composés linéaires précurseurs immédiats de **168** et **179**, qui auraient la même masse que ces derniers. L'absence de signaux à 2,4 ppm dans le spectre RMN ^{1}H permet par contre de les écarter. De plus, une analyse RMN de type DOSY a permis d'estimer le diamètre hydrodynamique du cyclodimère **168**. Le calcul indique un diamètre autour de 1 nm, dont l'ordre de grandeur est parfaitement cohérent avec les valeurs tirées de la littérature (1,46 à 1,75 nm pour les cyclodextrines communes ; voir I-3, ***Figure 24***). L'ensemble de ces analyses justifient la structure des deux composés décrits ici.

La *néo*-cyclodextrine **168** étant un solide, il serait évidemment très intéressant de tenter d'obtenir un monocristal afin de confirmer sa structure par diffraction des rayons X.

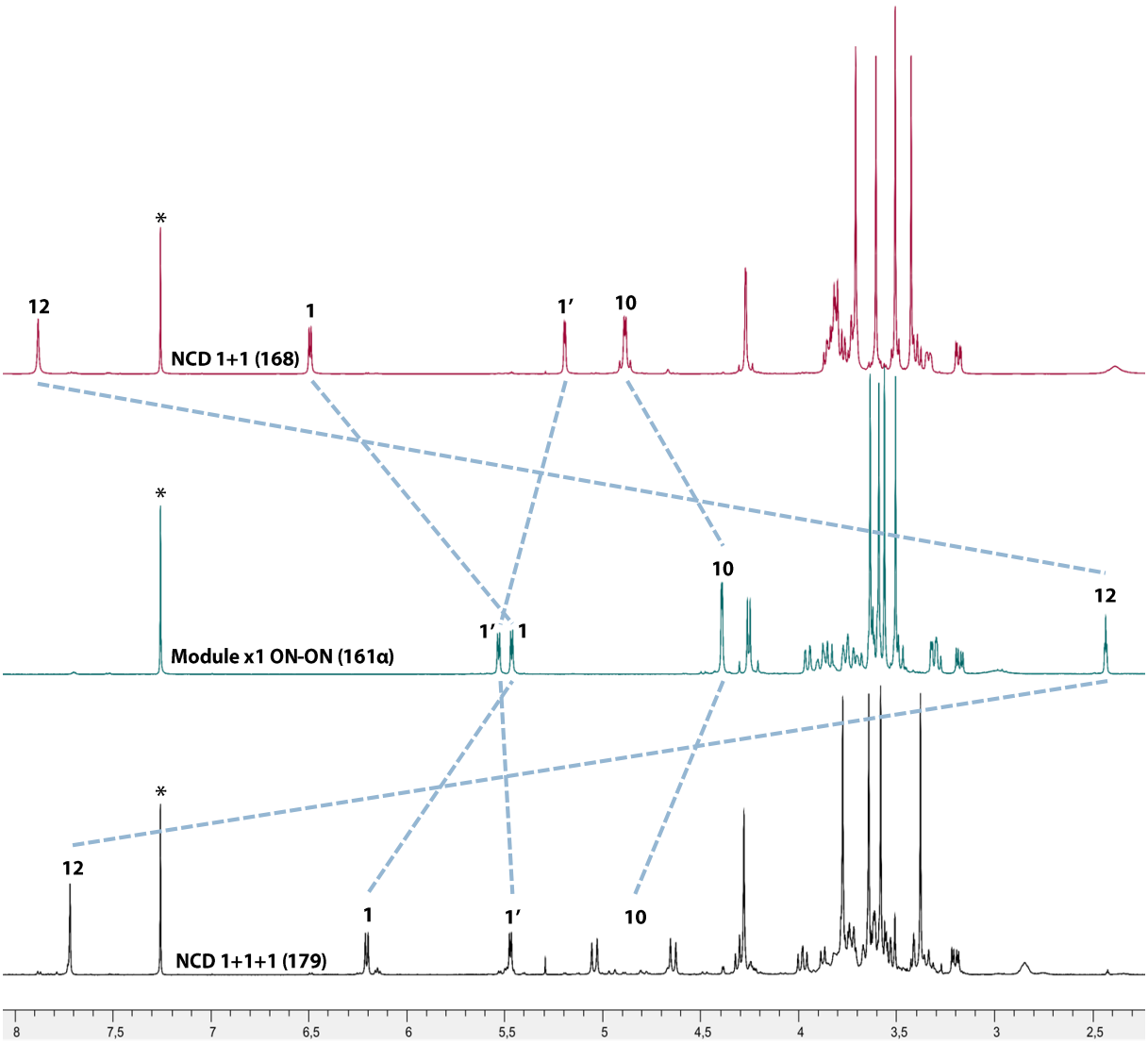


Figure 50 – *Spectres RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) du **module x1 ON-ON**, de **NCD 1+1** et de **NCD 1+1+1**.*
** indique le pic résiduel de chloroforme.*

L'optimisation des conditions de cyclooligomérisation sera poursuivie, et les conditions optimales seront appliquées aux **modules x2 ON-ON 163** et **x5 ON-ON 167** (***Figure 45***). Nous envisageons d'étudier d'autres sources de Cu(I), notamment $CuBr{\cdot}SMe_2$, qui est soluble dans le THF et promeut apparemment une vitesse de réaction plus grande.[249]

3 Synthèse de nouveaux clusters iminosucres

Au sein du laboratoire, la synthèse de clusters iminosucres suit une procédure standard ayant déjà prouvé son efficacité.[2,4,7] Il s'agit d'attacher par CuAAC (voir I-3.2.2) un nombre N de ligands peracétylés portant une fonction azoture sur une charpente présentant N fonctions alcynes terminales (*Schéma 99*). La présence des groupements acétates facilite la purification du système multivalent lors de l'étape délicate de multi-fonctionnalisation. Le cluster obtenu est alors déprotégé quantitativement en présence d'une résine basique. L'avantage de l'emploi d'une résine réside dans le traitement très efficace de cette seconde étape : une simple filtration et une évaporation des solvants permettent de récupérer ce composé très polaire sans aucun besoin de purification ultérieure.

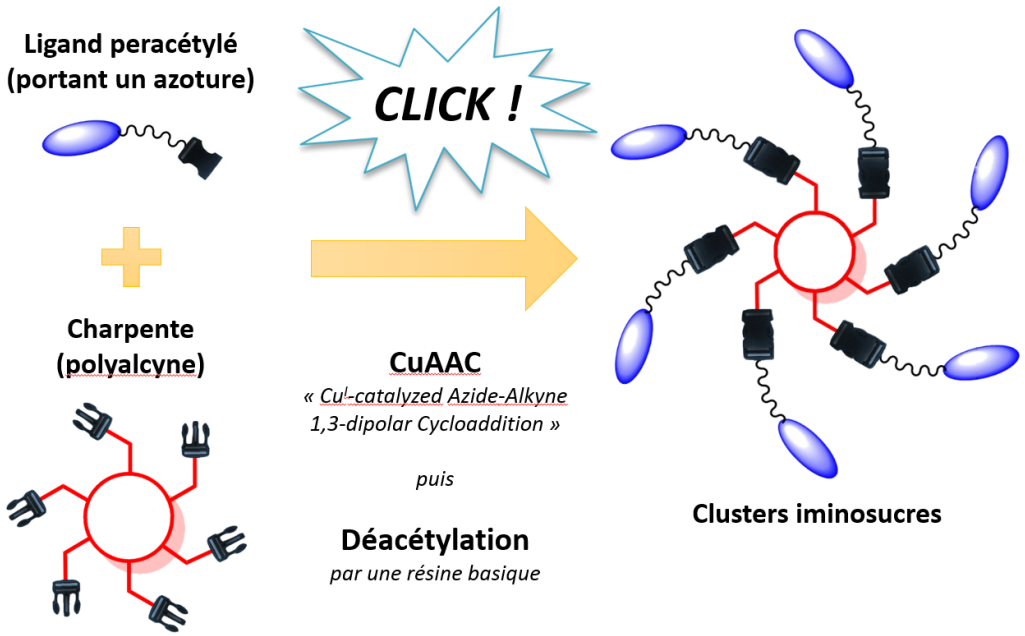


Schéma 99 – *Stratégie de synthèse générale de clusters iminosucres par chimie « click ».*

Le ligand utilisé sera une unité désoxynojirimycine (DNJ) *N*-azidoalkylée. En effet, les dérivés *N*-alkylés de la DNJ (**2**) sont des inhibiteurs de glycosidases globalement peu sélectifs qui ont été testés sur un grand nombre de cibles biologiques et thérapeutiques (voir I-1.3). Ce ligand apparaît donc comme un bon modèle pour tenter de comprendre – *via* des études de relation structure-activité – les mécanismes engendrant les augmentations d'affinités et/ou de sélectivité observées pour les iminosucres multivalents déjà évalués.[2] En outre, la majeure partie des clusters iminosucres publiés à ce jour sont basés sur le motif DNJ,[2] de même que les deux médicaments iminosucres actuellement commercialisés : le *miglitol* **8** et le *miglustat* **9** (voir I-1.3, *Figure 7*). La synthèse de ce ligand (*Schéma 100*) est bien maîtrisée au laboratoire[4,250] et a été réalisée à l'échelle d'une dizaine de grammes.

L'amidation oxydante du 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-glucopyranose **180** (commercial) par l'iode et l'ammoniaque fournit le 5-hydroxyamide linéaire **181** correspondant avec un excellent rendement de 94%. L'oxydation d'Albright-Goldman[251] de l'alcool en position C-5 produit une cétone qui subit ensuite une amination réductrice. Le lactame **182** est alors isolé comme diastéréomère majoritaire avec 63% de rendement sur 2 étapes. La réduction de ce lactame par $LiAlH_4$ est réalisée avec 90% de

rendement pour obtenir l'analogue tétrabenzylé **183** de la DNJ (**2**). La *N*-azidoalkylation de **183** avec deux espaceurs de longueur différente (C_6 et C_9) est réalisée à 160°C par irradiation aux micro-ondes d'un mélange contenant le 1-azido-ω-bromoalcane adéquat et du carbonate de potassium dans l'acétonitrile. Finalement, le changement des groupes protecteurs de benzyle à acétate est effectué sans purification intermédiaire par dé-*O*-benzylation à l'aide de BCl_3 puis peracétylation. Les ligands **185a** et **185b** sont alors obtenus en 7 étapes avec 33% et 37% de rendement global, respectivement (***Schéma 100***).

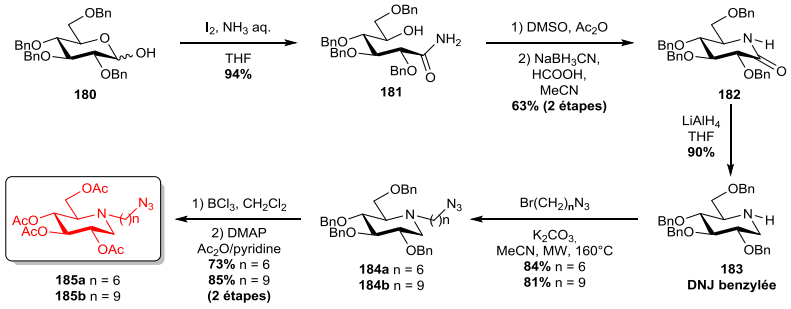


Schéma 100 – *Synthèse optimisée du ligand DNJ peracétylé.*[4,250]

3.1 Clusters basés sur une charpente néocyclodextrine

Les quelques milligrammes de **NCD 1+1 168** et **NCD 1+1+1 179** obtenus ont été engagés dans la synthèse des clusters di- et trivalents **186** et **187**. Nous avons choisi une stratégie déjà mise en œuvre pour la synthèse du néo-pentasaccharide **124** (voir II-5, ***Schéma 60***). Cette méthode consiste en la déprotection *in situ* des alcynes silylés de **186** ou **187** par le fluorure de tétrabutylammonium (TBAF) en présence du ligand **185b,** de $CuSO_4$ et d'ascorbate de sodium, conduisant en une seule étape aux produits désirés (***Schéma 101*** et ***Schéma 102***).

D'après les analyses RMN ^1H, les produits semblent avoir été obtenus. Cependant, l'isolement des composés purs s'est révélé impossible, malgré plusieurs techniques de purification employées (chromatographie sur gel de silice, adsorption sur résine acide,…). Le TBAF paraît être lié aux produits, ce qui pourrait être dû à une interaction entre la cavité théoriquement hydrophobe de la néo-CD et les chaînes alkyles du cation tétrabutylammonium, elles aussi hydrophobes.

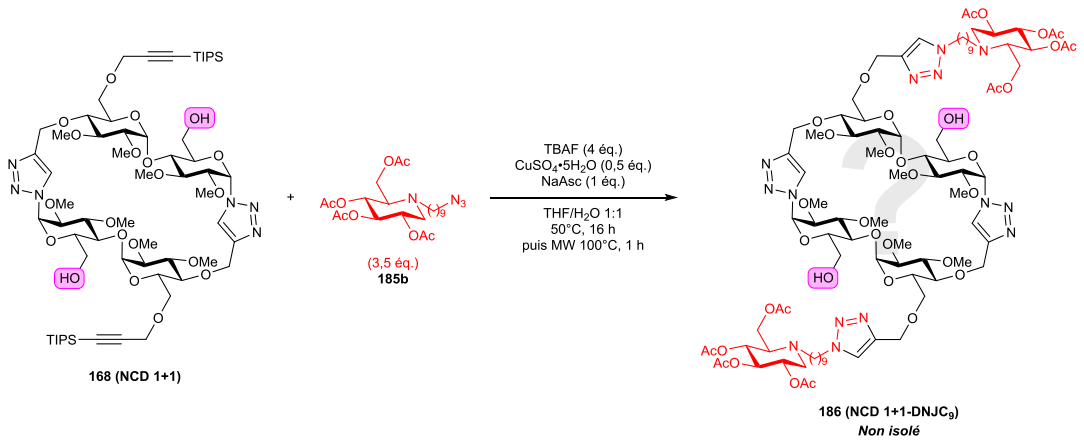


Schéma 101 – *Synthèse du cluster divalent **186** basé sur la néo-CD préfonctionnalisée **NCD 1+1 (168)**.*

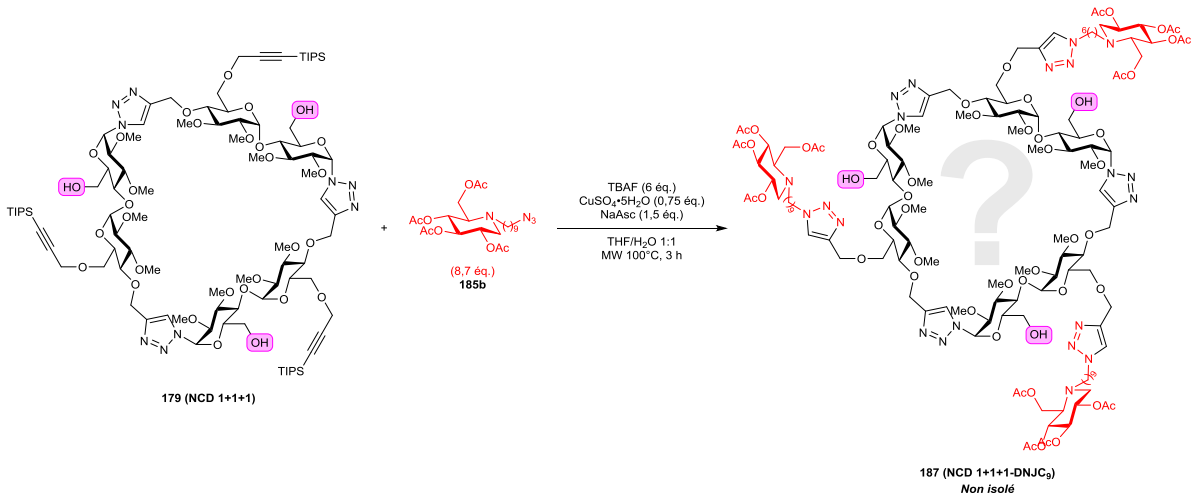


Schéma 102 – *Synthèse du cluster trivalent **187** basé sur la néo-CD préfonctionnalisée **NCD 1+1+1** (**179**).*

Afin de résoudre ces problèmes de purification, la séquence réactionnelle sera effectuée étape par étape et non plus en un pot. Dans un premier temps, les néo-CD seront désilylées par l'usage de HF·pyridine, réactif qui devrait être plus facile à éliminer. Ensuite, la réaction de CuAAC pourra être réalisée dans de meilleures conditions.

3.2 Cluster basé sur une charpente cyclodextrine couplée à un dendron

Les bons résultats obtenus avec les clusters basés sur une charpente β-CD (voir I-2.2.2) ont encouragé la synthèse de clusters exhibant des valences plus importantes. Malheureusement, nos tentatives pour préparer la β-CD 21-valente perpropargylée se sont soldées par des échecs. En effet, fonctionnaliser la position 3 des unités glucose par des propargyles s'est révélé extrêmement difficile, malgré un précédent dans la littérature.[252]

Une alternative permettant d'atteindre une valence de 21 était de multiplier par 3 la valence de la β-CD 6-*O*-heptapropargylée **CD7**. Ainsi, la synthèse d'un dendron trivalent « clickable » de la DNJ permettant d'obtenir un cluster de la valence souhaitée selon la stratégie classique de « click-déacétylation » a été envisagée (***Schéma 99***).

Aussi, le trialcyne **188** muni d'un court espaceur éthylène glycol a été préparé au laboratoire par Jérémy Schneider et Antoine Joosten selon des méthodes connues.[244,253] Le ligand **185b** a alors été « clické » avec un excellent rendement, puis l'atome de chlore déplacé par l'azoture de sodium pour donner le dendron tripode **190** de manière *quasi* quantitative (***Schéma 103***).

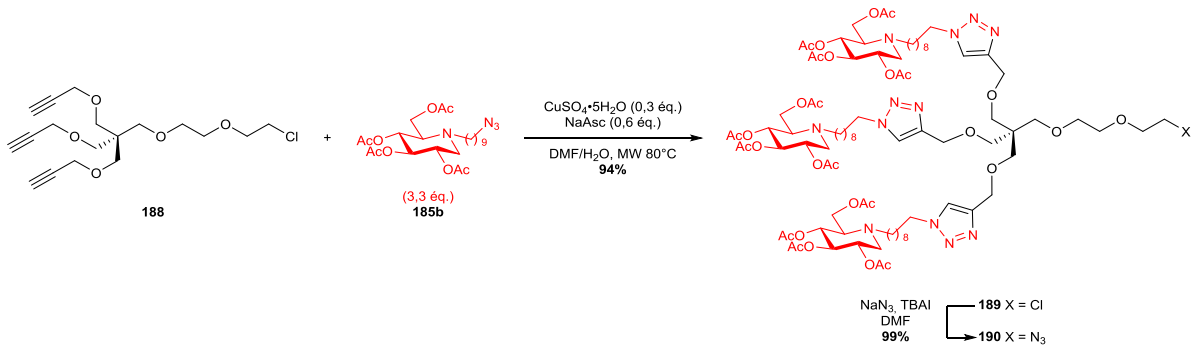


Schéma 103 – *Synthèse d'un dendron trivalent de la DNJ.*[244]

L'installation du dendron **190** sur la β-CD heptapropargylée **CD7**[4] a ensuite été réalisée selon la stratégie standard (*Schéma 99*) pour fournir le cluster cyclodextrine-iminosucre 21-valent **CD7x3-DNJC$_9$ 192** avec 75% de rendement après déacétylation (*Schéma 104*).

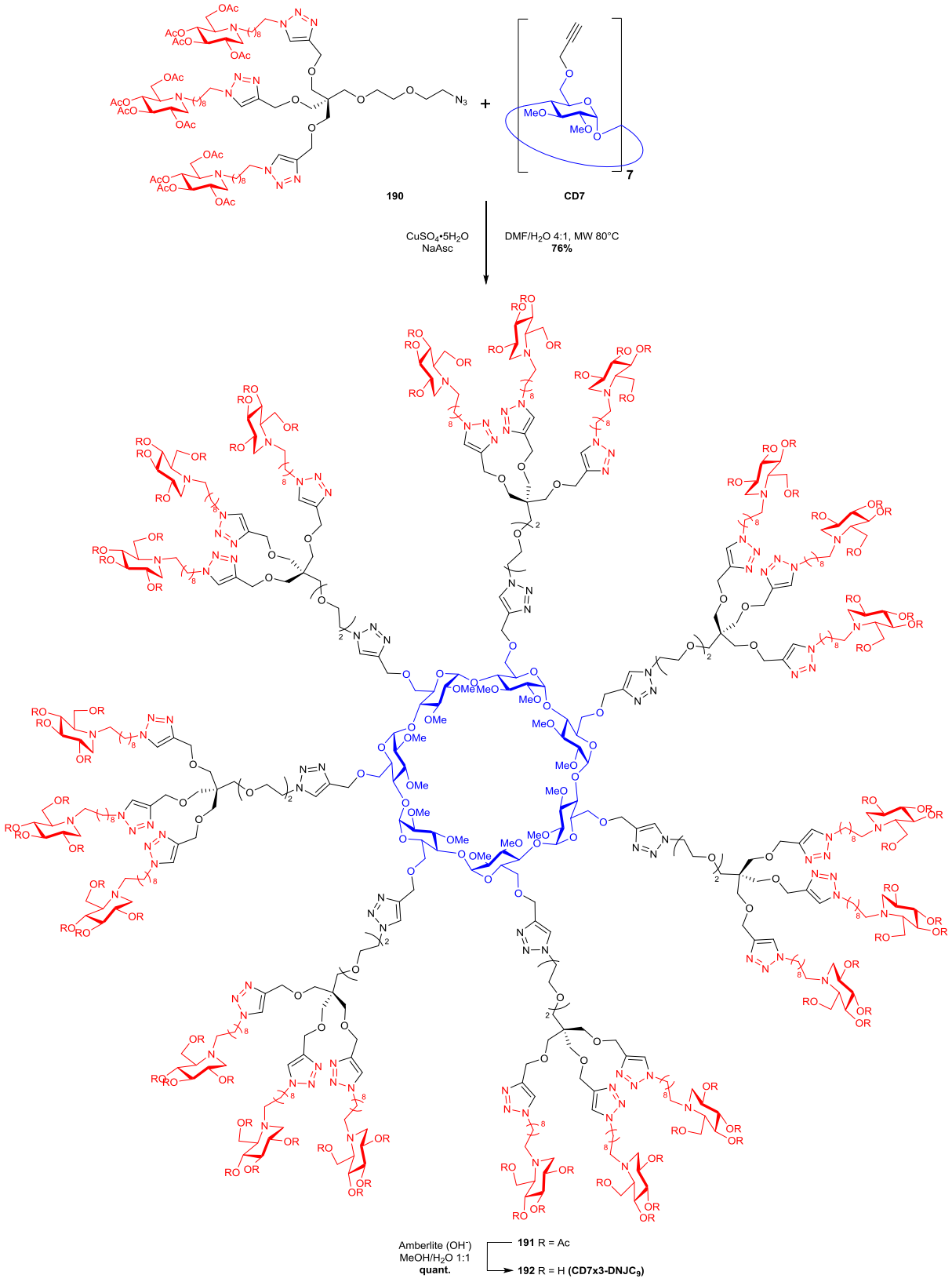


Schéma 104 – *Synthèse du cluster 21-valent basé sur une charpente cyclodextrine couplée à un dendron trivalent de la DNJ.*[244]

3.3 Clusters basés sur des charpentes de type cyclopeptoïde

Les peptoïdes sont des oligomères de glycine *N*-substitués. Leur diversité chimique, leur facilité d'accès synthétique ainsi que leur stabilité protéolytique et leur pénétration cellulaire améliorée par rapport aux peptides en font des charpentes prometteuses pour la synthèse de glycoconjugués d'intérêt biologique.[245,254,255] La combinaison de ces avantages a mené à de nombreux exemples de peptoïdes biologiquement actifs.[256–258] Le groupe du Pr Izzo, de l'université de Salerno (Italie), a récemment mis au point une synthèse supportée sur phase solide de peptoïdes cycliques (cyclopeptoïdes, CP).[246–248] Une collaboration avec ce groupe nous a permis d'obtenir quatre cyclopeptoïdes de tailles variant de 2 à 10 chaînons (***Figure 51***). Nous avons pensé qu'un cluster basé sur une charpente de ce type pourrait mettre à profit sa flexibilité pour faciliter l'accès au site actif des glycosidases cibles, et ainsi décupler l'effet multivalent observé. Cette hypothèse se place en contraste avec les bons résultats publiés fin 2013 par le groupe de Gouin avec son cluster porphyrine **38** très rigide (voir I-2.2.2).[86]

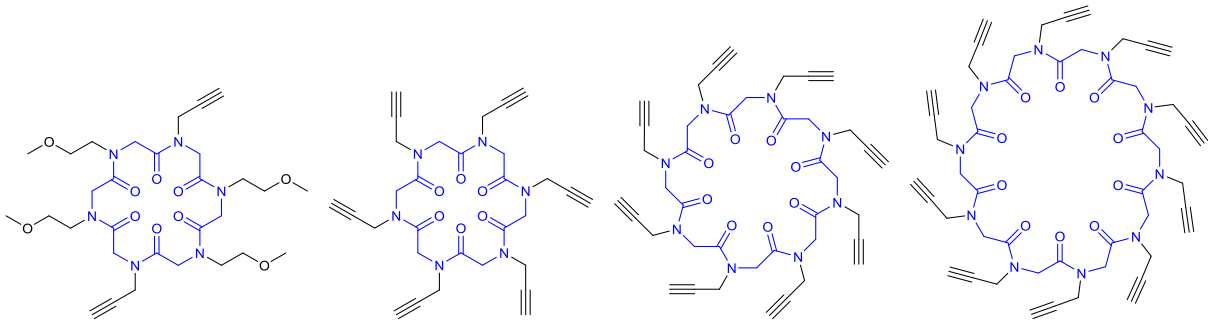


Figure 51 – *Cyclopeptoïdes fournis par le groupe du Pr Izzo.*

Les cyclopeptoïdes perpropargylés **194** à **196** ont été préparés par Alessandra Meli (Université de Salerno, Italie) *via* une synthèse supportée sur résine, en suivant une « approche sous-monomérique » (***Schéma 105***).[245,259] Tout d'abord, l'acide bromoacétique est fixé sur la résine 2-chlorotrityle **197** par substitution de l'atome de chlore, puis l'atome de brome est déplacé par un excès de propargylamine et finalement un nouvel équivalent d'acide bromoacétique est condensé par couplage peptidique. Entre **198** et **200**, un monomère est donc assemblé en deux étapes, d'où le nom d' « approche sous-monomérique ».[259] Ces étapes sont effectuées à la suite sans purification, et répétées jusqu'à atteindre le nombre de chaînons désiré, puis la résine est retirée pour donner le peptoïde linéaire **202**. Celui-ci est alors macrocyclisé en conditions diluées et une purification par HPLC ou précipitation donne le cyclopeptoïde attendu (***Schéma 105***) dans des rendements variables selon la taille (***Tableau 12***).

La charpente cyclopeptoïde divalente **193** est préparée selon une stratégie similaire impliquant le remplacement dans certaines étapes de la propargylamine par la méthoxyéthylamine.

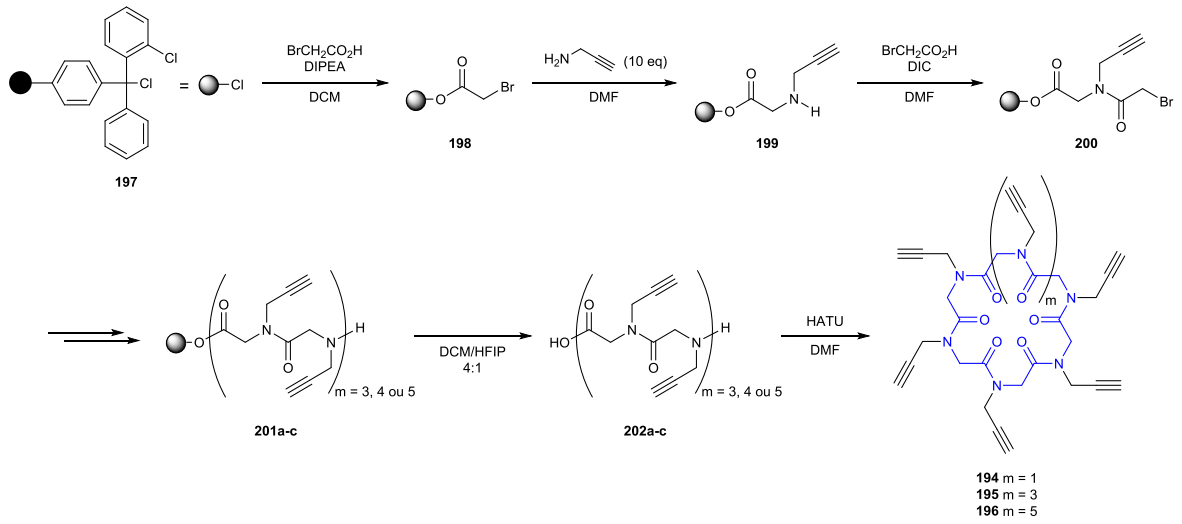


Schéma 105 – *Synthèse des charpentes cyclopeptoïdes.*[245]

Tableau 12 – *Rendements globaux de synthèse des cyclopeptoïdes **194** à **196**.*[245]

Cyclopeptoïde	Valence	Rendement global
194	6	32%
195	8	33%
196	10	12%

3.3.1 1ère génération

La synthèse des clusters cyclopeptoïde-iminosucre de 1ère génération a été réalisée suivant la stratégie standard (***Schéma 99***) pour fournir les clusters di- à décavalents **207** à **210** (***Schéma 106*** et ***Schéma 107***) dans des rendements bons à excellents (***Tableau 13***).

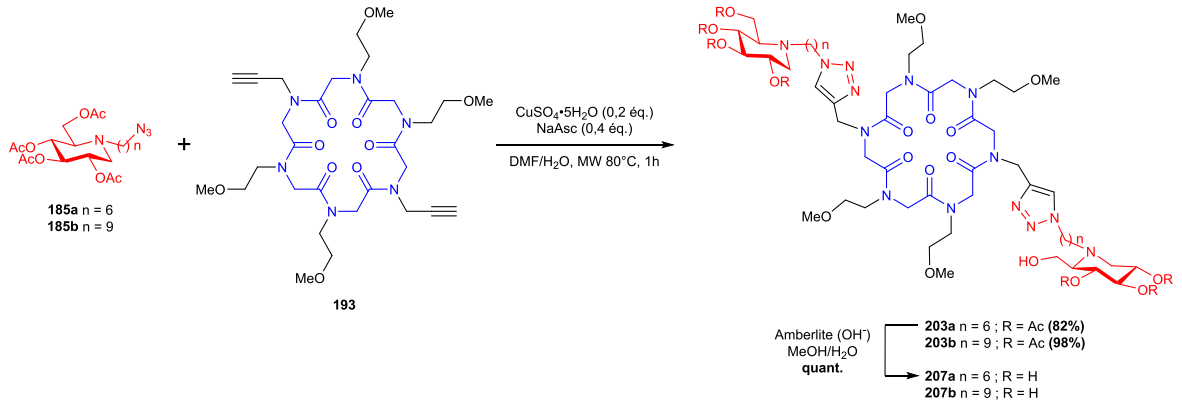


Schéma 106 – *Synthèse des clusters cyclopeptoïdes de 1ère génération divalents.*

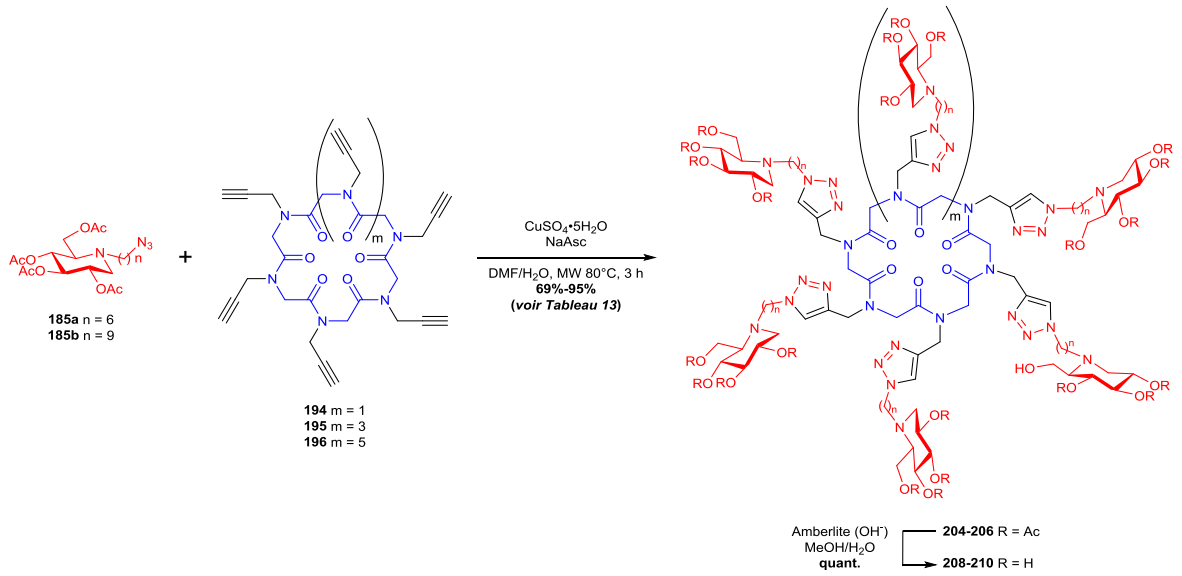


Schéma 107 – *Synthèse des clusters cyclopeptoïdes de 1ère génération hexa- à décavalents.*[245]

Tableau 13 – *Rendements globaux de synthèse des clusters basés sur des charpentes de type cyclopeptoïde.*[245]

Cluster	Code	n	m	Valence	Rendement sur 2 étapes
207a	**CP2-DNJC$_6$**	6	-	2	82%
207b	**CP2-DNJC$_9$**	9	-	2	98%
208a	**CP6-DNJC$_6$**	6	1	6	95%
208b	**CP6-DNJC$_9$**	9	1	6	83%
209a	**CP8-DNJC$_6$**	6	3	8	69%
209b	**CP8-DNJC$_9$**	9	3	8	80%
210a	**CP10-DNJC$_6$**	6	5	10	70%
210b	**CP10-DNJC$_9$**	9	5	10	80%

La principale difficulté de cette étude a été l'analyse des spectres RMN ^{1}H de ces composés. En effet, la structure flexible des cyclopeptoïdes, due aux liaisons amides tertiaires qui peuvent s'isomériser rapidement ainsi qu'à l'absence de protons amide stabilisant la structure secondaire par liaison hydrogène,[254,260] permet l'existence de plusieurs conformères en échange lent sur l'échelle de temps de la RMN.[245] Il en découle une complexification des spectres en ce qui concerne les pics associés aux protons du cyclopeptoïde. Ce phénomène, moins important pour les clusters octavalents **209**, a pu être contourné pour les charpente **193** et **194** par chélation de métaux[246,261] : en présence de picrate de sodium, le spectre RMN ^{1}H du cluster **208a** est radicalement simplifié (***Figure 52***).[245]

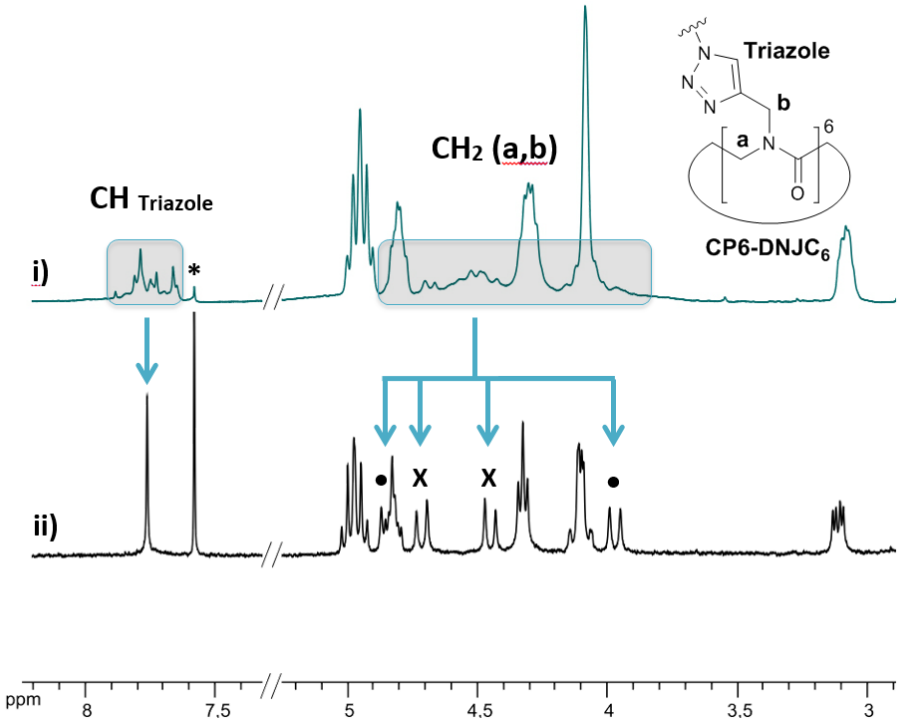


Figure 52 – *Spectres RMN ^{1}H partiels (400 MHz, $CD_3CN/CDCl_3$ 9:1) de **CP6-DNJC$_6$ (208a)** sans (i) et avec (ii) picrate de sodium (11 éq.). * indique le pic résiduel de chloroforme, • et **X** sont assignés aux protons géminaux **a** ou **b**.*[245]

3.3.2 2ème génération : une valence démultipliée

La valence des clusters basés sur une charpente cyclopeptoïde a pu être démultipliée en greffant par CuAAC le dendron trivalent **190** précédemment synthétisé[244] (*Schéma 103*) sur les charpentes **194-196**. Les clusters cyclopeptoïdes **214-216** ont alors été isolés avec des rendements modestes à bons (*Schéma 108* et *Tableau 14*). Ces composés de valences inédites (18, 24 et 30-valent) complètent avantageusement la librairie de clusters préparés au laboratoire, **216** exhibant le plus grand nombre de ligands iminosucres (30) jamais portés par une charpente moléculaire à ce jour.

Tableau 14 – *Rendements globaux de synthèse des clusters **214** à **216**.*[245]

Cluster	Code	m	Valence	Rendement sur 2 étapes
214	**CP6x3-DNJC$_9$**	1	18	75%
215	**CP8x3-DNJC$_9$**	3	24	73%
216	**CP10x3-DNJC$_9$**	5	30	53%

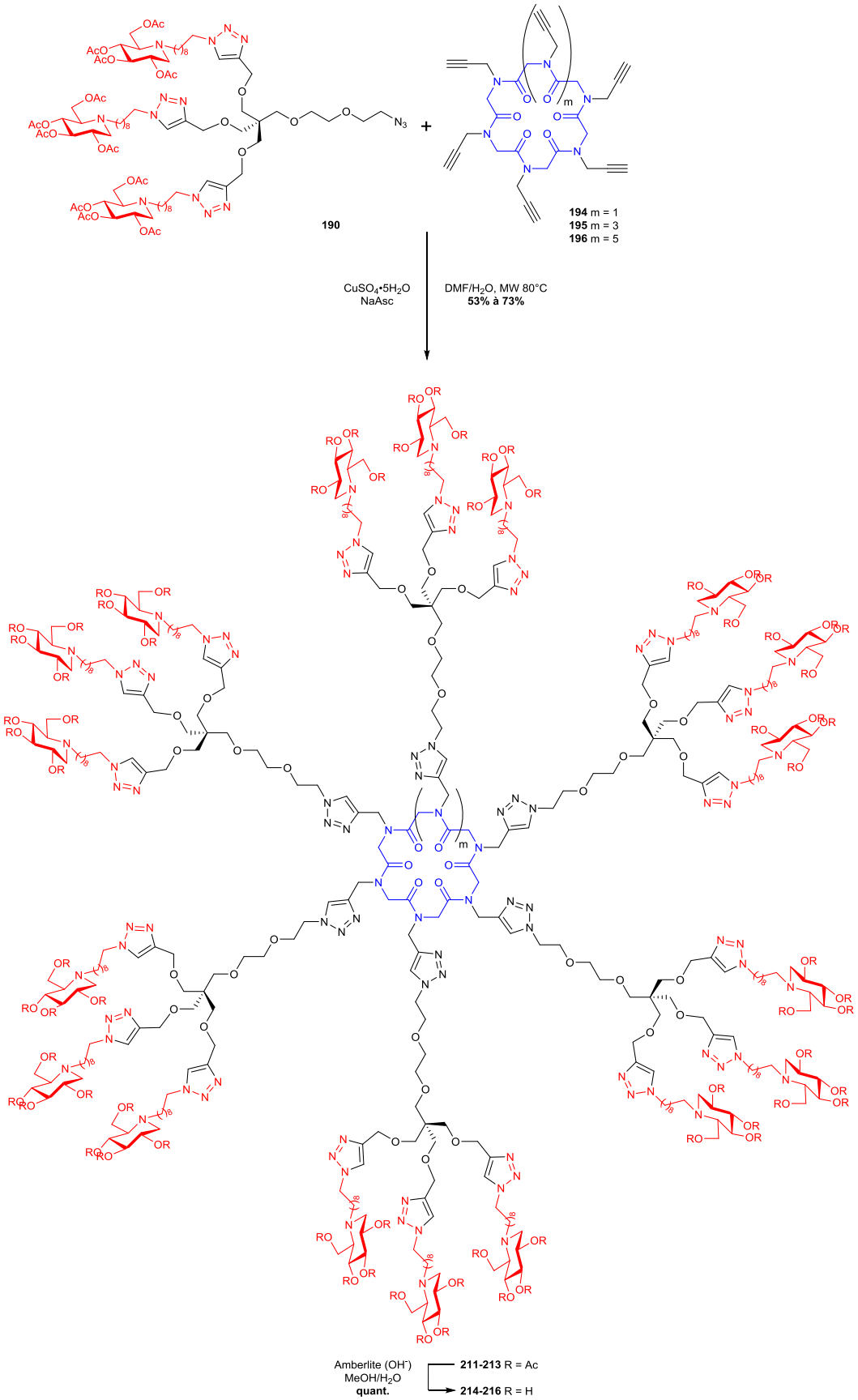


Schéma 108 – *Synthèse des clusters cyclopeptoïdes de 2ème génération.*

4 Evaluation biologique

Les clusters synthétisés ont été évalués sur plusieurs cibles biologiques. Tout d'abord, une étude de relation structure-activité a été effectuée en déterminant la constante d'inhibition des clusters sur l'α-mannosidase de Jack bean, glycosidase actuellement la plus sensible à la multivalence (voir I-2.2).[2] Ensuite, les clusters de plus faible valence ont été testés comme correcteurs de la protéine mutée *delF508*-CFTR responsable de la mucoviscidose. En effet, les clusters de faible valence semblent avoir un impact important sur le mécanisme de qualité-contrôle du réticulum endoplasmique (RE), hypothétiquement en inhibant les glycosidases du RE et en sauvant ainsi la protéine mutée de la dégradation.

4.1 Inhibition de l'α-mannosidase de Jack bean

La détermination des constantes d'inhibition des clusters iminosucres synthétisés a été réalisée grâce à une collaboration avec le *Laboratoire de Chimie Organique et Bioorganique* du Pr Céline Tarnus, à l'Université de Haute-Alsace, Mulhouse.

4.1.1 Introduction

Dans cette partie, nous rappellerons quelques définitions relatives à l'inhibition enzymatique. C'est sur ces notions que reposent les tests d'inhibition effectués.

Equation de Michaelis -Menten

Michaelis et Menten ont défini en 1913 une représentation formelle des équilibres et réactions permettant de décrire la cinétique d'une réaction chimique catalysée par une enzyme agissant sur un substrat unique pour donner un unique produit (***Schéma 109***).[262] En se plaçant dans l'approximation de l'état stationnaire, la formation et la dissociation du complexe enzyme substrat $[E \cdot S]$ peut être considérée très rapide par rapport à la réaction proprement dite ($k_{cat} << k_{-1}$).

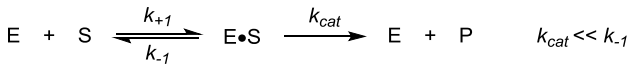


Schéma 109 – *Schéma général pour une réaction enzymatique donnant un unique produit à partir d'un unique substrat.*

Michaelis et Menten ont démontré que la vitesse initiale de la réaction enzymatique s'exprime sous la forme de l'***Équation 1***, avec $\boldsymbol{K_M}$ **la constante de Michaelis propre à chaque couple enzyme-substrat**. Pour de grandes concentrations en substrat ($[S] \gg K_M$), la vitesse v_i tend vers la vitesse maximale v_{max}. K_M représente donc la concentration en substrat $[S]$ nécessaire pour diviser v_{max} par deux. On remarque de plus que si K_M est infiniment petit (c'est-à-dire que la formation du complexe $[E \cdot S]$ est très favorable), on obtient aussi $v_i = v_{max}$. A l'inverse, plus K_M est grand (la formation du complexe $[E \cdot S]$ n'est pas favorable), plus la vitesse initiale est faible. Au final, **une réaction enzymatique est d'autant plus rapide que le K_M du couple enzyme-substrat est faible**.

Équation 1 – *Equation de Michaelis-Menten.*

$$\boldsymbol{v_i = k_{cat}[E \cdot S] = v_{max}\frac{[S]}{[S] + K_M}}$$

avec $v_{max} = k_{cat}\,[E]_0$ la vitesse initiale maximum,
mesurée pour une concentration saturante de substrat,

et $K_M = \frac{k_{-1}+k_{cat}}{k_{+1}}$ la constante de Michaelis.

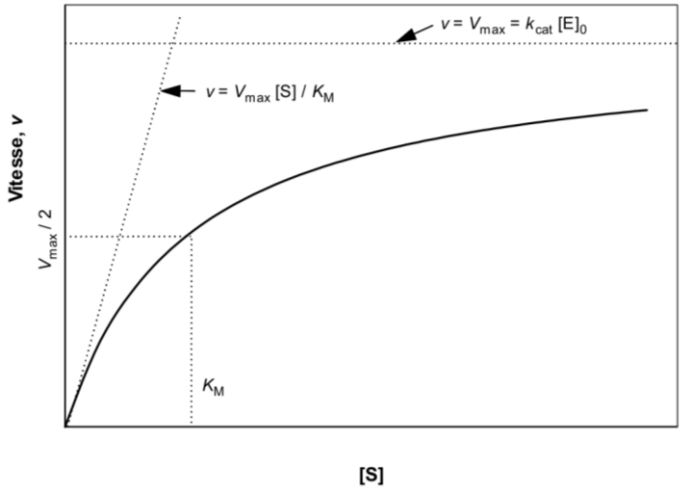


Figure 53 – *Représentation de la vitesse initiale de la réaction enzymatique en fonction de la concentration en substrat selon l'équation de Michaelis-Menten.*

La courbe décrit une hyperbole (***Figure 53***) et on observe un domaine de linéarité pour des concentrations de substrat très faibles ($[S] \ll K_M$) : c'est le domaine de travail pour les expériences selon les critères de Michaelis et Menten.

En présence d'un inhibiteur compétitif

Les inhibiteurs d'enzymes viennent perturber ces équilibres, et réduisent la vitesse globale de réaction de façon générale.[263] Nous ne nous intéresserons ici qu'aux inhibiteurs compétitifs d'enzymes, comme cela semble être le cas pour l'inhibition de l'α-mannosidase de Jack bean par les clusters iminosucres (voir I-2.2) : l'inhiteur et le substrat sont en compétition pour l'accès au site actif de l'enzyme. Un équilibre supplémentaire est donc ajouté pour inclure la formation d'un complexe $[E \cdot I]$ avec lequel S ne peut interagir, et donc bloquant de façon réversible tout ou partie de l'activité de l'enzyme (***Schéma 110***).

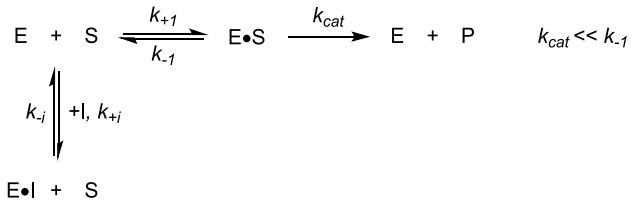


Schéma 110 – *Schéma général pour une réaction enzymatique incluant l'inhibition compétitive de l'enzyme par un inhibiteur.*

Dans ce cas, la vitesse initiale de la réaction est exprimée sous la forme de l'***Équation 2***,[264] avec K_i **la constante d'inhibition associée au couple enzyme-inhibiteur**, qui représente la constante de dissociation du complexe $[E \cdot I]$. La valeur de K_i est donc une mesure du pouvoir inhibiteur du composé testé. On remarque que plus K_i est petit (c'est-à-dire que la formation du complexe $[E \cdot I]$ est très favorable), plus la concentration en inhibiteur nécessaire au doublement de K_M est faible. Autrement dit, plus K_i est petit, plus la formation de $[E \cdot S]$ est facilement défavorisée par l'ajout de l'inhibiteur, et donc plus la réaction est ralentie. Au final, **un inhibiteur est donc d'autant plus puissant que son K_i est petit**.

Équation 2 – *Expression de la vitesse initiale d'une réaction enzymatique incluant l'inhibition compétitive de l'enzyme par un inhibiteur I.*

$$\boldsymbol{v_i = v_{max}\frac{[S]}{[S] + K_M\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}}$$

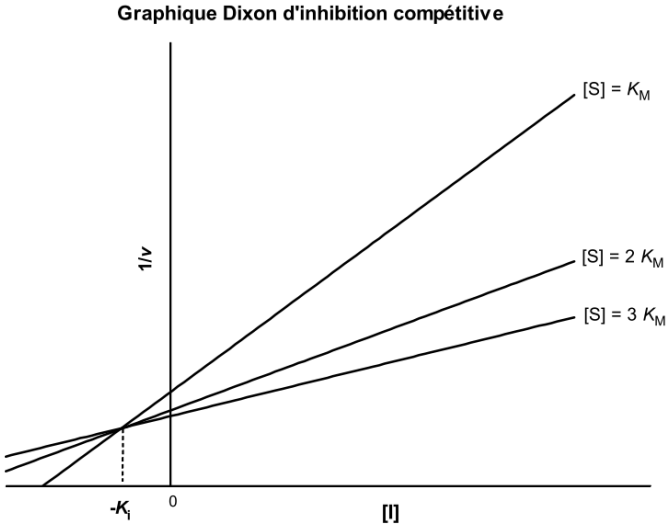
avec $v_{max} = k_{cat}[E]_0$ la vitesse initiale maximum,
mesurée pour une concentration saturante de substrat,

$K_M = \frac{k_{-1}+k_{cat}}{k_{+1}}$ la constante de Michaelis

et $K_i = \frac{[E][I]}{[E{\cdot}I]}$ la constante d'inhibition.

