

UNIVERSITÉ D'ORLÉANS

*ÉCOLE DOCTORALE
SANTÉ, SCIENCES BIOLOGIQUES ET CHIMIE DU VIVANTE*

INSTITUT DE CHIMIE ORGANIQUE ET ANALYTIQUE

THÈSE présentée par : **Tuniyazi ABUDUAINI**

soutenue à huis-clos le : **11 mars 2021**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université d'Orléans**

Discipline/ Spécialité : Chimie Organique

Génération de Nouveaux Acyclonucléosides Phosphonates Oléfiniques et de 1-C- Arylglycosides

THÈSE dirigée par :

**M. Luigi A. Agrofoglio
M. Vincent Roy**

Professeur, Université d'Orléans
Maître de conférences, HDR, Université d'Orléans

Président du jury :

Mme Joanne Xie

Professeure, Ecole Normale Supérieure de Paris-Saclay

RAPPORTEURS :

**Mme Nadège Lubin-Germain
M. Vincent Sol**

Professeure, Université de Cergy-Pontoise
Professeur, Université de Limoges

JURY :

**M. Luigi A. Agrofoglio
M. Denys Brand
Mme Nadège Lubin-Germain
M. Vincent Roy
M. Vincent Sol
Mme Joanne Xie**

Professeur, Université d'Orléans
Professeur, Université de Tours
Professeure, Université de Cergy-Pontoise
Maître de conférences, HDR, Université d'Orléans
Professeur, Université de Limoges
Professeure, Ecole Normale Supérieure de Paris-Saclay

UNIVERSITÉ D'ORLÉANS

ÉCOLE DOCTORALE SANTÉ, SCIENCES BIOLOGIQUES ET CHIMIE DU VIVANTE INSTITUT DE CHIMIE ORGANIQUE ET ANALYTIQUE

**THÈSE présentée par :
Tuniyazi ABUDUAINI**

Soutenue à huis-clos le : **11 mars 2021**
pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université d'Orléans**
Discipline/ Spécialité : Chimie Organique

Génération de Nouveaux Acyclonucléosides Phosphonates Oléfiniques et de 1-C-Arylglycosides

THÈSE dirigée par :

**M. Luigi A. Agrofoglio
M. Vincent Roy**

Professeur, Université d'Orléans
Maître de conférences, HDR, Université d'Orléans

Président du jury :

Mme Joanne Xie

Professeure, Ecole Normale Supérieure de Paris-Saclay

RAPPORTEURS :

**Mme Nadège Lubin-Germain
M. Vincent Sol**

Professeure, Université de Cergy-Pontoise
Professeur, Université de Limoges

JURY :

**M. Luigi A. Agrofoglio
M. Denys Brand
Mme Nadège Lubin-Germain
M. Vincent Roy
M. Vincent Sol
Mme Joanne Xie**

Professeur, Université d'Orléans
Professeur, Université de Tours
Professeure, Université de Cergy-Pontoise
Maître de conférences, HDR, Université d'Orléans
Professeur, Université de Limoges
Professeure, Ecole Normale Supérieure de Paris-Saclay

Remerciements

Ce travail a été effectué à l'Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA) de l'Université d'Orléans sous la direction du Pr. Luigi Agrofoglio et du Dr. HDR Vincent Roy.

Je souhaite tout d'abord remercier vivement le Pr. Luigi. A. Agrofoglio pour m'avoir accueilli dans son laboratoire afin que je puisse y accomplir ce travail.

Je tiens par la suite à exprimer toute ma gratitude au Dr. Vincent Roy pour m'avoir encadré, pour ses conseils avisés et son soutien permanent. Je n'oublierai jamais sa gentillesse, son dynamisme, sa très grande disponibilité ainsi que sa bonne humeur.

Pr. Luigi. A. Agrofoglio, je vous exprime de nouveau toute ma reconnaissance pour vos précieuses recommandations lors de la rédaction de ce mémoire. Vous m'avez tout appris et je vous en remercie de nouveau. Vous restez pour moi une référence en matière de recherche.

Je tiens à remercier le Dr. Cyril Nicolas pour m'avoir encadré, pour sa patience, son écoute, sa disponibilité et l'aide qu'il m'a apporté dans la rédaction de cette thèse.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements aux différents membres du jury. J'aimerais sincèrement remercier la Pr. Nadège Lubin-Germain et le Pr. Vincent Sol pour avoir accepté de juger mon travail de thèse. Je remercie aussi la Pr. Joanne Xie et le Pr. Denys Brand pour avoir accepté d'examiner mon travail et de siéger dans ce jury de thèse.

Mes remerciements vont également aux membres du laboratoire 6, grâce auxquels j'ai passé trois années excellentes. Je remercie donc Patrick, Momo, V2 et Nico pour m'avoir bien intégré au labo, mais aussi les membres que j'ai pu rencontrer plus tard : Ji-Seong, Jeremy et les nouveaux Milène, Thomas, Kathleen et Carolina.

Je tiens à remercier du fond du cœur ma famille, qui a toujours été là pour moi et qui m'a toujours soutenu que je fasse. Je remercie aussi mon petit frère, qui a toujours cru en moi. Enfin je remercie particulièrement mes parents, qui m'ont toujours écouté, conseillé et qui ont toujours été là. Je ne vous remercierai jamais assez.

Pour finir, je tiens bien sûr à remercier mon amie, avec qui j'ai partagé les coups durs, les rires, les larmes au cours de cette thèse et dans la vie en général. Merci de m'avoir écouté quand j'en avais besoin. Merci pour tous les sourires et tout le bonheur que tu m'apportes au quotidien.

SIGLES ET ABREVIATIONS

A

ADN : Acide 2'-désoxyribonucléique
ANP : Acyclo nucléoside phosphonate
ARN : Acide ribonucléique
ARNm : Acide ribonucléique messenger
ATP : Adénosine 5'-triphosphate
AZT : 3'-Azidothymidine

B

Boc : *tert*-Butoxycarbonyle
BVDU : 5-Bromovinyl-2'-désoxyuridine

C

CAL-B : *Candida Antarctica* Lipase B
CC₅₀ : Concentration cytotoxique pour réduire de 50% des cellules saines
CCM : Chromatographie sur couche mince
CM : métathèse croisée d'oléfines
CMP : Cytidine 5'-monophosphate
CMV : Cytomégalovirus
CuAAC : Cycloaddition 1,3-dipolaire entre un alcyne et un azide catalysée par le cuivre (I)

D

DAP : 2,6-Diaminopurine
DAPY : 2,6-Diaminopyrimidine
ddC : 2',3'-didésoxycytidine
DEAD : Diéthyl azodicarboxylate
DIAD : Diisopropyl azodicarboxylate
DHPA : (S)-9-(2,3-Dihydroxypropyl)adénine
DMAP : 4-Diméthylaminopyridine
DMF : N,N-Diméthylformamide
DMSO : Diméthylsulfoxyde
d4T : 2',3'-didéhydro-3'-désoxythymidine

E

EBOV : Virus Ebola
EC₅₀ : Concentration effective nécessaire pour réduire de 50% les cellules infectées
EtOH : Ethanol

F

FDA : *Food and Drug Administration*

G

GDP : Guanosine 5'-diphosphate
GMP : Guanosine 5'-monophosphate
GTP : Guanosine 5'-triphosphate