En définissant une **constante de Michaelis apparente** $\boldsymbol{K'_M = K_M(1 + [I]/K_i)}$, l'*Équation 2* se ramène à l'expression classique de l'équation de Michaelis-Menten (*Équation 1*).

Les expériences sont menées de sorte à se placer dans ces conditions cinétiques particulières qui peuvent être décrites par des équations simples. Pour pouvoir utiliser le cadre de l'équation de Michaelis-Menten, il faut se placer à des concentrations en substrat $[S] \leq 2\ K_M$. Il existe plusieurs méthodes pour déterminer expérimentalement la constante d'inhibition d'un inhibiteur, qu'il soit compétitif ou non. On compte notamment des méthodes graphiques : Lineweaver-Burk, Eadie-Hofstee ou Dixon par exemple. Parmi ces méthodes, le diagramme de Dixon se démarque par un accès plus rapide et plus visuel à la constante d'inhibition. Il s'agit de tracer l'inverse de la vitesse initiale $1/v_i$ en fonction de la concentration $[I]$ en inhibiteur pour différentes concentrations $[S]$ de substrat. Pour une inhibition compétitive, les droites obtenues pour chaque valeur de $[S]$ se croisent en un point d'abscisse $-K_i$ (*Figure 54*).[262,265] En général, on choisit comme valeurs de $[S]$ des multiples de K_M, afin de simplifier les calculs.



$$\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_M}{K_i v_{max}[S]}\right) \cdot [I] + \left(\frac{K_M}{[S]} + 1\right) \cdot \frac{1}{v_{max}}$$

$$soit \quad \boldsymbol{\frac{1}{v_i} = A \cdot [I] + B} \quad pour\ une\ valeur\ de\ [S]\ donnée.$$

Figure 54 – *Graphique de Dixon pour une inhibition compétitive.*

En pratique, les mesures sont réalisées par suivi cinétique de l'hydrolyse du *para*-nitrophényl-α-D-mannopyranose par l'α-mannosidase de Jack bean. Pour des concentrations en substrat données (K_M, $K_M/2$ et $K_M/4$), l'avancement de la réaction en présence d'une quantité variable d'inhibiteur a été suivi par spectrophotométrie UV/Visible en détectant le *para*-nitrophénol. Le suivi de l'avancement de la réaction en continu permet de vérifier que l'on se trouve bien dans la zone de linéarité. Les pentes à l'origine ont fourni les valeurs de v_i nécessaires au tracé des droites dans un graphique de Dixon.

4.1.2 Résultats

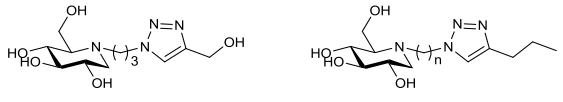
Les résultats des tests d'inhibition de l'α-mannosidase de Jack bean par les clusters originaux hexa- à 30-valents synthétisés sont présentés dans le ***Tableau 15***. Celui-ci indique la constante d'inhibition K_i du composé, ainsi que l'augmentation d'affinité RP par rapport à l'analogue monovalent correspondant (avec un espaceur C_6 ou C_9 ; ***Figure 55***) et la mesure de l'effet multivalent (RP/N), à savoir l'augmentation d'affinité rapportée au nombre de ligand présentés par le cluster. Le ***Tableau 15*** inclut aussi le composé tétradécavalent **CD14-DNJC$_9$** (meilleurs augmentation d'affinité et effet multivalent connus au début de ce travail de thèse, voir I-2.2.2) et le cluster tétravalent rigide **Porph4-DNJC$_3$** (voir I-2.2.2) à titre de comparaison. Les clusters **CP2-DNJC$_6$** et **CP2-DNJC$_9$** n'ont pas été testés en raison de leur faible valence peu prometteuse en termes d'augmentation d'affinité pour cette cible.

La ***Figure 56*** présente ces résultats sous forme graphique (en échelle logarithmique), pour l'augmentation d'affinité (RP) et l'effet multivalent (RP/N).

Tableau 15 – *Constante d'inhibition (K_i, µM), augmentation d'affinité (RP, relative inhibition potency) et effet multivalent (RP/N, RP par unité iminosucre) pour l'inhibition de l'α-mannosidase de Jack bean.*

Entrée	Code	Composé	K_i (µM)	K_i monovalent (µM)[a]	RP	RP/N
1	**CD14-DNJC$_9$**	**33b**	0,022	188 (**219**)	8545	610
2	**Porph4-DNJC$_3$**	**38**	0,5	400 (**217**)	800	200
3	**CP6-DNJC$_6$**	**208a**	89	322 (**218**)	4	<1
4	**CP6-DNJC$_9$**	**208b**	15	188 (**219**)	13	2
5	**CP8-DNJC$_6$**	**209a**	21	322 (**218**)	15	2
6	**CP8-DNJC$_9$**	**209b**	9	188 (**219**)	21	3
7	**CP10-DNJC$_6$**	**210a**	15	322 (**218**)	21	2
8	**CP10-DNJC$_9$**	**210b**	5	188 (**219**)	38	4
9	**CD7x3-DNJC$_9$**	**192**	0,019	"	9895	471
10	**CP6x3-DNJC$_9$**	**214**	0,142	"	1324	74
11	**CP8x3-DNJC$_9$**	**215**	0,037	"	5081	212
12	**CP10x3-DNJC$_9$**	**216**	0,010	"	19067	636

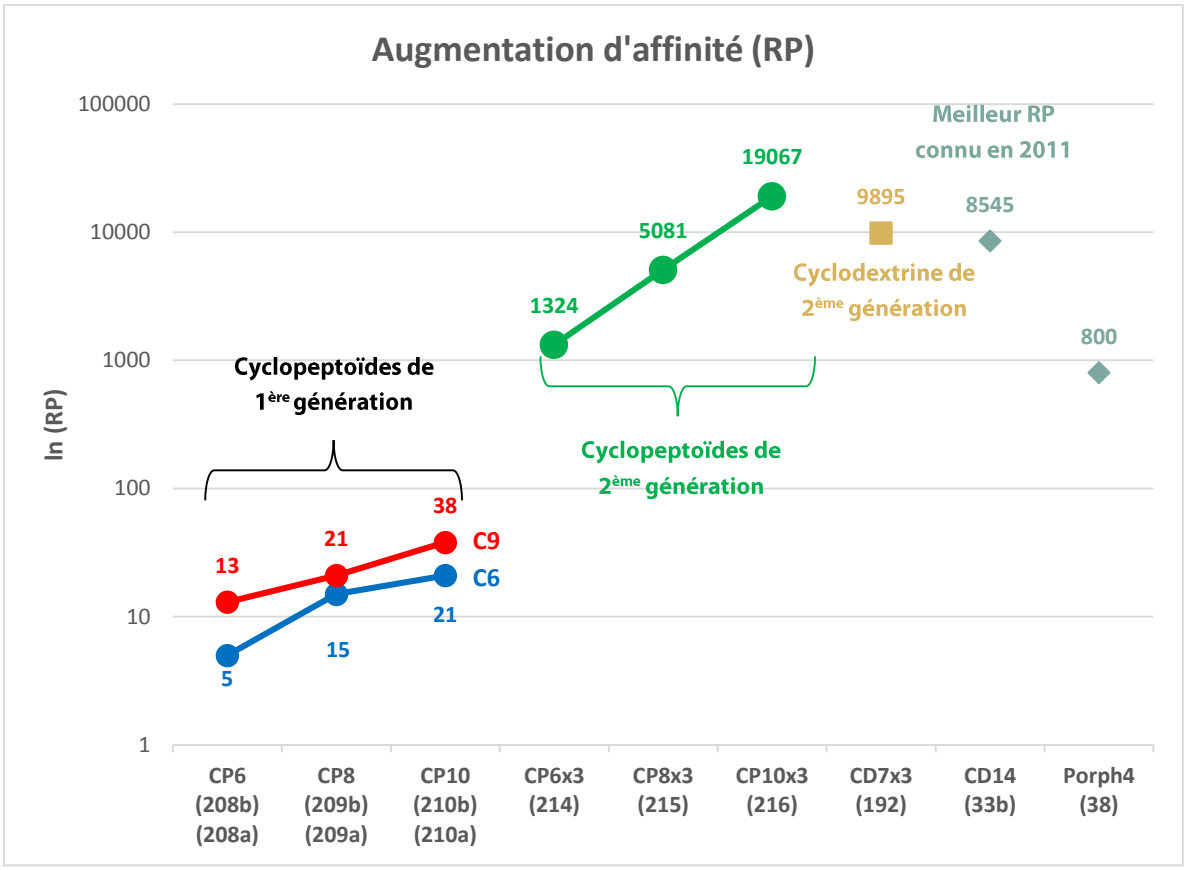
[a] : le composé monovalent de référence est donné entre parenthèses.



217 K_i = 400 µM

218 n = 6 K_i = 322 µM
219 n = 9 K_i = 188 µM

Figure 55 – *Références monovalentes.*[4,86]



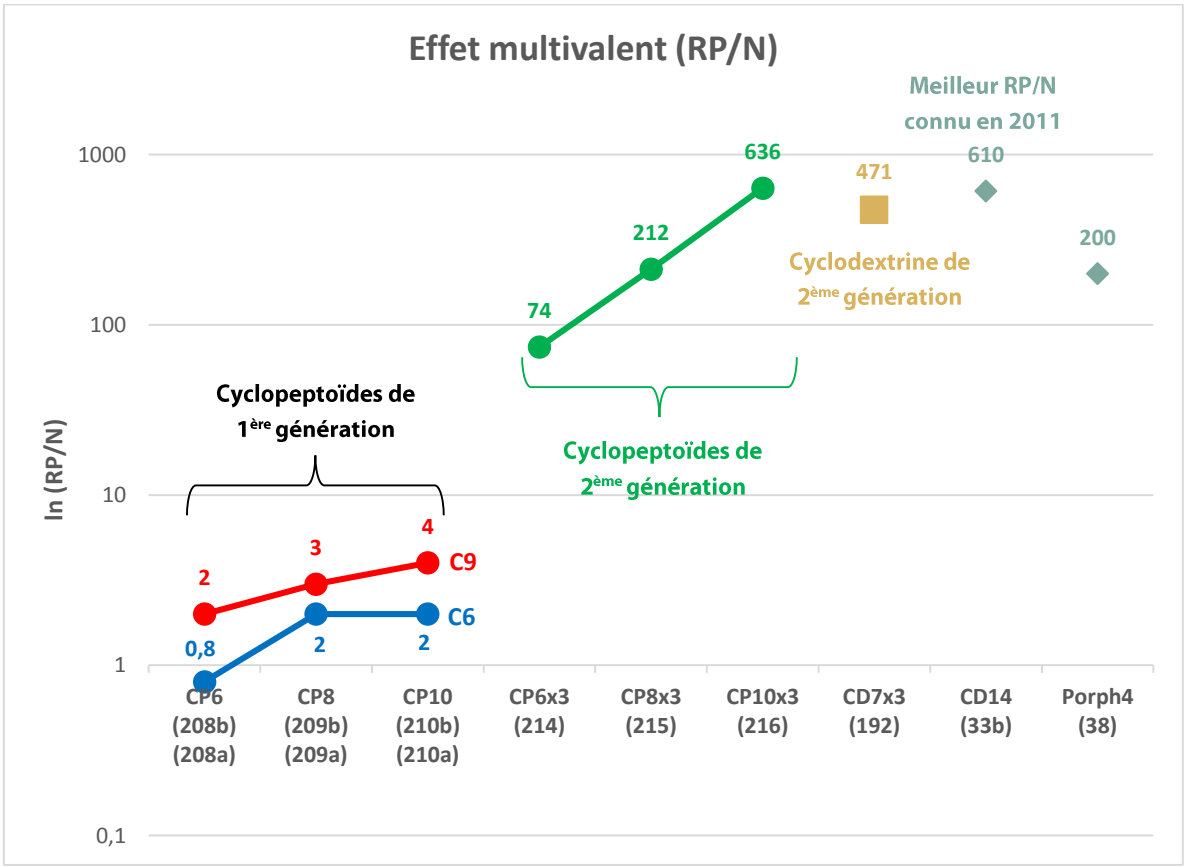


Figure 56 – *Augmentation d'affinité (RP, échelle logarithmique) et effet multivalent (RP/N, échelle logarithmique).*

4.1.3 Analyse des résultats

Tous les composés multivalents testés ont démontré une augmentation d'affinité ; à l'exception de **CP6-DNJC$_6$**, ils présentent tous un effet multivalent significatif (RP/N > 1). En série cyclopeptoïde de 1ère génération, l'allongement de l'espaceur de C_6 à C_9 résulte systématiquement en une amélioration (*Tableau 15*, entrées 3-8). De même, l'accroissement de la valence de 6 à 10 est généralement bénéfique sur l'augmentation d'affinité et l'effet multivalent (*Tableau 15*, entrées 3-8). Cependant, le meilleur composé de cette série (**CP10-DNJC$_9$** ; entrée 8) est très loin d'égaler les excellents résultats obtenus pour le cluster de référence **CD14-DNJC$_9$** (RP/N = x610 ; *Tableau 15*, entrée 1) possédant le même espaceur et le même ligand.

Au vu de ces résultats, il semble donc que la flexibilité de la charpente cyclopeptoïde, recherchée pour faciliter l'interaction entre le cluster et le site actif de l'α-mannosidase de Jack bean, soit en réalité préjudiciable au pouvoir inhibiteur du cluster pour les valences inférieures ou égales à 10. Les charpentes rigides comme dans les clusters **Porph4-DNJC$_3$** ou **29** (charpente fullerène, voir I-2.2.2, *Figure 17*) apparaissent plus intéressantes avec des effets multivalents (RP/N) proches de x200.[2,3,86]

En revanche, les clusters de valences triplées par l'utilisation du dendron « clickable » **190** ont montré des tendances complètement différentes (*Tableau 15*, entrées 6-12). Chronologiquement, le cluster cyclodextrine 21-valent **CD7x3-DNJC$_9$** (*Tableau 15*, entrée 9) a d'abord démontré l'intérêt de la stratégie utilisée en atteignant un K_i de 19 nM, légèrement plus bas que le composé de référence **CD14-DNJC$_9$**.[244] Néanmoins, ce progrès dans l'augmentation d'affinité (x9895 contre x8545 pour **CD14-DNJC$_9$**) se révèle tout de même limité une fois rapporté au nombre de ligands, puisque l'effet multivalent associé reste inférieur au précédent « record » (x471 contre x610 pour **CD14-DNJC$_9$**). Ces observations peuvent être interprétées comme les limites imposées par un éventuel effet de plateau en série cyclodextrine. D'autres clusters de valence triplée devraient être synthétisés et évalués, par exemple **CD14x3-DNJC$_9$** (**220** ; *Figure 57*). L'évaluation de la constante d'inhibition d'un cluster trivalent issu du dendron **190**, par exemple **221** (*Figure 57*), serait aussi intéressante à titre de comparaison.

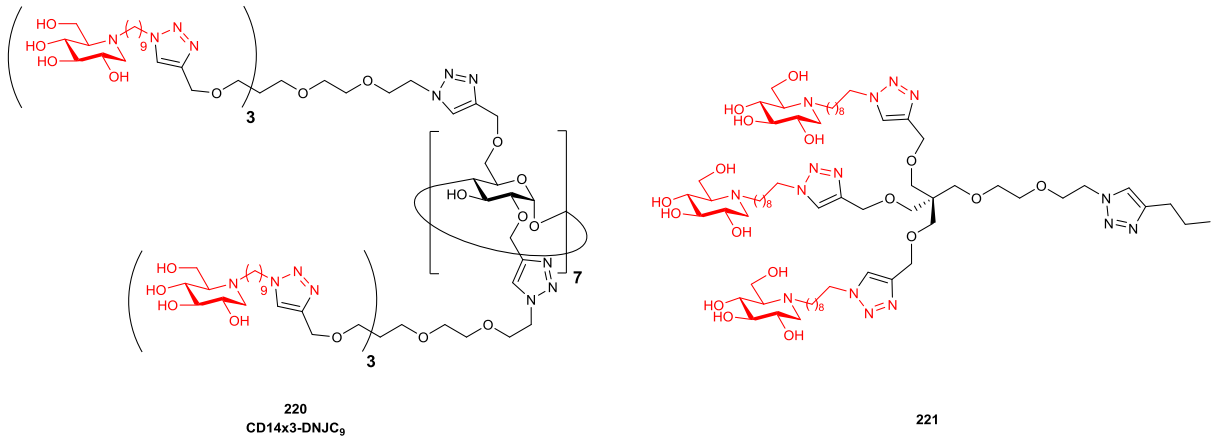


Figure 57 – *Composés permettant d'évaluer l'effet de plateau de l'effet multivalent en série cyclodextrine.*

La stratégie de dendrons « clickable » en série cyclodextrine[244] a été appliquée avec succès aux cyclopeptoïdes hexa-, octa- et décavalents **194-196** pour obtenir des clusters de valences élevées et inédites exhibant donc 18, 24 ou 30 unités iminosucres (**214-216**). Les constantes d'inhibition mesurées (*Tableau 15*, entrées 10-12 ; *Figure 56*) montrent une évolution exponentielle (*Figure 58*) de

l'augmentation d'affinité (RP) comme de l'effet multivalent (RP/N). Le cluster 30-valent **CP10x3-DNJC$_9$** (RP = x19067, RP/N = x636 ; ***Tableau 15***, entrée 12) devient ainsi le composé de référence pour les paramètres liés à l'effet multivalent. De plus, il est ici clairement visible qu'aucun effet de plateau n'est observable.

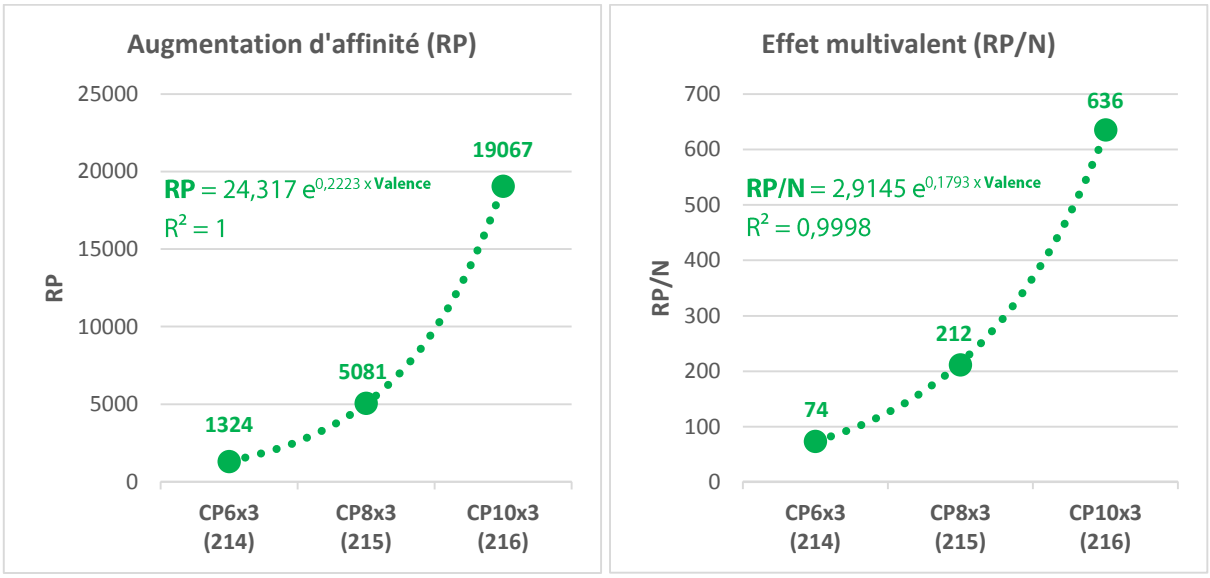
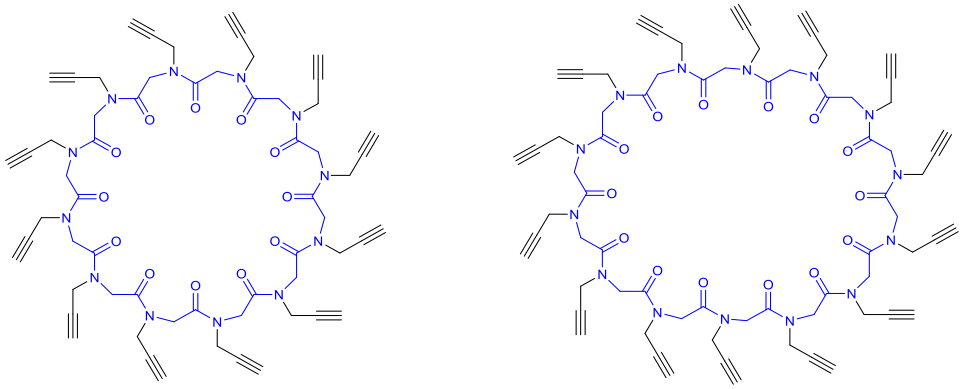


Figure 58 – *Augmentation d'affinité (RP) et effet multivalent pour les clusters 18, 24 et 30-valents sur l'α-mannosidase de Jack bean (échelle classique).*

Le triplement de la valence des charpentes cyclopeptoïdes dans les clusters de 2ème génération semble avoir avantageusement contrebalancé l'effet apparemment préjudiciable de la flexibilité des clusters de 1ère génération, de même type mais de plus faible valence. Il est raisonnable de penser que plus le nombre de ligands est grand, moins les caractéristiques de la charpente sont influentes étant donné que celle-ci est d'autant plus masquée. Les charpentes cyclopeptoïdes dodéca- et tétradécavalentes **222** et **223** (***Figure 59***) sont actuellement en préparation dans le laboratoire du Pr Izzo. Elles seront utilisées pour synthétiser les clusters 12- à 42-valents **CP12-DNJC$_9$**, **CP12x3-DNJC$_9$**, **CP14-DNJC$_9$** et **CP14x3-DNJC$_9$** correspondants. Ces composés permettront d'une part de vérifier ou non l'existence d'un effet de plateau à plus haute valence, et d'autre part d'atteindre peut-être des valeurs de K_i plus basses encore : si la tendance exponentielle reste valable pour le cluster 42-valent **CP14x3-DNJC$_9$**, sa constante d'inhibition pourrait atteindre la gamme du picomolaire. Ici aussi, l'évaluation de **220** (***Figure 57***) serait intéressante pour tirer des conclusions plus précises.



222
CP12

223
CP14

Figure 59 – *Cyclopeptoïdes de plus grande taille en préparation par le groupe du Pr Izzo.*

4.2 Mucoviscidose

La mucoviscidose (ou fibrose kystique) est la maladie génétique rare la plus répandue dans la population caucasienne.[266] Elle est causée par le dysfonctionnement de la protéine CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*). Cette protéine de transport de type canal chlorure située dans la membrane apicale des cellules épithéliales[267] a aussi un impact sur la régulation du canal sodique ENaC (*Epithelial Na^+ Channel*) situé au même endroit.[268] Il en résulte un défaut de transport des ions chlorures ainsi qu'une hyperabsorption des ions sodium impliquant au niveau des poumons la déshydratation du mucus respiratoire et son épaississement.[269] A l'échelle macroscopique, cette pathologie entraîne des anomalies respiratoires sévères d'obstruction des bronches, empêche l'évacuation des bactéries et favorise donc des infections chroniques causant la plupart des décès.

La plupart des patients atteints de cette maladie présentent la mutation *Phe508del* (correspondant à la délétion de la Phénylalanine en position 508 dans la protéine codée) sur au moins l'un des allèles du gène CFTR porté par le chromosome 7.[267] Cette mutation provoque un mauvais repliement de la protéine, et donc sa dégradation dans le réticulum endoplasmique (ER) juste après avoir été synthétisée. En effet, après sa transcription par le ribosome et son arrivée dans le RE, la protéine est marquée par un glycane (un glycooligomère) permettant sa détection et son entrée dans un cycle de qualité-contrôle qui va participer à son repliement correct.[270] Les premières étapes consistent en l'hydrolyse de deux unités glucose par les glucosidases I et II du RE. Ensuite a lieu la liaison avec les protéines-chaperons résidentes du RE (calnexine et/ou calréticuline) qui vont favoriser son repliement (***Schéma 111***).[270] Dans le cas d'une protéine mutée, ce repliement ne sera pas correct et après plusieurs itération de ce cycle de qualité-contrôle, la protéine sera dégradée (mécanisme ERAD, *Endoplasmic Reticulum Associated Degradation*).[270] Pourtant, même mal repliée, la protéine reste fonctionnelle, mais toutefois avec une activité amoindrie,[271] la fréquence d'ouverture du canal étant différente de celle de la protéine normale.

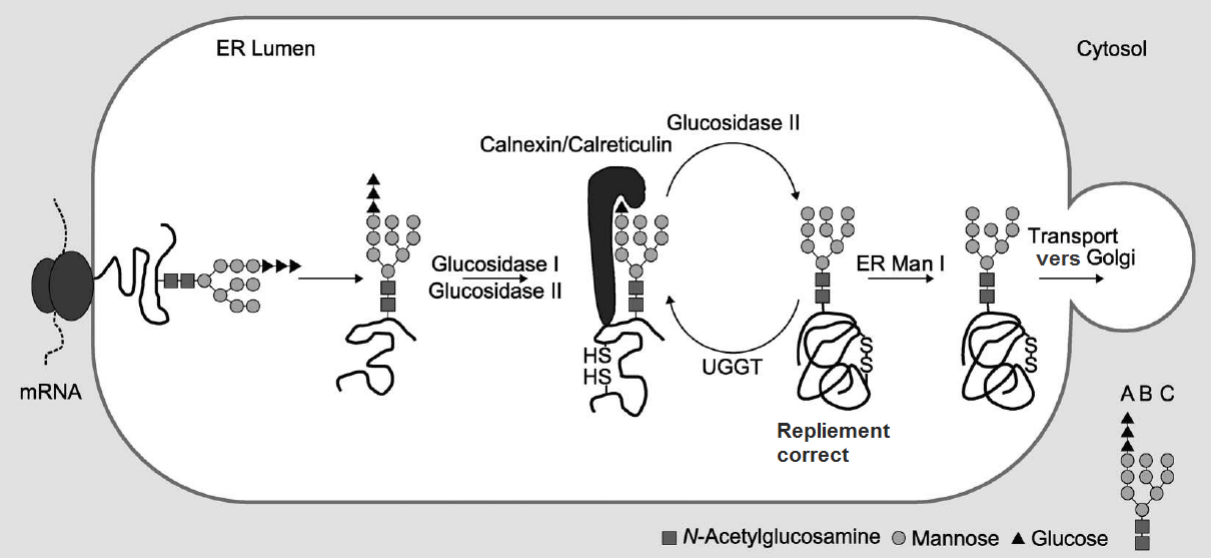


Schéma 111 - *Maturation des protéines N-glycanes dans le RE.*

Deux stratégies de traitement pharmacologique ont alors vu le jour :

- utilisation de correcteurs de CFTR, capables de sauver la protéine de la dégradation, malgré son mauvais repliement ;
- utilisation de potentiateurs de CFTR, restaurant la régulation du canal et donc sa fréquence d'ouverture.

Depuis 1994, un grand nombre de correcteurs et potentiateurs ont été décrits.[266] Plus récemment, l'équipe du Pr Becq a démontré que le Zavesca® **9** (voir I-1.3, ***Figure 7***; médicament basé sur le motif DNJ approuvé pour la maladie de Gaucher) est un correcteur puissant de la protéine *delF508*-CFTR.[29] Une collaboration entre ce groupe et le nôtre a alors montré que des clusters de la DNJ de basses valences exerçaient un effet correcteur plus puissant encore (voir I-2.3.2).[7] L'hypothèse sous-jacente était que l'inhibition des glycosidases du RE par l'iminosucre, en bloquant une étape clé du mécanisme de qualité-contrôle, allait restaurer l'activité de la protéine CFTR en empêchant sa destruction. En voulant appliquer l'effet multivalent à l'inhibition de ces enzymes, nous pensions obtenir un effet correcteur décuplé. L'équipe du Pr Becq a donc testé une gamme de clusters iminosucres synthétisés au laboratoire portant 3 à 14 unités DNJ, le cluster trivalent **46b** donnant les meilleurs résultats (voir I-2.3.2).[7] Dans ces tests cellulaires, il est possible que la pénétration cellulaire des composés soit un paramètre déterminant pour atteindre des activités importantes, et il s'avère en effet que plus la valence du cluster est faible, meilleur est l'effet correcteur sur la protéine CFTR.[7] Dans cette optique, nous avons souhaité préparer et évaluer un cluster divalent de la DNJ. L'évaluation du pouvoir correcteur sur la protéine CFTR des clusters cyclopeptoïdes divalents **207a,b** (voir IV-3.3.1, ***Schéma 107***) a alors été réalisée. Les résultats sont présentés dans le ***Tableau 16***. Le Zavesca® **9**, ainsi que les clusters tri- et tétravalent **46b** et **48b** (voir ***Figure 23***, p. 44) ont été inclus à titre de comparaison.[7] Les résultats sont exprimés sous la forme d'une valeur de *concentration efficace médiane* (EC_{50}) : il s'agit de la concentration à laquelle la moitié de l'effet maximal est observé.

Tableau 16 – *Concentration efficace médiane (EC_{50}, µM) pour la correction de la protéine mutée delF508-CFTR.*

Entrée	Code	Composé	EC_{50} (µM)
1	Zavesca®	9	112
2	Tetra-$DNJC_9$	48b	49
3	Tri-$DNJC_9$	46b	0,5
3	CP2-$DNJC_6$	207a	91
4	CP2-$DNJC_9$	207b	82

Il apparaît que les clusters **207a,b** sont plus puissant que le Zavesca® déjà évalué en phase clinique, mais sont de loin de moins bons correcteurs de la protéine *delF508*-CFTR que le cluster **46b** précédemment étudié.[7] Ils sont aussi légèrement moins efficaces que le cluster tétravalent **48b**. Aucun effet multivalent significatif n'est observé, mais ces clusters divalents basés sur une charpente cyclopeptoïde ont été à même de traverser la paroi cellulaire des cellules épithéliales utilisées dans les tests. Ces résultats, en cohérence avec d'autres travaux réalisés au laboratoire, pourraient indiquer que la valence de 2 est trop faible pour impliquer un effet correcteur fort, et donc que la valence de 3 est pour l'instant la « valence optimale » des clusters ciblant la mucoviscidose.

Conclusion générale

Ouverture et perspectives

« To achieve great things, two things are needed:
a plan, and not quite enough time. »

Leonard Bernstein

Ce travail de thèse a eu pour objet de concevoir et synthétiser des clusters iminosucres originaux afin d'explorer plus en avant le potentiel de l'effet multivalent sur l'inhibition de glycosidases.[2] Le principal axe de recherche a consisté en une étude de type relation structure-activité autour de charpentes moléculaires polyacétyléniques utilisées pour préparer les nouveaux clusters par chimie « click ». Les charpentes définissent en effet les paramètres cruciaux influençant l'effet multivalent : valence, taille, forme, topologie, pénétration cellulaire, rigidité/flexibilité ou encore solubilité.

En particulier, les bons résultats obtenus précédemment au laboratoire avec les cyclodextrines nous ont encouragés à poursuivre l'étude sur ce type de charpente. Cependant, les variations autour de ce motif (fonctionnalisation régiosélective ou complète, introduction de groupements fluorescents ou solubilisants, etc…) peuvent se révéler difficiles à réaliser.

Nous avons donc imaginé une stratégie *Sweet LEGO®* basée sur la CuAAC et donnant accès de manière très divergente à une large variété de charpentes néocyclodextrines « prêtes-à-clicker » à partir d'un panel réduit de modules préfonctionnalisés. Ces modules ont été conçus comme des disaccharides disposant à chacune de leurs extrémités d'une des fonctions complémentaires réactives dans les conditions de CuAAC, à savoir un alcyne et un azoture, pouvant être activée ou masquée. Cette stratégie implique donc la CuAAC à plusieurs niveaux :

1) tout d'abord pour assembler la charpente néocyclodextrine préfonctionnalisée
   - par couplages itératifs de modules mono-activés, puis macrocyclisation ;
   - par cyclooligomérisation de modules doublement activés ;
2) puis pour greffer les iminosucres et générer ainsi les nouveaux clusters.

De plus, l'une des activations des modules consiste en l'installation stéréosélective d'un azoture en position anomérique, et la seconde en une déprotection régiosélective d'alcyne silylé.

La première partie du travail de recherche a donc été la mise au point d'un ensemble de techniques d'ingénierie « click » pour la synthèse de systèmes multivalents.

Dans un premier temps, une réaction d'ouverture diastéréosélective de ponts 1,6-anhydro par $TMSN_3$ catalysée par TMSOTf a été développée (voir **Chapitre II**).[145] Les conditions optimales ont été déterminées sur un substrat modèle, avant d'être appliquées à un panel de substrats d'intérêt pour lesquels les groupes protecteurs, la fonctionnalité et/ou la configuration en C-2 était variable. L'issue stéréochimique de la réaction, sous contrôle cinétique, a pu être rationnalisée en invoquant l'attaque nucléophile de l'azoture sur l'une des conformations demi-chaise d'un intermédiaire oxocarbénium. L'utilité de cette réaction dans des stratégies de type « click-click » a été démontrée par la synthèse rapide d'un néo-pentasaccharide. Cette preuve de concept a donc en partie validé la faisabilité de la stratégie *Sweet LEGO®* en permettant l'installation diastéréosélective d'α-azotures en position anomérique de modules préfonctionnalisés.

Dans un second temps, la synthèse des modules mono- et pentavalents (**125** et **126**), a été réalisée avec 50% et 16% de rendement global, respectivement, sur 8 étapes (voir **Chapitre III**). Les écueils rencontrés lors de la fonctionnalisation ont été résolus progressivement, notamment par la mise en évidence d'un effet promoteur inattendu des alcools dans les *O*-propargylation difficiles. L'activation chimio- et régiosélective des deux extrémités de ces modules a été effectuée en ajustant les conditions développées précédemment, afin de contourner les problèmes de coupure de la liaison

glycosidique ou encore de cycloaddition de Huisgen intramoléculaire. Cinq modules mono-activés et trois modules doublement activés ont ainsi pu être préparés.

Avec les cinq modules mono-, di- et pentavalents activés à l'une ou l'autre extrémité, nous avons synthétisé des néo-oligosaccharides précurseurs de néocyclodextrines préfonctionnalisées. Le couplage des différents modules a été effectué par CuAAC avec des rendements modestes à très bons. Malheureusement, les nombreuses tentatives d'ouverture du pont 1,6-anhydro sur les néo-tétrasaccharides avancés **172**, **174** et **177** se sont jusqu'à maintenant irrémédiablement soldées par des échecs. Cette voie de synthèse modulaire est pour l'instant inexploitée, dans l'attente de nouvelles conditions réactionnelles. Néanmoins, le **module x1 ON-ON 161α** a été bien mis à profit avec la synthèse par cyclooligomérisation des première néo-CD di- et tri-préfonctionnalisées. L'optimisation des conditions sera poursuivie, et les meilleures conditions seront appliquées au **module x2 ON-ON 163** et au **module x5 ON-ON 167** pour obtenir de nouvelles néo-CD préfonctionnalisées 4- à 15-valentes.

A la fin de ce travail de thèse, la stratégie *Sweet LEGO*® reste à finaliser, malgré des avancées certaines. Le choix de la CuAAC comme fondation de notre approche, dicté par les nombreux avantages de cette réaction, a paradoxalement amené des obstacles majeurs, notamment la cycloaddition intramoléculaire ou l'instabilité des alcynes silylés en conditions basiques, particulièrement lorsque la molécule en porte un grand nombre. Diverses astuces expérimentales ont permis de contourner la majorité des problèmes liés à la synthèse des modules, en mettant au jour un effet promoteur inattendu des alcools dans les *O*-propargylations difficiles.

Les difficultés restant à résoudre après la synthèse des modules résident principalement dans l'introduction d'un nouveau groupement azoture en position anomérique : la sensibilité de la liaison glycosidique aux conditions acides d'une part, et la cycloaddition intramoléculaire en série propargyle d'autre part ont pour l'instant empêché la réussite de cette étape clé de la stratégie. Le remplacement du TMSOTf par un autre acide de Lewis un peu moins fort est à considérer, afin de promouvoir l'ouverture de l'anhydro sans provoquer la coupure de la liaison glycosidique. Enfin, l'isolement de la position 2 du module en série propargyle permettrait de s'affranchir des problèmes de cycloaddition intramoléculaire, en remplaçant le propargyle silylé par un groupement protecteur orthogonal.

Ensuite, la seconde partie du travail de recherche a consisté en la préparation et l'évaluation de cluster iminosucres basés sur diverses charpentes (voir Chapitre IV).

En suivant une stratégie de « click-déprotection » standard déjà bien validée au laboratoire, nous avons préparé de nouveaux clusters iminosucres basés sur des charpentes originales, et notamment une charpente cyclopeptoïde. La synthèse d'un dendron trivalent « clickable » a permis de tripler la valence de certaines charpentes pour donner naissance à des clusters de valence inédite présentant jusqu'à 30 ligands iminosucres.

Deux collaborations ont alors permis l'évaluation de leur potentiel comme correcteurs de la protéine mutée *delF508*-CFTR, protéine d'intérêt thérapeutique, ou comme inhibiteurs de l'α-mannosidase de Jack bean, enzyme modèle pour étudier la multivalence.

L'évaluation des clusters divalents **207a,b** comme correcteurs de la protéine mutée *delF508*-CFTR a montré que ces composés présentent une concentration efficace médiane (EC_{50}) plus basse que celle

du *miglustat* déjà étudié en phase clinique. Ils sont néanmoins loin d'égaler les excellents résultats obtenus pour le cluster trivalent **46b** basé sur une charpente pentaérythritol, semblant indiquer (en cohérence avec d'autres travaux réalisés au laboratoire) que la valence de 2 n'est pas optimale pour cette cible thérapeutique. En revanche, la capacité de **207a,b** à traverser la paroi cellulaire est ici clairement mise en évidence. Cette preuve de concept incite donc à tester les clusters basés sur une charpente cyclopeptoïde sur d'autres cibles thérapeutiques, comme par exemple la maladie de Gaucher.

L'évaluation des clusters cyclopeptoïdes de 1ère génération (**208-210**) comme inhibiteurs de l'α-mannosidase de Jack bean a mis en évidence que la flexibilité de la charpente cyclopeptoïde est plutôt préjudiciable à des effets multivalents puissants pour les petites valences (6 à 10).[245] En revanche, le triplement de la valence de ces plateformes avec l'utilisation du dendron « clickable » **190**[244] a contrebalancé cet effet délétère, pour donner de très bons résultats avec les clusters de 2ème génération, faisant de **CP10x3-DNJC$_9$** (**216**) le cluster iminosucre présentant le meilleur effet multivalent à ce jour pour l'inhibition d'une glycosidase (RP = 19000 et RP/N = 640 sur l'α-mannosidase de Jack bean).

Malgré les efforts importants fournis depuis 2010, les caractéristiques de l'effet multivalent des iminosucres dans l'inhibition de glycosidases restent encore floues. La synthèse et l'évaluation des composés proposés dans le **Chapitre IV** (voir IV-4.1.3) ou de clusters de valences plus importantes encore devraient apporter des conclusions décisives.

Bibliographie

[1] P. Compain, O. R. Martin, Eds. , *Iminosugars: From Synthesis to Therapeutic Applications*, J. Wiley, Chichester, West Sussex, England ; Hoboken, NJ, USA, **2007**.

[2] P. Compain, A. Bodlenner, *ChemBioChem* **2014**, *15*, 1239–1251.

[3] P. Compain, C. Decroocq, J. Iehl, M. Holler, D. Hazelard, T. Mena Barragán, C. Ortiz Mellet, J.-F. Nierengarten, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 5753–5756.

[4] C. Decroocq, D. Rodríguez-Lucena, V. Russo, T. Mena Barragán, C. Ortiz Mellet, P. Compain, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 13825–13831.

[5] C. Decroocq, D. Rodríguez-Lucena, K. Ikeda, N. Asano, P. Compain, *ChemBioChem* **2012**, *13*, 661–664.

[6] A. Joosten, C. Decroocq, J. de Sousa, J. P. Schneider, E. Etamé, A. Bodlenner, T. D. Butters, P. Compain, *ChemBioChem* **2014**, *15*, 309–319.

[7] P. Compain, C. Decroocq, A. Joosten, J. de Sousa, D. Rodríguez-Lucena, T. D. Butters, J. Bertrand, R. Clément, C. Boinot, F. Becq, et al., *ChemBioChem* **2013**, *14*, 2050–2058.

[8] H. Paulsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1962**, *1*, 597.

[9] S. Hanessian, T. H. Haskell, *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 2604–2610.

[10] J. K. N. Jones, J. C. Turner, *J. Chem. Soc.* **1962**, 4699–4703.

[11] S. Inouye, T. Tsuruoka, T. Niida, *J. Antibiot.* **1966**, *19*, 288–292.

[12] S. Inouye, T. Tsuruoka, T. Ito, T. Niida, *Tetrahedron* **1968**, *24*, 2125–2144.

[13] H. Paulsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1966**, *5*, 495–510.

[14] N. Asano, R. J. Nash, R. J. Molyneux, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1645–1680.

[15] N. Asano, in *Iminosugars: From Synthesis to Therapeutic Applications* (Eds.: P. Compain, O. R.rtin), John Wiley & Sons, Ltd, **2007**, pp. 7–24.

[16] A. E. Stütz, *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin & Beyond*, Wiley-VCH, Weinheim ; New York, **1999**.

[17] T. M. Wrodnigg, A. E. Stütz, *Curr. Enz. Inhib.* **2012**, *8*, 47–99.

[18] V. H. Lillelund, H. H. Jensen, X. Liang, M. Bols, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 515–553.

[19] A. E. Stütz, T. M. Wrodnigg, in *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Elsevier, **2011**, pp. 187–298.

[20] H. Liu, L. Sim, D. R. Rose, B. M. Pinto, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3007–3013.

[21] N. Asano, A. Kato, M. Miyauchi, H. Kizu, Y. Kameda, A. A. Watson, R. J. Nash, G. W. Fleet, *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 625–628.

[22] P. Jakobsen, J. M. Lundbeck, M. Kristiansen, J. Breinholt, H. Demuth, J. Pawlas, M. P. Torres Candela, B. Andersen, N. Westergaard, K. Lundgren, et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 733–744.

[23] C. H. Wong, D. P. Dumas, Y. Ichikawa, K. Koseki, S. J. Danishefsky, B. W. Weston, J. B. Lowe, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7321–7322.

[24] P. Compain, O. R. Martin, *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 541–560.

[25] K. M. Robinson, M. E. Begovic, B. L. Rhinehart, E. W. Heineke, J. B. Ducep, P. R. Kastner, F. N. Marshall, C. Danzin, *Diabetes* **1991**, *40*, 825–830.

[26] L. J. Scott, C. M. Spencer, *Drugs* **2000**, *59*, 521–549.

[27] G. Godin, P. Compain, O. R. Martin, K. Ikeda, L. Yu, N. Asano, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 5991–5995.

[28] A. Orsato, E. Barbagallo, B. Costa, S. Olivieri, L. De Gioia, F. Nicotra, B. La Ferla, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 5012–5019.

[29] C. Norez, S. Noel, M. Wilke, M. Bijvelds, H. Jorna, P. Melin, H. DeJonge, F. Becq, *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 2081–2086.

[30] T. Narikawa, H. Shinoyama, T. Fujii, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2000**, *64*, 1317–1319.

[31] "Base de donnée CAZy - Glycoside Hydrolases," can be found under http://www.cazy.org/Glycoside-Hydrolases.html, **2014**.

[32] V. Lombard, H. Golaconda Ramulu, E. Drula, P. M. Coutinho, B. Henrissat, *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, D490–D495.
[33] R. Wolfenden, X. Lu, G. Young, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6814–6815.
[34] S. Withers, S. Williams, "Glycoside hydrolases - CAZypedia," can be found under http://www.cazypedia.org/index.php/Glycoside_Hydrolases#bibkey_Gloster2008, **2014**.
[35] R. Kuhn, *Naturwissenschaften* **1923**, *11*, 732–742.
[36] D. E. Koshland, *Biological Reviews* **1953**, *28*, 416–436.
[37] C. A. Vernon, B. Banks, *Biochemical Journal* **1963**, *86*, Proc. Biochem. Soc., 7P.
[38] D. L. Zechel, S. G. Withers, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 11–18.
[39] V. L. Y. Yip, A. Varrot, G. J. Davies, S. S. Rajan, X. Yang, J. Thompson, W. F. Anderson, S. G. Withers, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8354–8355.
[40] S. Chiba, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2012**, *76*, 215–231.
[41] C. W. Ekhart, M. H. Fechter, P. Hadwiger, E. Mlaker, A. E. Stütz, A. Tauss, T. M. Wrodnigg, in *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors* (Ed.: U.-P.D.-I.A.E.S. for O. Chemistry), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **1998**, pp. 282–309.
[42] M. Heuckendorff, C. M. Pedersen, M. Bols, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 13982–13994.
[43] C.-F. Chang, C.-W. Ho, C.-Y. Wu, T.-A. Chao, C.-H. Wong, C.-H. Lin, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 1301–1306.
[44] A. Mitrakou, N. Tountas, A. E. Raptis, R. J. Bauer, H. Schulz, S. A. Raptis, *Diabet. Med.* **1998**, *15*, 657–660.
[45] P. E. Goss, C. L. Reid, D. Bailey, J. W. Dennis, *Clin. Cancer Res.* **1997**, *3*, 1077–1086.
[46] P. E. Shaheen, W. Stadler, P. Elson, J. Knox, E. Winquist, R. M. Bukowski, *Invest. New Drugs* **2005**, *23*, 577–581.
[47] J.-Y. Sun, M.-Z. Zhu, S.-W. Wang, S. Miao, Y.-H. Xie, J.-B. Wang, *Phytomedicine* **2007**, *14*, 353–359.
[48] J.-Y. Sun, H. Yang, S. Miao, J.-P. Li, S.-W. Wang, M.-Z. Zhu, Y.-H. Xie, J.-B. Wang, Z. Liu, Q. Yang, *Phytomedicine* **2009**, *16*, 1070–1074.
[49] P. A. Norton, B. Gu, T. M. Block, in *Iminosugars: From Synthesis to Therapeutic Applications* (Eds.: P. Compain, O.R. Martin), John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, **2007**, pp. 209–224.
[50] N. Asano, H. Kizu, K. Oseki, E. Tomioka, K. Matsui, M. Okamoto, M. Baba, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2349–2356.
[51] M. A. Fischl, L. Resniek, R. Coombs, A. B. Kremer, J. C. J. Pottage, R. J. Fass, K. H. Fife, W. G. Powderly, A. C. Collier, R. L. Aspinall, et al., *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **1994**, *7*.
[52] M. Tierney, J. Pottage, H. Kessler, M. Fischl, D. Richman, T. Merigan, W. Powderly, S. Smith, A. Karim, J. Sherman, *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **1995**, *10*.
[53] P. S. Sunkara, D. L. Taylor, M. S. Kang, T. L. Bowlin, P. S. Liu, A. S. Tyms, A. Sjoerdsma, *The Lancet* **1989**, *333*, 1206.
[54] D. L. Taylor, M. S. Kang, T. M. Brennan, C. G. Bridges, P. S. Sunkara, A. S. Tyms, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, *38*, 1780–1787.
[55] L. A. Sorbera, J. Castaner, L. Garcia-Capdevila, *Drugs of the future* **2005**, *30*, 545–552.
[56] Y. M. Chabre, R. Roy, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4657–4708.
[57] N. W. Barton, R. O. Brady, J. M. Dambrosia, A. M. Di Bisceglie, S. H. Doppelt, S. C. Hill, H. J. Mankin, G. J. Murray, R. I. Parker, C. E. Argoff, et al., *N. Engl. J. Med.* **1991**, *324*, 1464–1470.
[58] J. M. F. G. Aerts, C. E. M. Hollak, R. G. Boot, J. E. M. Groener, M. Maas, *J. Inherit. Metab. Dis.* **2006**, *29*, 449–456.
[59] T. D. Butters, in *Iminosugars: From Synthesis to Therapeutic Applications* (Eds.: P. Compain, O. R.rtin), John Wiley & Sons, Ltd, **2007**, pp. 249–268.
[60] J.-Q. Fan, S. Ishii, N. Asano, Y. Suzuki, *Nat. Med.* **1999**, *5*, 112–115.
[61] J.-Q. Fan, in *Iminosugars: From Synthesis to Therapeutic Applications* (Eds.: P. Compain, O.R. Martin), John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, **2007**, pp. 225–247.

[62] R. E. Boyd, G. Lee, P. Rybczynski, E. R. Benjamin, R. Khanna, B. A. Wustman, K. J. Valenzano, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 2705–2725.
[63] "Amicus Therapeutics - Clinical Studies," can be found under http://www.amicusrx.com/clinical.aspx, **2014**.
[64] R. Khanna, E. R. Benjamin, L. Pellegrino, A. Schilling, B. A. Rigat, R. Soska, H. Nafar, B. E. Ranes, J. Feng, Y. Lun, et al., *FEBS Lett.* **2010**, *277*, 1618–1638.
[65] D. Deniaud, K. Julienne, S. G. Gouin, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 966–979.
[66] Y. C. Lee, R. T. Lee, *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 321–327.
[67] Y.-Y. Chien, M.-D. Jan, A. K. Adak, H.-C. Tzeng, Y.-P. Lin, Y.-J. Chen, K.-T. Wang, C.-T. Chen, C.-C. Chen, C.-C. Lin, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1100–1109.
[68] R. J. Pieters, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2013–2025.
[69] R. Roy, D. Zanini, S. J. Meunier, A. Romanowska, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 1869–1872.
[70] P. I. Kitov, J. M. Sadowska, G. Mulvey, G. D. Armstrong, H. Ling, N. S. Pannu, R. J. Read, D. R. Bundle, *Nature* **2000**, *403*, 669–672.
[71] J. J. Lundquist, E. J. Toone, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 555–578.
[72] L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2348–2368.
[73] L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 696–703.
[74] T. K. Dam, T. A. Gerken, B. S. Cavada, K. S. Nascimento, T. R. Moura, C. F. Brewer, *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 28256–28263.
[75] S. G. Gouin, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 11616–11628.
[76] B. A. Johns, C. R. Johnson, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 749–752.
[77] A. Lohse, K. B. Jensen, K. Lundgren, M. Bols, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1965–1971.
[78] I. McCort, M. Sanière, Y. Le Merrer, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 2693–2700.
[79] Y. Le Merrer, L. Poitout, J.-C. Depezay, I. Dosbaa, S. Geoffroy, M.-J. Foglietti, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 519–533.
[80] T. Wennekes, R. J. B. H. N. van den Berg, K. M. Bonger, W. E. Donker-Koopman, A. Ghisaidoobe, G. A. van der Marel, A. Strijland, J. M. F. G. Aerts, H. S. Overkleeft, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 836–846.
[81] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
[82] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596–2599.
[83] J. Diot, M. I. García-Moreno, S. G. Gouin, C. Ortiz Mellet, K. Haupt, J. Kovensky, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 357–363.
[84] R. Rísquez-Cuadro, J. M. García Fernández, J.-F. Nierengarten, C. Ortiz Mellet, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 16791–16803.
[85] C. Decroocq, A. Joosten, R. Sergent, T. Mena Barragán, C. Ortiz Mellet, P. Compain, *ChemBioChem* **2013**, *14*, 2038–2049.
[86] Y. Brissonnet, C. Ortiz Mellet, S. Morandat, M. I. Garcia Moreno, D. Deniaud, S. E. Matthews, S. Vidal, S. Šesták, K. El Kirat, S. G. Gouin, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 18427–18435.
[87] C. Bonduelle, J. Huang, T. Mena-Barragán, C. Ortiz Mellet, C. Decroocq, E. Etamé, A. Heise, P. Compain, S. Lecommandoux, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 3350–3352.
[88] G. D'Adamio, C. Parmeggiani, A. Goti, A. J. Moreno-Vargas, E. Moreno-Clavijo, I. Robina, F. Cardona, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 6250–6266.
[89] A. Kumar, S. M. Gaikwad, *Int. J. Biol. Macromol.* **2011**, *49*, 1066–1071.
[90] I. Nierengarten, J.-F. Nierengarten, *Chem. Asian J.* **2014**, *9*, 1436–1444.
[91] E. Moreno-Clavijo, A. T. Carmona, A. J. Moreno-Vargas, L. Molina, D. W. Wright, G. J. Davies, I. Robina, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 7328–7336.
[92] N. Asano, S. Ishii, H. Kizu, K. Ikeda, K. Yasuda, A. Kato, O. R. Martin, J.-Q. Fan, *Eur. J. Biochem.* **2000**, *267*, 4179–4186.
[93] A. Leonard, P. Lebecque, J. Dingemanse, T. Leal, *J. Cyst. Fibros.* **2012**, *11*, 231–236.

[94] S. Noel, C. Faveau, C. Norez, C. Rogier, Y. Mettey, F. Becq, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2006**, *319*, 349–359.
[95] C. Norez, F. Antigny, S. Noel, C. Vandebrouck, F. Becq, *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* **2009**, *41*, 217–225.
[96] S. Molinski, P. D. Eckford, S. Pasyk, S. Ahmadi, S. Chin, C. E. Bear, *Front. Pharmacol.* **2012**, *3*, 160.
[97] F. Santoyo-González, F. Hernández-Mateo, in *Heterocycles from Carbohydrate Precursors* (Ed.: E.S.H. Ashry), Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2007**, pp. 133–177.
[98] A. Barge, M. Caporaso, G. Cravotto, K. Martina, P. Tosco, S. Aime, C. Carrera, E. Gianolio, G. Pariani, D. Corpillo, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 12086–12092.
[99] J. Iehl, J.-F. Nierengarten, A. Harriman, T. Bura, R. Ziessel, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 988–998.
[100] J. Szejtli, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743–1754.
[101] E. Engeldinger, D. Armspach, D. Matt, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 4147–4174.
[102] R. Gramage-Doria, D. Armspach, D. Matt, *Coord. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 776–816.
[103] D. Armspach, D. Matt, *C. R. Chim.* **2011**, *14*, 135–148.
[104] R. Breslow, S. D. Dong, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1997–2012.
[105] K. Takahashi, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2013–2034.
[106] Á. Martínez, C. O. Mellet, J. M. G. Fernández, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4746–4773.
[107] M. Sollogoub, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 1295–1303.
[108] A. R. Khan, P. Forgo, K. J. Stine, V. T. D'Souza, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1977–1996.
[109] I. Tabushi, K. Shimokawa, N. Shimizu, H. Shirakata, K. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 7855–7856.
[110] I. Tabushi, T. Nabeshima, K. Fujita, A. Matsunaga, T. Imoto, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2638–2643.
[111] D. Armspach, D. Matt, *Carbohydr. Res.* **1998**, *310*, 129–133.
[112] D. Armspach, D. Matt, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 3505–3509.
[113] D. Armspach, L. Poorters, D. Matt, B. Benmerad, F. Balegroune, L. Toupet, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 2588–2592.
[114] R. Gramage-Doria, D. Rodriguez-Lucena, D. Armspach, C. Egloff, M. Jouffroy, D. Matt, L. Toupet, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 3911–3921.
[115] M. Jouffroy, R. Gramage-Doria, D. Armspach, D. Matt, L. Toupet, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 6028–6030.
[116] M. Jouffroy, D. Armspach, D. Matt, L. Toupet, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 3699–3705.
[117] T. Lecourt, A. Herault, A. J. Pearce, M. Sollogoub, P. Sinaÿ, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 2960–2971.
[118] M. Sollogoub, *Synlett* **2013**, *24*, 2629–2640.
[119] O. Bistri, P. Sinaÿ, J. Jiménez Barbero, M. Sollogoub, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 9757–9774.
[120] T. Ogawa, Y. Takahashi, *Carbohydr. Res.* **1985**, *138*, C5–C9.
[121] G. Gattuso, S. A. Nepogodiev, J. F. Stoddart, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1919–1958.
[122] K. D. Bodine, D. Y. Gin, M. S. Gin, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1638–1639.
[123] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021.
[124] H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Drug Discov. Today* **2003**, *8*, 1128–1137.
[125] R. Huisgen, *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 357–396.
[126] M. Meldal, C. W. Tornøe, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2952–3015.
[127] E. Lallana, R. Riguera, E. Fernandez-Megia, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 8794–8804.
[128] L. Zhang, X. Chen, P. Xue, H. H. Y. Sun, I. D. Williams, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, G. Jia, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998–15999.
[129] B. C. Boren, S. Narayan, L. K. Rasmussen, L. Zhang, H. Zhao, Z. Lin, G. Jia, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8923–8930.
[130] B. T. Worrell, J. A. Malik, V. V. Fokin, *Science* **2013**, *340*, 457–460.
[131] G. C. Tron, T. Pirali, R. A. Billington, P. L. Canonico, G. Sorba, A. A. Genazzani, *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 278–308.
[132] D. Crich, F. Yang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 8896–8899.

[133] M. Lo Conte, A. Marra, A. Chambery, S. S. Gurcha, G. S. Besra, A. Dondoni, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 6326–6336.
[134] V. Cendret, M. François-Heude, A. Méndez-Ardoy, V. Moreau, J. M. G. Fernández, F. Djedaïni-Pilard, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 3733–3735.
[135] D. Kushwaha, P. Dwivedi, S. K. Kuanar, V. K. Tiwari, *Curr. Org. Synth.* **2013**, *10*, 90–135.
[136] S. Dörner, B. Westermann, *Chem. Commun.* **2005**, 2852–2854.
[137] R. Leyden, P. Murphy, *Synlett* **2009**, *2009*, 1949–1950.
[138] J. F. Billing, U. J. Nilsson, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4847–4850.
[139] K. D. Bodine, D. Y. Gin, M. S. Gin, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4479–4482.
[140] V. L. Campo, I. Carvalho, C. H. T. P. D. Silva, S. Schenkman, L. Hill, S. A. Nepogodiev, R. A. Field, *Chem. Sci.* **2010**, *1*, 507–514.
[141] S. Muthana, H. Yu, H. Cao, J. Cheng, X. Chen, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2928–2936.
[142] M. L. Conte, D. Grotto, A. Chambery, A. Dondoni, A. Marra, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 1240–1242.
[143] A. Orsini, A. Vitérisi, A. Bodlenner, J. M. Weibel, P. Pale, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2259–2262.
[144] I. E. Valverde, A. F. Delmas, V. Aucagne, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 7597–7602.
[145] M. L. Lepage, A. Bodlenner, P. Compain, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 1963–1972.
[146] Z. Györgydeák, J. Thiem, in *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* (Ed.: Derek Horton), Academic Press, **2006**, pp. 103–182.
[147] S. Cecioni, V. Oerthel, J. Iehl, M. Holler, D. Goyard, J.-P. Praly, A. Imberty, J.-F. Nierengarten, S. Vidal, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 3252–3261.
[148] N. A. Al-Masoudi, Y. A. Al-Soud, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4021–4022.
[149] W. Bröder, H. Kunz, *Carbohydr. Res.* **1993**, *249*, 221–241.
[150] W. Bröder, H. Kunz, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 1–19.
[151] T. Suzuki, S. T. Suzuki, I. Yamada, Y. Koashi, K. Yamada, N. Chida, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2874–2880.
[152] X. Li, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5446–5448.
[153] J. García Fernández, C. Ortiz Mellet, V. M. Díaz Pérez, J. Fuentes, J. Kovács, I. Pintér, *Carbohydr. Res.* **1997**, *304*, 261–270.
[154] J. Kovács, I. Pintér, A. Messmer, G. Tóth, H. Duddeck, *Carbohydr. Res.* **1987**, *166*, 101–111.
[155] F. Damkaci, P. DeShong, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4408–4409.
[156] A. Bianchi, A. Bernardi, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4565–4577.
[157] J.-P. Praly, C. D. Stéfano, L. Somsák, G. Descotes, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 200–201.
[158] A. Fürstner, J.-P. Praly, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 751–753.
[159] F. Micheel, A. Klemer, in *Advances in Carbohydrate Chemistry* (Ed.: Melville L. Wolfrom), Academic Press, **1962**, pp. 85–103.
[160] Z. Györgydeák, L. Szilágyi, H. Paulsen, *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, 139–163.
[161] H. Paulsen, in *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* (Ed.: R. Stuart Tipson and Derek Horton), Academic Press, **1971**, pp. 127–195.
[162] F. D. Tropper, F. O. Andersson, S. Braun, R. Roy, *Synthesis* **1992**, *1992*, 618–620.
[163] E. D. Soli, P. DeShong, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9724–9726.
[164] R. Kumar, P. Tiwari, P. R. Maulik, A. K. Misra, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 74–79.
[165] Z. Györgydeák, H. Paulsen, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1977**, 1987–1991.
[166] M.-L. Larabi, C. Fréchou, G. Demailly, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2175–2178.
[167] S. Sabesan, S. Neira, *Carbohydr. Res.* **1992**, *223*, 169–185.
[168] H. Kunz, W. Sager, D. Schanzenbach, M. Decker, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 649–654.
[169] M. Tosin, P. V. Murphy, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3675–3678.
[170] C. O'Brien, M. Poláková, N. Pitt, M. Tosin, P. V. Murphy, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 902–909.
[171] X. Lou, S. Cassidy, *Sci. China Chem.* **2010**, *53*, 877–883.
[172] L. Cronin, M. Tosin, H. Müller-Bunz, P. V. Murphy, *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 111–118.
[173] X. Zhu, R. T. Dere, J. Jiang, L. Zhang, X. Wang, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 10187–10197.

[174] R. Wang, B. Yu, H. Shi, X. Li, B. Zhou, Y. Li, Z. Shi, X. Zhang, C. Zhu, W. Li, *2-Aryl-6-Arylí -Glucoside Compound, and Preparation and Use Thereof*, **2009**, CN101348509 (A).
[175] S. Kulkarni, J.-C. Lee, S.-C. Hung, *Curr. Org. Chem.* **2004**, *8*, 475–509.
[176] N. W. McGill, S. J. Williams, in *Glycoscience* (Eds.: B.O.F.-R.P. Dr, K.T.P. Dr, J.T.P. Dr), Springer Berlin Heidelberg, **2008**, pp. 737–753.
[177] M. Tanret, *Bull. Chem. Soc. Fr.* **1894**, *211*, 944.
[178] A. E. Knauf, R. M. Hann, C. S. Hudson, *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, *63*, 1447–1451.
[179] R. M. Hann, C. S. Hudson, *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, *63*, 1484–1485.
[180] M. A. Zottola, R. Alonso, G. D. Vite, B. Fraser-Reid, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 6123–6125.
[181] V. Bailliez, R. M. de Figueiredo, A. Olesker, J. Cleophax, *Synthesis* **2003**, *2003*, 1015–1017.
[182] N. Sakairi, M. Hayashida, H. Kuzuhara, *Carbohydr. Res.* **1989**, *185*, 91–104.
[183] M. Vaman Rao, M. Nagarajan, *Carbohydrate Research* **1987**, *162*, 141–144.
[184] F. Micheel, O.-E. Brodde, K. Reinking, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1974**, 124–136.
[185] R. R. Schmidt, J. Michel, E. Rücker, *Liebigs Ann. Chem.* **1989**, 423–428.
[186] K. C. Nicolaou, S. P. Seitz, D. P. Papahatjis, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2430–2434.
[187] P.-M. Åberg, B. Ernst, E. De Clercq, G. Andrei, R. Snoeck, J. Balzarini, B. Fransson, U. Ragnarsson, G. W. Francis, *Acta Chem. Scand.* **1994**, *48*, 228–233.
[188] H. B. Mereyala, K. C. Venkataramanaiah, V. S. Dalvoy, *Carbohydr. Res.* **1992**, *225*, 151–153.
[189] H. B. Mereyala, K. C. Venkataramanaiah, *J. Chem. Res., Synop.* **1991**, 197.
[190] E. L. Myers, C. P. Butts, V. K. Aggarwal, *Chem. Commun.* **2006**, 4434–4436.
[191] L. O. Kononov, N. N. Malysheva, A. V. Orlova, A. I. Zinin, T. V. Laptinskaya, E. G. Kononova, N. G. Kolotyrkina, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 1926–1934.
[192] D. L. J. Clive, A. C. Joussef, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1096–1098.
[193] P. F. Tankam, P. Mischnick, H. Hopf, P. G. Jones, *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 2031–2048.
[194] A. Klemer, M. Kohla, *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 967–979.
[195] E. F. DiMauro, M. C. Kozlowski, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2002**, 439–444.
[196] Y. Taniguchi, J. Inanaga, M. Yamaguchi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1981**, *54*, 3229–3230.
[197] H. Hori, Y. Nishida, H. Ohrui, H. Meguro, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1346–1353.
[198] Z.-D. Shi, B.-H. Yang, Y.-L. Wu, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3287–3296.
[199] T. Tanaka, W. C. Huang, M. Noguchi, A. Kobayashi, S. Shoda, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 2154–2157.
[200] R. Huisgen, G. Szeimies, L. Möbius, *Chem. Ber.* **1967**, *100*, 2494–2507.
[201] R. Huisgen, *Pure and Applied Chemistry* **1989**, *61*, 613–628.
[202] D. H. Ess, K. N. Houk, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 10646–10647.
[203] D. H. Ess, G. O. Jones, K. N. Houk, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1633–1636.
[204] Y. S. Reddy, A. P. John Pal, P. Gupta, A. A. Ansari, Y. D. Vankar, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 5972–5984.
[205] V. Fiandanese, S. Maurantonio, A. Punzi, G. G. Rafaschieri, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 1186–1195.
[206] F. Kloss, U. Köhn, B. O. Jahn, M. D. Hager, H. Görls, U. S. Schubert, *Chem. Eur. J.* **2011**, *6*, 2816–2824.
[207] A. Pathigoolla, K. M. Sureshan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 8671–8675.
[208] J. I. Seeman, *Chem. Rev.* **1983**, *83*, 83–134.
[209] J. A. C. Romero, S. A. Tabacco, K. A. Woerpel, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 168–169.
[210] L. Ayala, C. G. Lucero, J. A. C. Romero, S. A. Tabacco, K. A. Woerpel, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15521–15528.
[211] C. G. Lucero, K. A. Woerpel, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2641–2647.
[212] T. J. Dudley, I. P. Smoliakova, M. R. Hoffmann, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1247–1253.
[213] K. B. Wiberg, M. A. Murcko, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 8029–8038.
[214] K. Ohno, H. Yoshida, H. Watanabe, T. Fujita, H. Matsuura, *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 6924–6930.
[215] L. Amat, R. Carbó-Dorca, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2000**, *40*, 1188–1198.

[216] W. Schörkhuber, E. Zbiral, *Liebigs Ann. Chem.* **1980**, 1455–1469.
[217] J. Hiebl, E. Zbiral, *Liebigs Ann. Chem.* **1988**, 765–774.
[218] K. Cheng, J. Liu, X. Liu, H. Li, H. Sun, J. Xie, *Carbohydr. Res.* **2009**, *344*, 841–850.
[219] Z. Jakab, A. Mándi, A. Borbás, A. Bényei, I. Komáromi, L. Lázár, S. Antus, A. Lipták, *Carbohydr. Res.* **2009**, *344*, 2444–2453.
[220] I. D. Mackie, J. Röhrling, R. O. Gould, J. Pauli, C. Jäger, M. Walkinshaw, A. Potthast, T. Rosenau, P. Kosma, *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 161–166.
[221] S. Fort, L. Christiansen, M. Schülein, S. Cottaz, H. Drigueza, *Isr. J. Chem.* **2000**, *40*, 217–221.
[222] F. P. Boulineau, A. Wei, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3391–3399.
[223] F. P. Boulineau, A. Wei, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 119–121.
[224] P. Wipf, T. H. Graham, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8798–8807.
[225] I. Fujimaki, Y. Ichikawa, H. Kuzuhara, *Carbohydr. Res.* **1982**, *101*, 148–151.
[226] M. Funabashi, H. Nagashima, *Chem. Lett.* **1987**, *16*, 2065–2068.
[227] G. Hu, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 2405–2433.
[228] N. Auberger, R. Frlan, B. Al-Dabbagh, A. Bouhss, M. Crouvoisier, C. Gravier-Pelletier, Y. Le Merrer, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 8301–8312.
[229] E. Alvarez, R. Pérez, M. Rico, R. M. Rodríguez, J. D. Martín, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3003–3016.
[230] V. A. Sarpe, S. S. Kulkarni, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 6460–6465.
[231] N. Tanaka, I. Ogawa, S. Yoshigase, J. Nokami, *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 2675–2679.
[232] A. Nakagawa, H. Kamitakahara, T. Takano, *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 1671–1683.
[233] A. Roën, C. Mayato, J. I. Padrón, J. T. Vázquez, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7266–7279.
[234] Y. Koyama, M. J. Lear, F. Yoshimura, I. Ohashi, T. Mashimo, M. Hirama, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 267–270.
[235] T. Dohi, N. Yamaoka, Y. Kita, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 5775–5785.
[236] J. S. Clark, T. C. Fessard, C. Wilson, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1773–1776.
[237] P. J. Jervis, B. M. Kariuki, L. R. Cox, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4649–4652.
[238] S. Bera, R. J. Linhardt, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 3181–3193.
[239] C. Li, J. Wang, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7431–7434.
[240] R. Schwesinger, H. Schlemper, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1987**, *26*, 1167–1169.
[241] M. Grøtli, M. Douglas, R. Eritja, B. S. Sproat, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 5899–5914.
[242] P.-A. Nocquet, D. Hazelard, P. Compain, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 4117–4128.
[243] J.-L. M. Abboud, C. Foces-Foces, R. Notario, R. E. Trifonov, A. P. Volovodenko, V. A. Ostrovskii, I. Alkorta, J. Elguero, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 3013–3024.
[244] A. Joosten, J. P. Schneider, M. L. Lepage, C. Tarnus, A. Bodlenner, P. Compain, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 1866–1872.
[245] M. L. Lepage, A. Meli, A. Bodlenner, C. Tarnus, F. De Riccardis, I. Izzo, P. Compain, *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 1406–1412.
[246] N. Maulucci, I. Izzo, G. Bifulco, A. Aliberti, C. D. Cola, D. Comegna, C. Gaeta, A. Napolitano, C. Pizza, C. Tedesco, et al., *Chem. Commun.* **2008**, 3927–3929.
[247] D. Comegna, F. D. Riccardis, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3898–3901.
[248] C. D. Cola, S. Licen, D. Comegna, E. Cafaro, G. Bifulco, I. Izzo, P. Tecilla, F. D. Riccardis, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2851–2854.
[249] T. Fujino, N. Yamazaki, A. Hasome, K. Endo, H. Isobe, *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 868–870.
[250] C. Decroocq, Conception et Synthèse de Nouvelles Classes D'iminosucres D'intérêt Thérapeutique : Chimie Click, Multivalence et Maladies Génétiques Rares., Strasbourg, **2012**.
[251] J. D. Albright, L. Goldman, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 4214–4216.
[252] F. Ortega-Caballero, J. J. Giménez-Martínez, A. Vargas-Berenguel, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2389–2392.
[253] A. Mollard, I. Zharov, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 10172–10179.
[254] S. A. Fowler, H. E. Blackwell, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1508–1524.
[255] L. A. Marcaurelle, C. R. Bertozzi, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1384–1390.

[256] B. Yoo, K. Kirshenbaum, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 714–721.
[257] M. L. Huang, S. B. Y. Shin, M. A. Benson, V. J. Torres, K. Kirshenbaum, *ChemMedChem* **2012**, *7*, 114–122.
[258] T. Szekely, O. Roy, S. Faure, C. Taillefumier, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 5641–5657.
[259] R. N. Zuckermann, J. M. Kerr, S. B. H. Kent, W. H. Moos, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10646–10647.
[260] A. S. Culf, R. J. Ouellette, *Molecules* **2010**, *15*, 5282–5335.
[261] I. Izzo, G. Ianniello, C. De Cola, B. Nardone, L. Erra, G. Vaughan, C. Tedesco, F. De Riccardis, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 598–601.
[262] I. H. Segel, *Enzyme Kinetics: Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady-State Enzyme Systems*, Wiley-Blackwell, New York, **1993**.
[263] C.-H. Wong, G. M. Whitesides, *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*, Elsevier Science Ldt., Oxford, **1994**.
[264] A. Cornish-Bowden, *Fundamentals of Enzyme Kinetics*, Portland Press Ltd., London; Brookfield, Vt., USA, **1995**.
[265] B. T. Burlingham, T. S. Widlanski, *J. Chem. Educ.* **2003**, *80*, 214.
[266] F. Becq, M. A. Mall, D. N. Sheppard, M. Conese, O. Zegarra-Moran, *J. Cyst. Fibros.* **2011**, *10, Supplement 2*, S129–S145.
[267] N. Kartner, O. Augustinas, T. J. Jensen, A. L. Naismith, J. R. Riordan, *Nat. Genet.* **1992**, *1*, 321–327.
[268] M. Mall, M. Bleich, R. Greger, R. Schreiber, K. Kunzelmann, *J. Clin. Invest.* **1998**, *102*, 15–21.
[269] M. R. Knowles, M. J. Stutts, A. Spock, N. Fischer, J. T. Gatzy, R. C. Boucher, *Science* **1983**, *221*, 1067–1070.
[270] L. Ellgaard, A. Helenius, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2003**, *4*, 181–191.
[271] W. Dalemans, P. Barbry, G. Champigny, S. Jallat, K. Dott, D. Dreyer, R. G. Crystal, A. Pavirani, J. P. Lecocq, M. Lazdunski, *Nature* **1991**, *354*, 526–528.
[272] J.-B. Behr, C. Chevrier, A. Defoin, C. Tarnus, J. Streith, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 543–553.
[273] J. Robertson, S. P. Green, M. J. Hall, A. J. Tyrrell, W. P. Unsworth, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 2628–2635.
[274] G.-J. Boons, S. Isles, P. Setälä, *Synlett* **1995**, *1995*, 755–756.
[275] M. Mori, M. Haga, S. Tejima, *Chem. Pharm. Bull.* **1975**, *23*, 1480–1487.

Partie expérimentale

Cette partie est rédigée en anglais afin de faciliter son utilisation par des chimistes ne maîtrisant pas le français.

General methods and remarks

Commercially available starting materials were purchased from Sigma-Aldrich and Alfa-Aesar, except for 1,6-anhydroglucopyranose **89** and 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-D-glucopyranose **180** which were purchased from TCI. They were used without further purification.

When specified, anhydrous solvent were required. Dichloromethane (DCM) was distilled over CaH_2 under argon. Tetrahydrofuran (THF) was distilled over sodium/benzophenone under argon or dried by passage through an activated alumina column under argon. Toluene (PhMe) was distilled over sodium under argon. Dimethylformamide (DMF) and acetonitrile were purchased anhydrous over molecular sieves. Triethylamine and pyridine were distilled over KOH under reduced pressure and were stored over KOH under argon.

All the reactions were carried out in standard glassware or in vials adapted to a Biotage Initiator® microwave reactor.

Most of the crude mixtures were purified by flash chromatography on silica gel column. Silica gel 60 (230-400 mesh, 0.040-0.063 mm) purchased from E. Merck. Automatic flash chromatographies were carried out in a Grace Reveleris® flash system equipped with UV/Vis and ELSD detectors.

Reaction monitoring and primary characterization of products were achieved by Thin Layer Chromatography (TLC) on aluminum sheets coated with silica gel 60 F254 purchased from E. Merck. Eluted TLC's were revealed under UV (325 nm and 254 nm) and with chemicals (*vide infra*).

Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectra were recorded on a Bruker AC 300, Bruker AC 400 or Avance DRX500 spectrometers with solvent peaks as reference. Carbon multiplicities were assigned by Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT) experiments. ^{1}H and ^{13}C signals were assigned by correlation spectroscopy (COSY), Heteronuclear Single Quantum Correlation (HSQC), and Heteronuclear Multiple-Bond Correlation spectroscopy (HMBC). In the following NMR assignments, coupling constants (*J*) will be expressed in Hertz (Hz), multiplicity are described with (s) as singlet, (d) as doublet, (t) as triplet and (q) as quadruplet, "br" prefix means that the considered signal is broad. The indexes "a" or "b" will be used for diastereotopic protons, "a" being assigned to the proton with highest chemical shift and "b" to the proton with the lowest chemical shift.

Infrared (IR) spectra (cm^{-1}) were recorded neat on a Perkin-Elmer Spectrum One Spectrophotometer. ESI-TOF high resolution mass spectra (HRMS) were carried out on a Bruker MicroTOF spectrometer. MALDI-TOF (Matrix-Assisted Light Desorption/Ionisation) mass spectra (MS) were carried out on a Bruker Autoflex II TOF/TOF spectrometer (matrix = dithranol).

Specific rotations were determined on a Perkin-Elmer 241 polarimeter with sodium lamp (λ = 589 nm). The concentration (*c*) is indicated in decagram per liter (dag/L).

In the following sections, solvents will be abbreviated as follows: DCM = dichloromethane; EtOAc = ethyl acetate; PE = petroleum ether; Et_2O: diethyl ether; THF = tetrahydrofuran; rev. = "revealed with". In the treatment of reactions, "sat. NH_4Cl" means a saturated aqueous solution of ammonium chloride, "sat. $NaHCO_3$" means a saturated aqueous solution of sodium hydrogen carbonate and "brine" means a saturated aqueous solution of sodium chloride.

TLC Dips

Phosphomolybdic acid (PMA)

Phosphomolybdic acid ($12MoO_3{\cdot}H_3PO_4$, 10 g) was dissolved in absolute ethanol (EtOH, 100 mL).

Potassium permanganate ($KMnO_4$)

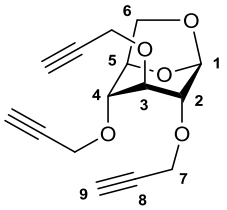
Potassium permanganate ($KMnO_4$, 1.5 g), potassium carbonate (K_2CO_3, 10g) were dissolved in water (200 mL). A 10w% sodium hydroxide solution was added (NaOH, 1.25 mL).

General procedure for inhibition assay

The *p*-nitrophenyl-α-D-mannopyranoside and α-mannosidase (EC 3.2.1.24, from Jack bean, K_m = 2.0 mM pH 5.5) were purchased from Sigma-Aldrich. The release of *p*-nitrophenol was measured continuously at 385 nm to determine initial velocities.[272] All kinetics were performed at 35°C and started by substrate addition in a 1 mL assay medium (acetate buffer, 0.2 M, pH = 5) containing α-mannosidase (5 mU), substrate (varying concentration from K_m/4 to K_m value) in presence or absence of various concentrations of inhibitor. K_i values were determined in duplicate, using the Dixon graphical method.[262] As the inhibitors are only partially soluble in water, they were dissolved in DMSO for concentrated mother solutions and DMSO/buffer for diluted solutions with a final DMSO concentration under 2.5% in all vials. Previously, the stability of the enzyme in presence of various concentrations of DMSO was controlled and the enzyme activity was unaffected.

Anhydros, azides & neopentasaccharide

Synthesis of 1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-propargyl-D-glucopyranose (95)



Chemical Formula: $C_{15}H_{16}O_5$
Molecular Weight: 276,2880

To a stirred solution of 1,6-anhydro-D-glucopyranose (1.00 g, 6.17 mmol) in anhydrous DMF (60 mL) was carefully added sodium hydride (60w% in oil, 2.22 g, 55.5 mmol) at 0°C. The mixture was stirred for 20 min till the end of the gas release. Then the flask was protected from light and propargyl bromide (5.98 mL, 80w% in toluene, 55.5 mmol) was added over 2 min, keeping the temperature at 0°C. The ice-water bath was removed and the mixture, which rapidly became brown, was stirred for 39h at room temperature. The reaction was quenched by addition of MeOH. A saturated solution of NH_4Cl (100 mL) was added and the aqueous mixture was extracted with AcOEt (4×50 mL). The combined organic phases were washed with brine (2×30 mL), then dried with Na_2SO_4, filtered and the filtrate was concentrated under vacuum. The resulting residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 1:4 to 1:1) to afford **95** (1.70 g, 99.8%) as a green oil.

R_f 0.40 (AcOEt/PE 3:7);

Optical rotation $[\alpha]_D^{29}$ = -52.8 (*c* 1, $CHCl_3$);

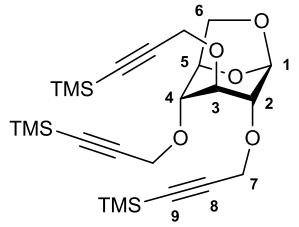
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 5.46 (s, 1H; H-1), 4.61 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H; H-5), 4.39-4.22 (m, 6H; H-7), 3.97 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H; H-6a), 3.77 (s, 1H; H-3), 3.68 (dd, *J* = 7.3, 5.7 Hz, 1H; H-6b), 3.62 (s, 1H; H-2), 3.53 (s, 1H; H-4), 2.46 ppm (m, 3H; H-9);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 100.4, 79.5 (2), 79.4, 76.1, 75.6 (2), 75.3 (2), 75.1, 74.2, 65.5, 57.9, 57.5, 56.8 ppm;

IR (neat) 3283 (sharp, CC-H), 2117 cm^{-1} (weak, C≡CH);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{15}H_{16}O_5Na$ $[M + Na]^+$ 299.089; found 299.088.

Synthesis of 1,6-anhydro-2,3,4-tri-O-(trimethylsilylpropargyl)-D-glucopyranose (96)



Chemical Formula: $C_{24}H_{40}O_5Si_3$
Molecular Weight: 492,8340

A stirred solution of **95** (1.51 g, 5.45 mmol) and silver triflate (140 mg, 0.545 mmol) in anhydrous THF (54 mL) was heated to reflux. Then DBU (4.07 mL, 27.25 mmol) was added. The mixture was stirred under reflux 10 min before adding chlorotrimethylsilane (6.92 mL, 54.5 mmol), and then the mixture was stirred for 20h under reflux. After cooling to room temperature, AcOEt (100 mL) and sat. $NaHCO_3$ (100 mL) were added to the mixture and the phases were separated. The aqueous phase was further extracted with AcOEt (2x30 mL). The combined organic phases were successively washed with sat. $NaHCO_3$ (2x30 mL), 1.0 M HCl (2x30 mL) and brine (2x30 mL), then they were dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The resulting residue was purified by flash chromatography to afford **96** (2.08 g, 77%) as a pale green oil.

R_f 0.72 (AcOEt/PE 1:4);

Optical rotation $[\alpha]_D^{22}$ = -28.7 (*c* 1, $CHCl_3$);

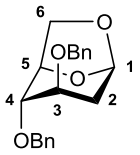
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 5.46 (s, 1H; H-1), 4.62 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H; H-5), 4.39-4.22 (m, 6H; H-7), 3.97 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H; H-6a), 3.73 (s, 1H; H-3), 3.68 (dd, *J* = 7.3, 5.8 Hz, 1H; H-6b), 3.59 (s, 1H; H-2), 3.52 (s, 1H; H-4), 0.20-0.10 ppm (m, 27H; TMS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 101.4, 101.3, 101.2, 100.5, 92.3, 92.2, 91.9, 76.4, 75.8 (2), 74.4, 65.6, 58.7, 58.2, 57.8, -0.1 ppm (9);

IR (neat) 2178 cm^{-1} (weak, C≡CSiR$_3$);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{24}H_{40}O_5Si_3Na$ $[M + Na]^+$ 515.208; found 515.205.

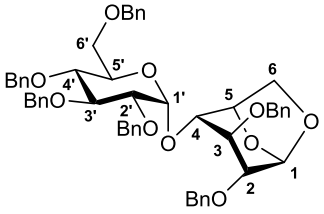
Synthesis of 1,6-anhydro-2-deoxy-3,4-di-O-benzyl-D-glucopyranose (103)



Chemical Formula: $C_{20}H_{22}O_4$
Molecular Weight: 326,3920

To a stirred solution of **101** (276.6 mg, 808 µmol) in dry DCM (1.4 mL) at -10°C under an atmosphere of argon was added dropwise a solution of trifluoromethanesulfonic anhydride (1.0 M sol. in DCM, 1.61 mL, 1.61 mmol) and anhydrous pyridine (163 µL, 2.02 mmol) in dry DCM (6.1 mL). The addition was performed over 6 min, and then the mixture was stirred for 1h at −10°C. The reaction was quenched with cold sat. $NaHCO_3$ (25 mL) and DCM (20 mL) was added. The organic phase was washed with water (2×25 mL), dried with Na_2SO_4, filtered, concentrated to dryness and further dried under vacuum. The crude mixture was then diluted with toluene (5 mL) under an atmosphere of argon, tetrabutylammonium tetrahydroborate (631 mg, 2.45 mmol) was added and the mixture was stirred for 2h15 at room temperature. A 1.0 M HCl solution (15 mL) was carefully added, until the gas release had ceased, to stop the reaction. The aqueous mixture was extracted with DCM (3x30 mL), the combined organic phases were washed with water and brine (25 mL each), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated to dryness. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 1:4 to 2:3) to afford **103** (206.8 mg, 78%) as a colorless oil. Analytical data of **103** matched those from the literature.[273]

Synthesis of 1,6-anhydro-2,3,2',3',4',6'-hexa-O-benzyl-D-maltopyranose (106)



Chemical Formula: $C_{54}H_{56}O_{10}$
Molecular Weight: 865,0320

To a solution of maltosan **105** (1 eq., 1.0 g, 3.08 mmol) in anhydrous DMF (40 mL) under an argon atmosphere was added sodium hydride (60w% in oil, 8 eq., 0.987 g, 24.67 mmol) at room temperature. The mixture was stirred for 5 min, and benzyl bromide was added (8 eq., 4.22 g, 2.95 mL, 24.67 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 16 h. The reaction was quenched by the addition of sat. NH_4Cl (40 mL) and water (40 mL) and the aqueous mixture was extracted with Et_2O (3x100 mL). The combined organic extracts were dried with Na_2SO_4, filtrated and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 10:90 to 30:70) to afford **106** (1.34 g, 50%).

R_f 0.23 (AcOEt/PE 1:4);

Optical rotation $[\alpha]_D^{23} = +8.9$ (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.43-7.12 (m, 30H; ArH), 5.49 (s, 1H; H-1), 5.03 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H; H-1'), 4.98 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.88 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.83 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.74 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H; H-5), 4.70-4.42 (m, 9H; OCH_2Ph), 4.20-4.02 (m, 2H; H-3' and H-4'), 3.93 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H; H-6a), 3.77-3.53 (m, 7H; H-3, H-4, H-6b, H-2', H-5' and H-6'), 3.41 ppm (d, *J* = 2.3 Hz, 1H; H-2);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 139.0, 138.43, 138.38, 138.2, 138.02, 137.97, 128.7—127.5 (30), 100.9, 98.0, 81.9, 79.7, 78.5, 78.0, 77.4, 77.1, 75.8, 75.4, 75.1, 73.6, 72.9, 72.3, 71.6, 71.0, 68.9, 66.0 ppm;

IR (neat) nothing characteristic;

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{54}H_{56}O_{10}Na$ $[M + Na]^+$ 887.377; found 887.377.

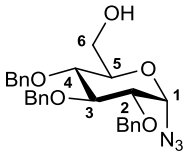
General procedure for the synthesis of glycosyl azides

To a stirred solution of 1,6-anhydrosugar (1 eq., 231 µmol) in MeCN (cond. A) or in PhMe/MeCN 3:1 (cond. B) (2.3 mL) were added successively $TMSN_3$ (10 eq., 2.31 mmol, 303 µL) and TMSOTf (0.5 eq., 116 µmol, 21 µL) at room temperature. The mixture was then stirred at room temperature (cond. A) or 40°C (cond. B). When TLC control showed complete conversion of the anhydrosugar, the reaction was quenched with sat. $NaHCO_3$ (25 mL). AcOEt (25 mL) was added and the layers were separated. The organic phase was washed with sat. $NaHCO_3$ (2 x 25 mL), then a few drops of conc. HCl were added along with 2 mL of MeOH. After a brief shaking, the organic mixture was finally washed with water (25 mL) and brine (25 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography on silica gel (AcOEt/PE) to afford the desired 1-azidosugars.

Synthesis of 1-azido-2,3,4-tri-O-benzyl-D-glucopyranoses (92)

The compounds **92** were synthesized from **91** (100 mg, 231 µmol) as described in the general procedure. The resulting crude product was purified to provide **92α** (87.5 mg, 80%) and **92β** (8.4 mg, 8%) as white solids.

Compound 92α



Chemical Formula: $C_{27}H_{29}N_3O_5$
Molecular Weight: 475,5450

R_f 0.39 (toluene/acetone 9:1);

Melting point 62.0-64.0 °C;

Optical rotation $[\alpha]_D^{26} = +95.5$ (c 1, $CHCl_3$);

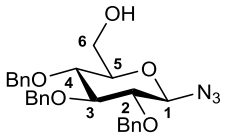
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.47-7.24 (m, 15H; ArH), 5.17 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H; H-1), 5.00-4.60 (m, 6H; CH_2Ph), 3.90 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H; H-3), 3.83-3.67 (m, 3H; H-5, H-6), 3.59 (dd, *J* = 9.1, 4.2 Hz, 1H; H-2), 3.55 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H; H-4), 1.57 ppm (br s, 1H; OH);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 138.6, 138.1, 137.7, 128.8 (2), 128.7 (2), 128.6 (2), 128.4, 128.3 (2), 128.2 (2), 128.12, 128.09 (2), 127.9, 88.1, 81.8, 79.7, 76.7, 76.0, 75.2, 74.0, 73.3, 61.6 ppm;

IR (neat) 3462 (broad, O-H), 2111 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{27}H_{29}N_3O_5Na$ $[M + Na]^+$ 498.200; found 498.199.

Compound 92β



Chemical Formula: $C_{27}H_{29}N_3O_5$
Molecular Weight: 475,5450

R_f 0.50 (toluene/acetone 9:1);

Melting point 77.0-79.0 °C;

Optical rotation $[\alpha]_D^{26} = +95.5$ (c 1, $CHCl_3$);

1H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.39-7.23 (m, 15H; ArH), 4.96-4.62 (m, 6H; OCH_2Ph), 4.67 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H; H-1), 3.90 (ddd, *J* = 12.0, 5.3, 2.4 Hz, 1H; H-6a), 3.73 (ddd, *J* = 12.0, 7.8, 4.1 Hz, 1H; H-6b), 3.69 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H; H-3), 3.60 (dd, *J* = 9.4, 8.9 Hz, 1H; H-4), 3.45 (ddd, *J* = 9.4, 4.1, 2.5 Hz, 1H; H-5), 3.34 (dd, *J* = 9.3, 8.7 Hz, 1H; H-2), 1.81 ppm (dd, *J* = 7.8, 5.3 Hz, 1H; OH);

13C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 138.4, 137.9, 137.8, 128.7 (2), 128.63 (2), 128.61 (2), 128.3 (2), 128.21 (2), 128.18, 128.1, 127.9 (3), 90.4, 84.9, 81.9, 77.5, 77.2, 75.9, 75.4, 75.3, 61.8 ppm;

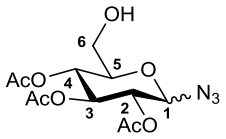
IR (neat) 3439 (broad, OH), 2115 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{27}H_{29}N_3O_5Na$ $[M + Na]^+$ 498.200; found 498.198.

Synthesis of 1-azido-2,3,4-tri-O-acetyl-D-glucopyranoses (107)

Compound **94** was treated as described in the general procedure and the reaction mixture was stirred for 5 days at 40°C (conditions A with heating). We were not able to separate the diastereomers.

Data for the 1:1 mixture of diastereomers



Chemical Formula: $C_{12}H_{17}N_3O_8$
Molecular Weight: 331,2810

R_f 0.33 (toluene/acetone 9:1);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 5.62 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H; H-1α), 5.44 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H; H-3α or β), 5.26 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H; H-3α or β), 5.10-4.98 (m, 2H; H-4 α and β), 4.96-4.88 (m, 2H; H-2α and β), 4.67 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H; H-1β), 3.94 (ddd, *J* = 10.2, 3.6, 2.2 Hz, 1H; H-5α or β), 3.83-3.70 (m, 2H; H-6α or β), 3.67-3.54 (m, 3H; H-5α or β, H-6α or β), 2.38 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H; OH-6α and β), 2.10-1.98 ppm (six s, 18H; CH_3CO α and β);

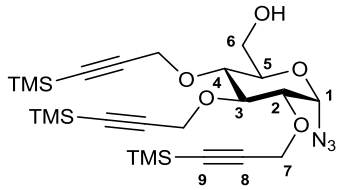
^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 170.6, 170.3, 170.2, 170.1, 170.0, 169.4, 88.0, 86.4, 76.5, 72.6, 71.8, 70.9, 70.5, 69.4, 68.4, 68.3, 61.2, 60.9, 20.8-20.5 ppm (6);

IR (neat) 3483 (broad, O-H), 2117 (sharp, N_3), 1747 cm^{-1} (strong, C=O);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{12}H_{17}N_3O_8Na$ $[M + Na]^+$ 354.091; found 354.089.

Synthesis of 1-azido-2,3,4-tri-O-(trimethylsilylpropargyl)-α-D-glucopyranose (110α)

The compound **110α** was synthesized from **96** (232.7 mg, 472 µmol) as described in the general procedure. The resulting crude product was purified to provide **110α** (208.6 mg, 82%) as a pale green oil. If not stored at -18°C, this product turns progressively into **118α** upon time at room temperature.



Chemical Formula: $C_{24}H_{41}N_3O_5Si_3$
Molecular Weight: 535,8630

R_f 0.61 (AcOEt/PE 15:85);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +119.5$ (*c* 0.5, $CHCl_3$);

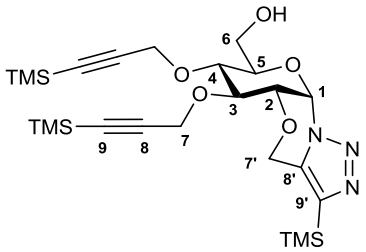
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 5.59 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H; H-1), 4.55-4.17 (m, 6H; H-7), 3.84 (m, 2H; H-6), 3.69 (m, 1H; H-5), 3.68 (dd, *J* = 9.5, 8.9 Hz, 1H; H-3), 3.59 (dd, *J* = 9.5, 4.0 Hz, 1H; H-2), 3.49 (dd, *J* = 9.8, 8.9 Hz, 1H; H-4), 2.12 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H; OH), 0.2-0.1 ppm (m, 27H; TMS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 102.4, 101.8, 101.5, 92.6, 91.7, 91.3, 88.1, 81.4, 80.1, 75.1, 73.0, 61.6, 61.3, 60.7, 60.0, -0.1 (3), -0.2 ppm (6);

IR (neat) 3542 (broad, O-H), 2177 (weak, C≡C), 2114 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{24}H_{41}N_3O_5Si_3Na$ $[M + Na]^+$ 558.225; found 558.223.

Cycloadduct 118α



Chemical Formula: $C_{24}H_{41}N_3O_5Si_3$
Molecular Weight: 535,8630

R_f 0.47 (AcOEt/PE 2:3);

Optical rotation $[\alpha]_D^{26} = +72.5$ (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 6.05 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H; H-1), 5.19 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H; H-7'a), 4.82 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H; H-7'b), 4.43 (s, 2H; H-7), 4.36 (s, 2H; H-7), 4.25 (dd, *J* = 5.7, 4.4 Hz, 1H; H-2), 4.11 (dd, *J* = 5.7, 4.5 Hz, 1H; H-3), 3.92-3.70 (m, 3H; H-4, H-6), 3.64 (ddd, *J* = 9.1, 4.2, 2.6 Hz, 1H; H-5), 0.30 (s, 9H; TMS triazole), 0.17-0.16 ppm (two s, 18H; TMS);

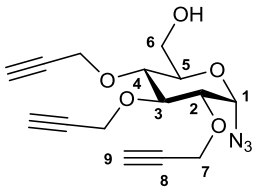
^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 139.8, 136.9, 101.1, 101.0, 92.9, 92.4, 78.0, 75.5, 74.6, 73.3, 72.8, 61.7, 60.8, 59.4, 58.9, -0.1 (3), -0.2 (3), -1.1 ppm (3);

IR (neat) 3403 (broad, O-H), 2177 cm^{-1} (weak, C≡C);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{24}H_{41}N_3O_5Si_3Na$ $[M + Na]^+$ 558.225; found 558.223.

Synthesis of 1-azido-2,3,4-tri-O-propargyl-α-D-glucopyranose (115α)

The compound **95** was treated as described in the general procedure and the reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature (conditions A), or for 20 h at 40°C (conditions B). The resulting residue was purified by flash chromatography to afford **115α** as a colorless oil. If not stored at -18°C, this product turns progressively into **119α** upon time at room temperature.



Chemical Formula: $C_{15}H_{17}N_3O_5$
Molecular Weight: 319,3170

R_f 0.63 (toluene/acetone 3:1);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +181.4$ (*c* 1, $CHCl_3$);

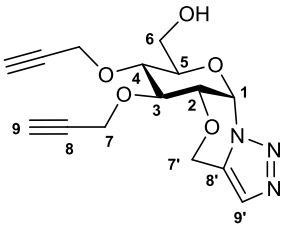
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 5.54 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H; H-1), 4.49-4.24 (m, 6H; H-7), 3.85 (br s, 2H; H-6), 3.73 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H; H-5), 3.72 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H; H-3), 3.63 (dd, *J* = 9.3, 4.1 Hz, 1H; H-2), 3.50 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H; H-4), 2.49 (m, 3H; H-9), 2.00 ppm (br s, 1H; OH);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 87.8, 81.0, 80.1, 79.9, 79.5, 79.2, 75.7, 75.6, 74.8, 74.6, 72.9, 61.4, 60.5, 60.1, 59.1 ppm;

IR (neat) 3474 (broad, O-H), 3292 (sharp, CC-H), 2114 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{15}H_{17}N_3O_5Na$ $[M + Na]^+$ 342.106; found 342.103.

Cycloadduct 119α



Chemical Formula: $C_{15}H_{17}N_3O_5$
Molecular Weight: 319,3170

A solution of **115α** (43.6 mg, 137 µmol) in toluene (6.5 mL) was heated under reflux for 19 h. The solvent was removed under vacuum and the crude residue was purified by flash chromatography to afford **119α** (31.5 mg, 72%) as a colorless oil.

R_f 0.14 (toluene/acetone 7:3);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +104.2$ (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.53 (s, 1H; H-9'), 6.06 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H; H-1), 5.21 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H; H-7'a), 4.85 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H; H-7'b), 4.46 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H; H-7), 4.37 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H; H-7), 4.28 (dd, *J* = 5.8, 4.4 Hz, 1H; H-2), 4.14 (dd, *J* = 5.9, 4.8 Hz, 1H; H-3), 3.87 (dd, *J* = 12.5, 2.6 Hz, 1H; H-6a), 3.85 (dd, *J* = 9.1, 4.8 Hz, 1H; H-4), 3.75 (dd, *J* = 12.5, 4.1 Hz, 1H; H-6b), 3.62 (ddd, *J* = 9.1, 4.1, 2.6 Hz, 1H; H-5), 2.66 (br s, 1H; OH), 2.53 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9), 2.51 ppm (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 131.5, 128.1, 79.33, 79.27, 78.2, 75.9, 75.4, 75.3, 74.6, 73.4, 73.0, 61.4, 59.8, 58.7, 58.2 ppm;

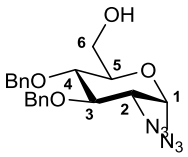
IR (neat) 3390 (broad, O-H), 3280 (sharp, CC-H), 2116 cm^{-1} (weak, C≡C);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{15}H_{17}N_3O_5Na$ $[M + Na]^+$ 342.106; found 342.105.