H

HAdV : Adénovirus humain
HBV : Virus de l'hépatite B
HCMV : Cytomégalovirus humain
HCV : Virus de l'hépatite C
HDP : Hexadécylpropyloxy
HIV : Virus de l'immunodéficience humaine
HMBC : *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*
HMPA : Hexaméthyle phosphoramidate
HPLC : Chromatographie liquide haute performance
HOBT : 1-Hydroxybenzotriazole
HPMP : 3-Hydroxy-2-(phosphono-méthoxy)propyle
HPMPA : 3-Hydroxy-2-(phosphono-méthoxy)propyle adénine
HPMPC : 3-Hydroxy-2-(phosphono-méthoxy)propyle cytosine
HPMPDAP : 3-Hydroxy-2-(phosphono-méthoxy)propyle 2,6-diaminopyrimidine
HRMS : Spectrométrie de masse haute résolution
HSV 1 et 2 : Virus de type I et type II de l'herpès simplex
hTMPK : *Thymidine monophosphate kinase* humaine

I

IC₅₀ : Concentration requise pour avoir 50% d'inhibition d'une enzyme
IDU : 5-Iodo-2'-désoxyuridine
IMPDH : *Inosine monophosphate déshydrogénase*
IMP : Inosine 5'-monophosphate

M

MARV : Virus Marburg

MeOH : Méthanol

Ms : Mésyle

MS : Spectrométrie de masse

MSV : Virus de la striure du maïs

N

NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide

NAD⁺ : Forme oxydée de la NAD

NADH : Forme réduite de la NAD

NDP : Nucléoside diphosphate

NIH : *National Institute of Health*

NMP : Nucléoside monophosphate

NMPK : Nucléoside monophosphate kinase

NNRTI : Inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse

NOESY : *Nuclear overhauser effect spectroscopy*

NPK : Nucléoside phosphate kinase

NRTI : Inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse

NTP : Nucléoside 5'-triphosphate

Nu : nucléoside

O

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P

PME : Phosphonométhoxyéthyle

PMEA : Phosphonométhoxyéthyle adénine

PMP : 2-Phosphonylméthoxypropyl

PMPA : 9-(2-Phosphonylmethoxypropyl) adénine

PMPDAP : 2-(Phosphonométhoxypropyl) 2,6-diaminopyrimidine

POC : *iso*Propyl oxyméthyl carbonate

POM : Pivaloyl oxyméthyl

PTS : Polyoxyéthanyl- α -tocophéryl sébacate

R

Rf : Rapport frontal

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RT : Transcriptase inverse

S

SAH : S-Adénosyl-L-Homocystéine

SAR : Relation structure-activité

SI : Indice de sélectivité

SIDA : Syndrome de l'immunodéficience acquise

T

TA : Température ambiante

TAF : Ténofovir alafénamide

Tf : Triflate

TFA : Acide trifluoroacétique

THF : Tétrahydrofurane

TK : *Thymidine kinase*

TMP : Thymidine 5'-monophosphate

TMSBr : Bromure de triméthylsilane

Ts : Tosylate

U

UMP : Uridine 5'-monophosphate

V

VSV : Virus de la stomatite vésiculaire

VV : Virus de la vaccine

VZV : Virus Varicelle Zona

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	11
----------------------------	----

CHAPITRE I « VIRUS – NUCLEOSIDES – CIBLES THERAPEUTIQUES »

1. Généralités sur les virus.....	15
1.1 Définition.....	15
1.2 Cycle de réplication des virus.....	17
2. Nucléosides et cibles thérapeutiques	18
2.1 Structure des nucléosides	18
2.2 Cibles thérapeutiques des nucléosides	18
2.3 Quelques nucléosides antiviraux.....	23
2.4 Mécanisme d'action et limitations des analogues de nucléosides	24
3. Approche pronucléotides ou prodrogues.....	25
3.1 Les prodrogues de type carbonyloxyméthyl {bis(POM) et bis(POC)}.....	27
3.2 Les prodrogues de type phosphate alkoxyalkyle	28
3.3 Phosphoramidates et phosphonamidates (ProTides)	30
3.3.1 la technologie ProTide.....	30
3.3.2 Nucléosides antiviraux basés sur la technologie ProTide	31
3.3.3 Métabolisme des phosphor(n)amide ProTides.....	32
4. Les acyclonucléosides phosphonates (ANPs)	33
4.1 Découverte des ANPs	33
4.2 ANPs portant une nucléobase de type O-diaminopyrimidine	36
4.3 Les ANPs de squelette oléfinique, une nouvelle famille	37
5. Pourquoi avons-nous besoin de nouveaux médicaments antiviraux ?.....	40

CHAPITRE II « OBJECTIF DE LA THESE »

CHAPITRE III. « PARTIE A : GENERATION DE NOUVEAUX ANPS OLEFINIQUES »

A-1) Nouvelle génération d'ANPs de type 6-[4-dialkoxyphosphoryl-but-2-enoxy)pyrimidine-2,4-diamine

1. Introduction	44
2. Données antivirales préliminaires de LAVR-289	44
2.1 Synthèse initiale du LAVR-289.....	46
2.2 Rappels sur la métathèse croisée d'oléfines	49
3. Notre travail	51
3.1 Synthèse à l'échelle du gramme du LAVR-289.....	51
3.1.1 Synthèse du 2-[(2,6-diaminopyrimidin-4-yl)oxyméthyl]allyl acétate (10)	51
3.1.2 Synthèse du dérivé HDP/POC-allylphosphonate 7	54
3.1.3 Réaction de métathèse croisée entre le composé 7 et le composé 11	54
3.2 Synthèse d'analogues du LAVR-289	57
3.2.1 Préparation de la prodrogue bis(POC) phosphonates du LAVR-289	57

3.2.2	Préparation d'un analogue de LAVR-289 portant une nucléobase de type 1,3,5-triazine.....	59
3.2.3	Préparation d'un analogue phosphoroamidate de LAVR-289	61
3.3	Synthèse d'analogues phosphonoamidate du LAVR-289.....	65
3.3.1	Généralités	65
3.3.2	Quelques prodrogues ANPs de type phosphonoamidate	67
3.3.3	Synthèse de divers analogues du LAVR-289 de type phosphonoamidates	69
3.3.3.1	Rétrosynthèse	69
3.3.3.2	Synthèse	69
3.3.4	Synthèse d'ANPs oléfiniques de type phosphonoamidates possédant une thymine.....	76
3.3.4.1	Synthèse	77
4.	Conclusion et perspectives.....	80
5.	Partie expérimentale.....	83

A-2) Synthèse de *trans*-but-2'-ényl-phosphono nucléosides sous forme prodrogue visant le virus de l'hépatite B