Synthesis of 1,2-diazido-3,4-di-O-benzyl-D-glucopyranoses (109)

The compounds **109** were synthesized from **104** (88.4 mg, 241 µmol) as described in the general procedure. The resulting crude product was purified to provide **109α** (65.9 mg, 67%) and **109β** (21.0 mg, 21%) as bright orange oils.

Compound 109α



Chemical Formula: $C_{20}H_{22}N_6O_4$
Molecular Weight: 410,4340

R_f 0.20 (AcOEt/PE 1:4);

Optical rotation $[\alpha]_D^{22}$ = +98.3 (*c* 0.5, $CHCl_3$);

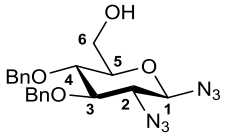
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.42-7.28 (m, 10H; ArH), 5.40 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H; H-1), 4.91 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.88 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.87 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.70 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H; OCH_2Ph), 3.88 (dd, *J* = 10.0, 9.3 Hz, 1H; H-3), 3.89-3.71 (m, 3H; H-5 and H-6), 3.65 (dd, *J* = 9.6, 9.3 Hz, 1H; H-4), 3.55 (dd, *J* = 10.0, 4.1 Hz, 1H; H-2), 1.73 ppm (br s, 1H; OH);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 137.7, 137.6, 128.7 (2), 128.6 (2), 128.24 (2), 128.19, 128.14, 128.0 (2), 88.3, 80.4, 77.4, 75.8, 75.2, 73.8, 63.3, 61.3 ppm;

IR (neat) 3452 (broad, O-H), 2106 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{20}H_{22}N_6O_4Na$ $[M + Na]^+$ 433.159; found 433.157.

Compound 109β



Chemical Formula: $C_{20}H_{22}N_6O_4$
Molecular Weight: 410,4340

R_f 0.35 (AcOEt/PE 1:4);

Optical rotation $[\alpha]_D^{22}$ = -36.6 (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.40-7.27 (m, 10H; ArH), 4.90 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.86 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.85 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.68 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.54 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H; H-1), 3.90 (br d, *J* = 12.5 Hz, 1H; H-6a), 3.75 (m, 1H; H-6b), 3.64 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H; H-4), 3.51 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H; H-3), 3.43 (ddd, *J* = 9.6, 3.9, 2.5 Hz, 1H; H-5), 3.29 (dd, *J* = 9.6, 9.0 Hz, 1H; H-2), 1.83 ppm (br s, 1H; OH);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 137.7 (2), 128.73 (2), 128.66 (2), 128.26, 128.24 (2), 128.20, 128.1 (2), 89.4, 83.4, 77.7, 77.0, 75.9, 75.3, 66.3, 61.5 ppm;

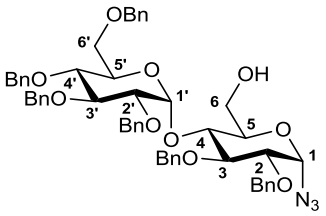
IR (neat) 3468 (broad, O-H), 2106 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{20}H_{22}N_6O_4Na$ $[M + Na]^+$ 433.159; found 433.159.

Synthesis of 1-azido-2,3,2',3',4',6'-hexa-O-benzyl-D-maltopyranoses (114)

Compound **106** was treated as described in the general procedure and the reaction mixture was stirred for 27h at room temperature (conditions A), or for 41 h at 40°C (conditions B).

Compound 114α



Chemical Formula: $C_{54}H_{57}N_3O_{10}$
Molecular Weight: 908,0610

R_f 0.38 (AcOEt/PE 3:7);

Optical rotation $[\alpha]_D^{22} = +81.9$ (*c* 1, $CHCl_3$);

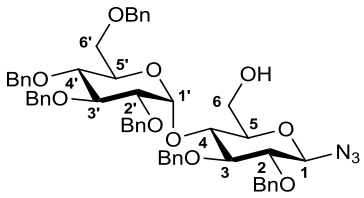
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.46-7.00 (m, 30H; ArH), 5.74 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H; H-1'), 5.20 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H; H-1), 5.02-4.39 (m, 12H; OCH_2Ph), 4.15-3.73 (m, 7H; H-3, H-4, H-5, H-6, H-3' and H-5'), 3.71-3.61 (m, 2H; H-2 and H-6'a), 3.54-3.43 (m, 2H; H-2' and H-6'b), 3.37 (dd, *J* = 9.9, 9.0 Hz, 1H; H-4'), 3.07 ppm (br t, *J* = 6.3 Hz, 1H; OH);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 139.0, 138.6, 138.0, 137.9, 137.4, 137.3, 128.9-126.3 (30), 97.7, 87.9, 82.1, 81.6, 79.9, 79.2, 78.3, 75.7, 75.2, 74.3, 73.8, 73.7 (2), 73.0, 72.0, 71.8, 68.9, 60.8 ppm;

IR (neat) 3493 (broad, O-H), 2112 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{54}H_{57}N_3O_{10}Na$ $[M + Na]^+$ 930.394; found 930.394.

Compound 114β



Chemical Formula: $C_{54}H_{57}N_3O_{10}$
Molecular Weight: 908,0610

R_f 0.59 (AcOEt/PE 3:7);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +31.1$ (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.47-7.03 (m, 30H; ArH), 5.67 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H; H-1'), 4.96-4.74 (m, 6H; OCH_2Ph), 4.70 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H; H-1), 4.64-4.40 (m, 6H; OCH_2Ph), 4.12 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H; H-4), 3.96-3.87 (m, 3H; H-6 and H-3'), 3.86-3.76 (m, 2H; H-3, H-5'), 3.68 (dd, *J* = 10.2, 1.7 Hz, 1H; H-6'a), 3.62-3.37 (m, 5H; H-2, H-5, H-2', H-4' and H-6'b), 2.76 ppm (br s, 1H; OH);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 138.7, 138.6, 138.02, 137.97, 137.6 (2), 128.7-126.2 (30), 97.7, 90.2, 84.9, 82.1, 82.0, 79.2, 78.1, 77.3, 75.7, 75.24, 75.17, 74.1, 73.7 (2), 72.3, 71.7, 68.7, 61.3 ppm;

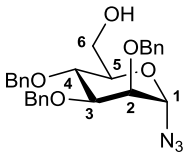
IR (neat) 3480 (broad, O-H), 2113 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{54}H_{57}N_3O_{10}Na$ $[M + Na]^+$ 930.394; found 930.394.

Synthesis of 1-azido-2,3,4-tri-O-benzyl-D-mannopyranoses (111)

Compound **99** was treated as described in the general procedure and the reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature (conditions A), or for 15 h 30 at 40°C (conditions B).

Compound 111α



Chemical Formula: $C_{27}H_{29}N_3O_5$
Molecular Weight: 475,5450

R_f 0.42 (AcOEt/PE 3:7);

Optical rotation $[\alpha]_D^{23}$ = +103.0 (*c* 1, $CHCl_3$);

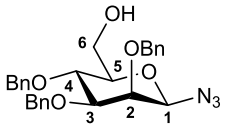
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.40-7.27 (m, 15H; ArH), 5.34 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H; H-1), 4.94 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.77 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.71-4.57 (m, 4H; OCH_2Ph), 4.02 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-5), 3.92-3.72 (m, 4H; H-3, H-4 and H-6), 3.64 (dd, *J* = 3.3, 1.9 Hz, 1H; H-2), 2.02 ppm (br s, 1H; OH);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 138.3, 138.2, 137.9, 128.63 (2), 128.58 (4), 128.14 (2), 128.08, 128.0 (2), 127.94, 127.89, 127.84 (2), 88.4, 79.2, 75.3, 74.9, 74.6, 74.2, 73.2, 72.7, 62.2 ppm;

IR (neat) 3468 (broad, O-H), 2111 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{27}H_{29}N_3O_5Na$ $[M + Na]^+$ 498.200; found 498.197.

Compound 111β



Chemical Formula: $C_{27}H_{29}N_3O_5$
Molecular Weight: 475,5450

R_f 0.35 (AcOEt/PE 3:7);

Optical rotation $[\alpha]_D^{23}$ = -73.2 (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.47-7.24 (m, 15H; ArH), 4.93 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.93 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.84 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.67 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.65 (s, 2H; OCH_2Ph), 4.45 (s, 1H; H-1), 3.98 (dd, *J* = 9.7, 9.5 Hz, 1H; H-4), 3.97-3.85 (m, 2H; H-2 and H-6a), 3.78 (m, 1H; H-6b), 3.57 (dd, *J* = 9.5, 2.7 Hz, 1H; H-3), 3.42 (ddd, *J* = 9.7, 5.0, 2.7 Hz, 1H; H-5), 2.06 ppm (br s, 1H; OH);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 138.1, 138.03, 137.99, 128.64 (2), 128.61 (2), 128.43 (2), 128.37 (2), 128.27 (2), 128.04, 127.99, 127.93, 127.7 (2), 86.8, 82.8, 78.2, 76.0, 75.5, 74.9, 74.2, 72.5, 62.3 ppm;

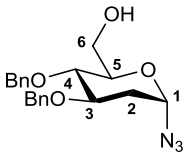
IR (neat) 3455 (broad, O-H), 2113 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{27}H_{29}N_3O_5Na$ $[M + Na]^+$ 498.200; found 498.197.

Synthesis of 1-azido-2-deoxy-3,4-di-O-benzyl-D-glucopyranoses (108)

The compound **103** was treated as described in the general procedure and the reaction mixture was stirred for 3 h 40 at room temperature (conditions A).

Compound 108α



Chemical Formula: $C_{20}H_{23}N_3O_4$
Molecular Weight: 369,4210

R_f 0.36 (toluene/acetone 9:1);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = +218.2 (*c* 0.5, $CHCl_3$);

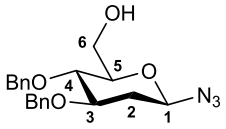
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.40-7.23 (m, 10H; ArH), 5.49 (dd, *J* = 3.2, 1.5 Hz, 1H; H-1), 4.95 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.70 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.66 (s, 2H; OCH_2Ph), 3.90 (ddd, *J* = 11.3, 8.9, 4.6 Hz, 1H; H-3), 4.86-3.74 (m, 3H; H-5 and H-6), 3.55 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H; H-4), 2.16 (ddd, *J* = 13.2, 4.6, 1.5 Hz, 1H; H-2a), 1.78 (br s, 1H; OH), 1.70 ppm (ddd, *J* = 13.2, 11.3, 4.2 Hz, 1H; H-2b);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 138.4, 138.3, 128.61 (2), 128.58 (2), 128.2 (2), 128.0, 127.9, 127.8 (2), 87.4, 77.5, 76.8, 75.1, 73.8, 72.1, 62.0, 34.9 ppm;

IR (neat) 3460 (broad, O-H), 2107 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{20}H_{23}N_3O_4Na$ $[M + Na]^+$ 392.158; found 392.159.

Compound 108β



Chemical Formula: $C_{20}H_{23}N_3O_4$
Molecular Weight: 369,4210

R_f 0.47 (toluene/acetone 9:1);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -27.9 (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.39-7.24 (m, 10H; ArH), 4.95 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.74-4.60 (m, 4H; OCH_2Ph and H-1), 3.90 (br d, *J* = 11.8 Hz, 1H; H-6a), 3.78 (m, 1H; H-6b), 3.69 (ddd, *J* = 11.4, 8.7, 4.9 Hz, 1H; H-3), 3.53 (dd, *J* = 9.5, 8.7 Hz, 1H; H-4), 3.40 (ddd, *J* = 9.5, 4.3, 2.8 Hz, 1H; H-5), 2.31 (ddd, *J* = 12.8, 4.9, 2.1 Hz, 1H; H-2a), 1.93 (br t, *J* = 7.1 Hz, 1H; OH), 1.60 ppm (dt, *J* = 12.8, 11.2 Hz, 1H; H-2b);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 138.2, 138.1, 128.6 (4), 128.2 (2), 128.1, 128.0, 127.8 (2), 86.6, 79.1, 77.7, 77.4, 75.3, 71.9, 62.2, 36.3 ppm;

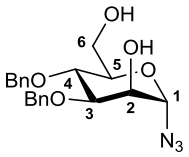
IR (neat) 3453 (broad, O-H), 2109 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{20}H_{23}N_3O_4Na$ $[M + Na]^+$ 392.158; found 392.158.

Synthesis of 1-azido-3,4-di-O-benzyl-D-mannopyranoses (113)

The compound **101** was treated as described in the general procedure and the reaction mixture was stirred for 15 min at room temperature (conditions A).

Compound 113α



Chemical Formula: $C_{20}H_{23}N_3O_5$
Molecular Weight: 385,4200

R_f 0.18 (AcOEt/PE 2:3);

Optical rotation $[\alpha]_D^{23}$ = +175.7 (*c* 0.5, $CHCl_3$);

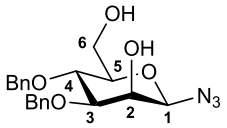
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.39-7.27 (m, 10H; ArH), 5.41 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H ; H-1), 4.88 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.71 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.69 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.66 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H; OCH_2Ph), 3.98-3.74 (m, 6H; H-2, H-3, H-4, H-5 and H-6), 3.05 (s, 1H; OH-2), 2.43 ppm (br s, 1H; OH-6);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 138.2, 137.6, 128.8 (2), 128.6 (2), 128.3, 128.1 (2), 128.04 (2), 127.99, 89.3, 79.1, 75.4, 74.0, 73.4, 72.5, 68.5, 61.7 ppm;

IR (neat) 3414 (broad, O-H), 2113 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{20}H_{23}N_3O_5Na$ $[M + Na]^+$ 408.153; found 408.150.

Compound 113β



Chemical Formula: $C_{20}H_{23}N_3O_5$
Molecular Weight: 385,4200

R_f 0.36 (AcOEt/PE 3:7);

Optical rotation $[\alpha]_D^{23}$ = -33.6 (*c* 0.5, $CHCl_3$);

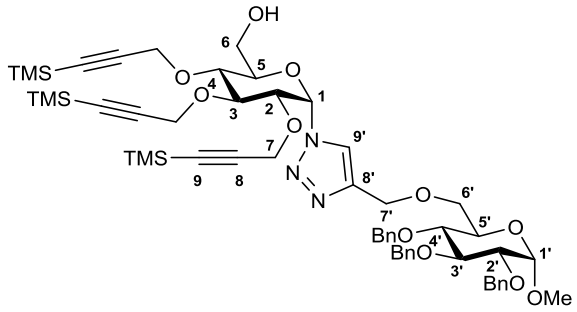
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.43-7.22 (m, 10H; ArH), 4.91 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.74 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.69 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.68 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.56 (s, 1H; H-1), 4.05 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H; H-2), 3.98-3.86 (m, 2H; H-4 and H-6a), 3.79 (dd, *J* = 12.0, 4.0 Hz, 1H; H-6b), 3.60 (dd, *J* = 9.2, 3.1 Hz, 1H; H-3), 3.41 (ddd, *J* = 9.2, 4.2, 2.6 Hz, 1H; H-5), 2.78 (br s, 1H ; OH-2), 2.33 ppm (br s, 1H; OH-6);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 138.1, 137.5, 128.8 (2), 128.6 (2), 128.3, 128.2 (2), 128.1, 128.0 (2), 87.2, 81.5, 77.8, 75.5, 73.4, 72.1, 69.2, 61.9 ppm;

IR (neat) 3428 (broad, O-H), 2114 (sharp, N_3) cm^{-1};

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{20}H_{23}N_3O_5Na$ $[M + Na]^+$ 408.153; found 408.150.

Synthesis of compound 123



Chemical Formula: $C_{55}H_{75}N_3O_{11}Si_3$
Molecular Weight: 1038,4700

To a solution of **110α** (208.6 mg, 389 µmol) and **121** (258.8 mg, 515 µmol) in THF (1 mL) was added a bright orange-yellow suspension of $CuSO_4.5H_2O$ (49 mg, 195 µmol), sodium ascorbate (77 mg, 389 µmol) and Na_2CO_3 (21 mg, 195 µmol) in water (1 mL). The biphasic mixture was vigorously stirred for 16h at room temperature. Then AcOEt was added (50 mL) and the organic phase was washed with water (3x25 mL) and evaporated. The residue was dissolved in a mixture of $CH_3CN/H_2O/NH_4OH$ (15:0.5:0.5) and filtrated through a pad of silica gel. After concentration of the filtrate, the crude product was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 1:4 to 1:1) to afford pure **123** (278.2 mg, 69%) as a viscous colorless oil.

R_f 0.40 (AcOEt/PE 1:1);

Optical rotation $[\alpha]_D^{24} = +55.6$ (*c* 1, $CHCl_3$);

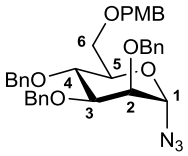
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.61 (s, 1H; H-9′), 7.37-7.22 (m, 15H; ArH), 6.19 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H; H-1), 4.98 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.83 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.82 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.78 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.69 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H; H-7), 4.65 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.62 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H; H-7), 4.60 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H; H-1′), 4.58 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H; H-7), 4.54 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H; OCH_2Ph), 4.53 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H; H-3), 4.46 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H; H-7), 4.41 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H; H-7), 4.36 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H; H-7), 4.22 (d, *J* = 16.6 Hz, 1H; H-7′a), 4.14 (d, *J* = 16.6 Hz, 1H; H-7′b), 4.04 (dd, *J* = 9.3, 5.8 Hz, 1H; H-2), 3.98 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H; H-3′), 3.86 (ddd, *J* = 12.6, 6.3, 3.2 Hz, 1H; H-6a), 3.82-3.66 (m, 5H; H-4, H-5, H-5′ and H-6′); 3.66 (ddd, *J* = 12.6, 7.7, 2.3 Hz, 1H; H-6b), 3.59 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H; H-4′), 3.53 (dd, *J* = 9.3, 3.5 Hz, 1H; H-2′), 3.36 (s, 3H; MeO), 2.08 (br dd, *J* = 7.8, 6.3 Hz, 1H; OH), 0.20-0.17 ppm (three s, 27H; TMS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 144.2, 138.9, 138.3, 138.2, 128.53 (4), 128.45 (2), 128.2 (2), 128.1 (2), 128.0 (3), 127.8, 127.6, 124.9, 102.6, 101.8, 101.4, 98.3, 92.6, 91.7, 91.4, 84.0, 82.2, 82.0, 79.9, 78.6, 77.6, 75.8, 75.2, 75.1, 74.4, 73.5, 70.1, 69.3, 65.0, 61.24, 61.22, 60.5, 60.2, 55.3, -0.1 (6), -0.2 ppm (3);

IR (neat) 3465 (O-H), 2177 cm^{-1} (weak, C≡C);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{55}H_{75}N_3O_{11}Si_3Na$ $[M + Na]^+$ 1060.460; found 1060.459.

Synthesis of 1-azido-2,3,4-tri-O-benzyl-6-paramethoxybenzyl-α-D-mannopyranose (122)



Chemical Formula: $C_{35}H_{37}N_3O_6$
Molecular Weight: 595,6960

To a stirred solution of **111α** (521.4 mg, 1.10 mmol) and PMBCl (179 µL, 1.32 mmol) in dry DMF (11 mL) was added sodium hydride (60w% in oil, 66 mg, 1.64 mmol) at 0°C. The mixture was stirred for 19h and the temperature was allowed to rise to room temperature. The reaction was quenched with a few drops of MeOH, the resulting clear solution was concentrated and the remaining DMF was co-evaporated with toluene. The residue was diluted with DCM (25 mL). The solution was washed with water (2×20 mL) and brine (20 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated do dryness. The crude oil was purified by flash chromatography (gradient from pure PE to AcOEt/PE = 1:4) to afford pure **122** (506.5 mg, 77 %) as a colorless oil.

R_f 0.62 (AcOEt/PE 1:4);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +95.6$ (*c* 1, $CHCl_3$);

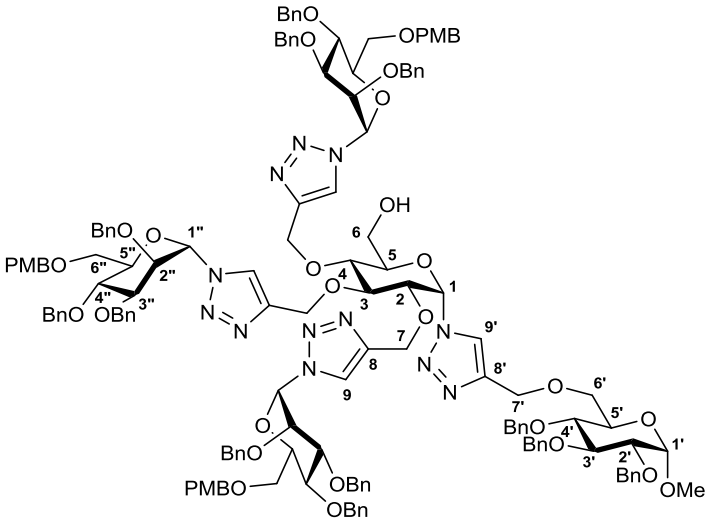
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.38-7.21 (m, 15H; ArH), 7.17-7.11 (m, 2H; ArH), 6.85-6.78 (m, 2H; ArH), 5.38 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H; H-1), 4.83 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H; OCH_2Ar), 4.72 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H; OCH_2Ar), 4.67 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H; OCH_2Ar), 4.61 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H; OCH_2Ar), 4.61 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H; OCH_2Ar), 4.56 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H; OCH_2Ar), 4.48 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H; OCH_2Ar), 4.45 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H; OCH_2Ar), 3.99 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H; H-4), 3.85 (ddd, *J* = 9.5, 4.5, 2.0 Hz, 1H; H-5), 3.80-3.74 (m, 5H; H-3, H-6a and MeO), 3.69 (dd, *J* = 11.1, 2.0 Hz, 1H; H-6b), 3.62 ppm (dd, *J* = 3.1, 2.1 Hz, 1H; H-2);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 159.3, 138.4, 138.3, 138.0, 130.4, 129.7 (2), 128.56 (2), 128.54 (2), 128.44 (2), 128.02 (4), 127.95, 127.83 (3), 127.76, 113.8 (2), 88.3, 79.2, 75.2, 74.8, 74.5, 74.1, 73.2, 72.9, 72.6, 68.5, 55.4 ppm;

IR (neat) 2110 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{35}H_{37}N_3O_6Na$ $[M + Na]^+$ 618.257; found 618.256.

Synthesis of neo-pentasaccharide 124



Chemical Formula: $C_{151}H_{162}N_{12}O_{29}$
Molecular Weight: 2609,0120

In a 5 mL microwave vial containing a solution of **123** (63.4 mg, 61 µmol) and **122** (163.4 mg, 274 µmol) in DMF (2.67 mL) were added successively a bright yellow suspension of $CuSO_4.5H_2O$ (4.6 mg, 18.3 µmol), sodium ascorbate (7.0 mg, 35.3 µmol) and Na_2CO_3 (3.1 mg, 29.2 µmol) in water (750 µL), and then a 1.0 M solution of TBAF in DCM (244 µL, 244 µmol). The resulting suspension was heated under microwave irradiation at 100°C for 1h. The solvents were removed under vacuum, using toluene for co-evaporation of the remaining DMF. The residue was diluted in $CH_3CN/H_2O/NH_4OH$ (15:0.5:0.5) and filtrated through a pad of silica gel to remove copper traces. After concentration of the filtrate, the crude brown oil was purified by flash chromatography (DCM/MeOH = 99:1) to afford the pure pseudo-pentasaccharide **124** as a viscous colorless oil (99.7 mg, 63%).

R_f 0.26 (DCM/MeOH 99:1);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +49.5$ (c 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.90 (s, 1H; H-9 or H-9′), 7.68 (s, 1H; H-9 or H-9′), 7.624 (s, 1H; H-9 or H-9′), 7.617 (s, 1H; H-9 or H-9′), 7.39-7.14 (m, 60H; ArH), 7.13-7.05 (m, 6H; ArH), 6.84-6.75 (m, 6H; ArH), 6.01 (d, J = 3.5 Hz, 1H; H-1″), 5.97 (d, J = 3.5 Hz, 1H; H-1″), 5.92 (d, J = 5.7 Hz, 1H; H-1), 5.91 (d, J = 3.5 Hz, 1H; H-1″), 5.07-4.30 (m, 43H; 12 x OCH_2Ph, 3 x OCH_2PMB, 4 x H-7, H-1′, 3 x H-2″, H-3), 4.15-3.42 (m, 35H; 3 x MeO(PMB), H-2, H-4, H-5, H-6, H-2′, H-3′, H-4′, H-5′, H-6′, 3 x [H-3″, H-4″, H-5″, H-6″]), 3.35 (s, 3H; MeO), 1.75 ppm (br s, 1H; OH);

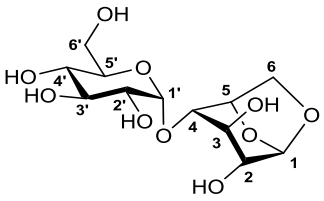
^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 159.33, 159.29, 145.6, 145.2, 144.6, 144.1, 139.0, 138.5—138.0, 137.8, 137.7, 130.2, 130.0, 129.7—129.4, 128.7—127.5, 125.2, 123.4, 123.2, 122.5, 113.9, 98.3, 85.2, 85.09, 85.04, 83.8, 82.2, 80.0, 78.6, 78.4, 78.3, 77.7, 77.6, 77.4, 75.8, 75.1, 74.9, 74.7, 74.5—73.9, 73.53, 73.49, 73.4, 73.3, 73.13, 73.09, 73.0, 72.72, 72.66, 70.1, 69.3, 68.5—68.2, 66.1, 65.7, 64.9, 60.3, 55.3 ppm;

IR (neat) 3456 cm^{-1} (O-H);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{151}H_{162}N_{12}O_{29}Na$ $[M + Na]^+$ 2630.146; found 2630.169.

Modules synthesis – Methoxy series

Synthesis of compound 105



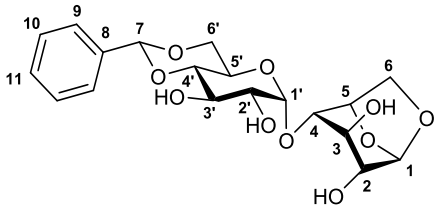
Chemical Formula: $C_{12}H_{20}O_{10}$
Molecular Weight: 324,2820

To a solution of D-(+)-maltose (1 eq., 18 g, 49.9 mmol) in water (1 L) were added successively triéthylamine (9 eq., 45.4 g, 62.4 mL, 449 mmol) and 2-chloro-1,3-dimethylimidazolium chloride (3 eq., 25 g, 150 mmol). The mixture was stirred for 15 h at room temperature. The aqueous mixture was extracted with DCM (3x200 mL). The aqueous phase was evaporated, then co-evaporated with toluene. The crude thick residue was then acetylated by adding successively pyridine (200 mL) and Ac_2O (60 mL). TLC control showed complete conversion in 3 h. The solution was then evaporated and co-evaporated with toluene. The crude residue was triturated with AcOEt and filtrated to afford NEt_3·HCl as the solid and a filtrate containing acetylated maltosan,[225] which was concentrated. The residue was then recrystallized from boiling MeOH (ca. 150 mL). The white powder was then deacetylated by adding metallic sodium (0.09 eq, 100 mg, 4.3 mmol) at 0°C to a suspension of acetylated maltosan in MeOH (200 mL). The suspension was stirred for 20 h, while it progressively became clear and then milky. The milky mixture was treated with DOWEX X8 (H^+ form) resin (10g), and then stirred for 3 h 30. Another portion of DOWEX resin (10 g) was added, and the solution became clear and colorless in 20 min. The mixture was then filtrated and concentrated, to afford pure maltosan **105** (12.6 g, 78%). Analytical data matched those reported in the literature.[274]

R_f maltosan (**105**) 0.40 (MeCN/water/30w%-NH_4OH 6:2:2, rev. $KMnO_4$);

R_f peracetylated maltosan (**134**) 0.52 (AcOEt/PE 75:25, rev. PMA).

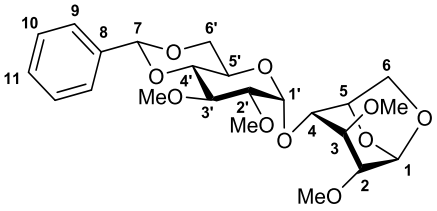
Synthesis of compound 127



Chemical Formula: $C_{19}H_{24}O_{10}$
Molecular Weight: 412,3910

A solution of **105** (1 eq., 200 mg, 0.617 mmol), phosphorus pentoxide (0.77 eq., 135 mg, 0.476 mmol) and benzaldehyde dimethyl acetal (3 eq., 282 mg, 280 µL, 1.86 mmol) in DMF (6 mL) was stirred with molecular sieves (4 Å) at 50°C under reduced pressure (0.3 bar) for 1 h 30. The crude mixture was evaporated, using several portions of toluene for coevaporation. The crude residue was purified by flash chromatography (DCM/MeOH 90:10 to 80:20) to afford **127** (111 mg, 44%). Analytical data matched those reported in the literature.[275]

Synthesis of compound 128



Chemical Formula: $C_{23}H_{32}O_{10}$
Molecular Weight: 468,4990

To a solution of **127** (1 eq., 110 mg, 0.267 mmol) in anhydrous DMF (2 mL) was added Sodium hydride (60w% in oil, 6 eq., 64 mg, 1.6 mmol). The mixture was stirred for 10 min at room temperature, and then MeI (6 eq., 227 mg, 0.1 mL, 1.6 mmol) was added. The mixture was stirred for 16 h at room temperature. The reaction was quenched by addition of MeOH. Then sat. NH_4Cl (25 mL) and water (10 mL) were added, and this aqueous mixture was extracted with AcOEt (3x25 mL). The combined organic extracts were washed with brine (2x25 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 1:1) to afford **128** (94.5 mg, 76%).

R_f 0.21 (AcOEt/PE 60:40, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{18} = +51.1$ (*c* 1, $CHCl_3$);

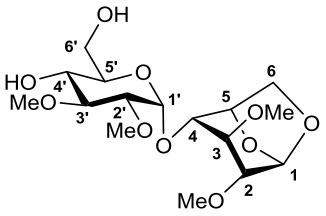
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.55-7.43 (m, 2H; H-10), 7.43-7.29 (m, 3H; H-9 and H-11), 5.54 (s, 1H; H-7), 5.44 (s, 1H; H-1), 5.19 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H; H-1′), 4.58 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H; H-5), 4.24 (dd, *J* = 10.2, 4.8 Hz, 1H; H-6′a), 3.95 (ddd, *J* = 10.3, 9.5, 4.8 Hz, 1H; H-5′), 3.86 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H; H-6a), 3.79 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H; H-3′), 3.72 (dd, *J* = 10.3, 10.2 Hz, 1H; H-6′b), 3.70 (dd, *J* = 7.3, 5.4 Hz, 1H; H-6b), 3.65 (s, 3H; MeO), 3.55 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H; H-4′), 3.55 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H; H-4), 3.54 (s, 3H; MeO), 3.48 (s, 3H; MeO), 3.47 (s, 3H; MeO), 3.41 (t, *J* = 3.4 Hz, 1H; H-3), 3.32 (dd, *J* = 9.5, 3.9 Hz, 1H; H-2′), 3.09 ppm (d, *J* = 3.4 Hz, 1H; H-2);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ 137.4 (C-8), 129.1 (C-11), 128.4 (C-9), 126.2 (C-10), 101.5 (C-7), 100.5 (C-1), 97.7 (C-1′), 82.5 (C-4′), 81.0 (C-2′), 80.6 (C-2), 79.4 (C-3), 79.1 (C-3′), 77.5 (C-4), 75.9 (C-5), 69.1 (C-6′), 66.5 (C-6), 63.1 (C-5′), 61.1 (MeO), 58.6 (two MeO), 57.6 ppm (MeO);

IR (neat) nothing significant;

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{23}H_{32}O_{10}Na$ $[M + Na]^+$ 491.189; found 491.188.

Synthesis of compound 130



Chemical Formula: $C_{16}H_{28}O_{10}$
Molecular Weight: 380,3900

To a solution of **128** (1 eq., 81.4 mg, 0.174 mmol) in DCM (1 mL) was added a 10:1 (v/v) mixture of TFA (100 µL) and H_2O (10 µL). The mixture was stirred for 16 h at room temperature. The solution was then diluted with DCM (10 mL), washed with sat. $NaHCO_3$ (2x10 mL) and brine (10 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (DCM/MeOH 95:5) to afford **130** (41.1 mg, 62%).

R_f 0.14 (DCM/MeOH 95:5, rev. $KMnO_4$);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +50.1$ (*c* 1, $CHCl_3$);

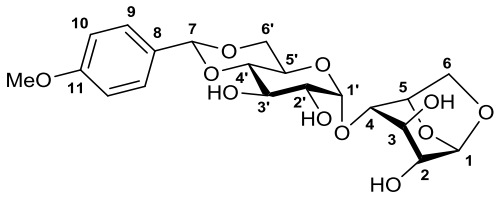
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 5.42 (s, 1H; H-1), 5.17 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H; H-1′), 4.63 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H; H-5), 3.87 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H; H-6a), 3.89-3.72 (m, 3H; H-5′ and H-6′), 3.68 (dd, *J* = 7.3, 5.5 Hz, 1H; H-6b), 3.63 (s, 3H; MeO), 3.54 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H; H-4), 3.53 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H; H-3′), 3.48 (m, 1H; H-4′), 3.47 (s, 3H; MeO), 3.46 (s, 3H; MeO), 3.45 (s, 3H; MeO), 3.40 (t, *J* = 3.3 Hz, 1H; H-3), 3.22 (dd, *J* = 8.9, 3.7 Hz, 1H; H-2′), 3.08 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H; H-2), 2.91 (br s, 1H; OH-4′), 2.36 ppm (br s, 1H; OH-6′);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ 100.5 (C-1), 96.8 (C-1′), 82.3 (C-3′), 81.7 (C-2′), 80.4 (C-2), 79.5 (C-3), 77.5 (C-4), 75.7 (C-5), 71.9 (C-5′), 70.7 (C-4′), 66.4 (C-6), 62.6 (C-6′), 61.2 (MeO), 58.5 (MeO), 58.0 (MeO), 57.6 ppm (MeO);

IR (neat) 3436 cm^{-1} (broad, O-H);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{16}H_{28}O_{10}Na$ $[M + Na]^+$ 403.157; found 403.158.

Synthesis of compound 143



Chemical Formula: $C_{20}H_{26}O_{11}$
Molecular Weight: 442,4170

A solution of **105** (1 eq., 10 g, 30.8 mmol) and paramethoxybenzaldehyde dimethyl acetal (1.5 eq., 8.43 g, 7.89 mL, 46.3 mmol) with Amberlite IR120 (H^+) (4 g) in DMF (50 mL) was heated at 65°C under 0.05 bar for 16 h, using a condenser to avoid evaporation of DMF and acetal. The reaction mixture was allowed to cool to room temperature and was filtrated to remove acidic resin. The filtrate was strongly evaporated. A mixture of DCM (100 mL) and H_2O (20 mL) was added to the crude residue, causing a white precipitate. The suspension was filtrated twice to afford pure **143** (12 g, 88%) as a white solid.

R_f 0.76 (MeCN/water 9:1, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +49.5$ (*c* 0.5, MeOH/H_2O);

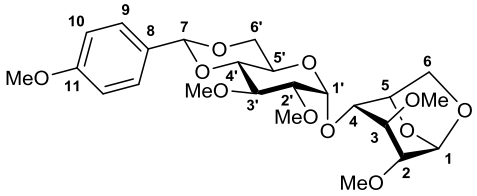
^{1}H-NMR (CD_3OD, 400 MHz) δ 7.44 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H; H-9), 6.91 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H; H-10), 5.53 (s, 1H; H-7), 5.32 (s, 1H; H-1), 5.06 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H; H-1′), 4.65 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H; H-5), 4.22 (dd, *J* = 10.4, 5.1 Hz, 1H; H-6′a), 4.12 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H; H-6a), 3.98-3.87 (m, 2H; H-3′ and H-5′), 3.79 (s, 3H; MeO), 3.79-3.66 (m, 3H; H-3, H-6b and H-6′b), 3.60 (s, 1H; H-4), 3.51 (dd, *J* = 9.5, 4.0 Hz, 1H; H-2′), 3.46 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H; H-4′), 3.42 ppm (s, 1H; H-2);

^{13}C-NMR (CD_3OD, 100 MHz) δ 161.7 (C-11), 131.6 (C-8), 129.0 (C-9), 114.5 (C-10), 103.5 (C-1), 103.2 (C-7), 100.4 (C-1′), 82.9 (C-4′), 78.3 (C-4), 76.9 (C-5), 74.4 (C-2′), 72.1 (C-2 and C-3′), 71.7 (C-3), 70.0 (C-6′), 66.5 (C-6), 64.7 (C-5′), 55.8 ppm (MeO);

IR (neat) ν = 3305 cm^{-1} (broad, O-H);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{20}H_{26}O_{11}Na$ $[M + Na]^+$ 465.137; found 465.136.

Synthesis of compound 144



Chemical Formula: $C_{24}H_{34}O_{11}$
Molecular Weight: 498,5250

To a solution of **143** (1 eq., 1 g, 2.26 mmol) in anhydrous DMF (15 mL) was added Sodium hydride (60w% in oil, 6 eq., 0.542 g, 13.6 mmol) at -10°C. The mixture was stirred for 10 min and MeI (6 eq., 1.92 g, 0.844 mL, 13.6 mmol) was added at -10°C. The mixture was stirred for 20 h, allowing the temperature to slowly raise to 15°C. The reaction was quenched by addition of MeOH. Then sat. NH_4Cl (50 mL) was added and the mixture was extracted with AcOEt (3x50 mL). The combined organic extracts were washed with brine (50 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was recrystallized from boiling MeOH (ca. 50 mL) to afford **144** (1.11 g, 99%) as a white solid.

R_f 0.77 (DCM/MeOH 8:2, rev. PMA);

Melting point 136.0°C;

Optical rotation $[\alpha]_D^{26} = +45.8$ (c 1, $CHCl_3$);

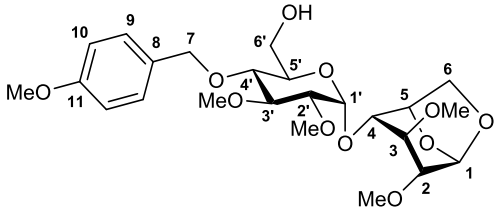
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.41 (d, J = 8.7 Hz, 2H; H-9), 6.89 (d, J = 8.7 Hz, 2H; H-10), 5.50 (s, 1H; H-7), 5.44 (s, 1H; H-1), 5.18 (d, J = 3.8 Hz, 1H; H-1′), 4.58 (d, J = 5.4 Hz, 1H; H-5), 4.21 (dd, J = 10.3, 4.9 Hz, 1H; H-6′a), 3.93 (td, J = 9.9, 4.6 Hz, 1H; H-5′), 3.86 (d, J = 7.3 Hz, 1H; H-6a), 3.80 (s, 3H; MeO), 3.78 (t, J = 9.4 Hz, 1H; H-3′), 3.69 (dd, J = 7.3, 5.5 Hz, 1H; H-6b), 3.69 (dd, J = 10.3, 9.9 Hz, 1H; H-6′b), 3.63 (s, 3H; MeO), 3.57-3.49 (m, 5H; H-4, H-4′ and MeO), 3.47 (s, 3H; MeO), 3.46 (s, 3H; MeO), 3.40 (t, J = 3.5 Hz, 1H; H-3), 3.31 (dd, J = 9.4, 3.8 Hz, 1H; H-2′), 3.09 ppm (d, J = 3.3 Hz, 1H; H-2);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 160.2 (C-11), 129.9 (C-8), 127.5 (C-9), 113.7 (C-10), 101.5 (C-7), 100.5 (C-1), 97.7 (C-1′), 82.4 (C-4′), 81.0 (C-2′), 80.5 (C-2), 79.3 (C-3), 79.1 (C-3′), 77.4 (C-4), 75.8 (C-5), 69.0 (C-6′), 66.5 (C-6), 63.1 (C-5′), 61.1 (MeO), 58.5 (two MeO), 57.6 (MeO), 55.4 ppm (MeO);

IR (neat) nothing significant;

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{24}H_{34}O_{11}Na$ $[M + Na]^+$ 521.1993; found 521.2035.

Synthesis of compound 145



Chemical Formula: $C_{24}H_{36}O_{11}$
Molecular Weight: 500,5410

To a solution of commercial 1.0 M DIBAL-H (3 eq., 11.1 mL, 11.1 mmol) in hexanes, diluted with DCM (10 mL), was added **144** (1 eq., 1.85 g, 3.71 mmol) in DCM (10 mL) in one portion at 20 °C. The mixture was stirred for 5 min at 20 °C. TLC control showed total conversion of the starting material. The reaction was very carefully quenched with MeOH at room temperature until the end of the gas release. Then a 1 M HCl solution (150 mL) was added to the mixture, which was extracted with DCM (3x100 mL). The combined organic extracts were washed with water (150 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated to afford pure **145** (1.84 g, 99%).

R_f 0.29 (DCM/MeOH 95:5, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +57.1$ (*c* 1, $CHCl_3$);

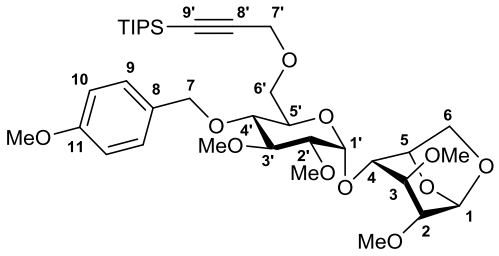
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.28 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H; H-9), 6.89 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H; H-10), 5.41 (s, 1H; H-1), 5.17 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H; H-1′), 4.80 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H; H-7a), 4.57 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H; H-5), 4.57 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H; H-7b), 3.84 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H; H-6a), 3.80 (s, 3H; MeO), 3.81-3.72 (m, 2H; H-5′ and H-6′a), 3.70-3.62 (m, 3H; H-3′, H-6b and H-6′b), 3.66 (s, 3H; MeO), 3.51 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H; H-4), 3.51 (s, 3H; MeO), 3.47 (s, 3H; MeO), 3.45 (s, 3H; MeO), 3.39 (t, *J* = 3.4 Hz, 1H; H-3), 3.38 (dd, *J* = 9.7, 8.9 Hz, 1H; H-4′), 3.22 (dd, *J* = 9.7, 3.7 Hz, 1H; H-2′), 3.07 ppm (d, *J* = 3.4 Hz, 1H; H-2);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 159.5 (C-11), 130.4 (C-8), 129.9 (C-9), 114.0 (C-10), 100.4 (C-1), 96.4 (C-1′), 83.1 (C-3′), 81.8 (C-2′), 80.6 (C-2), 79.5 (C-3), 77.3 (C-4′), 77.1 (C-4), 75.6 (C-5), 74.6 (C-7), 71.5 (C-5′), 66.5 (C-6), 62.1 (C-6′), 61.1, 58.5, 58.3, 57.5, 55.4 ppm (MeO);

IR (neat) 3474 cm^{-1} (broad, O-H);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{24}H_{36}O_{11}Na$ $[M + Na]^+$ 523.2150; found 523.2150.

Synthesis of compound 147



Chemical Formula: $C_{36}H_{58}O_{11}Si$
Molecular Weight: 694,9340

To a solution of **145** (1 eq., 3.10 g, 6.19 mmol) and (triisopropylsilyl)propargyl bromide (2 eq., 3.41 g, 3.12 mL, 12.4 mmol) in anhydrous THF (40 mL) was added sodium hydride (60w% in oil, 1.5 eq., 372 mg, 9.29 mmol) at 20 °C. The mixture was stirred for 40 h at 20 °C. The reaction was quenched with MeOH (until the precipitate dissolves) and the mixture was concentrated. Then sat. NH_4Cl (250 mL) was added and the mixture was extracted with DCM (3x150 mL). The combined organic extracts were washed with water (250 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (DCM/MeOH 99:1) to afford **147** (4.34 g, quantitative).

R_f 0.52 (DCM/MeOH 95:5, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +50.0$ (*c* 0.5, $CHCl_3$);

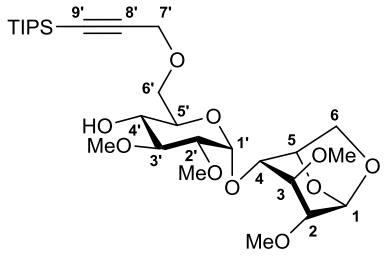
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.27 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H; H-9), 6.87 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H; H-10), 5.40 (s, 1H; H-1), 5.16 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H; H-1′), 4.76 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H; H-7a), 4.57 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H; H-7b), 4.57 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H; H-5), 4.24 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H; H-7′a), 4.17 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H; H-7′b), 3.86 (ddd, *J* = 10.1, 4.2, 1.9 Hz, 1H; H-5′), 3.83 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H; H-6a), 3.80 (s, 3H; MeO), 3.75 (dd, *J* = 10.3, 1.9 Hz, 1H; H-6′a), 3.69 (dd, *J* = 10.4, 4.3 Hz, 1H; H-6′b), 3.64 (dd, *J* = 9.7, 8.8 Hz, 1H; H-3′), 3.64 (dd, *J* = 7.3, 5.5 Hz, 1H; H-6b), 3.62 (s, 3H; MeO), 3.51 (dd, *J* = 4.1, 1.6 Hz, 1H; H-4), 3.48 (s, 3H; MeO), 3.46 (s, 3H; MeO), 3.45 (dd, *J* = 10.1, 8.8 Hz, 1H; H-4′), 3.45 (s, 3H; MeO), 3.38 (t, *J* = 3.9 Hz, 1H; H-3), 3.25 (dd, *J* = 9.7, 3.7 Hz, 1H; H-2′), 3.06 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H; H-2), 1.04 ppm (s, 21H; TIPS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 159.4 (C-8), 130.7 (C-11), 129.7 (C-9), 113.9 (C-10), 103.0 (C-8′), 100.6 (C-1), 97.0 (C-1′), 88.1 (C-9′), 83.1 (C-3), 81.7 (C-2′), 81.1 (C-2), 79.6 (C-3′), 77.8 (C-4), 77.5 (C-4′), 75.9 (C-5), 74.7 (C-7), 70.7 (C-5′), 68.4 (C-6′), 66.7 (C-6), 61.1 (MeO), 59.6 (C-7′), 58.7 (MeO), 58.2 (MeO), 57.6 (MeO), 55.4 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 ppm (CH TIPS);

IR (neat) 2178 cm^{-1} (very weak, C≡CSiR_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{36}H_{58}O_{11}SiNa$ $[M + Na]^+$ 717.3641; found 717.3542.

Synthesis of compound 132



Chemical Formula: $C_{28}H_{50}O_{10}Si$
Molecular Weight: 574,7830

To a solution of **147** (1 eq., 4.34 g, 6.24 mmol) in a 10:1 mixture of DCM (15 mL) and H_2O (1.5 mL) was added DDQ (1.25 eq., 1.81 g, 7.81 mmol) at 20 °C. The mixture was stirred for 45 min at 20 °C. Sat. $NaHCO_3$ (300 mL) was added and the aqueous mixture was extracted with DCM (3x150 mL). The combined organic extracts were washed with water (350 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (DCM/MeOH 99:1 to 98:2) to afford **132** (2.77 g, 77%).

R_f 0.26 (DCM/MeOH 95:5, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +46.0$ (*c* 0.5, $CHCl_3$);

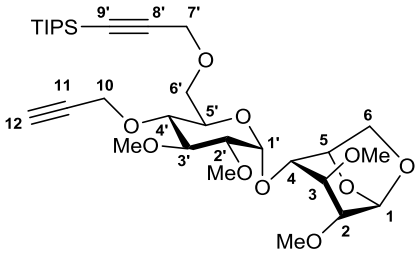
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.41 (s, 1H; H-1), 5.17 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H; H-1′), 4.62 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H; H-5), 4.23 (s, 2H; H-7′), 3.88 (m, 1H; H-5′), 3.86 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H; H-6a), 3.80 (dd, *J* = 10.2, 2.6 Hz, 1H; H-6′a), 3.75 (dd, *J* = 10.2, 5.0 Hz, 1H; H-6′b), 3.66 (dd, *J* = 7.1, 5.5 Hz, 1H; H-6b), 3.63 (s, 3H; MeO), 3.56-3.49 (m, 3H; H-4, H-3′ and H-4′), 3.469 (s, 3H; MeO), 3.465 (s, 3H; MeO), 3.457 (s, 3H; MeO), 3.39 (t, *J* = 3.7 Hz, 1H; H-3), 3.26 (m, 1H; H-2′), 3.07 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H; H-2), 1.06 ppm (s, 21H; TIPS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 103.0 (C-8′), 100.6 (C-1), 97.1 (C-1′), 88.2 (C-9′), 82.3 (C-3′), 81.4 (C-2′), 81.0 (C-2), 79.5 (C-3), 78.0 (C-4), 75.9 (C-5), 70.8 (C-5′), 70.6 (C-4′), 68.7 (C-6′), 66.7 (C-6), 61.1 (MeO), 59.7 (C-7′), 58.7 (MeO), 57.8 (MeO), 57.6 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 ppm (CH TIPS);

IR (neat) 3460 (broad, O-H), 2178 cm^{-1} (very weak, C≡CSiR$_3$);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{28}H_{50}O_{10}SiNa$ $[M + Na]^+$ 597.3065; found 597.3058.