1.	Le virus de l'hépatite B	106
2.	Les analogues des nucléosides actifs contre le HBV	107
3.	Notre travail	109
3.1	Analogues <i>trans</i> 2'-methyl-but-2'-ényle phosphononucleosides portant une guanine ou adénine.....	109
3.1.1	Rétrosynthèse.....	109
3.1.2	Synthèse du précurseur phosphonate hydroxylé 9	109
3.1.3	Introduction des nucléobase dans des conditions de Mitsunobu	112
3.1.4	Evaluation biologique	113
3.1.5	Conclusions et perspectives	114
3.2	Analogues <i>trans</i> 2'-methyl-but-2'-ényle phosphononucleosides de type <i>bis</i> (POC) ou <i>bis</i> (POM) portant une nucléobase 1,2,3-triazole modifiée.....	114
3.2.1	Les 1,2,3-triazolonucléosides	114
3.2.2	Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen catalysée par le cuivre (I) (CuAAC)	116
3.2.3	Notre travail.....	117
3.2.3.1	Schéma de rétrosynthèse.....	119
3.2.3.2	Synthèse du synthon phosphonate d'azido en série <i>bis</i> (POC).....	119
3.2.3.3	Synthèse d'alcynes	119
3.2.3.4	Synthèse des 1,2,3-triazoles dans des conditions de réaction CuAAC.....	120
3.2.4	Evaluation biologique	122
3.3	Analogues <i>trans</i> -2'-methyl-but-2'-ényle phosphononucleosides de type prodrogue mixte HDP/POC portant une nucléobase 1,2,3-triazole modifiée	123
3.3.1	Synthèse de l'azoture	123
3.3.2	Application de la réaction CuAAC.....	124
3.3.3	Evaluation biologique	125
3.4	Analogues <i>trans</i> -2'-methyl-but-2'-ényle phosphononucleosides de type prodrogue phosphonoamidate portant une nucléobase 1,2,3-triazole modifiée	126
3.4.1	Réalisation de la métathèse	126
3.5	Analogues <i>trans</i> -2'-acetoxyméthyle-but-2'-ényl phosphono nucléosides de type prodrogue HDP/POC portant une nucléobase 1,2,3-triazole modifiée	129
3.5.1	Rétrosynthèse.....	129
3.5.2	Synthèse des ANPs	130

4. Conclusions et perspectives	132
5. Partie expérimentale.....	134

CHAPITRE IV « PARTIE B : SYNTHÈSE DE 1-C-ARYLGLYCOSIDES PAR LE COUPLAGE CROISÉ DE MIGITA-KOSUGI-STILLE »

1. Introduction	161
1.1 Intérêt des iminosures en chimie thérapeutique.....	161
1.2 N-Acétylelglucosamine.....	163
1.3 Couplage croisé de Migita-Kosugi-Stille	164
2. Nos objectifs	165
3. Résultat et discussion	166
3.1 Préparation de <i>N-tert</i> -butanesulfinyl <i>arabinofuranosylamines</i>	166
3.2 Addition diastéréosélective de Bu ₃ SnLi sur les <i>N-tert</i> -butane sulfinyl <i>arabinofuranosyl-</i> <i>amines</i>	167
3.3 Oxydation des dérivés d'aminoditol avec le <i>m</i> CPBA	169
3.4 Protection de l'hydroxyle libre avec le chlorure de benzoyle	169
3.5 Scope de la réaction de Migita-Kosugi-Stille	170
3.6 Réduction	171
3.7 Déprotection	172
3.8 Cyclisation et détermination des configurations	172
4. Conclusion et perspective	176
5. Partie expérimentale.....	178

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVE.....	195
--	------------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	199
---	------------

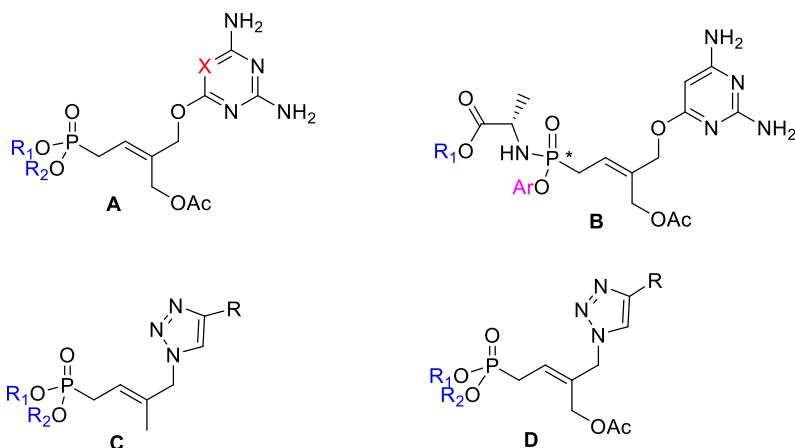
INTRODUCTION GENERALE

Les infections virales posent aujourd'hui plus que jamais un problème grave de santé publique dont l'exemple le plus récent est la pandémie de Covid-19 qui se répand à travers le monde, avec plus de cent millions de personnes infectées et plus de deux millions de personnes décédées de ce virus. De plus, l'émergence de nouveaux virus tels que le virus Ebola, de la Dengue, Zika, celui du virus de la grippe A (H1N1), l'apparition de résistances aux antiviraux actuelles et des phénomènes de mutations virales, sont autant d'arguments qui plaident pour la nécessité de développer de nouveaux médicaments contre ces infections virales.

C'est dans ce contexte que s'inscrit le sujet de notre travail durant cette thèse. Au début de ce manuscrit, **Chapitre I**, nous introduirons d'abord quelques généralités à propos des virus, leur mode de réplication, les cibles thérapeutiques, les analogues de nucléosides, leur mécanisme d'action ainsi que l'approche prodrogue. Par la suite, nous accentuerons l'importance des acyclonucléosides phosphonates (ANPs), molécules devenues cruciales dans la lutte contre les diverses infections virales. Les diverses prodrogues de ces nucléosides seront discutées. Nous discuterons en particulier d'une nouvelle famille d'ANPs oléfiniques découverte dans notre famille dont un « lead », le **LAVR-289** qui possède des activités antivirales remarquables sans toxicité apparente *in vitro* et dans les premières études *in vivo*. Enfin, cette introduction présentera la raison pour laquelle nous avons un besoin urgent de nouveaux antiviraux.

Le **Chapitre II** concerne les objectifs de cette thèse et présentera la structure des molécules développées.

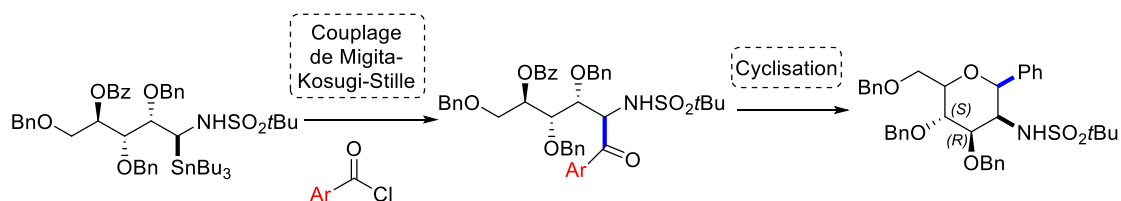
Le **Chapitre III** concerne la génération de divers analogues de nucléosides appartenant à cette nouvelle famille d'acyclonucléosides phosphonates oléfiniques. Ces composés seront synthétisés sous la forme de diverses prodrogues bioabiles (bis(POC), HDP/POC, phosphonoamidates). Dans la **partie A-1**, nous nous serons tout d'abord intéressés à la synthèse à l'échelle du gramme du composé **LAVR-289**, un dérivé de type 6-[4-dialkoxyphosphoryl-but-2-énoxy]pyrimidine-2,4-diamine. Divers analogues (**A**) et (**B**) ont ensuite été préparés avec la métathèse croisée d'oléfines comme réaction clef. Par la suite, la **partie A-2**, tout en gardant le squelette de type *trans* 2'-méthyle-but-2'-ényle phosphonate, concerne de nouveaux analogues (**C**) et (**D**) portant un hétérocycle de type 1,2,3-triazole, par l'utilisation clef de la réaction de CuAAC mais celle d'une réaction chemoenzymatique.