Synthesis of module x1 ON-OFF (148)



Chemical Formula: $C_{31}H_{52}O_{10}Si$
Molecular Weight: 612,8320

*From **132**:* To a solution of **132** (1 eq., 930 mg, 1.62 mmol), propargyl bromide (80w% in toluene, 5 eq., 1.20 g, 0.870 mL, 8.09 mmol) and MeOH (0.1 eq., 4.7 mg, 6 µL, 0.16 mmol) in anhydrous THF (25 mL) was added Sodium hydride (60w% in oil, 5 eq., 324 mg, 8.09 mmol) at 20 °C. The mixture was stirred for 21 h at 20 °C. The reaction was quenched with MeOH and concentrated. Sat. NH_4Cl (150 mL) was added and the aqueous mixture was extracted with AcOEt (3x150 mL). The combined organic extracts were washed with brine (150 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (DCM/MeOH 99:1) to afford **148** (1.02 g, quantitative).

*From **125**:* To a solution of **125** (1 eq., 50.4 mg, 0.0693 mmol) in a mixture 7:4:1 (v/v/v) mixture of DCM (2 mL) / MeOH (1.1 mL) / water (0.35 mL) was added $AgNO_3$ (4.96 eq., 58.4 mg, 0.344 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 18 h. The reaction was quenched with NH_4Cl (30 ml) and extracted with DCM (30 mL). The organic layer was washed with NH_4Cl (2 x 30 mL), dried with Na_2SO_4 and evaporated.

R_f 0.52 (DCM/MeOH 95:5, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{24} = +56.0$ (*c* 1, $CHCl_3$);

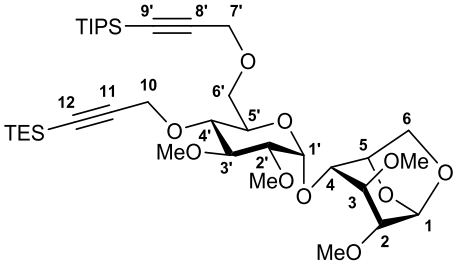
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.40 (s, 1H; H-1), 5.15 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H; H-1′), 4.58 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H; H-5), 4.39 (s, 2H; H-10), 4.24 (s, 2H; H-7′), 3.84 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H; H-6a), 3.82 (m, 1H; H-5′), 3.80 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H; H-6′a), 3.72 (dd, *J* = 10.2, 4.6 Hz, 1H; H-6′b), 3.64 (dd, *J* = 7.1, 5.1 Hz, 1H; H-6b), 3.62 (s, 3H; MeO), 3.62 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H; H-3′), 3.51 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H; H-4), 3.47 (s, 3H; MeO), 3.45 (s, 6H; two MeO), 3.42 (t, *J* = 9.8 Hz, 1H; H-4′), 3.37 (t, *J* = 3.3 Hz, 1H; H-3), 3.23 (dd, *J* = 9.6, 3.3 Hz, 1H; H-2′), 3.06 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H; H-2), 2.43 (s, 1H; H-12), 1.06 ppm (s, 21H; TIPS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 102.9 (C-8′), 100.6 (C-1), 96.8 (C-1′), 88.2 (C-9′), 83.0 (C-3′), 81.6 (C-2′), 81.0 (C-2), 80.1 (C-11), 79.5 (C-3), 77.7 (C-4), 77.0 (C-4′), 75.8 (C-5), 74.4 (C-12), 70.3 (C-5′), 68.3 (C-6′), 66.7 (C-6), 61.1 (MeO), 59.8 (C-7′), 59.5 (C-10), 58.6 (MeO), 58.2 (MeO), 57.6 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 ppm (CH TIPS);

IR (neat) 3264 (weak, CC-H), 2178 (very weak, C≡CSiR_3), 2118 cm^{-1} (very weak, C≡CH),

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{31}H_{52}O_{10}SiNa$ $[M + Na]^+$ 635.3222; found 635.3240.

Synthesis of module x1 OFF-OFF (125)



Chemical Formula: $C_{37}H_{66}O_{10}Si_2$
Molecular Weight: 727,0950

To a solution of **148** (1 eq., 1.25 g, 2.04 mmol) in anhydrous THF (20 mL) was added dropwise a commercial solution of LiHMDS in THF (2.5 eq., 1 M, 5.11 mL, 5.11 mmol) at 0 °C. The mixture was stirred for 10 min at 0 °C and then chlorotriethylsilane (1.5 eq., 0.472 g, 0.525 mL, 3.07 mmol) was added dropwise. The mixture was stirred for 30 min at 0 °C. TLC showed complete conversion. The reaction was quenched by the addition of sat. NH_4Cl (100 mL). The aqueous mixture was extracted with DCM (3x100 mL). The combined organic extracts were washed with water (100 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 15:85 to 50:50) to afford **125** (1.48 g, quantitative).

R_f 0.59 (AcOEt/PE 1:1, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +51.9$ (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.40 (s, 1H: H-1), 5.15 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H; H-1′), 4.59 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H; H-5), 4.41 (s, 2H; H-10), 4.22 (s, 2H; H-7′), 3.85 (dd, *J* = 10.2, 1.7 Hz, 1H; H-6′a), 3.85 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H; H-6a), 3.84 (ddd, *J* = 9.1, 5.5, 1.7 Hz, 1H; H-5′), 3.67 (dd, *J* = 10.1, 5.5 Hz, 1H; H-6′b), 3.65 (dd, *J* = 7.1, 5.2 Hz, 1H; H-6b), 3.62 (s, 3H; MeO), 3.61 (dd, *J* = 9.6, 9.1 Hz, 1H; H-3′), 3.52 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H; H-4), 3.47 (s, 3H; MeO), 3.46 (s, 3H; MeO), 3.45 (s, 3H; MeO), 3.39 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H; H-4′), 3.38 (dd, *J* = 4.1, 3.8 Hz, 1H; H-3), 3.22 (dd, *J* = 9.6, 3.8 Hz, 1H; H-2′), 3.05 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H; H-2), 1.07 (s, 21H; TIPS), 0.99 (t, *J* = 7.9 Hz, 9H; CH_3 TES), 0.60 ppm (q, *J* = 7.9 Hz, 6H; CH_2 TES);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 103.0 (C-11 and C-8′), 100.7 (C-1), 97.0 (C-1′), 88.7 (C-12 or C-9′), 88.0 (C-12 or C-9′), 83.1 (C-3′), 81.6 (C-2′), 81.4 (C-2), 79.7 (C-3), 78.0 (C-4), 77.3 (C-4′), 76.0 (C-5), 70.4 (C-5′), 68.8 (C-6′), 66.9 (C-6), 61.0 (MeO), 60.8 (C-7′), 59.5 (C-10), 58.7 (MeO), 58.2 (MeO), 57.6 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 (CH TIPS), 7.6 (CH_3 TES), 4.4 ppm (CH_2 TES);

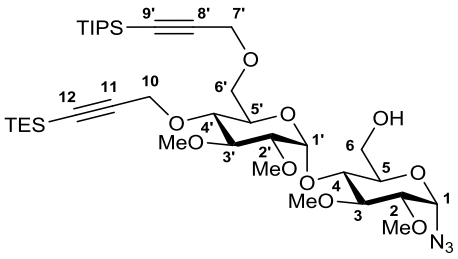
IR (neat) 2177 cm^{-1} (weak, C≡CSiR$_3$);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{37}H_{66}O_{10}Si_2Na$ $[M + Na]^+$ 749.4087; found 749.3982.

Anhydro opening of module x1 OFF-OFF (125)

To a solution of **125** (1 eq., 493 mg, 0.678 mmol) and $TMSN_3$ (10 eq., 822 mg, 0.948 mL, 6.78 mmol) in anhydrous MeCN (15 mL) was added a solution of TMSOTf (0.5 eq., 76.9 mg, 0.0626 mL, 0.339 mmol) and NEt_3 (0.3 eq., 20.6 mg, 0.0283 mL, 0.203 mmol) in MeCN (1.5 mL). The mixture was stirred for 4 h 30 at 20 °C. TLC control showed complete conversion of the starting material. The reaction was quenched with sat. $NaHCO_3$ (150 mL). AcOEt was added (150 mL) and the layers were separated. The organic phase was washed with sat. $NaHCO_3$ (2x150 mL). Conc. HCl (1 mL) was added along with MeOH (10 mL). After a brief shaking, the mixture was washed with water (150 mL) and brine (150 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 10:90 to 40:60) to afford **160α** (403 mg, 77%) and **160β** (87 mg, 17%).

Module x1 OFF-ON (160α)



Chemical Formula: $C_{37}H_{67}N_3O_{10}Si_2$
Molecular Weight: 770,1240

R_f 0.33 (AcOEt/PE 35:65, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +119.6$ (*c* 0.5, $CHCl_3$);

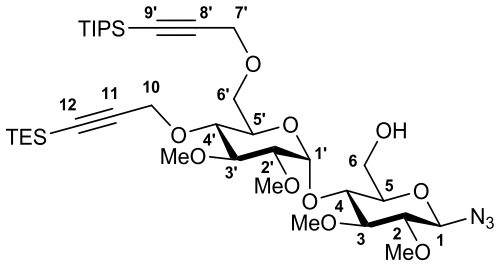
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.52 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H; H-1′), 5.47 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H; H-1), 4.43 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H; H-10a), 4.38 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H; H-10b), 4.26 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H; H-7′a), 4.19 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H; H-7′b), 4.01 (dd, *J* = 10.0, 1.1 Hz, 1H; H-6′a), 3.91 (dd, *J* = 12.9, 2.5 Hz, 1H; H-6a), 3.86 (dd, *J* = 10.0, 8.6 Hz, 1H; H-4), 3.76 (ddd, *J* = 10.0, 2.5, 1.9 Hz, 1H; H-5), 3.73 (dd, *J* = 12.9, 1.9 Hz, 1H; H-6b), 3.70 (ddd, *J* = 10.0, 7.4, 1.1 Hz, 1H; H-5′), 3.63 (s, 3H; MeO), 3.62 (dd, *J* = 9.5, 8.6 Hz, 1H; H-3), 3.59 (s, 3H; MeO), 3.58 (dd, *J* = 10.2, 7.4 Hz, 1H; H-6′b), 3.56 (s, 3H; MeO), 3.51 (s, 3H; MeO), 3.49 (dd, *J* = 9.9, 9.0 Hz, 1H; H-3′), 3.32 (dd, *J* = 9.5, 4.1 Hz, 1H; H-2), 3.29 (dd, *J* = 10.0, 9.0 Hz, 1H; H-4′), 3.17 (dd, *J* = 9.9, 4.2 Hz, 1H; H-2′), 1.07 (s, 21H; TIPS), 0.99 (t, *J* = 7.9 Hz, 9H; CH_3 TES), 0.61 ppm (q, *J* = 7.9 Hz, 6H; CH_2 TES);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 102.7 (C-11 or C-8′), 102.5 (C-11 or C-8′), 97.8 (C-1′), 89.1 (C-12 or C-9′), 88.6 (C-12 or C-9′), 87.1 (C-1), 83.9 (C-3′), 83.2 (C-3), 82.3 (C-2), 82.0 (C-2′), 77.0 (C-4′), 73.1 (C-4), 72.6 (C-5′), 71.2 (C-5), 69.3 (C-6′), 61.0 (MeO), 60.7 (MeO), 60.6 (C-10), 60.5 (C-6), 60.1 (MeO), 59.5 (C-7′), 59.1 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 (CH TIPS), 7.6 (CH_3 TES), 4.4 ppm (CH_2 TES);

IR (neat) 3498 (broad, O-H), 2178 (very weak, C≡CSiR$_3$), 2113 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{37}H_{67}N_3O_{10}Si_2Na$ $[M + Na]^+$ 792.4257; found 792.4230.

Compound 160β



Chemical Formula: $C_{37}H_{67}N_3O_{10}Si_2$
Molecular Weight: 770,1240

R_f 0.53 (AcOEt/PE 35:65, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +33.6$ (*c* 0.5, $CHCl_3$);

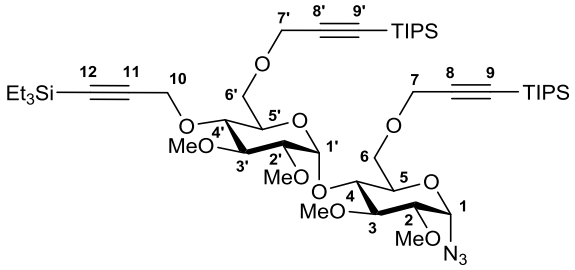
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.51 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H; H-1′), 4.49 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H; H-1), 4.40 (s, 2H; H-10), 4.26 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H; H-7′a), 4.20 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H; H-7′b), 3.94 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H; H-6′a), 3.89-3.79 (m, 3H; H-4 and H-6), 3.69 (dd, *J* = 9.5, 6.5 Hz, 1H; H-5′), 3.63 (m, 1H; H-6′b), 3.63 (s, 3H; MeO), 3.60 (s, 3H; MeO), 3.58 (s, 3H; MeO), 3.56 (s, 3H; MeO), 3.47 (dd, *J* = 9.8, 8.9 Hz, 1H; H-3′), 3.44-3.37 (m, 2H; H-3 and H-5), 3.32 (dd, *J* = 9.5, 8.9 Hz, 1H; H-4′), 3.17 (dd, *J* = 9.8, 4.1 Hz, 1H; H-2′), 2.97 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H; H-2), 2.82 (br s, 1H; O-H), 1.07 (s, 21H; TIPS), 0.99 (t, *J* = 7.9 Hz, 9H; CH_3 TES), 0.61 ppm (q, *J* = 7.9 Hz, 6H; CH_2 TES);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 102.8 (C-11 or C-8′), 102.7 (C-11 or C-8′), 97.5 (C-1′), 90.0 (C-1), 89.0 (C-12 or C-9′), 88.5 (C-12 or C-9′), 86.8 (C-3), 84.2 (C-2), 83.8 (C-3′), 81.9 (C-2′), 77.2 (C-5 or C-4′), 77.1 (C-5 or C-4′), 72.5 (C-4), 71.1 (C-5′), 68.9 (C-6′), 61.02 (MeO), 60.99 (C-6), 60.8 (C-10), 60.6 (MeO), 60.4 (MeO), 60.1 (MeO), 59.5 (C-7′), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 (CH TIPS), 7.6 (CH_3 TES), 4.4 ppm (CH_2 TES);

IR (neat) 3453 (broad, O-H), 2178 (very weak, C≡CSiR_3), 2114 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{37}H_{67}N_3O_{10}Si_2Na$ $[M + Na]^+$ 792.4257; found 792.4283.

Synthesis of module x2 OFF-ON (162)



Chemical Formula: $C_{49}H_{89}N_3O_{10}Si_3$
Molecular Weight: 964,5170

To a solution of **160α** (1 eq., 11.8 mg, 0.0153 mmol) and (triisopropylsilyl)propargyl bromide (3 eq., 12.7 mg, 12 µL, 0.046 mmol) in anhydrous THF (0.5 mL) was added sodium hydride (60w% in oil, 3 eq., 1.8 mg, 0.046 mmol) at 20 °C. The mixture was stirred for 20 h at 20 °C. The reaction was quenched with MeOH and concentrated. Then sat. NH_4Cl (20 mL) was added and the aqueous mixture was extracted with AcOEt (3x20 mL). The combined organic extracts were washed with water (10 mL) and brine (10 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 10:90 to 20:80) to afford **162** (10.5 mg, 71%).

R_f 0.72 (AcOEt/PE 30:70, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +89.3$ (*c* 1, $CHCl_3$);

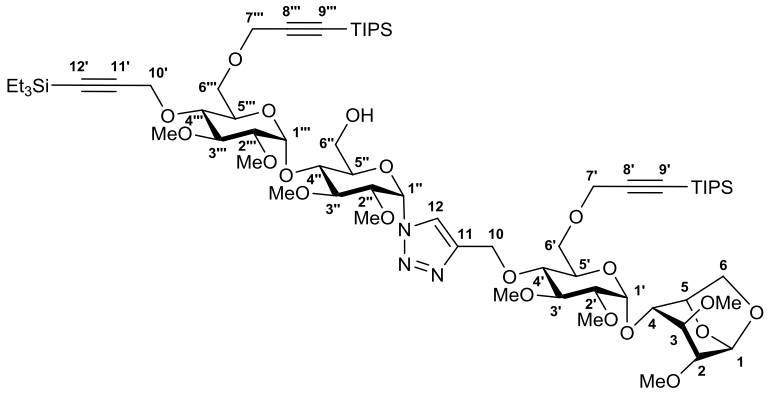
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.58 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H; H-1′), 5.45 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H; H-1), 4.41 (s, 2H; H-10), 4.33 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H; H-7a), 4.25 (s, 2H; H-7′), 4.11 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H; H-7b), 3.92 (dd, *J* = 11.3, 1.3 Hz, 1H; H-6a), 3.90 (ddd, *J* = 10.2, 3.1, 1.3 Hz, 1H; H-5), 3.84 (dd, *J* = 10.2, 8.6 Hz, 1H; H-4), 3.79 (dd, *J* = 10.3, 1.7 Hz, 1H; H-6′a), 3.72 (dd, *J* = 10.3, 4.4 Hz, 1H; H-6′b), 3.70 (dd, *J* = 11.3, 3.1 Hz, 1H; H-6b), 3.64 (ddd, *J* = 9.4, 3.1, 1.7 Hz, 1H; H-5′), 3.63 (s, 3H; MeO), 3.57 (dd, *J* = 9.5, 8.6 Hz, 1H; H-3), 3.56 (s, 3H; MeO), 3.53 (s, 3H; MeO), 3.50 (s, 3H; MeO), 3.48 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-3′), 3.41 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-4′), 3.33 (dd, *J* = 9.5, 4.1 Hz, 1H; H-2), 3.16 (dd, *J* = 9.5, 3.7 Hz, 1H; H-2′), 1.07 (s, 42H; two TIPS), 0.99 (t, *J* = 7.9 Hz, 9H; CH_3 TES), 0.60 ppm (q, *J* = 7.9 Hz, 6H; CH_2 TES);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 103.3 (C-8, C-8′ or C-11), 103.1 (C-8, C-8′ or C-11), 103.0 (C-8, C-8′ or C-11), 96.7 (C-1′), 88.5 (C-9, C-9′ or C-12), 88.3 (C-9, C-9′ or C-12), 88.0 (C-9, C-9′ or C-12), 87.1 (C-1), 83.4 (C-3 or C-3′), 83.3 (C-3 or C-3′), 82.0 (C-2 or C-2′), 81.8 (C-2 or C-2′), 77.5 (C-4′), 72.1 (C-4), 71.8 (C-5), 70.7 (C-5′), 68.5 (C-6′), 67.1 (C-6), 61.0 (MeO), 60.9 (C-10), 60.5 (MeO), 59.5 (C-7′), 59.4 (MeO), 59.3 (C-7), 59.1 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 (CHTIPS), 7.5 (CH_3 TES), 4.4 ppm (CH_2 TES);

IR (neat) 2168 (weak, C≡CSiR_3), 2113 cm^{-1} (strong, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{49}H_{89}N_3O_{10}Si_3Na$ $[M + Na]^+$ 986.5748; found 986.5652.

Synthesis of module 1+1 OFF-OFF (172)



Chemical Formula: $C_{68}H_{119}N_3O_{20}Si_3$
Molecular Weight: 1382,9560

To a 5 mL microwave vial containing **160α** (1 eq., 14.2 mg, 0.0184 mmol) and **148** (1.17 eq., 13.2 mg, 0.0215 mmol) in DMF (0.5 mL) was added a bright yellow solution of $CuSO_4{\cdot}5H_2O$ (0.2 eq., 0.921 mg, 0.00369 mmol) and sodium ascorbate (0.4 eq., 1.46 mg, 0.00738 mmol) in water (0.1 mL). The mixture was stirred and heated under microwave irradiation at 90°C for 3 h. The mixture was transferred in a flask with MeOH and evaporated. The residue was then diluted in a 9:1 (v/v) mixture MeCN/30w%-NH_4OH and filtrated on a pad of silica gel, using the same mixture as eluent (25 mL). Copper precipitated as a blue powder and remained at the top of the silica gel pad. The filtrate was concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (DCM/MeOH 99:1 to 96:4) to afford **172** (15.4 mg, 60%).

R_f 0.39 (DCM/MeOH 95:5, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +71.6$ (*c* 0.5, $CHCl_3$);

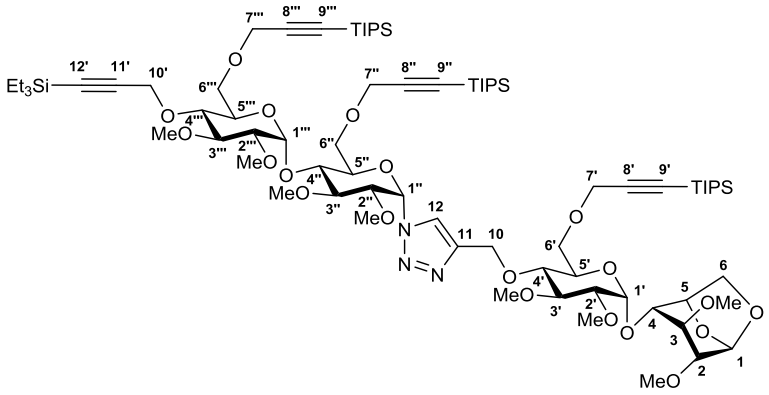
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.73 (s, 1H; H-12), 6.15 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H; H-1″), 5.49 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H; H-1‴), 5.40 (s, 1H; H-1), 5.16 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H; H-1′), 4.98 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H; H-10a), 4.82 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H; H-10b), 4.58 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H; H-5), 4.46-4.34 (m, 2H; H-10′), 4.34-4.14 (m, 5H; H-3″, H-7′ and H-7‴), 4.03-3.93 (m, 2H; H-4″ and H-6‴a), 3.90-3.43 (m, 36H; H-2″, H-3′, H-3‴, H-4, H-4′, H-5′, H-5″, H-5‴, H-6, H-6′, H-6″, H-6‴b and seven MeO), 3.41 (s, 3H; MeO), 3.38 (t, *J* = 3.6 Hz, 1H; H-3), 3.33-3.29 (m, 1H; H-4‴), 3.26 (dd, *J* = 9.8, 3.6 Hz, 1H; H-2′), 3.16 (dd, *J* = 9.8, 4.2 Hz, 1H; H-2‴), 3.06 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H; H-2), 1.09-1.03 (m, 42H; two TIPS), 0.99 (t, *J* = 7.9 Hz, 9H; CH_3 TES), 0.61 ppm (q, *J* = 7.8 Hz, 6H; CH_2 TES);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 144.7 (C-11), 124.3 (C-12), 103.0, 102.8, 102.6 (C-8′, C-8‴ and C-11′), 100.6 (C-1), 98.1 (C-1‴), 97.1 (C-1′), 89.0, 88.5, 88.2 (C-9′, C-9‴ and C-12′), 83.7 (C-3‴), 83.26, 83.22 (C-1″ and C-3″), 82.9 (C-3′), 82.0 (C-2‴), 81.7, 81.6 (C-2′ and C-2″), 80.9 (C-2), 79.5 (C-3), 78.1, 77.8 (C-4 and C-4′), 77.0 (C-4‴), 75.8 (C-5), 74.4 (C-5″), 73.7 (C-4″), 71.3 (C-5‴), 70.6 (C-5′), 69.3 (C-6‴), 68.1 (C-6′), 66.6 (C-6), 66.2 (C-10), 61.1 (MeO), 60.0 (MeO), 60.6 (C-6″ or C-10′), 60.54 (MeO), 60.49 (C-6″ or C-10′), 59.9 (MeO), 59.7, 59.5 (C-7′ and C-7‴), 59.4 (MeO), 58.6 (MeO), 58.2 (MeO), 57.6 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 (CH TIPS), 7.6 (CH_3 TES), 4.4 ppm (CH_2 TIPS);

IR (neat) 3477 (broad, O-H), 2186 cm^{-1} (very weak, C≡CSiR_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{68}H_{119}N_3O_{20}Si_3Na$ $[M + Na]^+$ 1404.7587; found 1404.7491.

Synthesis of module 2+1 OFF-OFF (174)



Chemical Formula: $C_{80}H_{141}N_3O_{20}Si_4$
Molecular Weight: 1577,3490

To a solution of **162** (1 eq., 200 mg, 0.207 mmol) and **148** (1 eq., 127 mg, 0.207 mmol) in THF (3 mL) was added a bright yellow suspension of $CuSO_4{\cdot}5H_2O$ (0.5 eq., 25.9 mg, 0.104 mmol) and sodium ascorbate (1 eq., 41.1 mg, 0.207 mmol) in water (3 mL) at 20 °C. The mixture was stirred for 21 h at 50 °C., while it slowly darkened. The reaction mixture was diluted with a 3:1:1 (v/v/v) mixture of MeCN/AcOEt/30w%-NH_4OH and was filtrated on a pad of silica gel (2 cm thick) using the same mixture as eluent (50 mL). Copper precipitated as a blue powder and remained at the top of the silica gel pad. The filtrate was concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (DCM/MeOH 99:1 to 98:2) to afford **174** (267 mg, 82%).

R_f 0.46 (DCM/MeOH 95:5, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +54.0$ (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.69 (s, 1H; H-12), 6.12 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H; H-1″), 5.51 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H; H-1‴), 5.40 (s, 1H; H-1), 5.16 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H; H-1′), 4.98 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H; H-10a), 4.82 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H; H-10b), 4.58 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H; H-5), 4.40 (s, 2H; H-10′), 4.30 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H; H-7″a), 4.33-4.16 (m, 5H; H-3″, H-7′ and H-7‴), 4.10 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H; H-7″b), 3.99-.392 (m, 2H; H-4″ and H-5″), 3.91-3.56 (m, 21H; H-2″, H-3′, H-5′, H-5‴, H-6, H-6′, H-6″, H-6‴ and three MeO), 3.56-3.33 (m, 20H; H-3, H-3‴, H-4, H-4′, H-4‴ and five MeO), 3.27 (dd, *J* = 9.4, 3.6 Hz, 1H; H-2′), 3.17 (dd, *J* = 9.7, 3.4 Hz, 1H; H-2‴), 3.60 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H; H-2), 1.13-1.02 (m, 63H; three TIPS), 0.98 (t, *J* = 7.9 Hz, 9H; CH_3 TES), 0.60 ppm (q, *J* = 7.9 Hz, 6H; CH_2 TES);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 144.7 (C-11), 124.2 (C-12), 103.22 (C-8′, C-8″, C-8‴ or C-11′), 103.15 (C-8′, C-8″, C-8‴ or C-11′), 103.05 (C-8′, C-8″, C-8‴ or C-11′), 103.00 (C-8′, C-8″, C-8‴ or C-11′), 100.6 (C-1), 96.97 (C-1′ or C-1‴), 96.94 (C-1′ or C-1‴), 88.4 (C-9′, C-9″, C-9‴ or C-12′), 88.1 (C-9′, C-9″, C-9‴ or C-12′), 88.00 (C-9′, C-9″, C-9‴ or C-12′), 87.96 (C-9′, C-9″, C-9‴ or C-12′), 83.2 (C-3‴), 83.1 (C-1″), 83.0 (C-3″), 82.9 (C-3′), 81.9 (C-2‴), 81.5 (C-2′), 81.2 (C-2″), 80.8 (C-2), 79.3 (C-3), 78.1 (C-4 or C-4‴), 77.9 (C-4 or C-4′), 77.4 (C-4‴), 75.8 (C-5), 73.4 (C-4″ or C-5″), 73.3 (C-4″ or C-5″), 70.7 (C-5′ or C-5‴), 70.5 (C-5′ or C-5‴), 68.5 (C-6′ or C-6‴), 68.1 (C-6′ or C-6‴), 67.3 (C-6″), 68.6 (C-6), 66.3 (C-10), 61.1 (MeO), 61.0 (MeO), 60.9 (C-10′), 60.3 (MeO), 59.7 (C-7′ and C-7‴), 59.5 (MeO), 59.4 (C-7″), 59.2 (MeO), 58.6 (MeO), 58.3 (MeO), 57.7 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 (CH TIPS), 7.5 (CH_3 TES), 4.4 ppm (CH_2 TES);

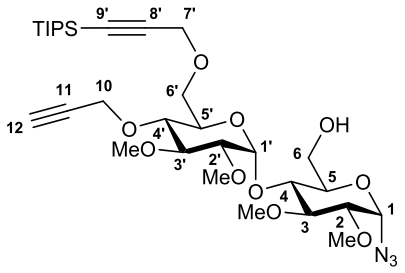
IR (neat) 2174 cm^{-1} (weak, C≡CSiR$_3$);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{80}H_{141}N_3O_{20}Si_4Na$ $[M + Na]^+$ 1598.9078; found 1598.8971.

Anhydro opening of module x1 ON-OFF (148)

To a solution of **148** (1 eq., 146 mg, 0.239 mmol) and $TMSN_3$ (10 eq., 289 mg, 0.333 mL, 2.39 mmol) in anhydrous MeCN (5 mL) was added a solution of TMSOTf (0.5 eq., 27.1 mg, 0.022 mL, 0.119 mmol) and triethylamine (0.3 eq., 7.24 mg, 0.01 mL, 0.0716 mmol) in MeCN (0.4 mL). The mixture was stirred for 4 h 30 at 20 °C. TLC control showed complete conversion. The reaction was quenched with sat. $NaHCO_3$ (30 mL). AcOEt was added (30 mL) and the layers were separated. The organic phase was washed with sat. $NaHCO_3$ (2x30 mL). A few drops of conc. HCl were added along with MeOH (ca. 2 mL). After a brief shaking, the mixture was washed with water (30 mL) and brine (30 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 20:80 to 60:40) to afford **161α** (122 mg, 78%) and **161β** (29 mg, 19%).

Module x1 ON-ON (161α)



Chemical Formula: $C_{31}H_{53}N_3O_{10}Si$
Molecular Weight: 655,8610

R_f 0.40 (AcOEt/PE 1:1, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{21} = +128.6$ (*c* 0.5, $CHCl_3$);

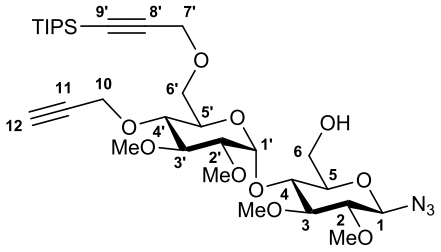
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.53 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H; H-1′), 5.47 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H; H-1), 4.39 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H; H-10), 4.29 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H; H-7′a), 4.23 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H; H-7′b), 3.96 (dd, *J* = 9.9, 1.3 Hz, 1H; H-6′a), 3.89 (dd, *J* = 13.1, 2.7 Hz, 1H; H-6a), 3.86 (dd, *J* = 9.8, 8.6 Hz, 1H; H-4), 3.76 (ddd, *J* = 9.8, 2.7, 1.7 Hz, 1H; H-5), 3.74 (dd, *J* = 13.1, 1.7 Hz, 1H; H-6b), 3.70 (ddd, *J* = 9.9, 6.8, 1.3 Hz, 1H; H-5′), 3.64 (s, 3H; MeO), 3.62 (dd, *J* = 9.4, 8.6 Hz, 1H; H-3), 3.62 (dd, *J* = 9.9, 6.8 Hz, 1H; H-6′b), 3.60 (s, 3H; MeO), 3.57 (s, 3H; MeO), 3.51 (s, 3H; MeO), 3.49 (dd, *J* = 9.9, 8.9 Hz, 1H; H-3′), 3.31 (dd, *J* = 9.4, 4.0 Hz, 1H; H-2), 3.30 (dd, *J* = 9.9, 8.9 Hz, 1H; H-4′), 3.18 (dd, *J* = 9.9, 4.2 Hz, 1H; H-2′), 2.44 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-12), 1.07 ppm (s, 21H; TIPS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 102.4 (C-8′), 97.6 (C-1′), 88.7 (C-9′), 87.1 (C-1), 83.8 (C-3′), 83.2 (C-3), 82.4 (C-2′), 82.0 (C-2), 79.9 (C-11), 77.0 (C-4′), 74.7 (C-12), 73.0 (C-5), 72.5 (C-4), 71.0 (C-5′), 68.9 (C-6′), 61.1 (MeO), 60.7 (MeO), 60.6 (C-6), 60.1 (MeO), 59.7 (C-10), 59.6 (C-7′), 59.1 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 ppm (CH TIPS);

IR (neat) 3490 (broad, O-H), 3311 (weak, CC-H), 2112 cm^{-1} (strong, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{31}H_{53}N_3O_{10}SiNa$ $[M + Na]^+$ 678.3392; found 678.3430.

Compound 161β



Chemical Formula: $C_{31}H_{53}N_3O_{10}Si$
Molecular Weight: 655,8610

R_f 0.59 (AcOEt/PE 1:1, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +53.3$ (*c* 0.5, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.53 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H; H-1′), 4.49 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H; H-1), 4.39 (s, 2H; H-10), 4.26 (s, 2H; H-7′), 3.89 (dd, *J* = 8.6, 3.9 Hz, 1H; H-6′a), 3.84 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H; H-5), 3.82 (s, 2H; H-6), 3.71-3.54 (m, 2H; H-5′, H-6′b), 3.63 (s, 3H; MeO), 3.60 (s, 3H; MeO), 3.58 (s, 3H; MeO), 3.56 (s, 3H; MeO), 3.47 (dd, *J* = 9.8, 8.9 Hz, 1H; H-3′), 3.45-3.38 (m, 2H; H-3 and H-4), 3.35 (dd, *J* = 9.6, 8.9 Hz, 1H; H-4′), 3.19 (dd, *J* = 9.8, 4.1 Hz, 1H; H-2′), 2.96 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H; H-2), 2.44 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H; H-12), 1.07 ppm (s, 21H; TIPS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 102.6 (C-8′), 97.4 (C-1′), 90.0 (C-1), 88.6 (C-9′), 86.7 (C-3), 84.2 (C-2), 83.8 (C-3′), 82.0 (C-2′), 80.0 (C-11), 77.08, 77.02 (C-4 and C-4′), 74.6 (C-12), 72.3 (C-5), 70.9 (C-5′), 68.6 (C-6′), 61.08 (MeO), 61.06 (C-6), 60.6 (MeO), 60.5 (MeO), 60.1 (MeO), 59.8 (C-10), 59.6 (C-7′), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 ppm (CH TIPS);

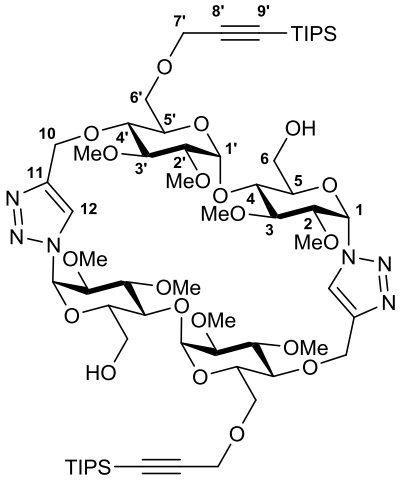
IR (neat) 3493 (broad, O-H), 3308 (weak, CC-H), 2115 cm^{-1} (strong, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{31}H_{53}N_3O_{10}SiNa$ $[M + Na]^+$ 678.3392; found 678.3291.

Cyclooligomerisation of module x1 ON-ON (161α)

To a vigorously stirred bright yellow suspension of $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (10 eq., 694.8 mg, 2.78 mmol) and sodium ascorbate (20 eq., 1.10 g, 5.56 mmol) in a mixture of H_2O (5 mL) and THF (5 mL) at 20 °C was added dropwise (drops of 7µL, over 3 h) a solution of **161α** (1 eq., 182.5 mg, 0.278 mmol) in a mixture of H_2O (30 mL) and THF (30 mL). TLC showed complete conversion. The reaction mixture was diluted with a 2:2:1 (v/v/v) mixture of MeCN/AcOEt/30w%-NH_4OH (50 mL) and was filtrated on a pad of silica gel (2 cm thick) using the same mixture as eluent (50 mL). Copper precipitated as a blue powder and remained at the top of the silica gel pad. The filtrate was concentrated. Then DCM (30 mL) and water (30 mL) were added and the layers were separated. The aqueous one was further extracted with DCM (2x20 mL). The combined organic extracts were washed with water (2x20 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was carefully purified by flash chromatography (DCM/MeOH 1:99 to 12:88) to afford **168** (74.9 mg, 42%) and **179** (15.0 mg, 9%).

Compound 168



Chemical Formula: $C_{62}H_{106}N_6O_{20}Si_2$
Molecular Weight: 1311,7220

R_f 0.74 (DCM/MeOH 9:1, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +63.2$ (*c* 0.2, $CHCl_3$);

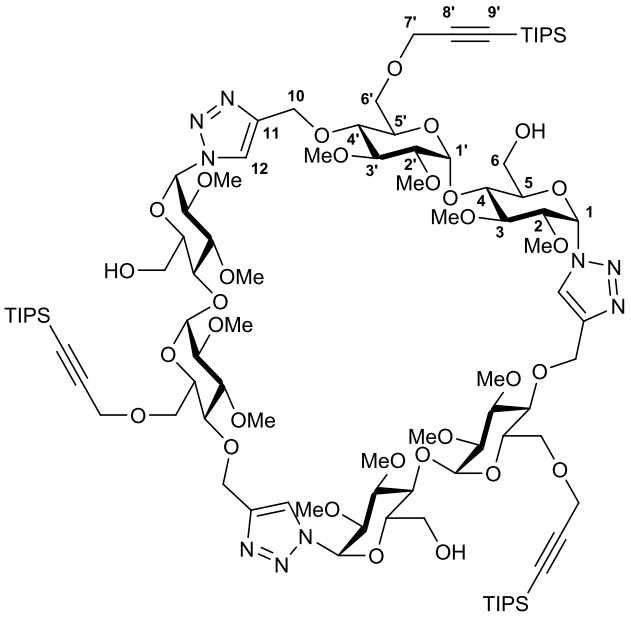
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.89 (s, 2H; H-12), 6.50 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H; H-1), 5.20 (d, *J* = 3.4 Hz, 2H; H-1′), 4.92 (d, *J* = 11.4 Hz, 2H; H-10a), 4.88 (d, *J* = 11.4 Hz, 2H; H-10b), 4.28 (s, 4H; H-7′), 3.90-3.68 (m, 16H; H-2, H-3, H-4, H-6, H-5′ and H-6′), 3.71 (s, 6H; MeO), 3.61 (s, 6H; MeO), 3.52 (dd, *J* = 9.8, 8.7 Hz, 2H; H-3′), 3.52 (s, 6H; MeO), 3.43 (s, 6H; MeO), 3.40 (dd, *J* = 9.7, 8.7 Hz, 2H; H-4′), 3.36 (ddd, *J* = 10.6, 3.8, 1.9 Hz, 2H; H-5), 3.19 (dd, *J* = 9.8, 3.4 Hz, 2H; H-2′), 1.05 ppm (s, 42H; TIPS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 145.8 (C-11), 123.7 (C-12), 102.4 (C-8′), 99.5 (C-1′), 88.8 (C-9′), 83.5 (C-3′), 83.1 (C-1), 82.6 (C-3), 82.4 (C-2′), 80.4 (C-2), 78.2 (C-4′), 77.5 (C-4), 73.7 (C-5), 71.0 (C-5′), 68.8 (C-6′), 66.8 (C-10), 62.0 (C-6), 61.6 (MeO), 60.8 (MeO), 59.8 (C-7′), 59.2 (MeO), 58.6 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.2 ppm (CH TIPS);

IR (neat) 3457 cm^{-1} (broad, O-H);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{62}H_{107}N_6O_{20}Si_2$ $[M + H]^+$ 1311.7073; found 1311.7008.

Compound 179



Chemical Formula: $C_{93}H_{159}N_9O_{30}Si_3$
Molecular Weight: 1967,5830

R_f 0.70 (DCM/MeOH 9:1, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +98.2$ (c 0. 5, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 7.72 (s, 3H; H-12), 6.21 (d, J = 5.6 Hz, 3H; H-1), 5.47 (d, J = 4.1 Hz, 3H; H-1′), 5.04 (d, J = 10.9 Hz, 3H, H-10a), 4.64 (d, J = 12.2 Hz, 3H; H-10b), 4.30 (t, J = 8.5 Hz, 3H; H-3), 4.28 (s, 6H; H-7′), 3.98 (dd, J = 9.7, 8.6 Hz, 3H; H-4), 3.90-3.30 (m, 63H; H-2, H-5, H-6, H-3′, H-4′, H-5′, H-6′ and 4 x MeO), 3.20 (dd, J = 10.0, 4.1 Hz, 3H; H-2′), 2.85 (br s, 3H; OH), 1.05 ppm (s, 63H; TIPS);

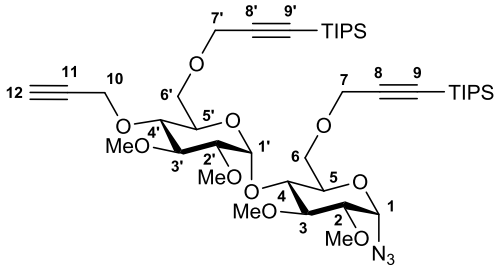
^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ 144.2 (C-11), 124.3 (C-12), 102.6 (C-8′), 98.3 (C-1′), 88.6 (C-9′), 83.7 (C-3′), 83.4 (C-3), 83.2 (C-1), 82.0 (C-2′), 81.5 (C-2), 79.0 (C-4′), 73.8 (C-5), 73.6 (C-4), 71.2 (C-5′), 69.0 (C-6′), 65.9 (C-10), 61.5 (MeO), 60.8 (C-6), 60.5 (MeO), 60.1 (MeO), 59.8 (C-7′), 59.3 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 ppm (CH TIPS);

IR (neat) 3469 (broad, O-H), 2173 cm^{-1} (weak, C≡CSiR$_3$);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{93}H_{160}N_9O_{30}Si_3$ $[M + H]^+$ 1967.0573; found 1967.0705.

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{93}H_{161}N_9O_{30}Si_3$ $[M + 2H]^{2+}$ 984.0323; found 984.0410.

Synthesis of module x2 ON-ON (163)



Chemical Formula: $C_{43}H_{75}N_3O_{10}Si_2$
Molecular Weight: 850,2540

To a solution of **161α** (1 eq., 47.5 mg, 0.0724 mmol) and (triisopropylsilyl)propargyl bromide (3 eq., 59.8 mg, 0.0549 mL, 0.217 mmol) in anhydrous THF (2 mL) was added sodium hydride (3 eq., 8.69 mg, 0.217 mmol) at 20 °C. The mixture was stirred for 16 h at 20 °C. The reaction was quenched with sat. NH_4Cl (10 mL) and the aqueous mixture was extracted with DCM (3x10 mL). The combined organic extracts were washed with water (10 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/pentane 20:80 to 30:70) to afford **163** (54.8 mg, 89%).

R_f 0.79 (AcOEt/PE 4:6);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +113.0$ (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.58 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H; H-1′), 5.44 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H; H-1), 4.38 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-10), 4.31 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H; H-7a), 4.28 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H; H-7′a), 4.21 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H; H-7′b), 4.07 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H; H-7b), 3.94-3.80 (m, 3H; H-4, H-5 and H-6a), 3.80-3.65 (m, 3H; H-6b and H-6′), 3.65-3.38 (m, 4H; H-3, H-3′, H-4′ and H-5′), 3.62 (s, 3H; MeO), 3.55 (s, 3H; MeO), 3.52 (s, 3H; MeO), 3.48 (s, 3H; MeO), 3.31 (dd, *J* = 9.5, 4.2 Hz, 2H; H-2), 3.17 (dd, *J* = 9.6, 3.7 Hz, 1H; H-2′), 2.41 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-12), 1.06 ppm (s, 42H; TIPS);

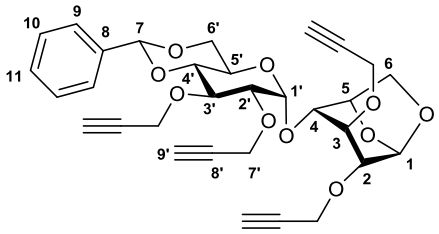
^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 103.1, 102.9 (C-8 and C-8′), 96.7 (C-1′), 88.4, 88.1 (C-9 and C-9′), 87.0 (C-1), 83.4 (two C, C-3 and C-3′), 82.0 (C-2′), 81.9 (C-2), 80.2 (C-11), 77.1 (C-4′), 74.3 (C-12), 72.0 (C-4), 71.8 (C-5), 70.5 (C-5′), 68.1 (C-6′), 67.1 (C-6), 61.0 (MeO), 60.5 (MeO), 59.9 (C-10), 59.5 (C-7′), 59.4 (MeO), 59.3 (C-7), 59.1 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 ppm (CH TIPS);

IR (neat) 3311 (weak, CC-H), 2171 (weak, C≡CSiR_3), 2112 cm^{-1} (strong, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{43}H_{75}N_3O_{10}Si_2Na$ $[M + Na]^+$ 872.4883; found 872.4871.

Modules synthesis – Propargyl series

Synthesis of compound 135



Chemical Formula: $C_{31}H_{32}O_{10}$
Molecular Weight: 564,5870

To a solution of **127** (1 eq., 459 mg, 1.11 mmol) in anhydrous DMF (10 mL) was added sodium hydride (60w% in oil, 6 eq., 267 mg, 6.67 mmol) at room temperature. The mixture was stirred for 15 min and propargyl bromide (80w% in toluene, 6 eq., 993 mg, 0.719 mL, 6.67 mmol) was added. The mixture was stirred for 15 h at room temperature. The reaction was quenched with MeOH (ca. 2 mL), and then with sat. NH_4Cl (50 mL). The aqueous mixture was extracted with AcOEt (3x30 mL). The combined organic extracts were washed with brine (50 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The dark residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 25:75 to 35:65) to afford **135** (513 mg, 82%).

R_f 0.46 (AcOEt/PE 4:6, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -18.5 (*c* 0.5, $CHCl_3$);

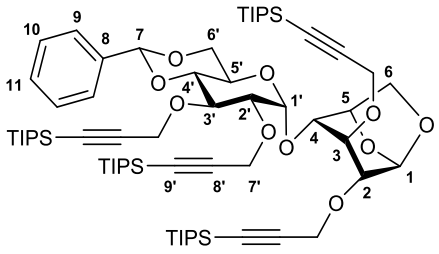
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.52-7.42 (m, 2H; H-10), 7.42-7.29 (m, 3H; H-9 and H-11), 5.53 (s, 1H; H-7), 5.49 (s, 1H; H-1), 5.21 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H; H-1′), 4.59 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H; H-5), 4.50 (dd, *J* = 15.2, 2.4 Hz, 1H; H-7′), 4.46 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H; H-7′), 4.40 (dd, *J* = 15.2, 2.4 Hz, 1H; H-7′), 4.37 (d, *J* = 2.4 Hz, 4H; H-7′), 4.25 (dd, *J* = 10.3, 4.8 Hz, 1H; H-6′a), 4.03 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H; H-3′), 3.98 (ddd, *J* = 10.6, 9.3, 4.8 Hz, 1H; H-5′), 3.92 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H; H-6a), 3.82 (t, *J* = 2.9 Hz, 1H; H-3), 3.72 (dd, *J* = 10.6, 10.3 Hz, 1H; H-6′b), 3.72 (dd, *J* = 7.3, 5.6 Hz, 1H; H-6b), 3.70 (dd, *J* = 9.3, 3.8 Hz, 1H; H-2′), 3.64 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H; H-4), 3.61 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H; H-4′), 3.56 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H; H-2), 2.49 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9′), 2.47 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9′), 2.46 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9′), 2.43 ppm (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9′);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 137.3 (C-8), 129.2 (C-11), 128.4 (C-9), 126.2 (C-10), 101.6 (C-7), 100.9 (C-1), 98.7 (C-1′), 82.1 (C-4′), 80.3 (C-8′), 80.2 (C-8′), 79.7 (C-8′), 79.5 (C-8′), 77.9 (C-2′, C-3′ or C-4), 77.8 (two of C-2′, C-3′ or C-4), 76.5 (C-2), 75.9 (C-3), 75.6 (C-5), 75.3 (C-9′), 75.1 (C-9′), 74.9 (C-9′), 74.4 (C-9′), 69.0 (C-6′), 66.2 (C-6), 63.1 (C-5′), 60.3 (C-7′), 59.2 (C-7′), 58.3 (C-7′), 57.3 ppm (C-7′);

IR (neat) 3284 (sharp, CC-H), 2117 cm^{-1} (weak, C≡CH);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{31}H_{32}O_{10}Na$ $[M + Na]^+$ 587.189; found 587.186.

Synthesis of compound 129



Chemical Formula: $C_{67}H_{112}O_{10}Si_4$
Molecular Weight: 1189,9630

To a solution of **135** (1 eq., 510 mg, 0.903 mmol) in anhydrous THF (40 mL) at -78°C was added dropwise a 1.0 M commercial solution of LiHMDS in THF (4.5 eq., 4.065 mL, 4.065 mmol) over 2 min. The mixture was stirred for 10 min at -78°C. Then TIPSCl (4.5 eq., 784 mg, 0.869 mL, 4.065 mmol) was added dropwise at -78°C over 1 min. The mixture was then stirred for 1 h, allowing the temperature to raise to room temperature by removing the cooling bath. The reaction was quenched with MeOH (ca. 3 mL), and then with sat. NH_4Cl (50 mL). The mixture was then extracted with AcOEt (2x50 mL). The combined organic extracts were washed with water (50 mL) and brine (50 mL), dried with $MgSO_4$, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 8:92 to 10:90) to afford **129** (928 mg, 86%).