Analogues d'acyclonucléosides phosphonates oléfiniques, objectif de ce travail

Les activités antivirales des composés synthétisés seront évaluées par des équipes partenaires et seront présentées et discutées tout au long de ce manuscrit.

Le Chapitre IV de cette thèse est consacré à la présentation des travaux réalisés sur la synthèse de 1-C-arylglycosides. Pour ce faire, le « scope » de la réaction de Migita–Kosugi–Stille sera d’abord exploité en utilisant les iminoglycosylstannanes synthétisés avec une petite diversité de chlorures d’aryle diversement substitués ; Qui après couplage de Migita–Kosugi–Stille, seront utilisés pour préparer des nouveaux analogues de la *N*-acétylglucosamine C-glycosylée.



Enfin, une **Conclusion Générale** termine ce manuscrit en reprenant l’essentiel des résultats obtenus au cours de ces travaux de thèse.

Chapitre I. « VIRUS – NUCLEOSIDES – CIBLES THERAPEUTIQUES »

1. Généralités sur les virus

1.1 Définition

Les virus sont des micro-organismes qui provoquent de nombreuses maladies virales chez l'homme, mais aussi chez les animaux et les plantes. En 1953, André Lwoff a énoncé les caractères fondamentaux faisant des virus des entités originales :

- Un virus ne renferme ni cytoplasme ni noyau, mais associe un acide nucléique et des protéines en une structure définie et constante, qui possède des éléments de symétrie.
- Un virus ne contient qu'un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN) qui constitue le génome viral.¹
- Il est incapable de croître ou de se diviser, et il se reproduit à partir de son matériel génétique en utilisant les constituants/la machinerie de la cellule hôte.
- Un virus est ainsi doté de parasitisme intracellulaire, puisqu'il possède l'information nécessaire à la synthèse de ses propres constituants, mais n'a pas les moyens d'exprimer cette information (synthèse et transcription de l'ADN en ARN messager et traduction des ARN messagers en protéines).
- La taille des virus se situe entre 10 et 400 nanomètres. Ils sont constitués d'un génome viral porteur de l'information génétique, et d'une capside, coque protéique qui entoure et protège l'acide nucléique viral contre des attaques enzymatiques.
- Certains virus ont une couverture supplémentaire, appelée enveloppe ; on parle alors de *virus enveloppés*. Les virus ne possédant pas d'enveloppe sont les *virus nus*, qui sont en général plus résistants. L'enveloppe virale contient des glycoprotéines de surface qui sont responsables de l'attachement et de la pénétration du virus dans la cellule hôte. Ils sont indispensables pour la fusion du virus avec la membrane de la cellule hôte.

C'est sur ces critères que la classification des virus s'effectue, avec par ordre : la nature de l'acide nucléique viral (ADN ou ARN), la conformation de la capside et la présence ou non d'une enveloppe. Les virus sont le type d'entité biologique les plus nombreux. Jusqu'à présent, plus de 200 virus ont été découverts chez l'homme ;² on peut citer parmi les virus d'intérêt médical chez l'homme :

- ✓ virus à ADN, nus : adénovirus, papilloma virus,...
- ✓ virus à ADN, enveloppé : famille des *herpesviridae* incluant varicella-zona virus, CMV, Epstein-Barr virus, herpes simplex virus, ...
- ✓ virus à ARN, nus : entérovirus, rhinovirus, rotavirus, astrovirus, ...
- ✓ virus à ARN, enveloppés : myxovirus influenza, famille des *paramyxoviridae* provoquant oreillons, rougeole, para-influenza, les coronavirus dont le SARS-CoV-2 apparu récemment en Chine, la famille des *flaviridae* incluant le virus de l'hépatite C

¹ H. R. Gelderblom, Structure and classification of viruses. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; **1996**, chapter 41.

² M. Woolhouse, F. Scott, Z. Hudson, R. Howey, M. Chase-Topping, Human viruses: discovery and emergence. *Philos Trans R Soc. Lond. BBiol. Sci.* **2012**, 367, 2864 –2871.

et celui de la fièvre jaune ; le virus de la rage, Ebola, Marbourg et les rétrovirus (HIV-1 et HIV-2, HTLV-1 et 2, appartiennent aussi à cette même famille de virus à ARN enveloppés.

La Figure ci-dessous résume la famille, morphologie et mode de transmission de ces virus (Figure 1).