R_f 0.43 (AcOEt/PE 1:9, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -33.3$ (*c* 1, $CHCl_3$);

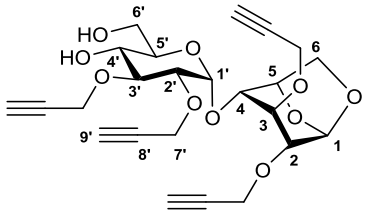
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.52-7.42 (m, 2H; H-10), 7.40-7.30 (m, 3H; H-9 and H-11), 5.52 (s, 1H; H-7), 5.48 (s, 1H; H-1), 5.13 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H; H-1′), 4.57 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H; H-5), 4.57 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H; H-7′), 4.54 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H; H-7′), 4.44 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H; H-7′), 4.44 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H; H-7′), 4.42 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H; H-7′), 4.40 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H; H-7′), 4.33 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H; H-7′), 4.29 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H; H-7′), 4.24 (dd, *J* = 10.2, 4.9 Hz, 1H; H-6′a), 4.06 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-3′), 3.98 (ddd, *J* = 10.3, 9.4, 4.9 Hz, 1H; H-5′), 3.94 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H; H-6a), 3.75 (dd, *J* = 9.4, 3.8 Hz, 1H; H-2′), 3.70 (dd, *J* = 10.3, 10.2 Hz, 1H; H-6′b), 3.69 (t, *J* = 2.9 Hz, 1H; H-3), 3.69 (dd, *J* = 7.4, 5.7 Hz, 1H; H-6b), 3.66 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H; H-4), 3.60 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H; H-2), 3.57 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-4′), 1.12-1.01 ppm (m, 84H; TIPS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 137.4 (C-8), 129.1 (C-11), 128.3 (C-9), 126.3 (C-10), 104.0 (C-8′), 103.8 (C-8′), 103.4 (C-8′), 103.1 (C-8′), 101.5 (C-7), 101.0 (C-1), 98.7 (C-1′), 88.4 (C-9′), 87.8 (two C-9′), 87.2 (C-9′), 82.3 (C-4′), 78.0 (C-4), 77.9 (C-3′), 77.4 (C-2′), 76.7 (C-3), 76.0 (C-2), 75.5 (C-5), 69.1 (C-6′), 66.1 (C-6), 63.0 (C-5′), 61.1 (C-7′), 59.6 (C-7′), 59.2 (C-7′), 57.9 (C-7′), 18.8 (CH_3 TIPS), 11.3 ppm (CH TIPS);

IR (neat) 2175 cm^{-1} (weak, C≡CSiR$_3$);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{67}H_{112}O_{10}Si_4Na$ $[M + Na]^+$ 1211.722; found 1211.719.

Synthesis of compound 136



Chemical Formula: $C_{24}H_{28}O_{10}$
Molecular Weight: 476,4780

To a solution of **135** (1 eq., 337 mg, 0.597 mmol) in DCM (5.5 mL) was added a 10:1 (v/v) mixture of TFA (650 µL) and H_2O (65 µL). The mixture was stirred for 45 min at room temperature. The solution was then diluted with DCM (30 mL), washed with sat. $NaHCO_3$ (2x30 mL) and brine (30 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (DCM/MeOH 95:5) to afford **136** (195 mg, 68%).

R_f 0.15 (DCM/MeOH 95:5, rev. KMnO4);

Optical rotation $[\alpha]_D^{19} = -14.3$ (*c* 0.5, $CHCl_3$);

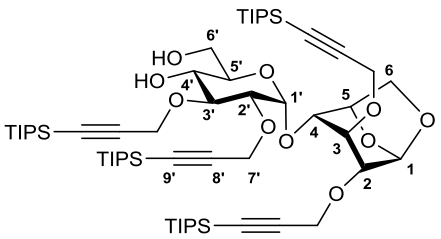
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.48 (s, 1H; H-1), 5.25 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H; H-1′), 4.63 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H; H-5), 4.52 (dd, *J* = 16.0, 2.3 Hz, 1H; H-7′), 4.40 (dd, *J* = 16.0, 2.3 Hz, 1H; H-7′), 4.40-4.27 (m, 6H; H-7′), 3.93 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H; H-6a), 3.87 (dd, *J* = 10.8, 2.6 Hz, 1H; H-6′a), 3.86-3.78 (m, 3H; H-3, H-3′ and H-5′), 3.78 (dd, *J* = 10.8, 4.6 Hz, 1H; H-6′b), 3.71 (dd, *J* = 7.4, 5.5 Hz, 1H; H-6b), 3.65 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H; H-4), 3.62 (dd, *J* = 9.6, 3.7 Hz, 1H; H-2′), 3.54 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H; H-2), 3.53 (dd, *J* = 9.6, 8.5 Hz, 1H; H-4′), 2.74 (br s, 1H; O-H), 2.51 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H; H-9′), 2.50-2.46 ppm (m, 3H; three H-9′);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 100.6 (C-1), 96.9 (C-1′), 80.8 (C-8′), 80.6 (C-3′), 79.8 (C-8′), 79.6 (C-8′), 79.3 (C-8′), 78.7 (C-2′), 76.8 (C-4), 76.4 (C-2), 75.7 (C-3), 75.44 (C-5), 75.40 (C-9′), 75.3 (C-9′), 75.2 (C-9′), 75.1 (C-9′), 71.8 (C-5′), 70.2 (C-4′), 66.2 (C-6), 62.6 (C-6′), 60.4 (C-7′), 58.1 (C-7′), 58.0 (C-7′), 57.3 ppm (C-7′);

IR (neat) 3462 (broad, O-H), 3285 (sharp, CC-H), 2119 cm^{-1} (weak, C≡CH);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{24}H_{28}O_{10}Na$ $[M + Na]^+$ 499.157; found 499.154.

Synthesis of compound 131



Chemical Formula: $C_{60}H_{108}O_{10}Si_4$
Molecular Weight: 1101,8540

To a solution of **129** (1 eq., 391 mg, 0.329 mmol) in DCM (3 mL) was added a 10:1 (v/v) mixture of TFA (350 µL) and H_2O (35 µL). The mixture was stirred for 16 h at room temperature. The solution was then diluted with DCM (25 mL), washed with sat. $NaHCO_3$ (2x25 mL) and brine (25 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 5:95 to 30:70) to afford **131** (278 mg, 77%).

R_f 0.23 (AcOEt/PE 25:75, rev. $KMnO_4$);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -34.0 (*c* 1, $CHCl_3$);

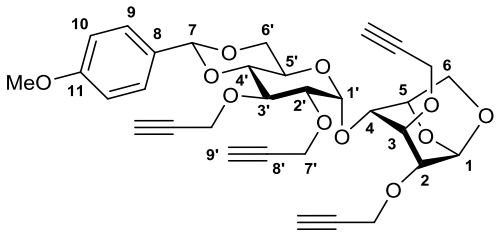
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.49 (s, 1H; H-1), 5.19 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H; H-1′), 4.60 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H; H-5), 4.55-4.18 (m, 8H; H-7′), 3.95 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H; H-6a), 3.87 (dd, *J* = 11.4, 3.1 Hz, 1H; H-6′a), 3.83 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H; H-3′), 3.80 (ddd, *J* = 9.2, 5.4, 3.1 Hz, 1H; H-5′), 3.74 (dd, *J* = 11.4, 5.4 Hz, 1H; H-6′b), 3.72 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H; H-3), 3.69 (dd, *J* = 7.3, 5.4 Hz, 1H; H-6b), 3.68 (dd, *J* = 9.2, 3.6 Hz, 1H; H-2′), 3.63 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H; H-4), 3.59 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H; H-2), 3.44 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H; H-4′), 2.67 (br s, 1H; O-H), 2.03 (br s, 1H; O-H), 1.07 ppm (s, 84H; TIPS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 104.7 (C-8′), 103.2 (C-8′), 103.0 (C-8′), 102.8 (C-8′), 100.7 (C-1), 96.3 (C-1′), 88.6 (C-9′), 88.4 (C-9′), 88.3 (C-9′), 88.1 (C-9′), 80.2 (C-3′), 78.0 (C-2′), 76.5 (C-3), 76.1 (C-4), 75.7 (C-2), 75.5 (C-5), 71.9 (C-5′), 70.5 (C-4′), 66.2 (C-6), 63.0 (C-6′), 61.0 (C-7′), 58.6 (C-7′), 58.2 (C-7′), 57.8 (C-7′), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 ppm (CH TIPS);

IR (neat) 3472 (broad, O-H), 2174 cm^{-1} (weak, C≡CSiR$_3$);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{60}H_{108}O_{10}Si_4Na$ $[M + Na]^+$ 1123.691; found 1123.685.

Synthesis of compound 149



Chemical Formula: $C_{32}H_{34}O_{11}$
Molecular Weight: 594,6130

To a solution of **143** (1 eq., 387 mg, 0.875 mmol) in anhydrous DMF (5 mL) was added sodium hydride (60w% in oil, 6 eq., 210 mg, 5.25 mmol) at -10°C. The mixture was stirred for 10 min and propargyl bromide (80w% in toluene, 6 eq., 780 mg, 566 µL, 5.25 mmol) was added at -10°C. The mixture was stirred for 15 h, allowing the temperature to slowly raise to 15°C. The reaction was quenched with MeOH (ca. 1 mL), and then with sat. NH_4Cl (25 mL). The aqueous mixture was extracted with AcOEt (3x25 mL). The combined organic extracts were washed with brine (25 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 30:70 to 40:60) to afford **149** (520 mg, quantitative).

R_f 0.40 (AcOEt/PE 40:60, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{18} = -21.0$ (*c* 1, $CHCl_3$);

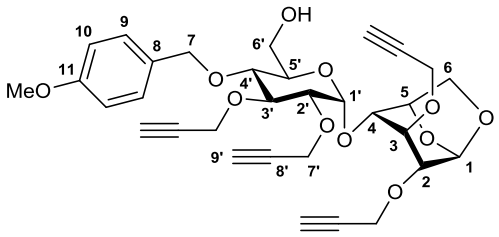
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.40 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H; H-9), 6.89 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H; H-10), 5.48 (s, 2H; H-1 and H-7), 5.20 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H; H-1′), 4.59 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H; H-5), 4.52-4.32 (m, 8H; H-7′), 4.23 (dd, *J* = 10.3, 4.9 Hz, 1H; H-6′a), 4.01 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-3′), 3.95 (ddd, *J* = 10.3, 9.4, 4.9 Hz, 1H; H-5′), 3.92 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H; H-6a), 3.82 (dd, *J* = 3.4, 2.9 Hz, 1H; H-3), 3.80 (s, 3H; MeO), 3.72 (dd, *J* = 7.4, 5.3 Hz, 1H; H-6b), 3.70 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H; H-6′b), 3.69 (dd, *J* = 9.4, 3.9 Hz, 1H; H-2′), 3.64 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H; H-4), 3.59 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-4′), 3.55 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H; H-2), 2.49 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9′), 2.48 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9′), 2.46 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9′), 2.43 ppm (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9′);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 160.2 (C-11), 129.7 (C-8), 127.5 (C-9), 113.7 (C-10), 101.5 (C-1 or C-7), 100.8 (C-1 or C-7), 98.5 (C-1′), 82.0 (C-4′), 80.24 (C-8′), 80.21 (C-8′), 79.7 (C-8′), 79.4 (C-8′), 77.8 (C-3′), 77.7 (C-2′), 77.4 (C-4), 76.3 (C-2), 75.60 (C-3 or C-5), 76.56 (C-3 or C-5), 75.3 (C-9′), 75.1 (C-9′), 74.9 (C-9′), 74.3 (C-9′), 68.9 (C-6′), 66.1 (C-6), 63.1 (C-5′), 60.2 (C-7′), 59.2 (C-7′), 58.2 (C-7′), 57.2 (C-7′), 55.4 ppm (MeO);

IR (neat) 3284 (sharp, CC-H), 2117 cm^{-1} (weak, C≡CH);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{32}H_{34}O_{11}Na$ $[M + Na]^+$ 617.199; found 617.198.

Synthesis of compound 150



Chemical Formula: $C_{32}H_{36}O_{11}$
Molecular Weight: 596,6290

To a solution of **149** (1 eq., 1.97 g, 3.31 mmol) in anhydrous DCM (40 mL) at -55°C was added dropwise a 1.0 M commercial solution of DIBAL-H (3 eq., 1 M, 9.94 mL, 9.94 mmol) in hexanes. The solution was stirred for 4 h, allowing the mixture to slowly warm up to 10°C. The reaction was very carefully quenched with MeOH at room temperature until the end of the gas release. Then sat. NH_4Cl (80 mL) and DCM (50 mL) were added, causing an emulsion impossible to separate efficiently. Addition of AcOEt (80 mL) helped to dissolve the emulsion. The phases were separated with difficulty and the aqueous layer was further extracted with AcOEt (2x80 mL). The combined organic extracts were washed with water (2x80 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 40:60 to 60:40) to afford **150** (1.94 g, 98%).

R_f 0.30 (AcOEt/PE 60:40, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{18}$ = -2.0 (*c* 1, $CHCl_3$);

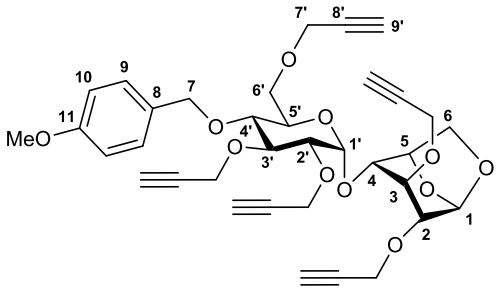
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.31 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H; H-9), 6.88 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H; H-10), 5.45 (s, 1H; H-1), 5.22 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H; H-1′), 4.88 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H; H-7a), 4.58 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H; H-7b), 4.55 (d, J = 5.5 Hz, 1H; H-5), 4.52 (dd, *J* = 15.3, 2.4 Hz, 1H; H-7′), 4.45 (dd, *J* = 15.3, 2.4 Hz, 1H; H-7′), 4.40-4.27 (m, 6H; H-7′), 3.90 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-3′), 3.89 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H; H-6a), 3.80 (s, 3H; MeO), 3.78 (t, *J* = 2.7 Hz, 1H; H-3), 3.75 (dd, *J* = 7.4, 2.3 Hz, 1H; H-6′a), 3.75 (ddd, *J* = 9.4, 4.3, 2.3 Hz, 1H; H-5′), 3.68 (dd, *J* = 7.4, 4.3 Hz, 1H; H-6′b), 3.67 (dd, *J* = 7.4, 5.5 Hz, 1H; H-6b), 3.62 (dd, *J* = 9.4, 3.7 Hz, 1H; H-2′), 3.60 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H; H-4), 3.52 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H; H-2), 3.47 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-4′), 2.47 ppm (m, 4H; H-9′);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 159.6 (C-11), 130.24 (C-8), 130.18 (C-9), 114.0 (C-10), 100.7 (C-1), 96.9 (C-1′), 81.3 (C-3′), 80.5 (C-8′), 80.0 (C-8′), 79.7 (C-8′), 79.4 (C-8′), 79.0 (C-2′), 76.9 (C-4), 76.7 (C-4′), 76.6 (C-2), 75.9 (C-3), 75.4 (C-5), 75.3 (C-9′), 75.12 (C-9′), 75.08 (C-9′), 74.9 (C-7), 74.3 (C-9′), 71.5 (C-5′), 66.2 (C-6), 62.0 (C-6′), 60.6 (C-7′), 58.4 (C-7′), 58.2 (C-7′), 57.3 (C-7′), 55.4 ppm (MeO);

IR (neat) 3491 (broad, O-H), 3285 (sharp, CC-H), 2116 cm^{-1} (weak, C≡CH);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{32}H_{36}O_{11}Na$ $[M + Na]^+$ 619.215; found 619.216.

Synthesis of compound 151



Chemical Formula: $C_{35}H_{38}O_{11}$
Molecular Weight: 634,6780

To a solution of **150** (1 eq., 1.98 g, 3.31 mmol) in anhydrous THF (25 mL) was added sodium hydride (60w% in oil, 2 eq., 0.265 g, 0.221 mL, 6.63 mmol) at room temperature. The mixture was stirred for 10 min and then propargyl bromide (80w% in toluene, 2 eq., 0.985 g, 0.714 mL, 6.63 mmol) was added at room temperature. The mixture was refluxed for 16 h and then cooled to room temperature. The reaction was quenched with MeOH (ca. 2 mL) and the mixture was concentrated. Then sat. NH_4Cl (50 mL) and AcOEt (50 mL) were added. The aqueous layer was extracted with AcOEt (2x50 mL). The combined organic extracts were washed with brine (50 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 50:50) to afford **151** (1.99 g, 95%).

R_f 0.70 (AcOEt/PE 1:1, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{24} = \pm 0$ (*c* 1, $CHCl_3$);

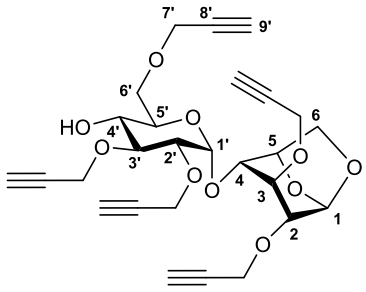
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.32 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H; H-9), 6.87 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H; H-10), 5.44 (s, 1H; H-1), 5.22 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H; H-1′), 4.87 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H; H-7a), 4.60 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H; H-7b), 4.56 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H; H-5), 4.51 (dd, *J* = 15.4, 2.4 Hz, 1H; H-7′), 4.44 (dd, *J* = 15.4, 2.4 Hz, 1H; H-7′), 4.40-4.30 (m, 6H; H-7′), 4.21 (dd, *J* = 15.9, 2.4 Hz, 1H; H-7′), 4.13 (dd, *J* = 15.9, 2.4 Hz, 1H; H-7′), 3.89 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H; H-6a), 3.88 (ddd, *J* = 9.4, 4.0, 2.1 Hz, 1H; H-5′), 3.87 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-3′), 3.80 (s, 3H; MeO), 3.79 (dd, *J* = 10.3, 4.0 Hz, 1H; H-6′a), 3.76 (t, *J* = 3.5 Hz, 1H; H-3), 3.67 (dd, *J* = 7.5, 5.4 Hz, 1H; H-6b), 3.66 (dd, *J* = 10.3, 2.1 Hz, 1H; H-6′b), 3.65 (dd, *J* = 9.4, 3.8 Hz, 1H; H-2′), 3.60 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H; H-4), 3.55 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-4′), 3.51 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H; H-2), 2.48-2.43 (m, 4H; H-9′), 2.42 ppm (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9′);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 159.5 (C-11), 130.5 (C-8), 130.0 (C-9), 113.9 (C-10), 100.9 (C-1), 97.5 (C-1′), 81.4 (C-3′), 80.5 (C-8′), 80.0 (C-8′), 79.7 (C-8′), 79.51 (C-8′), 79.46 (C-8′), 78.8 (C-2′), 77.7 (C-4), 77.0 (C-2), 76.8 (C-4′), 76.1 (C-3), 75.6 (C-5), 75.2 (C-9′), 75.14 (C-9′), 75.05 (C-9′), 75.02 (C-9′), 74.9 (C-7), 74.3 (C-9′), 70.7 (C-5′), 68.3 (C-6′), 66.4 (C-6), 60.6 (C-7′), 58.7 (C-7′), 58.4 (C-7′), 58.2 (C-7′), 57.3 (C-7′), 55.4 ppm (MeO);

IR (neat) 3286 (sharp, CC-H), 2117 cm^{-1} (weak, C≡CH);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{35}H_{38}O_{11}Na$ $[M + Na]^+$ 657.231; found 657.230.

Synthesis of compound 152



Chemical Formula: $C_{27}H_{30}O_{10}$
Molecular Weight: 514,5270

To a solution of **151** (1 eq., 2 g, 3.14 mmol) in a 10:1 mixture of DCM (30 mL) and water (3 mL) at 0°C was added DDQ (1.5 eq., 1.09 g, 4.72 mmol). The mixture was stirred for 1 h at 0°C and then for 4 h at room temperature. The reaction was quenched by the addition of sat. $NaHCO_3$ (50 mL). The mixture was extracted with DCM (3x50 mL). The combined organic extracts were washed with sat. $NaHCO_3$ (50 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 50:50 to 60:40) to afford **152** (1.17 g, 72%).

R_f 0.38 (AcOEt/PE 1:1, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{24} = -6.5$ (*c* 1, $CHCl_3$);

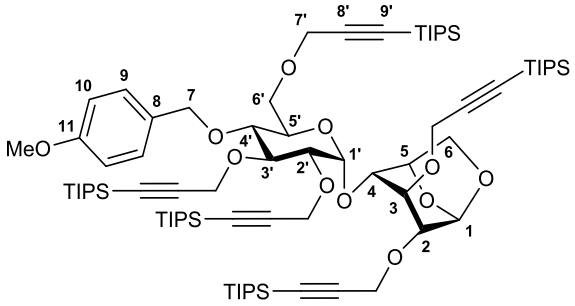
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.47 (s, 1H; H-1), 5.24 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H; H-1′), 4.64 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H; H-5), 4.51 (dd, *J* = 15.9, 2.4 Hz, 1H; H-7′), 4.40 (dd, *J* = 15.9, 2.4 Hz, 1H; H-7′), 4.41-4.30 (m, 6H; H-7′), 4.20 (s, 2H; H-7′), 3.93 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H; H-6a), 3.92 (ddd, *J* = 9.4, 5.5, 2.5 Hz, 1H; H-5′), 3.81 (dd, *J* = 10.5, 2.5 Hz, 1H; H-6′a), 3.80 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H; H-3′), 3.78 (t, *J* = 3.5 Hz, 1H; H-3), 3.74 (dd, *J* = 10.5, 5.5 Hz, 1H; H-6′b), 3.70 (dd, *J* = 7.4, 5.5 Hz, 1H; H-6b), 3.64 (dd, *J* = 9.4, 3.7 Hz, 1H; H-2′), 3.64 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H; H-4), 3.55 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-4′), 3.53 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H; H-2), 2.50 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9′), 2.47 (t, *J* = 2.4 Hz, 2H; H-9′), 2.45 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9′), 2.44 ppm (t, *J* = 2.4 Hz, 1H; H-9′);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 100.9 (C-1), 97.5 (C-1′), 80.8 (C-8′), 80.7 (C-3′), 79.80 (C-8′), 79.76 (C-8′), 79.5 (C-8′), 79.4 (C-8′), 78.6 (C-2′), 77.9 (C-4), 77.2 (C-2), 76.2 (C-3), 75.7 (C-5), 75.3 (C-9′), 75.2 (C-9′), 75.1 (C-9′), 75.0 (two C-9′), 71.0 (C-5′), 69.9 (C-4′), 69.0 (C-6′), 66.5 (C-6), 60.4 (C-7′), 58.9 (C-7′), 58.3 (C-7′), 58.0 (C-7′), 57.4 ppm (C-7′);

IR (neat) 3486 (broad, O-H), 3286 (sharp, CC-H), 2119 cm^{-1} (weak, C≡CH);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{27}H_{30}O_{10}Na$ $[M + Na]^+$ 537.173; found 537.175.

Synthesis of compound 153



Chemical Formula: $C_{80}H_{138}O_{11}Si_5$
Molecular Weight: 1416,3980

To a solution of **151** (1 eq., 94.2 mg, 0.148 mmol) in anhydrous THF (6.5 mL) at -78°C was added a 1.0 M commercial solution of LiHMDS in hexanes (6 eq., 1 M, 0.891 mL, 0.891 mmol) over 2 min. The solution was stirred for 10 min at -78°C, while it became darker and darker. Then chlorotriisopropylsilane (6 eq., 172 mg, 190 µL, 0.891 mmol) was added at -78°C over 30 s. Then the mixture was allowed to warm up to room temperature over 30 min. The dark solution was further stirred for 30 min at room temperature. The reaction was quenched with MeOH (ca. 2 mL) and then sat. NH_4Cl (20 mL) was added. The mixture was extracted with AcOEt (3x15 mL). The combined organic extracts were washed with brine (30 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 3:97 to 6:94) to afford **153** (144 mg, 68%).

R_f 0.51 (AcOEt/PE 1:9, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{24} = -18.0$ (*c* 1, $CHCl_3$);

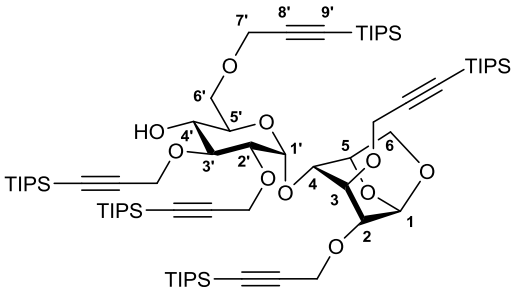
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.29 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H; H-9), 6.85 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H; H-10), 5.44 (s, 1H; H-1), 5.10 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H; H-1′), 4.86 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H; H-7a), 4.62 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H; H-7b), 4.60 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H; H-7′), 4.57 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H; H-5), 4.48-4.24 (m, 7H; H-7′), 4.20 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H; H-7′), 4.14 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H; H-7′), 3.88 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H; H-6a), 3.85 (ddd, *J* = 9.7, 4.2, 1.9 Hz, 1H; H-5′), 3.83 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H; H-3′), 3.80 (s, 3H; MeO), 3.74 (dd, *J* = 10.6, 1.9 Hz, 1H; H-6′a), 3.66 (dd, *J* = 9.2, 3.8 Hz, 1H; H-2′), 3.66 (t, *J* = 3.3 Hz, 1H; H-3), 3.63 (dd, *J* = 10.6, 4.2 Hz, 1H; H-6′b), 3.63 (dd, *J* = 7.3, 5.3 Hz, 1H; H-6b), 3.55 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H; H-2), 3.55 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H; H-4), 3.44 (dd, *J* = 9.7, 9.2 Hz, 1H ; H-4′), 1.06 ppm (s, 105H; TIPS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 159.3 (C-11), 130.7 (C-8), 130.1 (C-9), 113.8 (C-10), 104.4, 103.4, 103.3, 103.1, 103.0 (C-8′), 101.0 (C-1), 97.3 (C-1′), 88.3, 87.9 (two C), 87.6, 86.6 (C-9′), 81.8 (C-3′), 78.5 (C-2′), 78.0 (C-2), 76.9, 76.8 (C-3 and C-4), 76.4 (C-4′), 75.7 (C-5), 74.5 (C-7), 70.7 (C-5′), 68.5 (C-6′), 66.6 (C-6), 61.5, 59.6, 58.9, 58.5, 58.0 (C-7′), 55.4 (MeO), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 ppm (CH TIPS);

IR (neat) 2173 cm^{-1} (weak, C≡CSiR_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{80}H_{138}O_{11}Si_5Na$ $[M + Na]^+$ 1437.898; found 1437.889.

Synthesis of compound 133



Chemical Formula: $C_{72}H_{130}O_{10}Si_5$
Molecular Weight: 1296,2470

To a solution of **153** (1 eq., 44.3 mg, 0.031 mmol) in a 10:1 mixture of DCM (0.9 mL) and water (0.1 mL) at 0°C was added DDQ (1.5 eq., 10.6 mg, 0.047 mmol). The mixture was stirred for 1 h at 0°C and then for 3 h at room temperature. The reaction was quenched by the addition of sat. $NaHCO_3$ (5 mL). The mixture was extracted with DCM (3x5 mL). The combined organic extracts were washed with sat. $NaHCO_3$ (5 mL) and brine (5 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/pentane 5:95) to afford **133** (32.2 mg, 79%).

R_f 0.38 (AcOEt/PE 1:9, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{24}$ = -20.0 (*c* 1, $CHCl_3$);

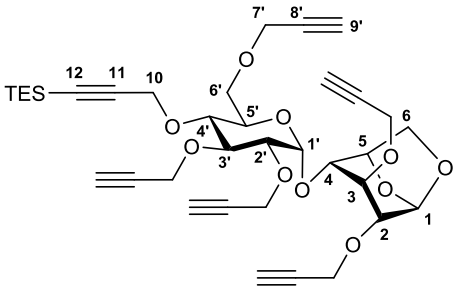
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.47 (s, 1H; H-1), 5.15 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H; H-1′), 4.60 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H; H-5), 4.54-4.15 (m, 10H; H-7′), 3.92 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H; H-6a), 3.89-3.83 (m, 2H; H-5′ and H-6′a), 3.81 (dd, *J* = 9.5, 8.6 Hz, 1H; H-3′), 3.74-3.63 (m, 4H; H-3, H-6b, H-2′ and H-6′b), 3.59 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H; H-4), 3.56 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H; H-2), 3.45 (dd, *J* = 9.7, 8.7 Hz, 1H; H-4′), 1.06 ppm (s, 105H; TIPS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 104.7, 103.3, 103.1, 103.0, 102.9 (C-8′), 100.9 (C-1), 96.9 (C-1′), 88.4, 88.1, 88.0 (two C), 87.7 (C-9′), 80.3 (C-3′), 77.8 (C-2′), 77.5 (C-4), 77.2 (C-2), 76.7 (C-3), 75.9 (C-5), 71.2 (C-5′), 69.7 (C-4′), 68.8 (C-6′), 66.8 (C-6), 61.0, 59.6, 58.9, 58.0 (two C)(C-7′), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 ppm (CH TIPS);

IR (neat) 3491 (broad, O-H), 2173 cm^{-1} (weak, C≡CSiR_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{72}H_{130}O_{10}Si_5Na$ $[M + Na]^+$ 1317.840; found 1317.838.

Synthesis of compound 155



Chemical Formula: $C_{36}H_{46}O_{10}Si$
Molecular Weight: 666,8390

To a solution of **152** (1 eq., 274 mg, 0.533 mmol) and TBAI (0.08 eq., 16 mg, 0.0433 mmol) in MeCN (1.1 mL) in a sealed tube at room temperature under argon was added (triethylsilyl)propargyl bromide (2.59 eq., 321 mg, 0.233 mL, 1.38 mmol). A 1.0 M commercial solution of BEMP in hexanes (2 eq., 1 M, 1.1 mL, 1.1 mmol) was added during 4 h at 75°C. The mixture was further stirred for 2 h at 75°C and then allowed to cool to room temperature. The reaction was diluted with MeOH (5 mL) and concentrated. The residue was diluted in AcOEt (20 mL) and the organic mixture was washed with NH_4Cl (20 mL) and brine (20 mL). The organic layer was dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The residue was dissolved in a 10:1 (v/v) mixture of AcOEt (20 mL) and MeOH (2 mL), and conc. HCl (20 drops) was added. The mixture was stirred at room temperature for 1 h and concentrated. The residue was dissolved in AcOEt (20 mL), washed with NH_4Cl (20 mL) and brine (20 mL), dried with Na_2SO_4 and concentrated. The crude residue was finally purified by flash chromatography (AcOEt/PE 25:75 to 50:50) to afford **155** (212 mg, 60%).

R_f 0.70 (AcOEt/PE 4:6, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{27} = +16.5$ (*c* 1, $CHCl_3$);

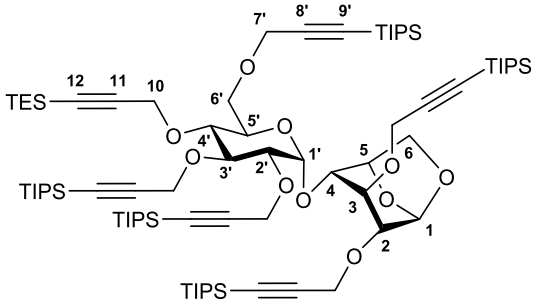
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.45 (s, 1H; H-1), 5.20 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H; H-1′), 4.61 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H; H-5), 4.51 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H; H-10a), 4.50-4.28 (m, 8H; H-7′), 4.45 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H; H-10b), 4.21 (dd, *J* = 15.6, 2.4 Hz, 1H; H-7′), 4.15 (dd, *J* = 15.6, 2.4 Hz, 1H; H-7′), 3.90 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H; H-6a), 3.88 (ddd, *J* = 9.4, 5.8, 1.7 Hz, 1H; H-5′), 3.86 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-3′), 3.83 (dd, *J* = 10.4, 1.7 Hz, 1H; H-6′a), 3.75 (t, *J* = 3.5 Hz, 1H; H-3), 3.72 (dd, *J* = 10.4, 5.8 Hz, 1H; H-6′b), 3.67 (dd, *J* = 7.4, 5.3 Hz, 1H; H-6b), 3.61 (dd, *J* = 9.4, 3.7 Hz, 1H; H-2′), 3.61 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H; H-4), 3.51 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H; H-2), 3.42 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-4′), 2.51-2.38 (m, 5H; H-9′), 0.99 (t, *J* = 7.9 Hz, 9H; CH_3 TES), 0.61 ppm (q, *J* = 7.9 Hz, 6H; CH_2 TES);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 103.0 (C-11), 101.0 (C-1), 97.5 (C-1′), 88.8 (C-12), 81.4 (C-3′), 80.3 (C-8′), 79.9 (C-8′), 79.8 (C-8′), 79.52 (C-8′), 79.50 (C-8′), 78.8 (C-2′), 78.3 (C-4), 77.6 (C-2), 76.7 (C-4′), 76.6 (C-3), 75.8 (C-5), 75.2 (C-9′), 75.1 (C-9′), 75.0 (C-9′), 74.9 (C-9′), 74.3 (C-9′), 70.5 (C-5′), 69.1 (C-6′), 66.7 (C-6), 61.0 (C-10), 60.5 (C-7′), 58.8 (C-7′), 58.4 (C-7′), 58.3 (C-7′), 57.4 (C-7′), 7.6 (CH_3 TES), 4.4 ppm (CH_2 TES);

IR (neat) 3291 (sharp, CC-H), 2175 (very weak, C≡CSiR$_3$), 2117 cm^{-1} (weak, C≡CH);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{36}H_{46}O_{10}SiNa$ $[M + Na]^+$ 689.2752; found 689.2714.

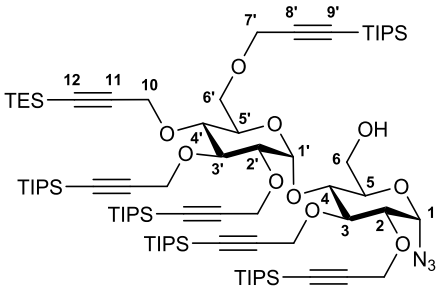
Synthesis of module x5 OFF-OFF (126)


TIPS
TIPS
TES
TIPS
TIPS
TIPS
O
O
O

Anhydro opening of module x5 OFF-OFF (126)

To a solution of **126** (1 eq., 164 mg, 0.113 mmol) and $TMSN_3$ (50 eq., 652 mg, 0.745 mL, 5.66 mmol) in anhydrous EtCN (20 mL) under an argon atmosphere was added TMSOTf (10 eq., 251 mg, 0.205 mL, 1.13 mmol). The mixture was stirred at 20 °C for 18 h. TLC control showed complete conversion. The reaction was quenched with sat. $NaHCO_3$ (100 mL). AcOEt was added (100 mL) and the layers were separated. The organic phase was washed with sat. $NaHCO_3$ (2x100 mL). Five drops of conc. HCl were added along with MeOH (5 mL). After a brief shaking, the mixture was washed with water (100 mL) and brine (100 mL), dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 2:98 to 8:92) to afford **165α** (137 mg, 81%) and **165β** (29 mg, 17%). At room temperature, these two products turn respectively into **166α** and **166β** upon time.

Module x5 OFF-ON (165α)



Chemical Formula: $C_{81}H_{147}N_3O_{10}Si_6$
Molecular Weight: 1491,5880

R_f 0.59 (AcOEt/PE 1:9, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{18} = +63.3$ (*c* 1, $CHCl_3$);

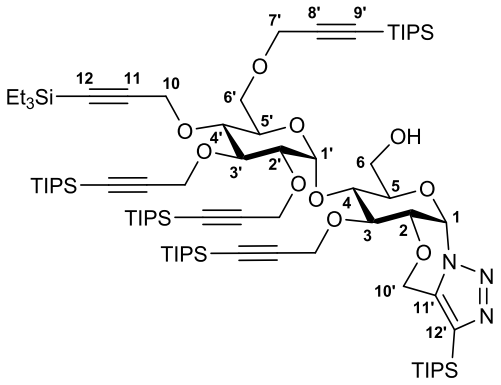
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.59 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H; H-1), 5.48 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H; H-1′), 4.62-4.31 (m, 10H; H-7′ and H-10), 4.26 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H; H-7′), 4.16 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H; H-7′), 4.07 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-6′a), 3.91 (m, 1H; H-6a), 3.88 (m, 1H; H-4), 3.86 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H; H-3′), 3.78-3.65 (m, 3H; H-3, H-5 and H-6b), 3.73 (dd, *J* = 9.1, 8.2 Hz, 1H; H-5′), 3.68 (dd, *J* = 9.2, 3.7 Hz, 1H; H-2), 3.54 (dd, *J* = 9.4, 8.2 Hz, 1H; H-6′b), 3.52 (dd, *J* = 9.9, 3.8 Hz, 1H; H-2′), 3.36 (dd, *J* = 9.9 Hz, 9.1 Hz, 1H; H-4′), 3.09 (dd, *J* = 7.4, 5.3 Hz, 1H; OH), 1.07 (s, 105H; TIPS), 0.99 (t, *J* = 7.9 Hz, 9H; CH_3 TES), 0.61 ppm (q, *J* = 7.9 Hz, 6H; CH_2 TES);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 104.1 (C-8′ or C-11), 103.9 (C-8′ or C-11), 103.14 (C-8′ or C-11), 103.10 (C-8′ or C-11), 103.0 (C-8′ or C-11), 102.6 (C-8′ or C-11), 98.0 (C-1′), 88.9 (C-9′ or C-12), 88.8 (C-9′ or C-12), 88.4 (C-9′ or C-12), 88.0 (C-9′ or C-12), 87.9 (C-1), 87.3 (C-9′ or C-12), 87.1 (C-9′ or C-12), 81.2 (C-3), 80.5 (C-3′), 80.0 (C-2), 79.0 (C-2′), 75.7 (C-4′), 73.7 (C-4), 73.2 (C-5), 71.4 (C-5′), 69.6 (C-6′), 61.3 (C-7′ or C-10), 61.0 (C-7′ or C-10), 60.54 (C-7′ or C-10), 60.47 (C-6), 60.0 (C-7′ or C-10), 59.9 (C-7′ or C-10), 59.5 (C-7′ or C-10), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 (CH TIPS), 7.6 (CH_3 TES), 4.4 ppm (CH_2 TES);

IR (neat) 3515 (broad, O-H), 2173 (weak, C≡CSiR$_3$), 2113 cm^{-1} (sharp, N_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{81}H_{147}N_3O_{10}Si_6Na$ $[M + Na]^+$ 1512.959; found 1512.979.

Cycloadduct 166α



Chemical Formula: $C_{81}H_{147}N_3O_{10}Si_6$
Molecular Weight: 1491,5880

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +59.1$ (*c* 1, $CHCl_3$);

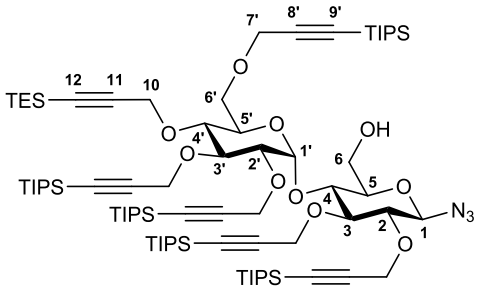
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 6.14 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H; H-1), 5.21 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H; H-1′), 5.14 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H; H-10′a), 4.76 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H; H-10′b), 4.60-4.30 (m, 8H; H-7′ and H-10), 4.34 (m, 1H; H-2), 4.23 (d, 2H; H-7′), 4.16-4.07 (m, 2H; H-3 and H-5), 3.93 (dd, *J* = 9.8, 1.1 Hz, 1H; H-6′a), 3.89-3.74 (m, 3H; H-4 and H-6), 3.82 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-3′), 3.70 (ddd, *J* = 9.4, 8.7, 1.1 Hz, 1H; H-5′), 3.65 (dd, *J* = 9.4, 3.8 Hz, 1H; H-2′), 3.63 (dd, *J* = 9.8, 6.7 Hz, 1H; H-6′b), 3.42 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H; H-4′), 1.39 (m, *J* = 7.4 Hz, 3H; CH TIPS-triazole), 1.14-1.02 (m, 102H; TIPS-alkyne and CH_3 TIPS-triazole), 0.99 (t, *J* = 7.9 Hz, 9H; CH_3 TES), 0.60 ppm (q, *J* = 7.9 Hz, 6H; CH_2 TES);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 137.3, 135.6 (C-11′ and C-12′), 103.9, 103.4, 103.3, 102.9, 102.8 (C-8′ and C-11), 97.4 (C-1′), 88.9, 88.34, 88.32, 88.1, 87.2 (C-9′ and C-12), 81.1 (C-3′), 79.2 (C-3), 78.1 (C-2′), 77.3 (C-1), 76.5 (C-4′), 73.7 (C-2), 73.6 (C-5), 73.5 (C-4), 71.1 (C-5′), 68.9 (C-6′), 62.1 (C-10′), 61.6 (C-6), 61.1, 60.7, 59.6 (two C), 59.3 (C-7′ and C-10), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.6 (CH TIPS-triazole), 11.3 (CH TIPS-alkyne), 7.6 (CH_3 TES), 4.4 ppm (CH_2 TES);

IR (neat) 3440 (broad, O-H), 2173 cm^{-1} (weak, C≡CSiR$_3$);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{81}H_{148}N_3O_{10}Si_6$ $[M + H]^+$ 1490.9775; found 1490.9684.

Compound 165β (partial characterization)

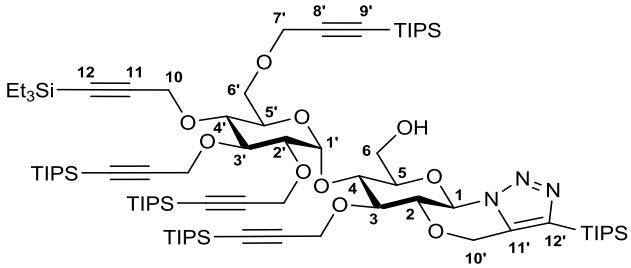


Chemical Formula: $C_{81}H_{147}N_3O_{10}Si_6$
Molecular Weight: 1491,5880

R_f 0.65 (AcOEt/PE 1:9, rev. PMA);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.33 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H; H-1′), 4.69-4.33 (m, 11H; H-1, H-7′ and H-10), 4.26 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H; H-7′), 4.17 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H; H-7′), 4.04 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 3.95-3.77 (m, 4H), 3.69 (m, 1H), 3.64-3.51 (m, 2H), 3.50 (dd, *J* = 9.9, 3.9 Hz, 1H; H-2′), 3.41-3.29 (m, 3H), 3.02 (br s, 1H; OH), 1.07 (s, 105H; TIPS), 0.99 (t, *J* = 7.9 Hz, 9H; CH_3 TES), 0.61 ppm (q, *J* = 7.9 Hz, 6H; CH_2 TES);

Cycloadduct 166β



Chemical Formula: $C_{81}H_{147}N_3O_{10}Si_6$
Molecular Weight: 1491,5880

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +16.7$ (*c* 0.5, $CHCl_3$);

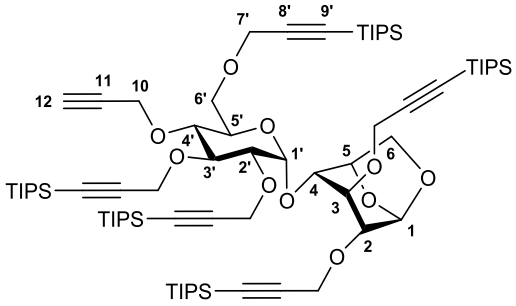
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.62 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H; H-1′), 5.28 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H; H-1), 5.08 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H; H-10′a), 4.92 (d, *J* = 15.0, 1H; H-10′b), 4.66-4.34 (m, 8H; H-7′ and H-10), 4.27 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H; H-7′), 4.21 (dd, *J* = 9.7, 8.5 Hz, 1H; H-4), 4.17 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H; H-7′), 4.08 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H; H-6′a), 4.04 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H; H-6a), 3.96 (dd, *J* = 13.0, 2.5 Hz, 1H; H-6b), 3.91 (dd, *J* = 9.5, 8.4 Hz, 1H; H-3), 3.87 (dd, *J* = 9.6, 9.0 Hz, 1H; H-3′), 3.80-3.71 (m, 2H; H-5 and H-5′), 3.62-3.50 (m, 3H; H-2, H-2′ and H-6′b), 3.39 (dd, *J* = 9.9, 9.0 Hz, 1H; H-4′), 3.25 (br s, 1H; O-H), 1.39 (m, *J* = 7.5 Hz, 3H; CH TIPS-triazole), 1.07 (s, 102H; TIPS-alkyne and CH_3 TIPS-triazole), 1.00 (t, *J* = 7.9 Hz, 9H; CH_3 TES), 0.61 ppm (q, *J* = 7.9 Hz, 6H; CH_2 TES);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 138.3, 136.1 (C-11′ and C-12′), 103.8, 103.7, 103.1, 103.0, 102.5 (C-8′ and C-11), 98.0 (C-1′), 89.1, 88.6, 88.2, 87.55, 87.47 (C-9′ and C-12), 82.9 (C-1), 82.4 (C-3), 80.8 (C-3′), 79.6 (C-2 or C-2′), 78.9 (C-5), 78.7 (C-2 or C-2′), 75.9 (C-4′), 73.4 (C-4), 71.4 (C-5′), 69.4 (C-6′), 64.5 (C-10′), 61.3, 61.1, 60.6, 60.5, 59.9, 59.5 (C6, C-7′ and C-10), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 (CH TIPS), 7.6 (CH_3 TES), 4.4 ppm (CH_2 TES);

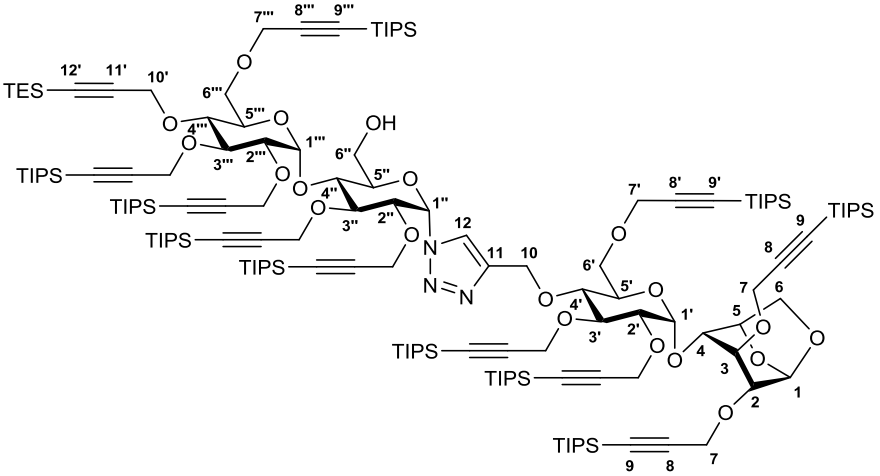
IR (neat) 3502 (broad, O-H), 2174 cm^{-1} (weak, C≡CSiR_3);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{81}H_{148}N_3O_{10}Si_6$ $[M + H]^+$ 1490.9775; found 1490.9732.

Synthesis of module x5 ON-OFF (164)


TIPS
TIPS
TIPS
TIPS
TIPS
O
O
O

Synthesis of module 5+5 OFF-OFF (177)



Chemical Formula: $C_{156}H_{279}N_3O_{20}Si_{11}$
Molecular Weight: 2825,8840

To a solution of **165α** (1 eq., 106 mg, 0.0713 mmol) and **164** (1 eq., 91.2 mg, 0.0684 mmol) in THF (1 mL) was added a bright yellow solution of $CuSO_4{\cdot}5H_2O$ (1 eq., 17.1 mg, 0.0684 mmol) and sodium ascorbate (2 eq., 27.1 mg, 0.137 mmol) in water (1 mL) at 20 °C. The mixture was stirred for 14 h at 20 °C. The reaction was quenched by the addition of 30w%-NH_4OH (1 mL). The reaction mixture was diluted with a 4:1:1 (v/v/v) mixture of MeCN/AcOEt/30w%-NH_4OH and was filtrated on a pad of silica gel (2 cm thick) using the same mixture as eluent (25 mL). Copper precipitated as a blue powder and remained at the top of the silica gel pad. The filtrate was concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (AcOEt/PE 2:98 to 10:90) to afford **177** (127 mg, 65%).

R_f 0.27 (AcOEt/PE 1:9, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{21} = +22.0$ (c 1, $CHCl_3$);

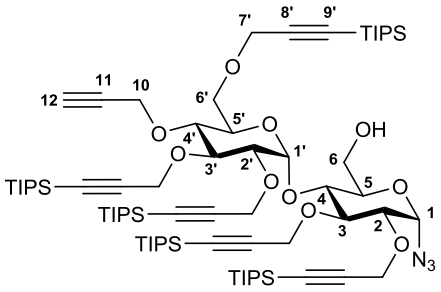
^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 7.58 (s, 1H; H-12), 6.11 (d, J = 5.8 Hz, 1H; H-1″), 5.46 (d, J = 3.7 Hz, 1H; H-1‴), 5.44 (s, 1H; H-1), 5.11 (d, J = 3.1 Hz, 1H; H-1′), 5.09 (d, J = 12.1 Hz, 1H; H-10a), 4.78 (d, J = 12.1 Hz, 1H; H-10b), 4.65-3.95 (m, 27H; H-2″, H-3″, H-4″, H-5, H-6‴a, H-7 (8 x CH_2), H-7′, H-7‴ and H-10′), 3.95-3.45 (m, 18H; H-2, H-2′, H-2‴, H-3, H-3′, H-3‴, H-4, H-4′, H-5′, H-5″, H-5‴, H-6, H-6′, H-6″ and H-6‴b), 3.36 (t, J = 9.3 Hz, 1H; H-4‴), 3.13 (br s, 1H; OH), 1.18-0.94 (m, 210H; 10 x TIPS), 0.99 (t, J = 7.9 Hz, 9H; CH_3 TES), 0.60 ppm (q, J = 7.9 Hz, 6H; CH_2 TES);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 144.4 (C-11), 124.8 (C-12), 104.4, 104.3, 104.1, 103.5, 103.4, 103.3 (two C), 103.12, 103.09, 103.0, 102.7 (C-8, C-8′ , C-8‴ and C-11′), 101.1 (C-1), 98.6 (C-1‴), 97.6 (C-1′), 88.9, 88.7, 88.33, 88.28, 88.1, 87.9, 87.8, 87.5, 87.01, 86.96, 86.8 (C-9, C-9′, C-9‴ and C-12′), 84.2 (C-1″), 81.8 (C-3″), 81.5 (C-3′), 80.9 (C-3‴), 79.0, 78.51, 78.45, 78.3, 77.6 (C-2, C-2′, C-2″, C-2‴ and C-3), 77.2 (two C, C-4 and C-4′), 75.8, 75.7 (C-4‴ and C-5), 74.9, 74.8 (C-4″ and C-5″), 71.4 (C-5‴), 70.7 (C-5′), 69.7 (C-6‴), 68.2 (C-6′), 66.7 (C-6), 66.1 (C-10), 61.3, 61.2, 61.1, 60.42, 60.37, 59.72, 59.66, 59.5, 59.0, 58.7, 58.0 (C-6″, C-7, C-7′, C-7‴ and C-10′), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 (CH TIPS), 7.6 (CH_3 TES), 4.6 ppm (CH_2 TES);

IR (neat) 3501 (broad, weak, O-H), 2174 cm^{-1} (weak, C≡CSiR$_3$);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{156}H_{280}N_3O_{20}Si_{11}Na$ $[M + H + Na]^{2+}$ 1423.4167; found 1423.4063.

Synthesis of module x5 ON-ON (167)



Chemical Formula: $C_{75}H_{133}N_3O_{10}Si_5$
Molecular Weight: 1377,3250

To a solution of **165α** (1 eq., 21 mg, 0.014 mmol) in a 7:4:1 mixture of DCM (0.290 mL) / MeOH (0.170 mL) / water (0.040 mL) was added $AgNO_3$ (5 eq., 12 mg, 0.070 mmol) at 20 °C. The mixture was stirred for 12 h at 20 °C. Sat. NH_4Cl (10 mL) was added to the mixture, which was extracted with DCM (3x10 mL). The combined organic extracts were dried with Na_2SO_4, filtered and concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography to afford **167** (13.2 mg, 68%).

R_f 0.41 (AcOEt/PE 1:9, rev. PMA);

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +43.4$ (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 5.58 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H; H-1), 5.48 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H; H-1′), 4.62-4.16 (m, 12H; H-10 and H-7′), 4.00 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H; H-6′a), 3.95-3.80 (m, 3H; H-3′, H-4 and H-6a), 3.79-3.56 (m, 6H; H-2, H-3, H-5, H-5′, H-6b and H-6′b), 3.53 (dd, *J* = 9.9, 3.6 Hz, 1H; H-2′), 3.35 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H; H-4′), 2.99 (br s, 1H; OH), 2.39 (s, 1H; H-12), 1.07 ppm (s, 105H; 5 x TIPS);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 104.0, 103.9, 103.1, 102.9, 102.6 (C-8′), 98.0 (C-1′), 88.8, 88.6, 88.1 (C-9′), 87.9 (C-1), 87.4, 87.2 (C-9′), 81.1 (C-3), 80.3 (C-3′), 80.1 (C-11), 80.0 (C-2), 79.1 (C-2′), 75.9 (C-4′), 74.6 (C-9), 73.7 (C-4), 73.1 (C-5), 71.2 (C-5′), 69.2 (C-6′), 61.3, 61.0 (C-10 or C-7′), 60.7 (C-6), 60.0, 59.8, 59.7, 59.6 (C-10 or C-7′), 18.7 (CH_3 TIPS), 11.3 ppm (CH TIPS);

IR (neat) 3500 (broad, O-H), 3316 (weak, CC-H), 2168 (weak, C≡CSiR$_3$), 2113 cm^{-1} (sharp, N_3);

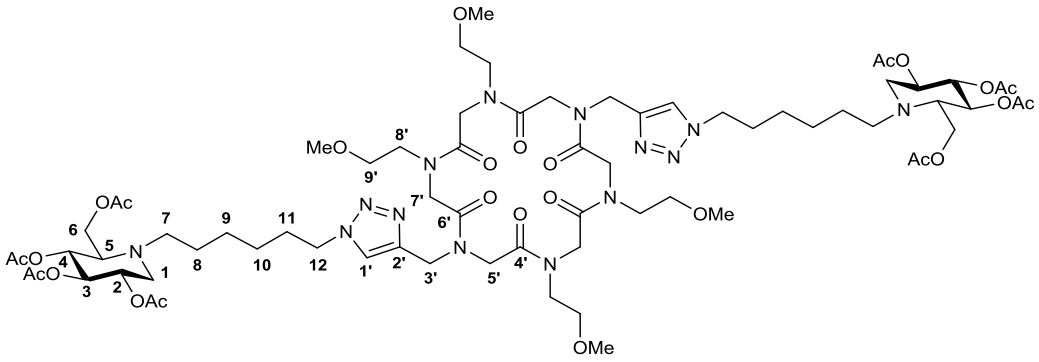
HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{75}H_{134}N_3O_{10}Si_5$ $[M + H]^+$ 1376.8910; found 1376.8948.

Iminosugar Click Clusters

General procedure for the synthesis of cyclopeptoid-based iminosugar click clusters 203-206

To a solution of the cyclopeptoid **193**, **194**, **195** or **196** (typically 5 to 15 mg) and ligand **185a** or **185b** (1.1 eq/alkyne moiety) in DMF (typically 0.5 to 1 mL) in a microwave vial was added a bright yellow suspension of $CuSO_4{\cdot}5H_2O$ (0.1 eq./alkyne moiety) and sodium ascorbate (0.2 eq./alkyne moiety) in water (typically 0.1 to 0.2 mL). The mixture was stirred and heated under microwave irradiation for 1 h (**203a,b**) or 3 h (**204-206**) at 80°C. The mixture was concentrated, diluted in a 9:1:1 (v/v/v) mixture of MeCN/water/30w%-NH_4OH and filtrated with the same eluent (25 mL) on a small pad of SiO_2 (typically 1 cm thick), whose top surface became blue after copper complexation with NH_3. The filtrate was concentrated and then filtrated on another pad of SiO_2 (typically 1 cm wide and 2 cm thick), eluting it with AcOEt/PE 4:6 (25 mL) to recover clean unclicked ligand **185a** or **185b**, and then with MeCN/water 8:2 (25 mL) to afford iminosugar click clusters **203-206** as pale brown translucent wax after concentration.

Compound 203a (acetylated CP2-DNJC$_6$)



Chemical Formula: $C_{70}H_{112}N_{14}O_{27}$
Molecular Weight: 1581,7370

Synthesised from **193** and **185a** with 82% yield.

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = 0$ (*c* 0.5, $CHCl_3$);

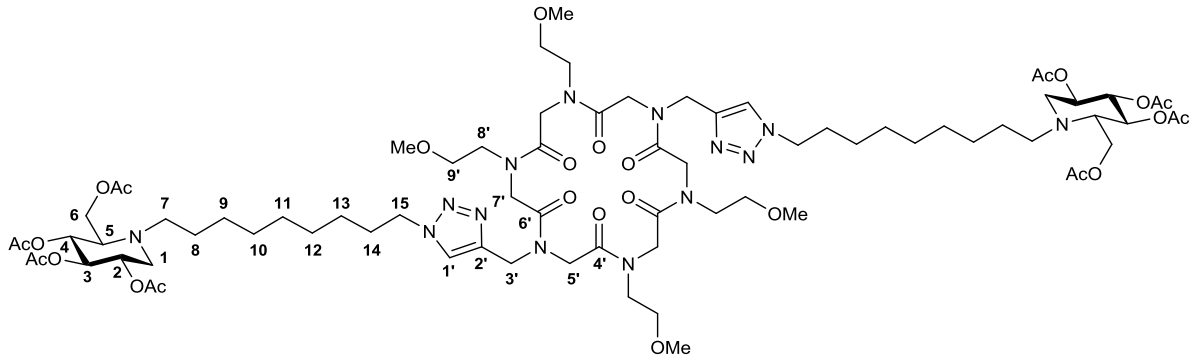
^{1}H-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1 + 1.9 eq Na picrate, 400 MHz) δ 7.76 (s, 2H; H-1′), 5.06-4.94 (m, 4H; H-3 and H-4), 4.92 (d, *J* = 16.7 Hz, 2H; H-3 or H-5), 4.85 (td, *J* = 9.7, 5.2 Hz, 2H; H-2), 4.76 (d, *J* = 16.5 Hz, 2H; H-3′ or H-5′), 4.67 (d, *J* = 16.7 Hz, 4H; H-7′), 4.46 (d, *J* = 16.5 Hz, 2H; H-3′ or H-5′), 4.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 4H; H-12), 4.15 (dd, *J* = 12.7, 2.1 Hz, 2H; H-6a), 4.10 (dd, *J* = 12.8, 3.2 Hz, 2H; H-6b), 3.96 (d, *J* = 16.7 Hz, 2H; H-3′ or H-5′), 3.84 (dd, *J* = 16.8, 6.2 Hz, 4H; H-7′), 3.70-3.22 (m, 28H; H-8′, H-9′ and MeO), 3.15 (dd, *J* = 11.5, 4.8 Hz, 2H; H-1a), 2.80-2.65 (m, 2H; H-7a), 2.69 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H; H-5), 2.59-2.47 (m, 2H; H-7b), 2.36 (t, *J* = 11.0 Hz, 2H; H-1b), 2.05-1.93 (m, 24H; Ac), 1.87 (m, 4H; H-11), 1.43 (m, 4H; H-8), 1.31 ppm (m, 8H; H-9 and H-10);

^{13}C-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1, 100 MHz) δ 171.9, 171.8, 171.6, 171.4 (C=O Ac), 171.0-170.5 (C-4′ and C-6′), 143.2 (C-2′), 124.1 (C-1′), 75.2 (C-2), 71.6-70.9 (C-8′ and C-9′), 70.4, 70.2 (C-3 and C-4), 62.1 (C-5), 60.5 (C-6), 59.3 (MeO), 53.4 (C-1), 52.2 (C-7), 51.6-50.3 (C-7′), 50.8 (C-12), 49.7, 44.9 (C-3′ and C-5′), 30.9, 27.2, 26.8, 25.3 (C-8 to C-11), 21.1 ppm (CH_3 Ac);

IR (neat) 1743 (strong, C=O acetate), 1670 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{70}H_{111}N_{14}O_{26}$ $[M + H]^+$ 1563.7788; found 1563.7690.

Compound 203b (acetylated CP2-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{76}H_{124}N_{14}O_{27}$
Molecular Weight: 1665,8990

Synthesised from **193** and **185b** with 98% yield.

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +3.5$ (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1 + 1.8 eq Na picrate, 400 MHz) δ 7.75 (s, 2H; H-1′), 5.05-4.92 (m, 4H; H-3 and H-4), 4.90 (d, *J* = 16.9 Hz, 2H; H-3′ or H-5′), 4.83 (td, *J* = 9.7, 4.9 Hz, 2H; H-2), 4.73 (d, *J* = 16.3 Hz, 2H; H-3′ or H-5′), 4.65 (d, *J* = 16.9 Hz, 4H; H-7′), 4.46 (d, *J* = 16.3 Hz, 2H; H-3′ or H-5′), 4.33 (t, *J* = 7.1 Hz, 4H; H-15), 4.14 (d, *J* = 12.9, 1.9 Hz, 2H; H-6a), 4.09 (dd, *J* = 12.9, 3.0 Hz, 2H; H-6b), 3.95 (d, *J* = 16.9 Hz, 2H; H-3′ or H-5′), 3.83 (dd, *J* = 16.9, 5.9 Hz, 4H; H-7′), 3.61-3.25 (m, 28H; H-8′, H-9′ and MeO), 3.13 (dd, *J* = 11.3, 5.0 Hz, 2H; H-1a), 2.77-2.64 (m, 2H; H-7a), 2.69 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H; H-5), 2.59-2.47 (m, 2H; H-7b), 2.37 (t, *J* = 11.3 Hz, 2H; H-1b), 2.04-1.91 (m, 24H; Ac), 1.85 (m, 4H; H-14), 1.41 (m, 4H; H-8), 1.28 ppm (m, 20H; H-9, H-10, H-11, H-12 and H-13);

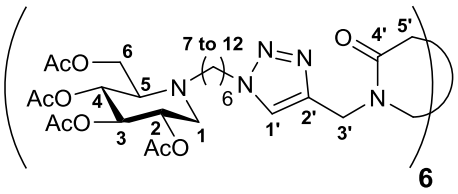
^{13}C-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1, 100 MHz) δ 171.9, 171.8, 171.6, 171.4 (C=O Ac), 171.1-170.6 (C-4′ and C-6′), 143.2 (C-2′), 124.0 (C-1′), 75.3 (C-2), 71.9-70.9 (C-8′ and C-9′), 70.5, 70.2 (C-3 and C-4), 62.1 (C-5), 60.5 (C-6), 59.3 (MeO), 53.4 (C-1), 52.4 (C-7), 51.8-50.2 (C-7′), 51.0 (C-15), 49.7, 45.0 (C-3′ and C-5′), 31.0, 30.13, 30.07, 29.7, 27.8, 27.0, 25.5 (C-8 to C-14), 21.1 ppm (CH_3 Ac);

IR (neat) 1745 (strong, C=O acetate), 1670 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{76}H_{122}N_{14}O_{26}Na$ $[M + Na]^+$ 1669.8547; found 1669.8459.

MS (MALDI) m/z calcd for $C_{76}H_{123}N_{14}O_{26}$ $[M + H]^+$ 1647.873; found 1647.999.

Compound 204a (acetylated CP6-DNJC$_6$)



Chemical Formula: $C_{150}H_{222}N_{30}O_{54}$
Molecular Weight: 3309,5820

Synthesised from **194** and **185a** with 95% yield.

Optical rotation $[\alpha]_D^{18}$ = +6.2 (*c* 1, $CHCl_3$);

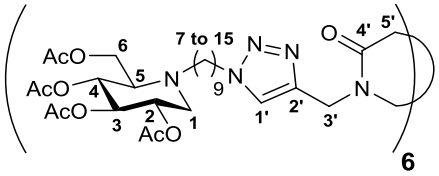
^{1}H-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1 + 11 eq. sodium picrate, 400 MHz) δ 7.76 (s, 6H; H-1'), 4.97 (m, J = 10.3 Hz, 12H; H-3, H-4), 4.85 (d, J = 16.3 Hz, 6H; H-3' or H-5'), 4.83 (td, J = 9.8, 5.3 Hz, 6H; H-2), 4.71 (d, J = 16.3 Hz, 6H; H-3' or H-5'), 4.45 (d, J = 16.3 Hz, 6H; H-3' or H-5'), 4.32 (t, J = 7.0 Hz, 12H; H-12), 4.10 (dd, J = 19.4, 13.0 Hz, 12H; H-6), 3.97 (d, J = 16.3 Hz, 6H; H-3' or H-5'), 3.11 (dd, J = 11.1, 5.3 Hz, 6H; H-1a), 2.70 (m, 6H; H-7a), 2.68 (d, J = 8.8 Hz, 6H; H-5), 2.51 (m, 6H; H-7b), 2.35 (dd, J = 12.7, 11.1 Hz, 6H; H-1b), 1.95 (s, 72H; AcO), 1.85 (m, 12H; H-11), 1.40 (m, 12H; H-8), 1.28 ppm (m, 24H; H-9, H-10);

^{13}C-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1, 100 MHz) δ 171.4, 170.94, 170.88, 170.6, 170.6-168.9, 144.4-142.8, 124.7-123.8, 75.3, 70.5, 70.2, 62.1, 60.5, 53.4, 52.3, 50.8, 50.3-48.5, 44.9-42.6, 30.9, 27.3, 27.0, 25.2, 21.1 ppm;

IR (neat) 1742 (strong, C=O acetate), 1672 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{150}H_{224}N_{30}O_{54}$ $[M + 2H]^{2+}$ 1654.7847; found 1654.7827.

Compound 204b (acetylated CP6-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{168}H_{258}N_{30}O_{54}$
Molecular Weight: 3562,0680

Synthesised from **194** and **185b** with 83% yield.

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = +5.8 (*c* 1, $CHCl_3$);

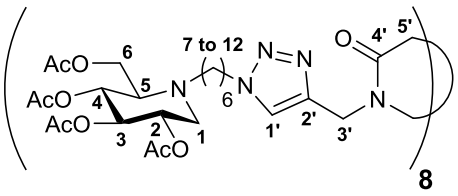
^{1}H-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1 + 9 eq. sodium picrate, 400 MHz) δ 7.76 (s, 6H; H-1'), 4.97 (m, *J* = 10.3 Hz, 12H; H-3, H-4), 4.85 (d, *J* = 16.3 Hz, 6H; H-3' or H-5'), 4.83 (td, *J* = 9.8, 5.3 Hz, 6H; H-2), 4.71 (d, *J* = 16.3 Hz, 6H; H-3' or H-5'), 4.45 (d, *J* = 16.3 Hz, 6H; H-3' or H-5'), 4.32 (t, *J* = 7.0 Hz, 12H; H-15), 4.10 (dd, *J* = 19.4, 13.0 Hz, 12H; H-6), 3.97 (d, *J* = 16.3 Hz, 6H; H-3' or H-5'), 3.11 (dd, *J* = 11.1, 5.3 Hz, 6H; H-1a), 2.70 (m, 6H; H-7a), 2.68 (d, *J* = 8.8 Hz, 6H; H-5), 2.51 (m, 6H; H-7b), 2.35 (dd, *J* = 12.7, 11.1 Hz, 6H; H-1b), 1.95 (s, 72H; AcO), 1.85 (m, 12H; H-14), 1.40 (m, 12H; H-8), 1.28 ppm (m, 60H; H-9 to H-13);

^{13}C-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1, 100 MHz) δ 171.4, 170.94, 170.88, 170.6, 170.6-168.9, 144.4-142.8, 124.7-123.8, 75.3, 70.5, 70.2, 62.1, 60.5, 53.4, 52.3, 50.8, 50.3-48.5, 44.9-42.6, 30.9, 30.2, 30.1, 29.7, 27.9, 27.2, 25.3, 21.1 ppm;

IR (neat) 1743 (strong, C=O acetate), 1672 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{168}H_{261}N_{30}O_{54}$ $[M + 3H]^{3+}$ 1187.6194; found 1187.6215.

Compound 205a (acetylated CP8-DNJC$_6$)



Chemical Formula: $C_{200}H_{296}N_{40}O_{72}$
Molecular Weight: 4412,7760

Synthesised from **195** and **185a** with 69% yield.

Optical rotation $[\alpha]_D^{24} = +5.1$ (c 1, $CHCl_3$);

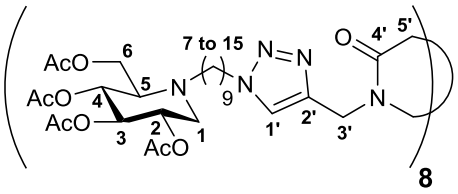
^{1}H-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1, 400 MHz) δ 7.78-76.8 (m, 8H; H-1′), 5.26-5.10 (m, 4H; H-3′ or H-5′), 4.98 (m, 16H; H-3 and H-4), 4.95-3.83 (m, 28H; H-3′ and H-5′), 4.84 (m, 8H; H-2), 4.33 (m, 16H; H-12), 4.12 (s, 16H; H-6), 3.11 (m, 8H; H-1a), 2.69 (m, 16H; H-5 and H-7a), 2.55 (m, 8H; H-7b), 2.37 (m, 8H; H-1b), 1.99 (s, 96H; AcO), 1.88 (m, 16H; H-11), 1.42 (br s, 16H; H-8), 1.31 ppm (br s, 32H; H-9 and H-10);

^{13}C-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1, 100 MHz) δ 171.2, 170.83, 170.79, 170.7, 170.5, 169.8, 169.7, 167.5, 144.1, 143.2, 124.2, 124.1, 124.0, 123.8, 75.2, 70.3, 70.1, 61.9, 60.4, 53.3, 52.2, 50.7, 50.0, 49.2, 48.8, 47.9, 44.4, 43.5, 42.55, 30.7, 27.1, 26.9, 25.1, 21.0 ppm; **IR (neat)** 1744 (strong, C=O acetate), 1676 cm^{-1} (strong, C=O amide);

IR (neat) 1741 (strong, C=O acetate), 1674 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{200}H_{299}N_{40}O_{72}$ $[M + 3H]^{3+}$ 1471.0316; found 1471.0329.

Compound 205b (acetylated CP8-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{224}H_{344}N_{40}O_{72}$
Molecular Weight: 4749,4240

Synthesised from **195** and **185b** with 80% yield.

Optical rotation $[\alpha]_D^{21} = +5.9$ (c 1, $CHCl_3$);

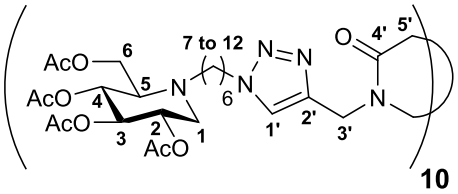
^{1}H-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1, 400 MHz) δ 7.78-76.8 (m, 8H; H-1′), 5.26-5.10 (m, 4H; H-3′ or H-5′), 4.99 (m, 16H; H-3 and H-4), 4.95-3.83 (m, 28H; H-3′ and H-5′), 4.85 (td, J = 9.7, 5.1 Hz, 8H; H-2), 4.33 (m, 16H; H-15), 4.13 (s, 16H; H-6), 3.14 (dd, J = 11.7, 4.8 Hz, 8H; H-1a), 2.69 (m, 16H; H-5 and H-7a), 2.55 (m, 8H; H-7b), 2.37 (dd, J = 11.9, 10.3 Hz, 8H; H-1b), 1.99 (s, 96H; AcO), 1.88 (m, 16H; H-14), 1.42 (br s, 16H; H-8), 1.31 ppm (br s, 80H; H-9 to H-13);

^{13}C-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1, 100 MHz) δ 171.2, 170.83, 170.76, 170.7, 170.5, 169.8, 169.7, 167.5, 144.1, 143.14, 143.07, 124.17, 124.05, 123.94, 123.8, 75.2, 70.3, 70.1, 61.9, 60.4, 53.3, 52.2, 50.7, 50.0, 49.2, 48.8, 47.9, 44.4, 43.5, 42.55, 30.8, 30.0, 29.6, 27.7, 27.1, 25.3, 21.0 ppm;

IR (neat) 1743 (strong, C=O acetate), 1675 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{224}H_{345}N_{40}O_{72}Na$ $[M + H + Na]^{2+}$ 2385.2226; found 2385.2264.

Compound 206a (acetylated CP10-DNJC$_6$)



Chemical Formula: $C_{250}H_{370}N_{50}O_{90}$
Molecular Weight: 5515,9700

Synthesised from **196** and **185a** with 70% yield.

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +4.5$ (*c* 1, $CHCl_3$);

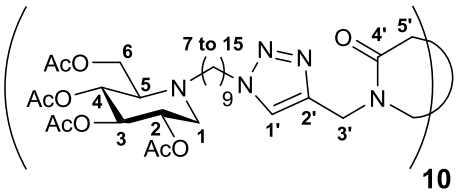
^{1}H-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1, 400 MHz) δ 8.05-7.64 (m, 10H; H-1′), 5.58-3.48 (br m, 40H; H-3′ and H-5′), 4.98 (m, 20H; H-3 and H-4), 4.84 (m, 10H; H-2), 4.34 (br s, 20H; H-12), 4.12 (m, 20H; H-6), 3.12 (br s, 10H; H-1a), 2.69 (m, 20H; H-5 and H-7a), 2.56 (m, 10H; H-7b), 2.37 (m, 10H; H-1b), 1.99 (s, 120H; AcO), 1.87 (m, 20H; H-11), 1.51-1.15 ppm (m, 60H; H-8 to H-10);

^{13}C-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1, 75.5 MHz) δ 171.9, 171.4, 171.3, 171.1, 171.0-169.2, 145.0-143.3, 125.6-124.1, 75.7, 70.9, 70.7, 62.5, 61.0, 53.9, 52.8, 51.4, 50.4-48.9, 45.2-42.3, 31.4, 27.8, 27.5, 25.8, 21.6 ppm;

IR (neat) 1743 (strong, C=O acetate), 1674 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{250}H_{372}N_{50}O_{90}$ $[M + 2H]^{2+}$ 2757.3029; found 2757.3300.

Compound 206b (acetylated CP10-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{280}H_{430}N_{50}O_{90}$
Molecular Weight: 5936,7800

Synthesised from **196** and **185b** with 80% yield.

Optical rotation $[\alpha]_D^{21} = +6.5$ (*c* 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8.14-7.44 (m, 10H; H-1′), 5.86-3.30 (br m, 40H; H-3′ and H-5′), 5.04 (m, 20H; H-3 and H-4), 4.93 (m, 10H; H-2), 4.33 (br s, 20H; H-15), 4.14 (s, 20H; H-6), 3.18 (m, 10H; H-1a), 2.71 (m, 10H; H-7a), 2.62 (d, *J* = 8.8Hz, 10H; H-5), 2.54 (m, 10H; H-7b), 2.31 (dd, *J* = 11.6, 9.9 Hz, 10H; H-1b), 2.04 (m, 120H; AcO), 1.89 (m, 20H; H-14), 1.51-1.05 ppm (m, 120H; H-8 to H-13);

^{13}C-NMR ($CD_3CN/CDCl_3$ 9:1, 100 MHz) δ 171.4, 170.9, 170.8, 170.6, 170.2-168.9, 144.4-142.2, 125.0-123.5, 75.3, 70.4, 70.2, 62.0, 60.5, 53.4, 52.5, 50.9, 50.4-47.0, 45.3-41.5, 31.0, 30.2, 30.1, 29.7, 27.9, 27.2, 25.4, 21.1 ppm;

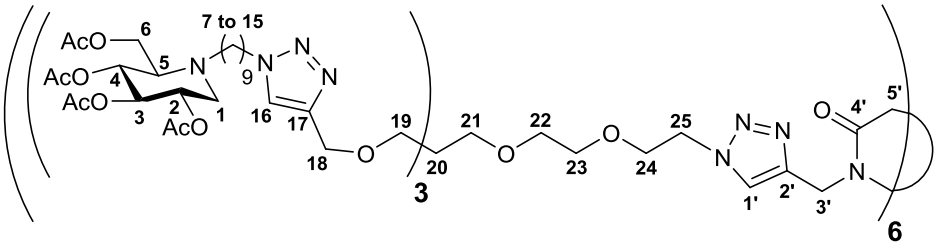
IR (neat) 1744 (strong, C=O acetate), 1674 cm^{-1} (strong, C=O amide);

MS (MALDI-TOF) m/z calcd for average mass of $C_{280}H_{430}N_{50}O_{90}Na$ $[M + Na]^+$ 5959.1; found 5958.7.

General procedure for the synthesis of iminosugar click clusters 211-213 and 191

To a solution of the scaffold **194**, **195**, **196** or **CD7** (typically 3.5 to 5 mg) and "clickable dendron" **190** (1.2 eq/alkyne moiety) in DMF (typically 0.5 to 1 mL) in a microwave vial was added a bright yellow suspension of $CuSO_4{\cdot}5H_2O$ (0.1 eq./alkyne moiety) and sodium ascorbate (0.2 eq./alkyne moiety) in water (typically 0.1 to 0.2 mL). The mixture was stirred and heated under microwave irradiation for 3 h at 80°C. The mixture was concentrated, diluted in a 9:1:1 (v/v/v) mixture of MeCN/water/30w%-NH_4OH and filtrated with the same eluent (25 mL) on a small pad of silica gel (typically 1 cm thick), whose top surface became blue after copper complexation with NH_3. The filtrate was concentrated. The crude residue was purified by flash chromatography (DCM/MeOH 99:1 to 90:10) to recover clean unclicked "clickable dendron" **190** and to afford iminosugar click clusters **211-213** and **191** as pale brown translucent wax after concentration.

Compound 211 (acetylated CP6x3-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{552}H_{864}N_{96}O_{180}$
Molecular Weight: 11725,4760

Synthesised from **194** and **190** with 75% yield.

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +4.2$ (c 1, $CHCl_3$);

Due to the flexibility of the cyclopeptoid scaffold, the protons 3' and 5' (representing less than 3% of total number of protons) are not clearly visible in the ^{1}H-NMR spectrum and thus not indicated. For more details, see IV-3.3.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 8.28-7.43 (m, 6H; H-1'), 7.56 (s, 18H; H-16), 5.07-4.96 (m, 36H; H-3 and H-4), 4.96-4.89 (ddd, J = 10.4, 9.1, 5.1 Hz, 18H; H-2), 4.50 (m, 48H; H-18 and H-25), 4.27 (m, 36H; H-15), 4.11 (s, 36H; H-6), 3.94-3.79 (m, 12H; H-24), 3.58-3.31 (m, 72H; H-19, H-21, H-22 and H-23), 3.15 (dd, J = 11.2, 5.1 Hz, 18H; H-1a), 2.73-2.64 (m, 18H; H-7a), 2.60 (d, J = 8.7 Hz, 18H; H-5), 2.56-2.48 (m, 18H; H-7b), 2.29 (dd, J = 11.2, 10.4 Hz, 18H; H-1b), 2.07-1.92 (m, 216H; Ac), 1.85 (m, 36H; H-14), 1.45-1.10 ppm (m, 216H; H-8, H-9, H-10, H-11, H-12 and H-13);

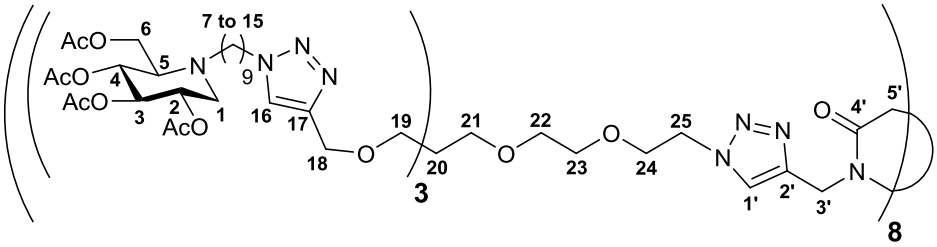
^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ 171.0, 170.4, 170.1, 169.8 (C=O Ac), 169.5-167.0 (C-4'), 145.2 (C-17), 143.9-141.3 (C-2'), 125.3-123.6 (C-1'), 122.6 (C-16), 74.7 (C-2), 71.1, 71.0, 70.2, 69.9 (C-21 to C-24), 69.52, 59.46 (C-3 and C-4), 69.2 (C-18), 65.1 (C-19), 61.4 (C-5), 59.5 (C-6), 53.0 (C-1), 51.9 (C-7), 50.3 (C-15 and C-25), 49.4-47.1 (C-3' or C-5'), 45.4 (C-20), 44.3-41.0 (C-3' or C-5'), 30.5, 29.5, 29.1, 27.3, 26.6, 24.6 (C-8 to C-14), 20.95, 20.93, 20.82, 20.76 ppm (CH_3 Ac);

IR (neat) 1744 (strong, C=O acetate), 1672 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{552}H_{870}N_{96}O_{180}$ $[M + 6H]^{6+}$ 1954.0307; found 1953.9758.

MS (MALDI) m/z calcd for $C_{552}H_{864}N_{96}O_{180}Na$ $[M + Na]^+$ 11741.13; found 11751.97.

Compound 212 (acetylated CP8x3-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{736}H_{1152}N_{128}O_{240}$
Molecular Weight: 15633,9680

Synthesised from **195** and **190** with 73% yield.

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +4.1$ (c 1, $CHCl_3$);

Due to the flexibility of the cyclopeptoid scaffold, the protons 3' and 5' (representing less than 3% of total number of protons) are not clearly visible in the ^{1}H-NMR spectrum and thus not indicated. For more details, see IV-3.3.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 7.90-7.39 (m, 32H; H-16 and H-1'), 5.08-4.96 (m, 48H; H-3 and H-4), 4.92 (ddd, J = 10.3, 8.7, 4.9 Hz, 24H; H-2), 4.56-4.42 (m, 64H; H-18 and H-25), 4.33-4.22 (m, 48H; H-15), 4.12 (s, 48H; H-6), 3.91-3.77 (m, 16H; H-24), 3.61-3.27 (m, 96H; H-19, H-21, H-22 and H-23), 3.15 (dd, J = 11.2, 4.9 Hz, 24H; H-1a), 2.74-2.64 (m, 24H; H-7a), 2.60 (d, J = 8.9 Hz, 24H; H-5), 2.57-2.47 (m, 24H; H-7b), 2.30 (dd, J = 11.2, 10.3 Hz, 24H; H-1b), 2.07-1.93 (m, 288H; Ac), 1.85 (m, 48H; H-14), 1.45-1.12 ppm (m, 288H; H-8, H-9, H-10, H-11, H-12 and H-13);

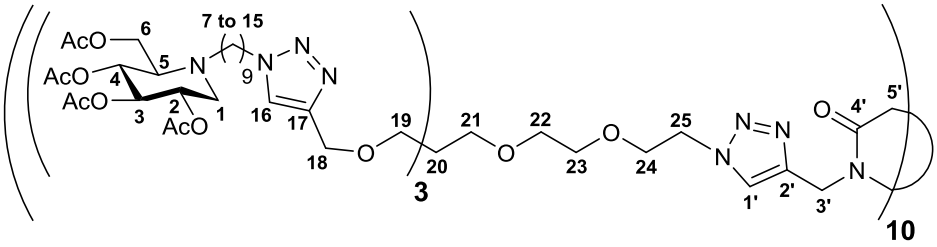
^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ 171.0, 170.4, 170.1, 169.8 (C=O Ac), 169.3-165.0 (C-4'), 145.2 (C-17), 144.0-141.4 (C-2'), 124.9-123.4 (C-1'), 122.6 (C-16), 74.7 (C-2), 71.1, 70.9, 70.3, 69.9 (C-21 to C-24), 69.55, 69.49 (C-3 and C-4), 69.3 (C-18), 65.1 (C-19), 61.4 (C-5), 59.5 (C-6), 53.0 (C-1), 51.9 (C-7), 50.3 (C-15 and C-25), 50.0-46.8 (C-3' or C-5'), 45.4 (C-20), 44.2-41.3 (C-3' or C-5'), 30.5, 29.5, 29.1, 27.3, 26.6, 24.6 (C-8 to C-14), 20.96, 20.94, 20.84, 20.77 ppm (CH_3 Ac);

IR (neat) 1745 (strong, C=O acetate), 1676 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) average m/z calcd for $C_{736}H_{1164}N_{128}O_{240}$ $[M + 12H]^{12+}$ 1303.7751; found 1303.7710.

MS (MALDI) m/z calcd for $C_{736}H_{1152}N_{128}O_{240}Na$ $[M + Na]^+$ 15647.2; found 15647.2.

Compound 213 (acetylated CP10x3-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{920}H_{1440}N_{160}O_{300}$
Molecular Weight: 19542,4600

Synthesised from **196** and **190** with 53% yield.

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +4.3$ (c 1, $CHCl_3$);

Due to the flexibility of the cyclopeptoid scaffold, the protons 3' and 5' (representing less than 3% of total number of protons) are not clearly visible in the ^{1}H-NMR spectrum and thus not indicated. For more details, see IV-3.3.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 8.14-7.40 (m, 40H; H-16 and H-1'), 5.10-4.97 (m, 60H; H-3 and H-4), 4.93 (td, J = 9.7, 4.9 Hz, 30H; H-2), 4.60-4.37 (m, 80H; H-18 and H-25), 4.29 (t, J = 7.1 Hz, 60H; H-15), 4.12 (s, 60H; H-6), 3.92-3.74 (m, 20H; H-24), 3.61-3.30 (m, 120H; H-19, H-21, H-22 and H-23), 3.16 (dd, J = 11.4, 5.0 Hz, 30H; H-1a), 2.75-2.65 (m, 30H; H-7a), 2.61 (d, J = 8.9 Hz, 30H; H-5), 2.58-2.48 (m, 30H; H-7b), 2.30 (t, J = 10.7 Hz, 30H; H-1b), 2.07-1.93 (m, 360H; Ac), 1.85 (m, 60H; H-14), 1.49-1.11 ppm (m, 360H; H-8, H-9, H-10, H-11, H-12 and H-13);

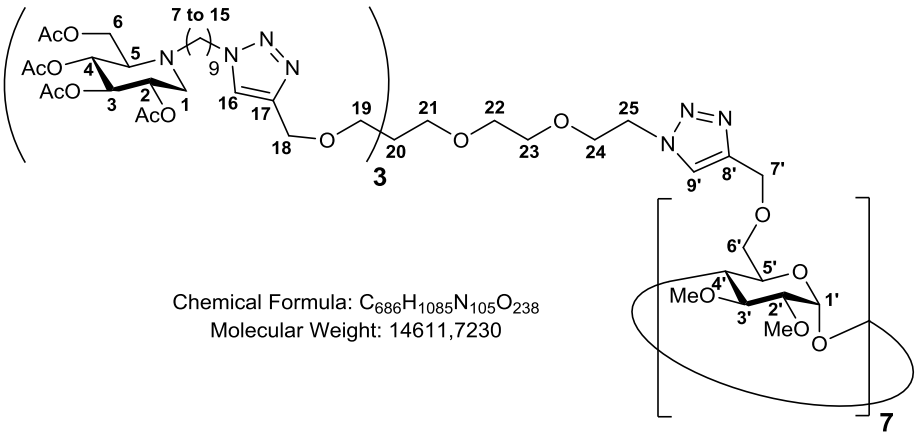
^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ 171.0, 170.4, 170.1, 169.8 (C=O Ac), 169.9-166.5 (C-4'), 145.3 (C-17), 144.0-141.0 (C-2'), 125.2-123.2 (C-1'), 122.5 (C-16), 74.7 (C-2), 71.1, 71.0, 70.3, 69.9 (C-21 to C-24), 69.6, 69.5 (C-3 and C-4), 69.3 (C-18), 65.1 (C-19), 61.4 (C-5), 59.5 (C-6), 53.0 (C-1), 51.9 (C-7), 60.4 (C-15 and C-25), 49.2-47.7 (C-3' or C-5'), 45.4 (C-20), 44.6-40.9 (C-3' or C-5'), 30.5, 29.5, 29.0, 27.3, 26.6, 24.6 (C-8 to C-14), 20.98, 20.96, 20.86, 20.79 ppm (CH_3 Ac);

IR (neat) 1744 (strong, C=O acetate), 1676 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) average m/z calcd for $C_{920}H_{1452}N_{160}O_{300}Na$ + HCOOH $[M + 12H + Na + HCOOH]^{13+}$ 1508.5584; found 1508.9507.

MS (MALDI) m/z calcd for $C_{920}H_{1440}N_{160}O_{300}Na$ $[M + Na + HCOOH]^+$ 19599.3; found 19603.7.

Compound 191 (acetylated CD7x3-DNJC$_9$)



Synthesised from **CD7** and **190** with 76% yield.

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +21.0$ (c 1, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 7.68 (s, 7H; H-9′), 7.53 (s, 21H; H-16), 4.95-5.11 (m, 49H; H-3, H-4 and H-1′), 4.87-4.94 (m, 21H; H-2), 4.56-4.65 (m, 7H; H-7′a), 4.46-4.55 (m, 49H; H-7′b and H-18), 4.38-4.36 (m, 14H; H-25), 4.27 (t, J = 7.1 Hz, 42H; H-15), 4.08-4.12 (m, 42H; H-6), 3.86-3.97 (m, 7H, H-6′a), 3.71-3.84 (m, 21H; H-5′ and H-24), 3.52-3.70 (m, 35H; MeO, H-4′ and H-6′b), 3.28-3.54 (m, 112H; H-19, H-21, H-22, H-23, MeO and H-3′), 3.14 (dd, J = 11.3, 5.1 Hz, 21H; H-1a), 3.03-3.11 (m, 7H; H-2′), 2.62-2.71 (m, 21H; H-7a), 2.55-2.62 (m, 21H; H-5), 2.46-2.55 (m, 21H; H-7b), 2.28 (t, J = 11.3 Hz, 21H; H-1b), 1.94-2.04 (m, 252H; Ac), 1.79-1.88 (m, 42H; H-14), 1.17-1.41 ppm (m, 252H; H-8 to H-13);

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz) δ 170.9, 170.4, 170.0, 169.7 (C=O Ac), 145.2 (C-17), 144.8 (C-8′), 123.7 (C-9′), 122.5 (C-16), 98.9 (C-1′), 82.1 (C-2′), 81.7 (C-3′), 79.8 (C-4′), 74.7 (C-3or C-4), 71.2 (C-5′), 71.0 (C-22), 70.2 (C-23), 69.8 (C-24), 69.5, 69.43 (C-2, C-3 or C-4), 69.36 (C-6′), 69.2 (C-18), 65.0 (C-19, C-21), 64.8 (C-7′), 61.40 (MeO), 61.37 (C-5), 59.4 (C-6), 58.6 (MeO), 52.9 (C-1), 51.8 (C-7), 50.3 (C-15), 50.1 (C-25), 45.3 (C-20), 30.4, 29.5, 29.4, 29.0, 27.2, 26.6 (C- 8 to C-14), 20.92, 20.89, 20.8, 20.7 ppm (CH_3 Ac);

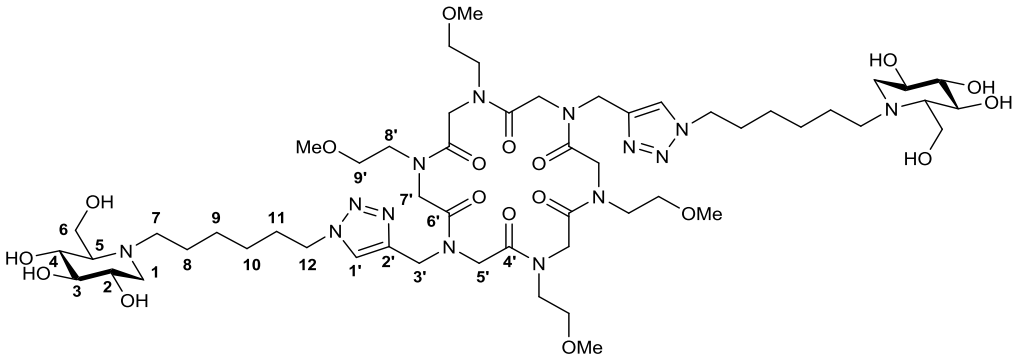
IR (neat) 1744 cm^{-1} (strong, C=O acetate);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{686}H_{1093}N_{105}O_{238}$ $[M + 8H]^{8+}$ 1827.34; found 1827.49.

General procedure for the deprotection of iminosugar click clusters

To a solution of acetate-protected iminosugar click cluster in a 1:1 (v/v) mixture of water/MeOH (typically 600 µL/µmol) was added Amberlite IRA400 (OH^-) (5.5*n* g/mmol of substrate; *n* = number of acetate groups). The suspension was softly stirred overnight at 40°C. Then the mixture was filtrated and the filtrate was concentrated to afford deprotected iminosugar click cluster in quantitative yields.

Compound 207a (CP2-DNJC$_6$)



Chemical Formula: $C_{54}H_{96}N_{14}O_{19}$
Molecular Weight: 1245,4410

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = -7.8$ (*c* 1, MeOH);

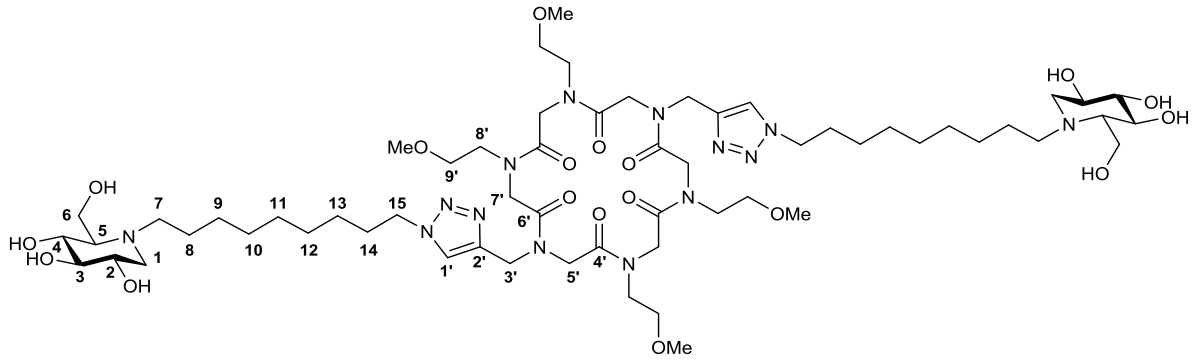
^{1}H-NMR (CD_3OD, 400 MHz) δ 8.18-7.78 (m, 2H; H-1′), 5.10-3.08 (m, 52H; H-2, H-4, H-12, H-3′, H-5′, H-7′, H-8′, H-9′ and MeO), 3.86 (m, 4H; H-6), 3.16 (m, 2H; H-3), 2.98 (dd, *J* = 11.0, 4.4 Hz, 2H; H-1a), 2.80 (m, 2H; H-7a), 2.56 (m, 2H; H-7b), 2.16 (t, *J* = 11.0 Hz, 2H; H-1b), 2.11 (d, *J* = 10.7 Hz, 2H; H-5), 1.93 (m, 4H; H-11), 1.51 (m, 4H; H-8), 1.36 ppm (m, 8H; H-9 and H-10);

^{13}C-NMR (CD_3OD, 100 MHz) δ 174.0-171.0 (C-4′ and C-6′), 146.2-143.3 (C-2′), 125.0 (C-1′), 80.8 (C-3), 72.2 (C-4), 72.6-70.9 (C-8′ and C-9′), 70.9 (C-2), 67.6 (C-5), 59.8 (C-6), 59.5 (MeO), 57.9 (C-1), 53.7 (C-7), 51.4 (C-12), 51.2-49.6, 45.6-43.9 (C-3′, C-5′ and C-7′), 31.4, 28.1, 27.5, 25.3 ppm (C-8 to C-11);

IR (neat) 3376 (broad, O-H), 1651 cm^{-1} (strong, C=O amide);

MS (MALDI) m/z calcd for $C_{54}H_{94}N_{14}O_{18}Na$ $[M + H]^+$ 1227.694; found 1227.729.

Compound 207b (CP2-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{60}H_{108}N_{14}O_{19}$
Molecular Weight: 1329,6030

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -6.0 (*c* 1, MeOH);

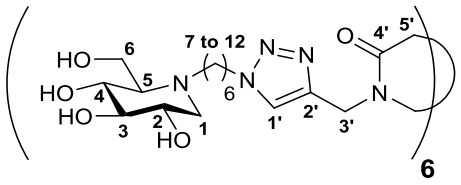
^{1}H-NMR (CD$_3$OD, 400 MHz) δ 8.15-7.77 (m, 2H; H-1′), 5.04-3.10 (m, 52H; H-2, H-4, H-15, H-3′, H-5′, H-7′, H-8′, H-9′ and MeO), 3.86 (m, 4H; H-6), 3.15 (m, 2H; H-3), 3.00 (dd, *J* = 10.8, 4.9 Hz, 2H; H-1a), 2.80 (m, 2H; H-7a), 2.57 (m, 2H; H-7b), 2.18 (t, *J* = 10.8 Hz, 2H; H-1b), 2.11 (d, *J* = 9.4 Hz, 2H; H-5), 1.91 (m, 4H; H-14), 1.50 (m, 4H; H-8), 1.35 ppm (m, 20H; H-9, H-10, H-11, H-12 and H-13);

^{13}C-NMR (CD$_3$OD, 100 MHz) δ 174.6-169.3 (C-4′ and C-6′), 146.0-143.5 (C-2′), 125.0 (C-1′), 80.6 (C-3), 72.0 (C-4), 71.8, 70.9 (C-8′ and C-9′), 70.7 (C-2), 67.4 (C-5), 59.5 (C-6), 59.7-58.7 (MeO), 57.7 (C-1), 53.8 (C-7), 51.3 (C-15), 51.9-49.5, 45.5-43.5 (C-3′, C-5′ and C-7′), 31.3, 30.5, 30.0, 28.5, 27.4, 25.1 ppm (C-8 to C-14);

IR (neat) 3401 (broad, O-H), 1660 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{60}H_{107}N_{14}O_{18}$ $[M + H]^+$ 1311.7882; found 1311.7881.

Compound 208a (CP6-DNJC$_6$)



Chemical Formula: $C_{102}H_{174}N_{30}O_{30}$
Molecular Weight: 2300,6940

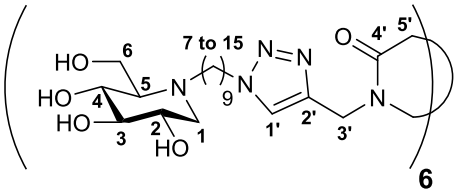
Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -28.0 (*c* 0.1, H$_2$O/DMSO 1:1 + 0.1% TFA);

^{1}H-NMR (D$_2$O + 0.1% TFA, 500 MHz) δ 8.21-7.60 (m, 6H; H-1′), 5.20-3.72 (br m, 12H; H-3′ and H-5′), 4.35 (s, 12H; H-12), 3.85 (s, 12H; H-6), 3.59 (s, 6H; H-2), 3.43 (s, 6H; H-4), 3.31 (s, 6H; H-3), 3.16 (s, 6H; H-1a), 2.91 (s, 6H; H-7a), 2.78 (s, 6H; H-7b), 2.56 (s, 12H; H-1b and H-5), 1.84 (s, 12H; H-11), 1.51 (s, 12H; H-8), 1.25 ppm (s, 24H; H-9 and H-10);

^{13}C-NMR (D$_2$O + 0.1% TFA, 125 MHz) δ 173.4-169.3, 145.6-142.8, 127.4-124.6, 78.9, 70.4, 69.3, 66.8, 57.5, 55.9, 53.9, 51.9, 51.5-49.3, 46.3-43.3, 30.9, 27.3, 26.8, 24.0 ppm;

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{102}H_{176}N_{30}O_{30}$ $[M + 2H]^{2+}$ 1150.6579; found 1150.6626.

Compound 208b (CP6-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{120}H_{210}N_{30}O_{30}$
Molecular Weight: 2553,1800

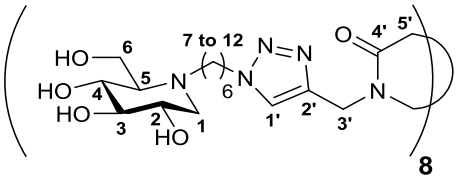
Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -14.0 (*c* 0.0625, H_2O/DMSO 1:1 + 0.1% TFA);

^{1}H-NMR (D_2O/CD_3OD 1:1, 400 MHz) δ 8.13-7.68 (m, 6H; H-1'), 5.09-3.89 (br m, 12H; H-3' and H-5'), 4.36 (s, 12H; H-15), 3.80 (dd, *J* = 19.6, 12.8 Hz, 12H; H-6), 3.47 (td, *J* = 9.2, 5.0 Hz, 6H; H-2), 3.32 (t, *J* = 9.6 Hz, 6H; H-4), 3.16 (t, *J* = 9.4 Hz, 6H; H-3), 2.93 (dd, *J* = 10.6, 5.0 Hz, 6H; H-1a), 2.67 (s, 6H; H-7a), 2.56 (s, 6H; H-7b), 2.20 (dd, *J* = 10.6, 9.2 Hz, 6H; H-1b), 2.13 (d, *J* = 9.6 Hz, 6H; H-5), 1.83 (s, 12H; H-14), 1.40 (s, 12H; H-8), 1.23 ppm (s, 60H; H-9 to H-13);

^{13}C-NMR (D_2O + 0.1% TFA, 125 MHz) δ 173.5-169.4, 144.6-142.7, 127.1-124.7, 77.5, 68.7, 67.8, 66.7, 55.2, 54.8, 54.7, 52.2, 51.7-48.8, 46.4-43.2, 31.0, 30.2-28.9, 27.7-26.4, 24.8 ppm;

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{120}H_{212}N_{30}O_{30}$ $[M + 2H]^{2+}$ 1276.7987; found 1276.7991.