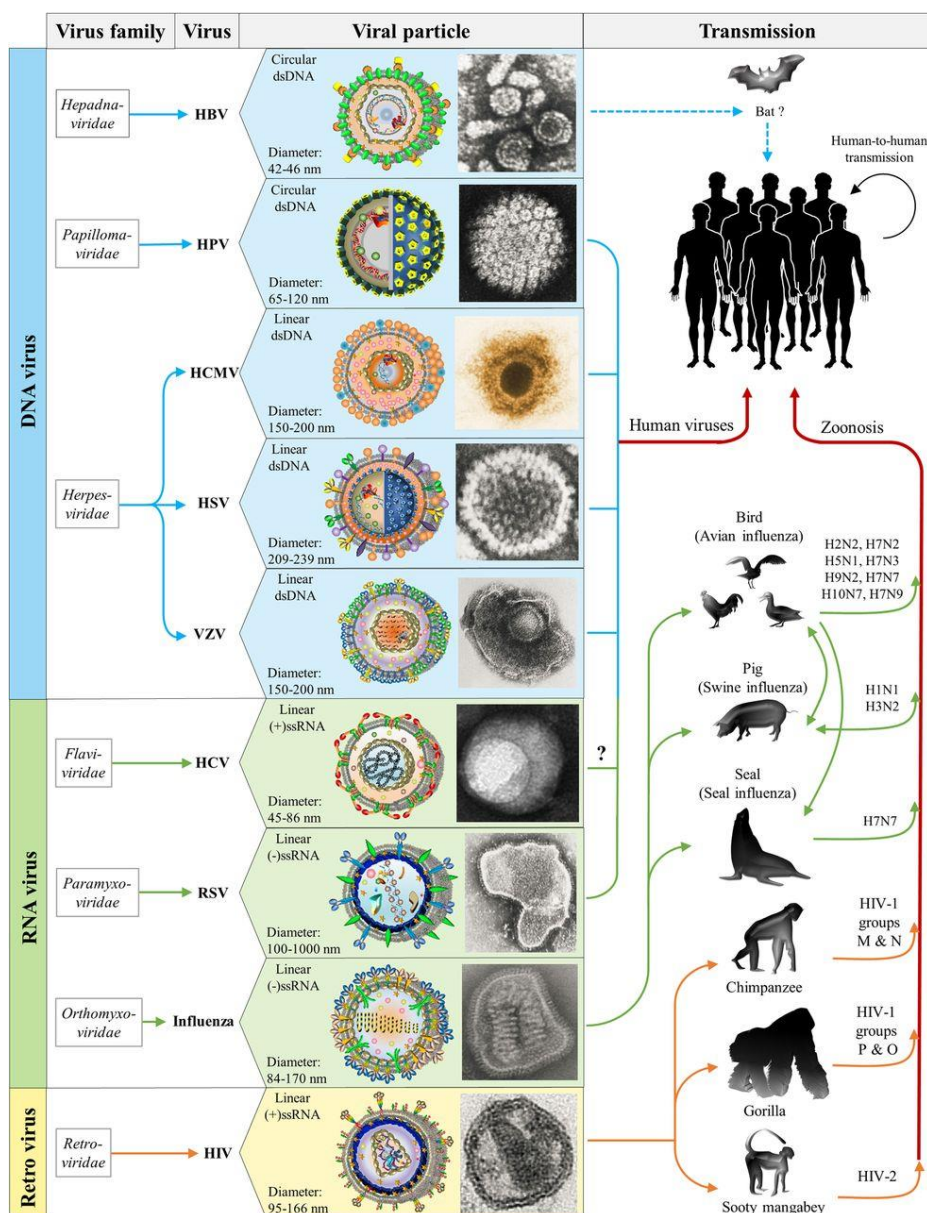


Figure 1 : Famille, morphologie et transmission des virus humains³

Ces virus, dont plusieurs sont issus d'une transmission de l'animal à l'homme (zoonose), et *vice versa*, provoquent des maladies infectieuses dévastatrices qui affectent des millions d'humains dans le monde, par exemple, au cours des 3 dernières décennies, le HIV a infecté environ 36,9 millions de personnes et causé 1,2 million de décès en 2014 selon l'enquête sur

³ E. De Clercq, G. Li, Approved antiviral drugs over the past 50 years. *Clin. Microbiol. Rev.* **2016**, 29, 695-747.

la santé mondiale de l'OMS ou plus récemment, le SARS-CoV-2 (COVID-19), un coronavirus hautement pathogène qui a été déclaré par l'OMS comme « urgence de santé publique de portée internationale » en janvier 2020 puis pandémie en mars 2020. On pourrait citer des virus dits émergents tels que Zika, Dengue, virus Ebola, virus pour lesquels il n'existe à ce jour ni vaccin ni médicament. La recherche de nouvelles molécules antivirales revêt donc un caractère d'urgence évident.

1.2 Cycle de réplication des virus

Comme mentionné ci-dessus, les virus ne peuvent pas se répliquer indépendamment de l'hôte ; ils ont absolument besoin de pénétrer dans une cellule ou une bactérie donc de l'infecter pour se répliquer en utilisant la machinerie cellulaire et produire de nouveaux virions (ou particules virales). Chaque virus possède des modes de réplication particuliers, notamment selon qu'il s'agisse d'un virus à ADN ou d'un virus à ARN, mais partage des étapes communes telles que présenté dans la Figure 2 avec l'exemple du virus de la grippe (influenza), un virus à ARN :

- 1) Adsorption du virion sur la membrane cellulaire,
- 2) Pénétration du virion dans la cellule-hôte,
- 3) Décapsidation et libération de l'acide nucléique et autres protéines virales,
- 4) Réplication du génome viral,
- 5) Synthèse des protéines virales,
- 6) Assemblage et encapsidation du nouveau virion,
- 7) Libération du virion hors de la cellule-hôte.

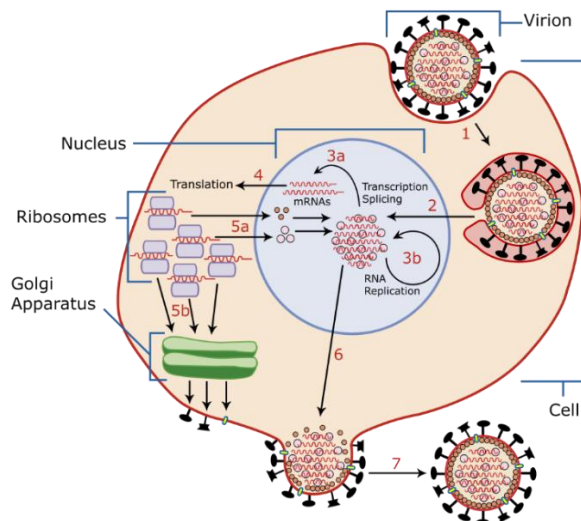


Figure 2 : Cycle de réplication du virus de la grippe (influenza)⁴

Il est à noter que si la cible privilégiée « historique » reste la polymérase virale qui intervient dans l'étape de réplication (transcription) du génome viral, chaque étape de ce cycle de réplication est une cible thérapeutique d'importance ; par exemple, il a été montré que l'étape

⁴ <https://bio.libretexts.org>

de fusion du virus Ebola *via* la glycoprotéine G et la protéine trans-membranaire Niemann-Pick C1 ont été montrée comme être le « talon d'Achille » du virus.⁵

2. Nucléosides et cibles thérapeutiques

2.1 Structure des nucléosides

Les nucléosides sont des molécules naturelles importantes car ils jouent un rôle essentiel dans de très nombreux processus biologiques. Du point de vue structural, les nucléosides sont constitués d'une nucléobase (pyrimidine ou purine) et d'un sucre (le ribose pour l'ARN, le 2'-désoxyribose pour l'ADN) relié par une liaison carbone-azote (Figure 3). Les nucléosides sont transformés au sein de la cellule en nucléosides-5'-triphosphates par diverses phosphorylations catalysées par des nucléosides kinases (cellulaire ou virales).

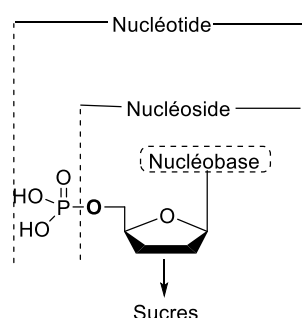


Figure 3 : Structure générale d'un nucléos(t)ide

Les analogues de nucléosides sont des composés synthétiques qui sont structurellement similaires aux nucléosides naturels. Les modifications portent sur la partie osidique (stéréochimie, acyclonucléoside, carbocyle, etc), sur la nucléobase ou sur la partie phosphate. Parmi les modifications importantes, le remplacement de la liaison phosphate O-P par une liaison phosphonate $\text{CH}_2\text{-P}$ est d'intérêt pour augmenter la stabilité chimique et enzymatique, la liaison $\text{CH}_2\text{-P}$ n'étant pas sensible à l'hydrolyse enzymatique par une phosphodiesterase ou une phosphatase.

2.2 Cibles thérapeutiques des nucléosides

Les analogues de nucléosides exercent leur activité antivirale comme inhibiteurs de polymérases virales et ce de manière plus ou moins sélective mais peuvent aussi être substrats des polymérases cellulaires dont mitochondriales (toxicité). Les moins sélectifs sont plutôt utilisés contre des cancers. Ils peuvent aussi viser les enzymes impliquées dans la biosynthèse des nucléotides endogènes par la voie dite *de novo* ; on pourra citer l'inosine monophosphate déshydrogénase, la cytidine-5'-triphosphate (CTP) synthétase, l'orotidine-5'-monophosphate

⁵ J. E. Carette, M. Raaben, A. Raaben, A. C. Kuehne, P. J. Kranzusch, A. M. Griffin, G. Ruthel, P. D. Cin, J. M. Dye, S. P. Whelan, K. Chandra, T. R. Brummelkamp, Ebola virus entry requires the cholesterol transporter Niemann-Pick C1. *Nature* **2011**, 24, 340-43.

(OMP), les SAH hydrolases, la thymidylate synthase, etc.⁶ Nous présentons ci-dessous quelques cibles thérapeutiques importantes et analogues de nucléosides.

- ✓ **Les polymérases virales :** Les polymérases virales restent la principale cible thérapeutique car elles assurent la réplication du génome viral (ADN ou ARN). Pour effectuer l'élongation de l'ADN, les polymérases utilisent comme substrats naturels des nucléosides 5'-triphosphates (NTPs). Ainsi, les analogues de nucléosides antiviraux ne sont que les formes administrées et exercent leurs activités qu'après transformation intracellulaire par diverses nucléosides kinases en leurs analogues nucléosides 5'-triphosphates (forme active). Un nucléoside peut ainsi être considéré comme une prodrogue. Sous sa forme triphosphorylée, le nucléoside analogue agit alors comme inhibiteurs de la polymérase virale et il stoppe, par divers processus, la réplication du génome viral comme terminateur de chaîne. La majorité des composés sont à la fois substrats de polymérases virales mais aussi cellulaires, provoquant alors des « effets secondaires ». L'intérêt pharmaceutique du composé sera alors déterminé par l'indice de sélectivité (SI) qui est défini par le rapport activité (IC₅₀)/toxicité (CC₅₀). Un indice de sélectivité élevé signifie que le composé présente une bonne sélectivité pour la polymérase virale.
- ✓ **Quelques enzymes clés dans la synthèse *de novo* :** Les nucléotides endogènes puriques et pyrimidiniques sont nécessaires pour la synthèse d'ADN et d'ARN. Les nucléotides puriques et pyrimidiniques sont synthétisés au sein même de la cellule par la voie dite *de novo* et la voie dite de récupération (salvage pathway).⁷ Dans la synthèse *de novo*, les nucléotides sont synthétisés en une dizaine d'étapes à partir du α -D-ribose-5-phosphate et de divers acides aminés et co-facteurs donneurs de méthyle ; la voie de récupération quant-à-elle utilise des nucléobases et nucléosides formés lors de la dégradation de l'ARN et de l'ADN. Pour répondre à la demande accrue de synthèse d'acide nucléique, des quantités sensiblement plus importantes de nucléotides doivent être produites. Les voies de biosynthèse des nucléotides deviennent des cibles attractives pour le traitement des cancers ou des infections virales. De nombreux médicaments antiviraux et anticancéreux sont des inhibiteurs de la biosynthèse des nucléotides puriques ou pyrimidiniques.⁸
- ✚ **L'IMP déshydrogénase dans la synthèse *de novo* des nucléotides puriques :** Les nucléotides de la guanine sont des éléments constitutifs de l'ADN et de l'ARN, en plus d'être impliqués dans d'autres processus cellulaires importants. La biosynthèse de nucléotides de guanine est particulièrement importante pour les cellules. L'inosine 5'-monophosphate (IMP) **2** est synthétisé en 11 étapes enzymatiques à partir du α -D-ribose-5-phosphate **1**. La guanosine 5'-monophosphate (GMP) **5** et l'adénosine 5'-monophosphate (AMP) **6** sont alors

⁶ E. De Clercq, Vaccinia virus inhibitors as a paradigm for the chemotherapy of poxvirus infections. *Clin. Microbiol. Rev.* **2001**, 14, 2, 382-97.

⁷ B. A. Moffatt, H. Ashihara, Purine and pyrimidine nucleotide synthesis and metabolism. *Arabidopsis Book*. **2002**, 1, 0018.

⁸ R. I. Christopherson, S. D. Lyons, P. K. Wilson, Inhibitors of *de novo* nucleotide biosynthesis as drugs. *Acc. Chem. Res.* **2002**, 35, 961-71.

synthétisées à partir de l'IMP. La formation du GMP à partir d'IMP nécessite une oxydation en C-2 du cycle purine au moyen de l'inosine 5'-monophosphate (IMP) déshydrogénase en présence de nicotinamide adénine dinucléotide NAD^+ . La xanthosine 5'-monophosphate (XMP) **4** est alors obtenue et transformée en GMP par transfert du groupement amine de la glutamine sur la position C-2 de XMP au moyen d'une GMP synthétase. L'oxydation catalysée par l'IMP déshydrogénase constitue l'étape limitante de la biosynthèse *de novo* du guanosine 5'-triphosphate (GTP) (Schéma 1).⁹ Pour cette raison, l'inosine 5'-monophosphate (IMP) déshydrogénase est considérée comme une cible thérapeutique intéressante pour le développement de médicaments anticancéreux, antiviraux mais aussi antimicrobiens.¹⁰