Compound 209a (CP8-DNJC$_6$)



Chemical Formula: $C_{136}H_{232}N_{40}O_{40}$
Molecular Weight: 3067,5920

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -9.6 (*c* 1, H_2O);

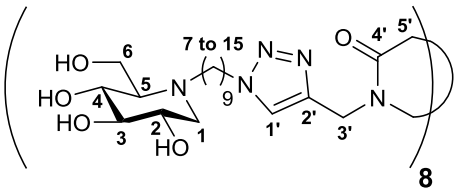
^{1}H-NMR (D_2O/CD_3OD 1:1, 400 MHz) δ 8.05-7.77 (m, 8H; H-1'), 5.11-4.02 (br m, 32H; H-3' and H-5'), 4.37 (m, 16H; H-12), 3.77 (m, 16H; H-6), 3.47 (br s, 8H; H-2), 3.31 (m, 8H; H-4), 3.16 (m, 8H; H-3), 2.91 (br s, 8H; H-1a), 2.66 (br s, 8H; H-7a), 2.53 (br s, 8H, H-7b), 2.14 (m, 16H; H-1b and H-5), 1.85 (br s, 16H; H-11), 1.39 (br s, 16H; H-8), 1.25 ppm (m, 32H; H-9 and H-10);

^{13}C-NMR (D_2O/CD_3OD 1:1, 100 MHz) δ 171.7, 171.4, 170.9, 170.3, 169.3, 144.2, 144.1, 143.5, 143.3, 125.5, 79.8, 71.4, 70.9, 70.2, 66.5, 59.1, 56.9, 53.3, 51.5, 50.9-49.8, 44.7-43.2, 30.7, 27.6, 26.9, 24.0 ppm;

IR (neat) 3343 (broad, strong, O-H), 1661 cm^{-1} (strong, C=O amide);

MS (MALDI-TOF) m/z calcd for $C_{136}H_{233}N_{40}O_{40}$ $[M + H]^+$ 3066.7; found 3066.8.

Compound 209b (CP8-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{160}H_{280}N_{40}O_{40}$
Molecular Weight: 3404,2400

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -10.0 (*c* 1, MeOH);

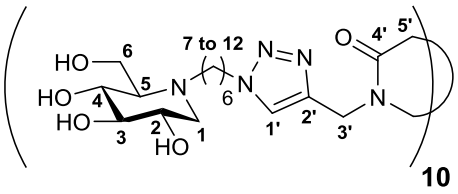
^{1}H-NMR (CD$_3$OD, 400 MHz) δ 8.11-7.80 (m, 8H; H-1'), 5.25-3.99 (br m, 32H; H-3' and H-5'), 4.40 (m, 16H; H-15), 3.84 (s, 16H; H-6), 3.49 (td, *J* = 9.5, 4.5 Hz, 8H; H-2), 3.36 (t, *J* = 9.0 Hz, 8H; H-4), 3.16 (t, *J* = 9.0 Hz, 8H; H-3), 2.98 (dd, *J* = 9.8, 4.4 Hz, 8H; H-1a), 2.75 (m, 8H; H-7a), 2.57 (m, 8H; H-7b), 2.18 (t, *J* = 10.7 Hz, 8H; H-1b), 2.12 (d, *J* = 10.9 Hz, 8H; H-5), 1.89 (br s, 16H; H-14), 1.47 (br s, 16H; H-8), 1.31 ppm (m, 80H; H-9 to H-13);

^{13}C-NMR (CD$_3$OD, 100 MHz) δ 172.0, 171.2, 170.6, 169.3, 144.7, 144.5, 143.9, 143.6, 125.4, 125.33, 125.29, 125.23, 80.6, 72.1, 70.8, 67.3, 59.6, 57.7, 53.9, 51.6, 51.0-49.6, 44.6, 44.3, 44.0, 43.7, 31.4, 30.6, 30.2, 28.7, 27.6, 25.1 ppm;

IR (neat) 3356 (broad, strong, O-H), 1670 cm^{-1} (strong, C=O amide);

MS (MALDI-TOF) m/z calcd for $C_{160}H_{281}N_{40}O_{40}$ $[M + H]^+$ 3403.1; found 3403.3.

Compound 210a (CP10-DNJC$_6$)



Chemical Formula: $C_{170}H_{290}N_{50}O_{50}$
Molecular Weight: 3834,4900

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -10.2 (*c* 1, H_2O);

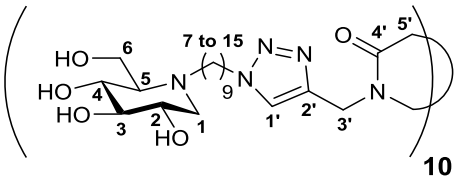
^{1}H-NMR (D$_2$O, 500 MHz) δ 8.15-7.62 (m, 10H; H-1'), 5.69-3.85 (br m, 40H; H-3' and H-5'), 4.35 (m, 20H; H-12), 3.76 (m, 20H; H-6), 3.47 (m, 10H; H-2), 3.30 (m, 10H; H-4), 3.17 (m, 10H; H-3), 2.90 (m, 10H; H-1a), 2.61 (m, 10H; H-7a), 2.50 (m, 10H; H-7b), 2.15 (m, 20H; H-1b and H-5), 1.80 (m, 20H; H-11), 1.35 (m, 20H; H-8), 1.18 ppm (m, 40H; H-9 and H-10);

^{13}C-NMR (D$_2$O, 125 MHz) δ 171.5-167.7, 143.5-141.1, 124.6, 78.3, 70.0, 68.8, 65.0, 57.5, 55.3, 51.9, 50.4, 49.3-47.0, 43.9-41.5, 29.4, 26.1, 25.5, 22.5 ppm;

IR (neat) 3336 (broad, strong, O-H), 1662 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{170}H_{292}N_{50}O_{50}$ $[M + 2H]^{2+}$ 1917.0916; found 1917.1349.

Compound 210b (CP10-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{200}H_{350}N_{50}O_{50}$
Molecular Weight: 4255,3000

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -6.5 (*c* 0.5, MeOH/H_2O 1:1);

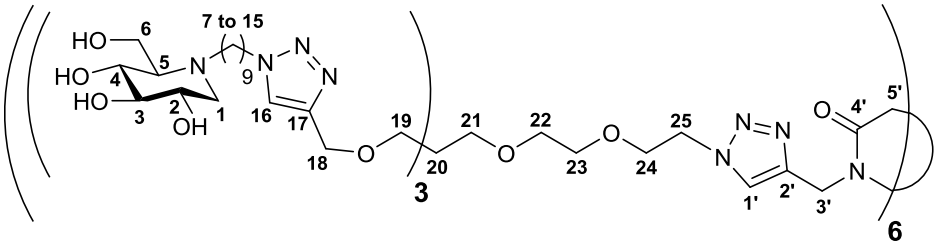
^{1}H-NMR (D_2O/CD_3OD 1:1, 400 MHz) δ 8.16-7.71 (m, 10H; H-1'), 5.64-4.03 (br m, 40H; H-3' and H-5'), 4.37 (m, 20H; H-15), 3.82 (m, 20H; H-6), 3.50 (t, *J* = 9.7, 4.7 Hz, 10H; H-2), 3.35 (t, *J* = 9.7 Hz, 10H; H-4), 3.18 (t, *J* = 9.4 Hz, 10H; H-3), 2.96 (d, *J* = 9.4 Hz, 10H; H-1a), 2.70 (m, 10H; H-7a), 2.59 (m, 10H; H-7b), 2.22 (t, *J* = 11.1 Hz, 10H; H-1b), 2.16 (d, *J* = 9.5 Hz, 10H; H-5), 1.86 (m, 20H; H-14), 1.43 ppm (m, 20H; H-8), 1.24 (m, 100H; H-9 to H-13);

^{13}C-NMR (CD_3CN/CD_3OD 1:1, 100 MHz) δ 172.4-168.4, 144.7-141.6, 124.7, 79.6, 71.1, 69.9, 66.3, 58.7, 56.8, 53.1, 51.1, 50.3, 59.0, 44.1-42.0, 30.6, 29.9, 29.4, 28.0, 26.9, 24.0 ppm;

IR (neat) 3333 (broad, strong, O-H), 1666 cm^{-1} (strong, C=O amide);

MS (MALDI-TOF) m/z calcd for $C_{200}H_{351}N_{50}O_{50}$ $[M + H]^+$ 4253.7; found 4254.1.

Compound 214 (CP6x3-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{408}H_{720}N_{96}O_{108}$
Molecular Weight: 8698,8120

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -10.0 (*c* 1, MeOH);

Due to the flexibility of the cyclopeptoid scaffold, the protons 3' and 5' (representing less than 3% of total number of protons) are not clearly visible in the ^{1}H-NMR spectrum and thus not indicated. For more details, see IV-3.3.

^{1}H-NMR (CD_3OD/D_2O 2.75:1, 500 MHz) δ 8.20-7.78 (m, 6H; H-1'), 7.94 (s, 18H; H-16), 4.62-4.42 (m, 48H; H-18 and H-25), 4.36 (s, 36H; H-15), 3.94-3.76 (m, 48H; H-6 and H-24), 3.58-3.28 (m, 108H; H-2, H-4, H-19, H-21, H-22 and H-23), 3.19 (t, *J* = 9.2 Hz, 18H; H-3), 2.98 (dd, *J* = 11.0, 4.9 Hz, 18H; H-1a), 2.80-2.68 (m, 18H; H-7a), 2.65-2.53 (m, 18H; H-7b), 2.22 (t, *J* = 11.0 Hz, 18H; H-1b), 2.16 (d, *J* = 9.8 Hz, 18H; H-5), 1.85 (s, 36H; H-14), 1.45 (s, 36H; H-8), 1.25 ppm (s, 180H; H-9 to H-13);

Only one of the 3' and 5' carbon is visible in the ^{13}C-NMR spectrum, since one of them is hidden by CD_3OD residual multiplet.

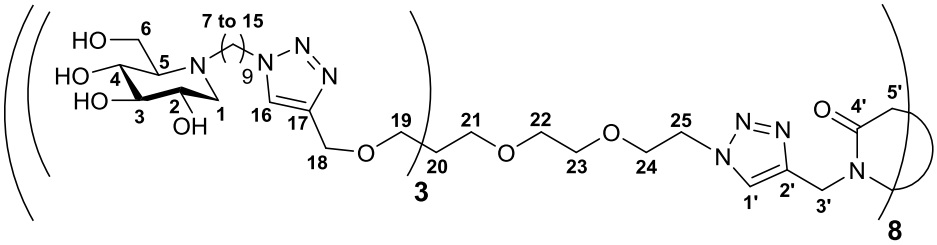
^{13}C-NMR (CD_3OD/D_2O 2.75:1, 125 MHz) δ 174.1-168.2 (C-4'), 146.0 (C-17), 145.0-142.8 (C-2'), 125.8 (C-1'), 125.3 (C-16), 80.2 (C-3), 72.0 (C-21, C-22, C-23 or C-24), 71.7 (C-4), 71.2 (C-21, C-22, C-23 or C-24), 70.7 (C-21, C-22, C-23 or C-24), 70.5 (C-2), 70.3 (C-21, C-22, C-23 or C-24), 69.9 (C-18), 66.9 (C-5), 65.3 (C-19), 59.3 (C-6), 57.4 (C-1), 53.7 (C-7), 51.5 (C-15 and C-25), 46.4 (C-20), 45.8-43.8 (C-3' or C-5'), 31.3, 30.5, 30.0, 28.6, 27.4, 24.6 ppm (C-8 to C-14);

IR (neat) 3343 (broad, O-H), 1668 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) average m/z calcd for $C_{408}H_{726}N_{96}O_{108}$ $[M + 6H]^{6+}$ 1450.7397; found 1450.7223.

MS (MALDI) m/z calcd for $C_{408}H_{721}N_{96}O_{108}$ $[M + H]^+$ 8694.4; found 8700.1.

Compound 215 (CP8x3-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{544}H_{960}N_{128}O_{144}$
Molecular Weight: 11598,4160

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -10.0 (*c* 1, MeOH);

Due to the flexibility of the cyclopeptoid scaffold, the protons 3′ and 5′ (representing less than 3% of total number of protons) are not clearly visible in the ^{1}H-NMR spectrum and thus not indicated. For more details, see IV-3.3.

^{1}H-NMR (CD_3OD/D_2O 2.25:1, 500 MHz) δ 8.20-7.73 (m, 32H; H-16 and H-1′), 4.60-4.40 (m, 64H; H-18 and H-25), 4.40-4.24 (m, 48H; H-15), 3.97-3.74 (m, 64H; H-6 and H-24), 3.59-3.25 (m, 144H; H-2, H-4, H-19, H-21, H-22 and H-23), 3.19 (t, *J* = 9.3 Hz, 24H; H-3), 2.97 (dd, *J* = 11.1, 4.7 Hz, 24H; H-1a), 2.80-2.66 (m, 24H; H-7a), 2.66-2.52 (m, 24H; H-7b), 2.22 (t, *J* = 11.1 Hz, 24H; H-1b), 2.15 (d, *J* = 9.7 Hz, 24H; H-5), 1.84 (m, 48H; H-14), 1.44 (m, 48H; H-8), 1.36-1.08 ppm (m, 240H; H-9 to H-13);

Only one of the 3′ and 5′ carbon is visible in the ^{13}C-NMR spectrum, since one of them is hidden by CD_3OD residual multiplet.

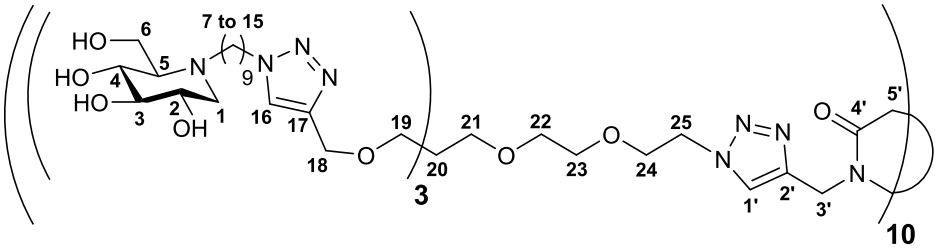
^{13}C-NMR (CD_3OD/D_2O 2.25:1, 125 MHz) δ 172.4-168.4 (C-4′), 145.9 (C-17), 144.7-142.7 (C-2′), 125.9 (C-1′), 125.3 (C-16), 80.2 (C-3), 72.0 (C-21, C-22, C-23 or C-24), 71.7 (C-4), 71.2 (C-21, C-22, C-23 or C-24), 70.7 (C-21, C-22, C-23 or C-24), 70.5 (C-2), 70.3 (C-21, C-22, C-23 or C-24), 69.9 (C-18), 66.9 (C-5), 65.3 (C-19), 59.2 (C-6), 57.3 (C-1), 53.7 (C-7), 51.5 (C-15 and C-25), 46.4 (C-20), 45.0-43.2 (C-3′ or C-5′), 31.3, 30.5, 30.0, 28.6, 27.4, 24.6 ppm (C-8 to C-14);

IR (neat) 3351 (broad, O-H), 1674 cm^{-1} (strong, C=O amide);

HRMS (ESI) average m/z calcd for $C_{544}H_{969}N_{128}O_{144}$ $[M + 9H]^{9+}$ 1289.5840; found 1289.5982.

MS (MALDI) m/z calcd for $C_{544}H_{961}N_{128}O_{144}$ $[M + H]^+$ 11597.2; found 11601.8.

Compound 216 (CP10x3-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{680}H_{1200}N_{160}O_{180}$
Molecular Weight: 14498,0200

Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$ = -10.0 (*c* 1, MeOH);

Due to the flexibility of the cyclopeptoid scaffold, the protons 3′ and 5′ (representing less than 3% of total number of protons) are not clearly visible in the ^{1}H-NMR spectrum and thus not indicated. For more details, see IV-3.3.

^{1}H-NMR (CD_3OD/D_2O 2.25:1, 500 MHz) δ 8.22-7.85 (m, 40H; H-16 and H-1′), 4.63-4.41 (m, 80H; H-18 and H-25), 4.41-4.25 (m, 60H; H-15), 3.98-.372 (m, 80H; H-6 and H-24), 3.60-3.25 (m, 180H; H-2, H-4, H-19, H-21, H-22 and H-23), 3.20 (t, *J* = 9.1 Hz, 30H; H-3), 3.04-2.90 (m, 30H; H-1a), 2.80-2.67 (m, 30H; H-7a), 2.65-2.52 (m, 30H; H-7b), 2.23 (t, *J* = 11.0 Hz, 30H; H-1b), 2.16 (d, *J* = 9.5 Hz, 30H; H-5), 1.83 (m, 60H; H-14), 1.44 (m, 60H; H-8), 1.24 ppm (m, 300H; H-9, H-10, H-11, H-12 and H-13);

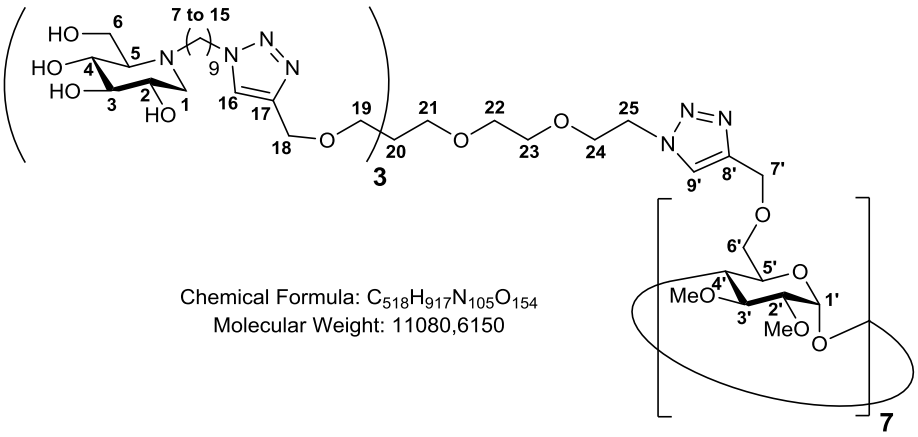
Only one of the 3′ and 5′ carbon is visible in the ^{13}C-NMR spectrum, since one of them is hidden by CD_3OD residual multiplet.

^{13}C-NMR (CD_3OD/D_2O 2.25:1, 125 MHz) δ 172.1-169.4 (C-4′), 145.9 (C-17), 144.6-142.9 (C-2′), 126.0 (C-1′), 125.2 (C-16), 80.1 (C-3), 72.0 (C-21, C-22, C-23 or C-24), 71.6 (C-4), 71.2 (C-21, C-22, C-23 or C-24), 70.6 (C-21, C-22, C-23 or C-24), 70.4 (C-2), 70.3 (C-21, C-22, C-23 or C-24), 69.9 (C-18), 66.8 (C-5), 65.3 (C-19), 59.2 (C-6), 57.3 (C-1), 53.7 (C-7), 51.5 (C-15 and C-25), 46.4 (C-20), 45.1-42.5 (C-3′ or C-5′), 31.3, 30.5, 30.0, 28.5, 27.4, 24.6 ppm (C-8 to C-14);

IR (neat) 3350 (broad, O-H), 1677 cm^{-1} (strong, C=O amide);

MS (MALDI) m/z calcd for $C_{680}H_{1201}N_{160}O_{180}$ $[M + H]^+$ 14499.0; found 14503.1.

Compound 192 (CD7x3-DNJC$_9$)



Chemical Formula: $C_{518}H_{917}N_{105}O_{154}$
Molecular Weight: 11080,6150

Optical rotation $[\alpha]_D^{20} = +10.0$ (c 0.5, $CHCl_3$);

^{1}H-NMR (D_2O/CD_3OD 1:1, 400 MHz) δ 7.97 (s, 7H; H-9′), 7.87 (s, 21H; H-16), 4.97 (m, 7H; H-1′), 4.62-4.34 (m, 70H; H-7′, H-18 and H-25), 4.29 (br s, 42H; H-15), 3.78 (m, 56H; H-6 and H-6′), 3.68-3.20 (m, 203H; H-2, H-4, H-19, H-21, H-22, H-23, H-24, H-3′, H-4′, H-5′ and OMe), 3.15 (t, J = 9.1 Hz, 21H; H-3), 3.07 (m, 7H; H-2′), 2.92 (dd, J = 10.9, 4.5 Hz, 21H; H-1a), 2.74-2.60 (m, 21H; H-7a), 2.60-2.46 (m, 21H; H-7b), 2.18 (t, J = 11.0 Hz, 21H; H-1b), 2.11 (d, J = 9.6 Hz, 21H; H-5), 1.76 (br s, 42H; H-14), 1.37 (br s, 42H; H-8), 1.16 ppm (br s, 210H; H-9 to H-13);

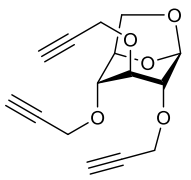
^{13}C-NMR (D_2O/CD_3OD 1:1, 100 MHz) δ 145.6 (C-17), 145.1 (C-8′), 126.0 (C-9′), 125.0 (C-16), 98.9 (C-1′), 79.7 (C-3), 79.2, 78.8, 78.5 (C-2′, C-3′ and C-4′), 71.7 (C-22, C-23 or C-24), 71.3 (C-4), 70.8 (C-22, C-23 or C-24), 70.4 (C-22, C-23 or C-24), 70.1 (C-2), 70.0 (C-5′ and C-6′), 69.6 (C-7′ and C-18), 66.4 (C-5), 65.0 (C-19 and C-21), 58.9 (C-6), 57.0 (C-1), 53.4 (C-7), 51.24 (C-15), 51.17 (C-25), 46.1 (C-20), 30.9, 30.1, 29.6, 28.3, 27.1, 24.2 ppm (C-8 to C-14).

IR (neat) 3369 cm^{-1} (broad, O-H);

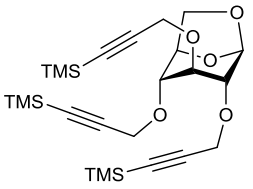
MS (MALDI) m/z calcd for $C_{518}H_{917}N_{105}O_{154}Na$ $[M + Na]^+$ 11102.70; found 11104.50.

Index des composés synthétisés

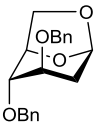
Numéro de molécule
(Page dans la partie théorique / *Page dans la partie expérimentale)*



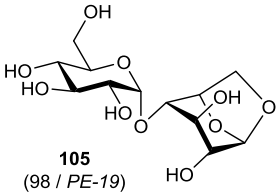
95
(80 / *PE-4*)



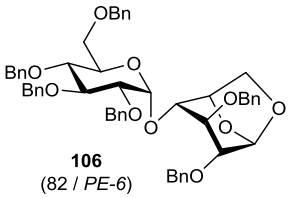
96
(80 / *PE-5*)



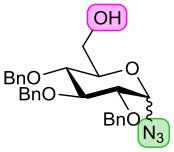
103
(81 / *PE-5*)



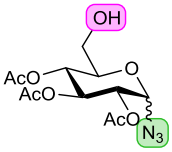
105
(98 / *PE-19*)



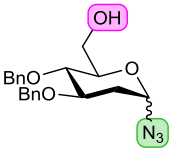
106
(82 / *PE-6*)



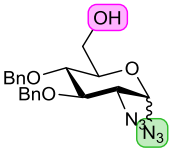
92
(77 / *PE-7*)



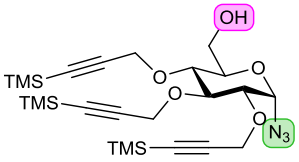
107
(82 / *PE-8*)



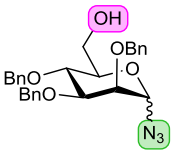
108
(82 / *PE-14*)



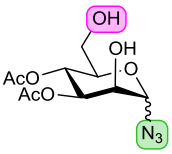
109
(82 / *PE-11*)



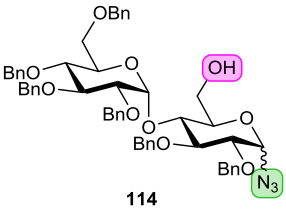
110
(82 / *PE-9*)



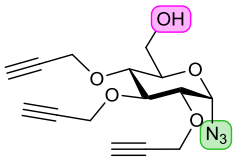
111
(82 / *PE-13*)



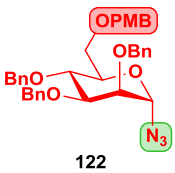
113
(82 / *PE-15*)



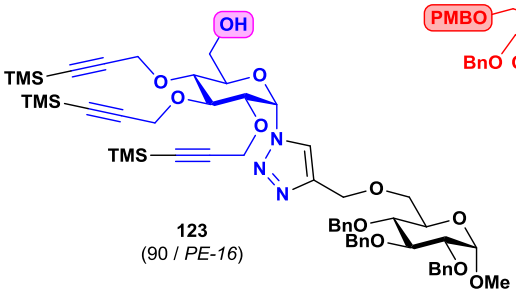
114
(82 / *PE-12*)



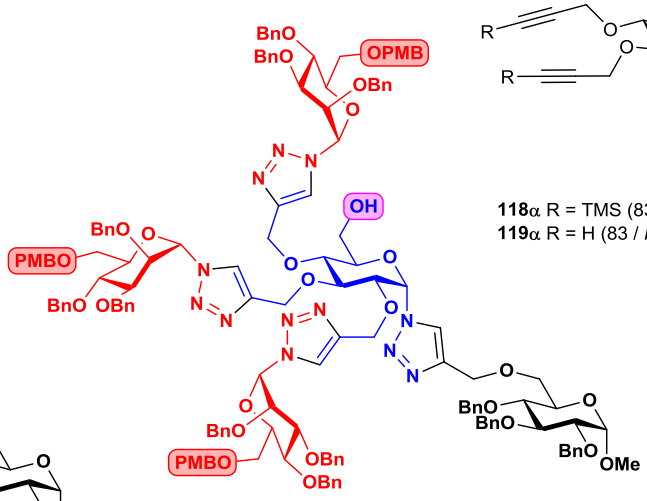
115
(82 / *PE-10*)



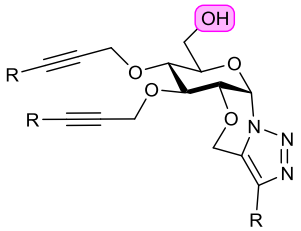
122
(90 / *PE-17*)



123
(90 / *PE-16*)

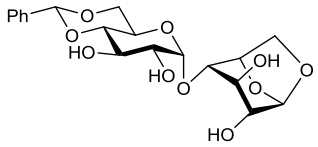


124
(90 / *PE-18*)

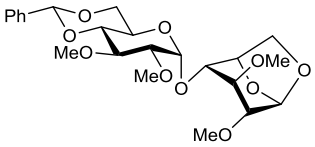


118α R = TMS (83 / *PE-9*)
119α R = H (83 / *PE-10*)

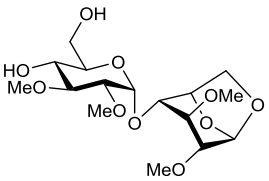
Numéro de molécule
(Page dans la partie théorique / *Page dans la partie expérimentale)*



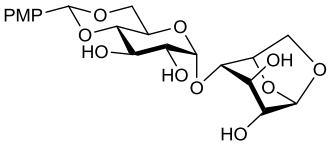
127
(98 / *PE-19)*



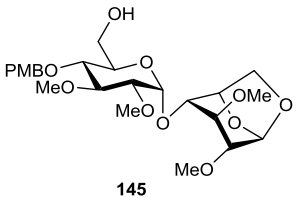
128
(99 / *PE-20)*



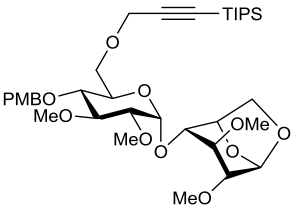
130
(99 / *PE-21)*



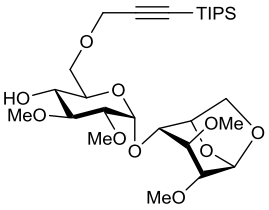
143
(102 / *PE-22)*



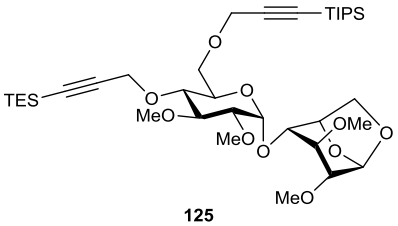
145
(103 / *PE-24)*



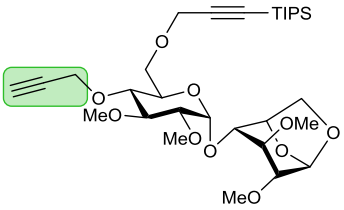
147
(104 / *PE-25)*



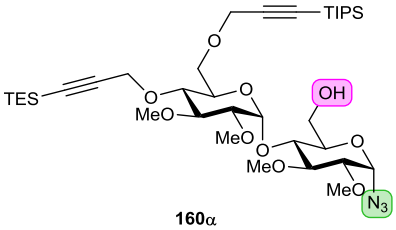
132
(104 / *PE-26)*



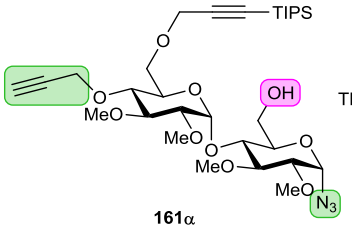
125
Module x1 OFF-OFF
(105 / *PE-28)*



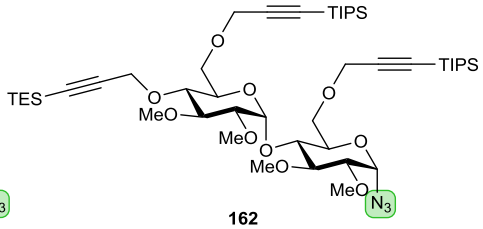
148
Module x1 ON-OFF
(105 et 112 / *PE-27)*



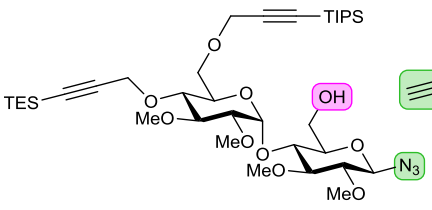
160α
Module x1 OFF-ON
(113 / *PE-29)*



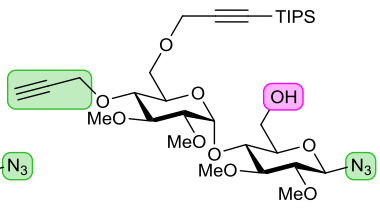
161α
Module x1 ON-ON
(114 / *PE-34)*



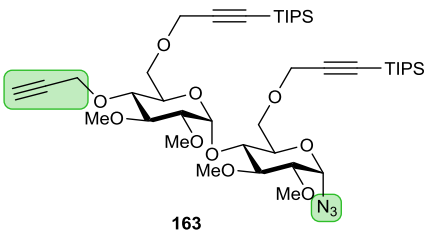
162
Module x2 OFF-ON
(114 / *PE-31)*



160β
(113 / *PE-30)*

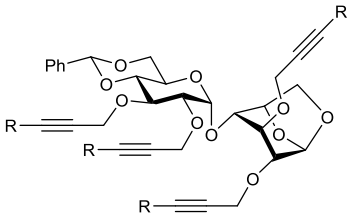


161β
(114 / *PE-35)*

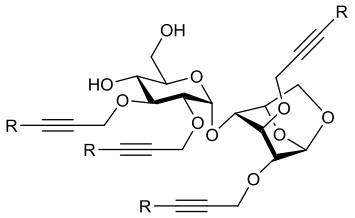


163
Module x2 ON-ON
(114 / *PE-38)*

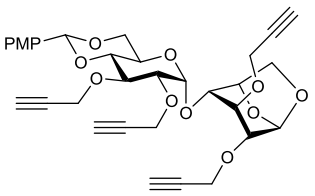
Numéro de molécule
(Page dans la partie théorique / *Page dans la partie expérimentale)*



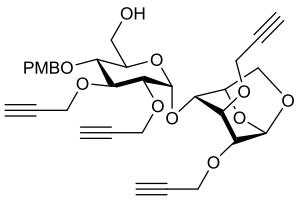
135 R = H (100 / *PE-39)*
129 R = TIPS (100 / *PE-40)*



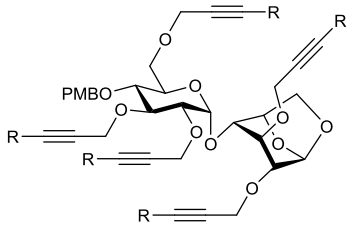
136 R = H (100 / *PE-41)*
131 R = TIPS (100 / *PE-42)*



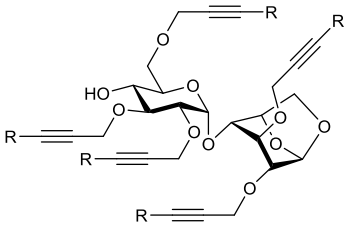
149
(107 / *PE-43)*



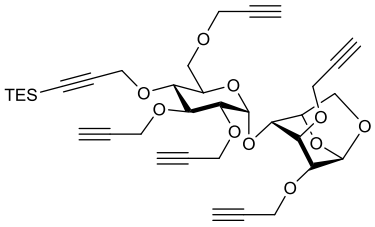
150
(107 / *PE-44)*



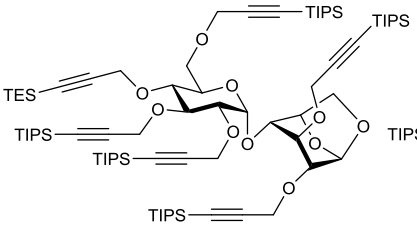
153 R = TIPS (107 / *PE-47)*
151 R = H (107 / *PE-45)*



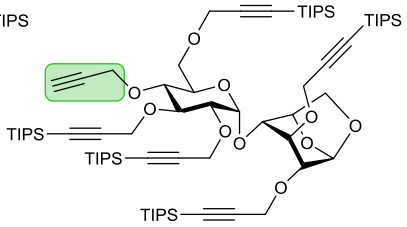
133 R = TIPS (107 / *PE-48)*
152 R = H (107 / *PE-46)*



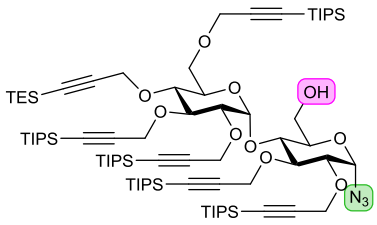
155
(109 / *PE-49)*



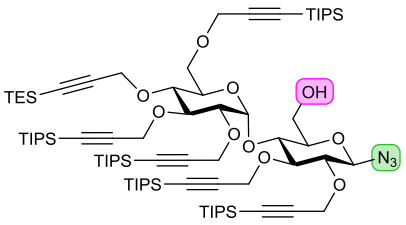
126
Module x5 OFF-OFF
(111 / *PE-50)*



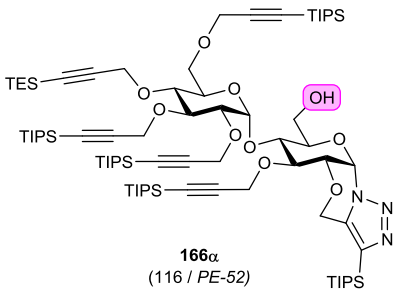
164
Module x5 ON-OFF
(115 / *PE-54)*



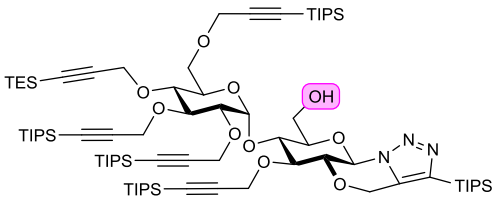
165α
Module x5 OFF-ON
(116 / *PE-51)*



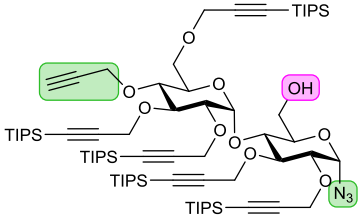
165β
(116 / *PE-53)*



166α
(116 / *PE-52)*

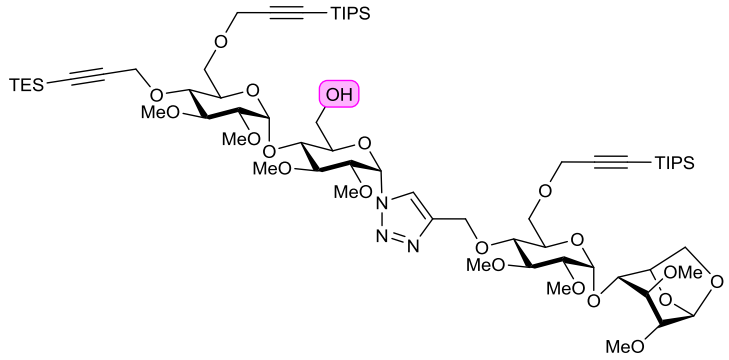


166β
(116 / *PE-53)*

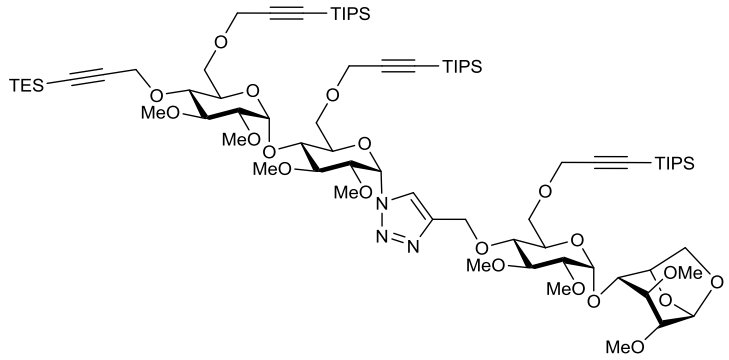


167
Module x5 ON-ON
(117 / *PE-56)*

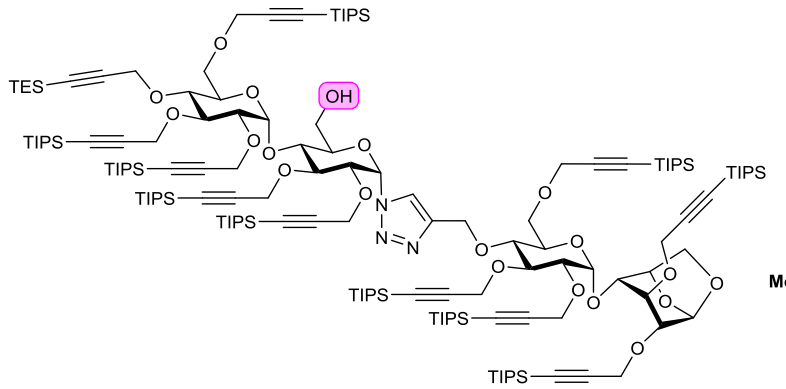
Numéro de molécule
(Page dans la partie théorique / *Page dans la partie expérimentale)*



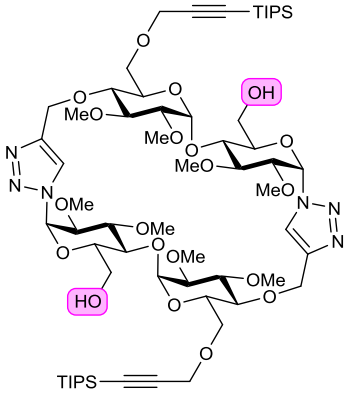
172
Module 1+1 OFF-OFF
(123 / *PE-32)*



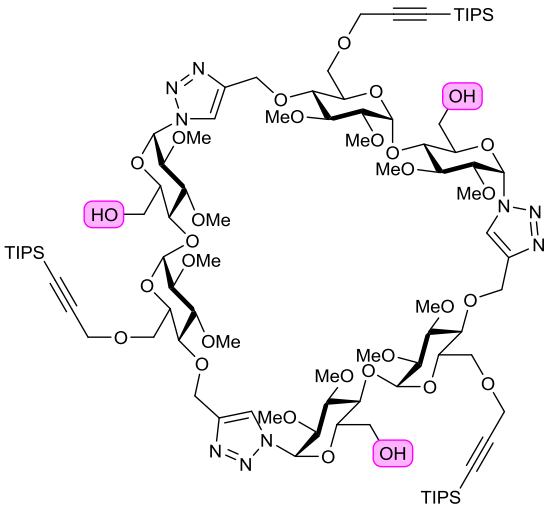
174
Module 2+1 OFF-OFF
(124 / *PE-33)*



177
Module 5+5 OFF-OFF
(127 / *PE-55)*

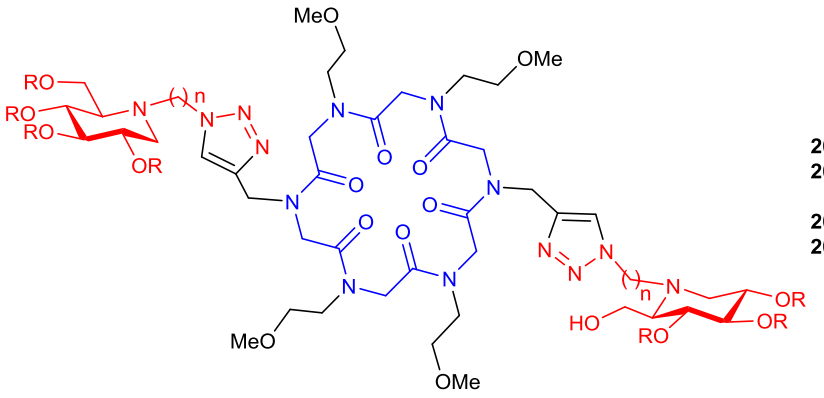


168 (NCD 1+1)
(128 / *PE-36)*



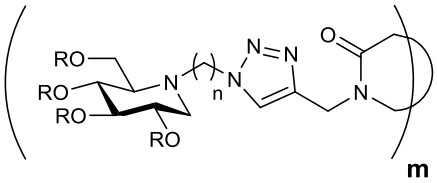
179 (NCD 1+1+1)
(128 / *PE-37)*

Numéro de molécule
(Page dans la partie théorique / *Page dans la partie expérimentale)*



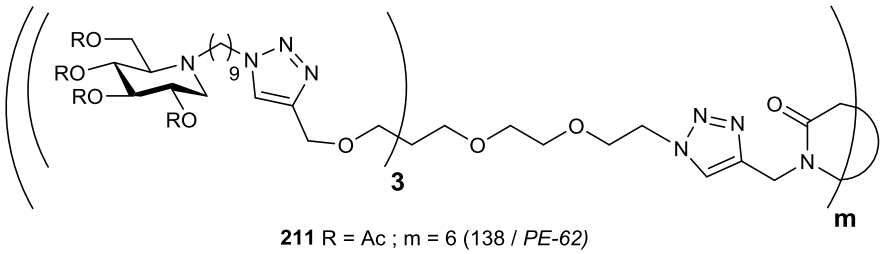
203a R = Ac ; n = 6 (136 / *PE-57)*
203b R = Ac ; n = 9 (136 / *PE-58)*

207a R = H; n = 6 (136 / *PE-66)*
207b R = H; n = 9 (136 / *PE-67)*

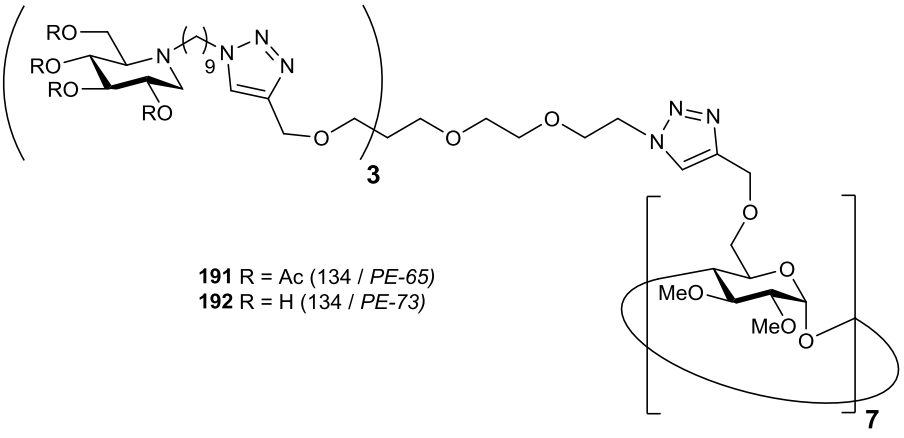


204a R = Ac ; n = 6 ; m = 6 (136 / *PE-59)*
205a R = Ac ; n = 6 ; m = 8 (136 / *PE-60)*
206a R = Ac ; n = 6 ; m = 10 (136 / *PE-61)*
208a R = H ; n = 6 ; m = 6 (136 / *PE-67)*
209a R = H ; n = 6 ; m = 8 (136 / *PE-68)*
210a R = H ; n = 6 ; m = 10 (136 / *PE-69)*

204b R = Ac ; n = 9 ; m = 6 (136 / *PE-59)*
205b R = Ac ; n = 9 ; m = 8 (136 / *PE-60)*
206b R = Ac ; n = 9 ; m = 10 (136 / *PE-61)*
208b R = H ; n = 9 ; m = 6 (136 / *PE-68)*
209b R = H ; n = 9 ; m = 8 (136 / *PE-69)*
210b R = H ; n = 9 ; m = 10 (136 / *PE-70)*



211 R = Ac ; m = 6 (138 / *PE-62)*
212 R = Ac ; m = 8 (138 / *PE-63)*
213 R = Ac ; m = 10 (138 / *PE-64)*
214 R = H ; m = 6 (138 / *PE-70)*
215 R = H ; m = 8 (138 / *PE-71)*
216 R = H ; m = 10 (138 / *PE-72)*



191 R = Ac (134 / *PE-65)*
192 R = H (134 / *PE-73)*

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

Mathieu LEPAGE

SYBIO

Conception et Synthèse de Nouvelles Classes d'Iminosucres d'Intérêt Biologique :

Ingénierie Click pour des Systèmes Multivalents

Résumé

Malgré l'intérêt considérable des iminosucres comme puissants inhibiteurs de glycosidases, très peu d'exemples d'analogues multivalents de cette classe de composés étaient décrits avant 2010. Des résultats récents ont montré les premières preuves d'un effet multivalent puissant sur l'inhibition des glycosidases, avec des gains d'affinité allant jusqu'à 4 ordres de grandeur par comparaison avec l'analogue monovalent. Les composés présentant un effet multivalent fort actuellement connus sont basés sur des charpentes fullerène, porphyrine et cyclodextrine avec des valences allant de 4 à 14. Ces charpentes déterminent les paramètres clé des clusters mais restent difficilement modifiables.
Le premier axe de recherche a donc consisté en la mise au point d'un ensemble de techniques d'ingénierie « click » pour la synthèse de systèmes multivalents, avec le développement d'une stratégie *Sweet LEGO*®. A terme, cette approche permettrait un accès simple, à partir d'un panel restreint de modules osidiques, à une grande variété de néocyclodextrines préfonctionnalisées.
Le second axe de recherche a consisté en une étude de relation structure-activité autour de charpentes moléculaires polyacétyléniques utilisées pour préparer de nouveaux clusters par chimie « click ». Une partie des nouveaux clusters a été préparée en utilisant de nouvelles charpentes cyclopeptoïdes flexibles. Ils ont permis de poursuivre l'optimisation de l'effet multivalent des clusters iminosucres sur l'inhibition de glycosidases. En particulier, un composé de valence inédite portant 30 ligands iminosucres a montré le meilleur effet multivalent connu à ce jour pour l'inhibition d'une enzyme modèle, l'α-mannosidase de Jack bean.

Mots-clés : Iminosucres / Effet de cluster / Effet multivalent / Charpentes / Chimie « click » / CuAAC / Approche modulaire / Cyclopeptoïdes / Inhibition de glycosidases / Mucoviscidose

Abstract

Despite the considerable interest for iminosugars as potent glycosidase inhibitors, there were very few examples of multivalent analogues of this class of compounds in the literature before 2010. Recent reports have demonstrated the first pieces of evidence of a strong multivalent effect in glycosidase inhibition, with affinity enhancements close to four orders of magnitude, compared to the corresponding monovalent counterpart. The compounds demonstrating the strongest affinity enhancements were based on fullerene-, porphyrin- or cyclodextrin scaffolds with valencies ranging from 4 to 14. These scaffolds define key features for the cluster effect, but they may be difficult to modify.
The first research topic was thus to design a set of « Click » Chemistry engineering techniques for the synthesis of multivalent systems, with the development of a *Sweet LEGO*® strategy. In the end, it would allow an easy access, starting from a reduced panel of carbohydrate modules, to a broad range of prefunctionalized neocyclodextrins.
The second reseach topic consisted in a structure-activity relationship study by varying the molecular polyalkyne scaffold used for the preparation of new clusters by way of « Click » Chemistry. They allowed to investigate the specific features of the iminosugar cluster effect in the inhibition of glycosidases. In particular, a compound of unprecedented valency bearing 30 iminosugar units demonstrated an unprecedented dramatic affinity enhancement for the inhibition of a model enzyme (Jack bean α-mannosidase).

Key words : Iminosugars / Cluster effect / Multivalent effect / Scaffolds / Click Chemistry / CuAAC / Modular approach / Cyclopeptoids / Glycosidase inhibition / Cystic fibrosis