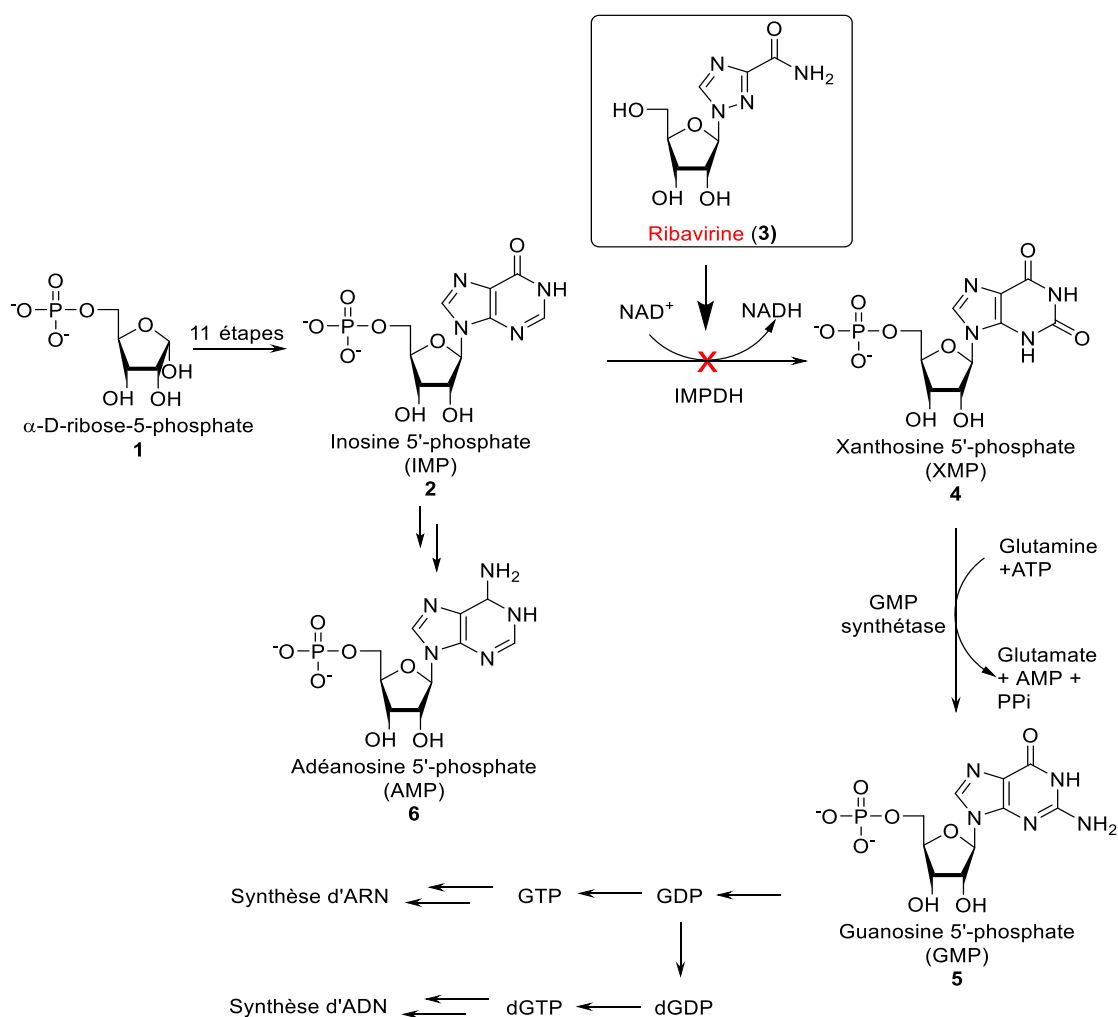


Schéma 1 : Mécanisme de l'inhibition de l'IMP déshydrogénase par la ribavirine 3

⁹ Q. Shu, V. Nair, Inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) as a target in drug discovery. *Med. Res. Rev.* **2008**, 28, 219-232.

¹⁰ P. Franchetti, L. Cappellacci, M. Grifantini, IMP dehydrogenase as a target of antitumor and antiviral chemotherapy. *Farmaco.* **1996**, 51, 457-469.

Plusieurs inhibiteurs de l'IMP déshydrogénase sont actuellement utilisés en clinique en chimiothérapie immunosuppressive,¹¹ antivirale,¹² anticancéreuse¹³ et antimicrobienne (Figure 4).¹⁴ La Ribavirine **3**, un analogue nucléosidique de la guanosine, a été aussi utilisé, associé à l'interféron, comme premier traitement du HCV. Elle est active contre une grande variété de virus à ARN et à ADN, cette activité antivirale à large spectre a été attribuée à l'inhibition de l'IMP déshydrogénase par la ribavirine 5'-monophosphate. La Taribavirine **7**, une prodrogue de la ribavirine, est en essais clinique, mais n'a pas encore été approuvée pour un usage pharmaceutique. Ce composé est actif contre un certain nombre de virus à ADN (HBV) et à ARN (HCV, virus de la grippe A).¹⁵ La Tiazofurine **8** est un médicament pour le traitement de la leucémie chronique, bien que sa neurotoxicité limite l'utilisation généralisée de ce médicament.¹⁶ L'EICAR **9** est un dérivé nucléosidique antiviral à large spectre avec une activité contre les virus de la vaccine, de la grippe, le virus Junin, le réovirus, le virus de la rougeole et le virus respiratoire syncytial.^{17,18} Parmi les inhibiteurs de l'IMP déshydrogénase, l'EICAR présente le plus grand potentiel en tant qu'agent contre le virus de la vaccine (modèle des poxvirus) avec un IC₅₀ de 0,2 µg/ml sans toxicité apparante pour la cellule hôte.¹⁹ La Mizoribine **10** est un analogue nucléosidique de la guanosine d'origine naturelle qui a été approuvé en chimiothérapie immunosuppressive.²⁰ Divers autres inhibiteurs de l'IMP déshydrogénase sont en cours d'évaluation thérapeutique.

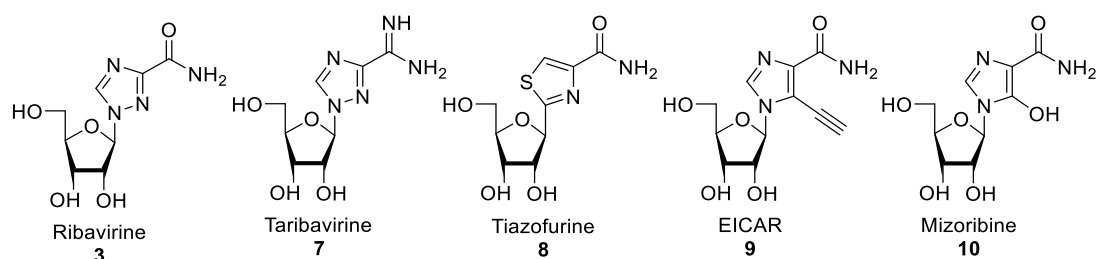


Figure 4 : Inhibiteurs nucléosidiques de l'IMP déshydrogénase en clinique²¹

¹¹ A. J. Ratcliffe, Inosine 5'-monophosphate dehydrogenase inhibitors for the treatment of autoimmune diseases. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* **2006**, 9, 595-605.

¹² V. Nair, Q. Shu, Inosine monophosphate dehydrogenase as a probe in antiviral drug discovery. *Antivir. Chem. Chemother.* **2007**, 18, 245-58.

¹³ L. Chen, K. W. Pankiewicz, Recent development of IMP dehydrogenase inhibitors for the treatment of cancer. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* **2007**, 10, 403-12.

¹⁴ L. Hedstrom L. IMP dehydrogenase: structure, mechanism, and inhibition. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 2903-2928.

¹⁵ K. R. Kearney, J. J. Thornton, V. J. Navarro, Taribavirin for the treatment of chronic hepatitis C. *Expert Opin Pharmacother.* **2008**, 9, 18, 3243-9.

¹⁶ M. Popsavin, L. Torović, M. Svircev, V. Kojic *et al.* Synthesis and antiproliferative activity of two new tiazofurin analogues with 2'-amido functionalities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16,10, 2773-6.

¹⁷ E. De Clercq, M. Cools, J. Balzarini, R. Snoeck, G. Andrei, M. Hosoya, S. Shigeta *et al.* Antiviral activities of 5-ethynyl-1-beta-D-ribofuranosylimidazole-4- carboxamide and related compounds. *Antimicrob Agents Chemother.* **1991**, 35, 679-84.

¹⁸ M. Jashés, M. González, M. López-Lastra, E. De Clercq, A. Sandino, Inhibitors of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) replication. *Antiviral Res.* **1996**, 29, 309-12.

¹⁹ E. De Clercq, Vaccinia virus inhibitors as a paradigm for the chemotherapy of poxvirus infections. *Clin. Microbiol. Rev.* **2001**, 14, 382-97.

²⁰ H. Ishikawa, Mizoribine and mycophenolate mofetil. *Curr. Med. Chem.* **1999**, 6, 575-97.

²¹ L. Hedstrom, IMP dehydrogenase: structure, mechanism, and inhibition. *Chemical reviews.* **2009**, 8, 109, 2903-28.

 **La CTP synthétase dans la synthèse *de novo* des nucléotides pyrimidiniques :** La synthèse *de novo* des nucléotides pyrimidiniques est plus simple que celle des purines ; l'uridine monophosphate (UMP) est synthétisée en 6 étapes enzymatiques à partir de simples précurseurs. L'UMP est converti en l'uridine triphosphate (UTP) **11** après deux étapes de phosphorylation enzymatique au moyen de nucléotide kinases. L'amination de l'UTP en position 6 au moyen de la CTP synthase produit la cytidine triphosphate (CTP) **12**. La CTP synthase est ainsi une cible importante pouvant limiter la biosynthèse *de novo* du CTP. Elle joue un rôle majeur dans la synthèse *de novo* et par récupération des nucléotides pyrimidiniques. Elle permet de réguler le taux intracellulaire de la synthèse de l'ARN et de l'ADN. Cette enzyme a donc été choisie comme cible pour le développement de médicaments contre la leucémie et les infections virales.²²

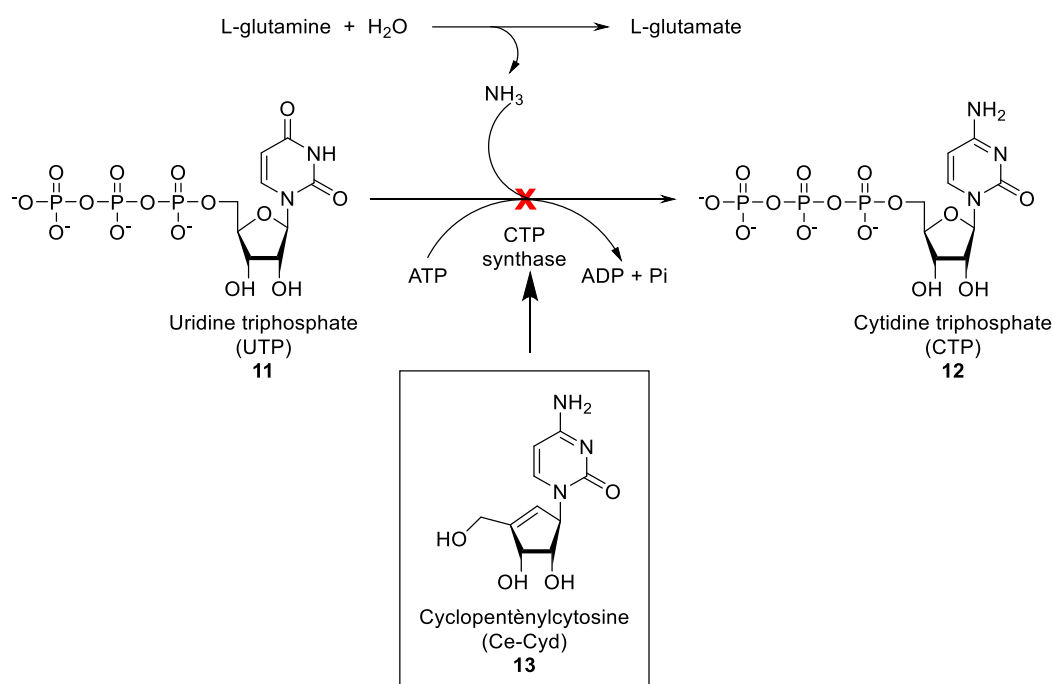


Schéma 2 : Inhibition de la CTP synthase par Ce-Cyd

Parmi les inhibiteurs de la CTP synthétase, la Carbode (cyclopentyl cytosine [C-Cyd]) et en particulier la cyclopentényl cytosine (Ce-Cyd) **13** occupent une place de choix comme agents antiviraux et antitumoraux. Le Ce-Cyd **13** est un antiviral à large spectre actif contre les virus à ADN (HSV, CMV, VZV, VV) et à ARN (virus de la grippe A).²³ Le Ce-Cyd possède également une activité antitumorale importante chez la souris.²⁴

²² A. C. Verschuur, A. H. Van Gennip, R. Leen, E. J. Muller, L. Elzinga, P. A. Voûte, A. B. Van Kuilenburg, Cyclopentenyl cytosine inhibits cytidine triphosphate synthetase in paediatric acute non-lymphocytic leukaemia: a promising target for chemotherapy. *Eur J Cancer*. **2000**, 36, 627-35.

²³ E. De Clercq, J. Murase, V. E. Marquez, Broad spectrum antiviral and cytotoxic activity of cyclopentenylcytosine, a carbocyclic nucleoside targeted at CTP synthase. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, 41, 1821-1829.

²⁴ V. E. Marquez, M. I. Lim, S. P. Treanor, J. Plowman, A. Priest, A. Markovac, M. S. Khan *et al.* Cyclopentenylcytosine. A carbocyclic nucleoside with antitumor and antiviral properties. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 1687-1694.

2.3 Quelques nucléosides antiviraux

Entre juin 1963 et avril 2016, 90 médicaments antiviraux ont été officiellement approuvés pour traiter les maladies infectieuses humaines. Parmi ces 90 médicaments antiviraux, environ un tiers sont des analogues de nucléosides, ce qui montre clairement l'importance de ces composés en thérapie antivirale. À ce jour, de très nombreux inhibiteurs nucléosidiques de polymérases virales ont été approuvés par la FDA. Le premier médicament antiviral, l'idoxuridine **14**, développé par William Prusoff, a été approuvé en juin 1963 pour traiter des kératites dues à HSV.²⁵ Depuis, une nouvelle ère de développement de médicaments antiviraux a commencé avec diverses familles de nucléosides dont les carbanucléosides, les C-nucléosides, les triazilonucléosides, les L-nucléosides ou les acyclonucléosides (Figure 5).

On pourrait citer par exemple, de manière non exhaustive, la Brivudine (BVDU, **22**) contre les virus à herpès, les acyclonucléosides dont l'Acyclovir (Zovirax, **17**) développé par Gertrude Elion (prix Nobel de médecine en 1988) et sa prodrogue Valtrex (*val*-acyclovir - Zelitrex). Les 2',3'-didésoxynucléosides sont des succès dans le traitement du SIDA (virus VIH) ; on peut citer la Zidovudine (AZT – Retrovir, **19**), la Stavudine (d4T – Zerit, **20**), la Dideoxycytidine (ddC – Zalcitabine, **21**), la L-dT (Telbivudine, **18**) et l'Abacavir ((1*S*,4*R*)-4-[2-amino-6-(cyclopropylamino)-9H-purin-9-yl]-2-cyclopentène-1-méthanol sulfate (ABC – Ziagen, **15**)). On pourrait aussi citer aussi les acyclonucléosides phosphonates (ANPs) développés par A. Holy et E. De Clercq, qui sont à l'origine des Laboratoires Gilead, dont le Ténofovir (sous forme prodrogue Ténofovir disoproxil fumarate), l'Adéfovir (sous forme prodrogue Adéfovir dipivoxil) et plus récemment, le Remdésivir, un dérivé monophosphate d'un analogue de nucléoside de l'adénine actif contre le virus Ebola et la fièvre de Marburg, et dans certains cas contre le SARS-Cov-2 (Covid-19) et le Sofosbuvir (inhibiteur de la polymérase virale NS5B du virus de l'Hépatite C), (voir ci-dessous). Par ailleurs, l'immucilline-A (BCX4430) **16**, un imino-C-nucléoside, présente une activité antivirale significative contre les filovirus (le virus de Marburg) avec un IC₅₀ de 11.8 µM sans cytotoxicité apparente ; il représente l'une des molécules les plus prometteuses dans la lutte contre les filovirus.²⁶

²⁵ K. R. Wilhelmus, Antiviral treatment and other therapeutic interventions for herpes simplex virus epithelial keratitis. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2015**, 1, CD002898.

²⁶ T. K. Warren, J. Wells, R. G. Panchal, K. S. Stuthman, N. L. Garza *et al.* Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. *Nature.* **2014**, 508, 402-5.

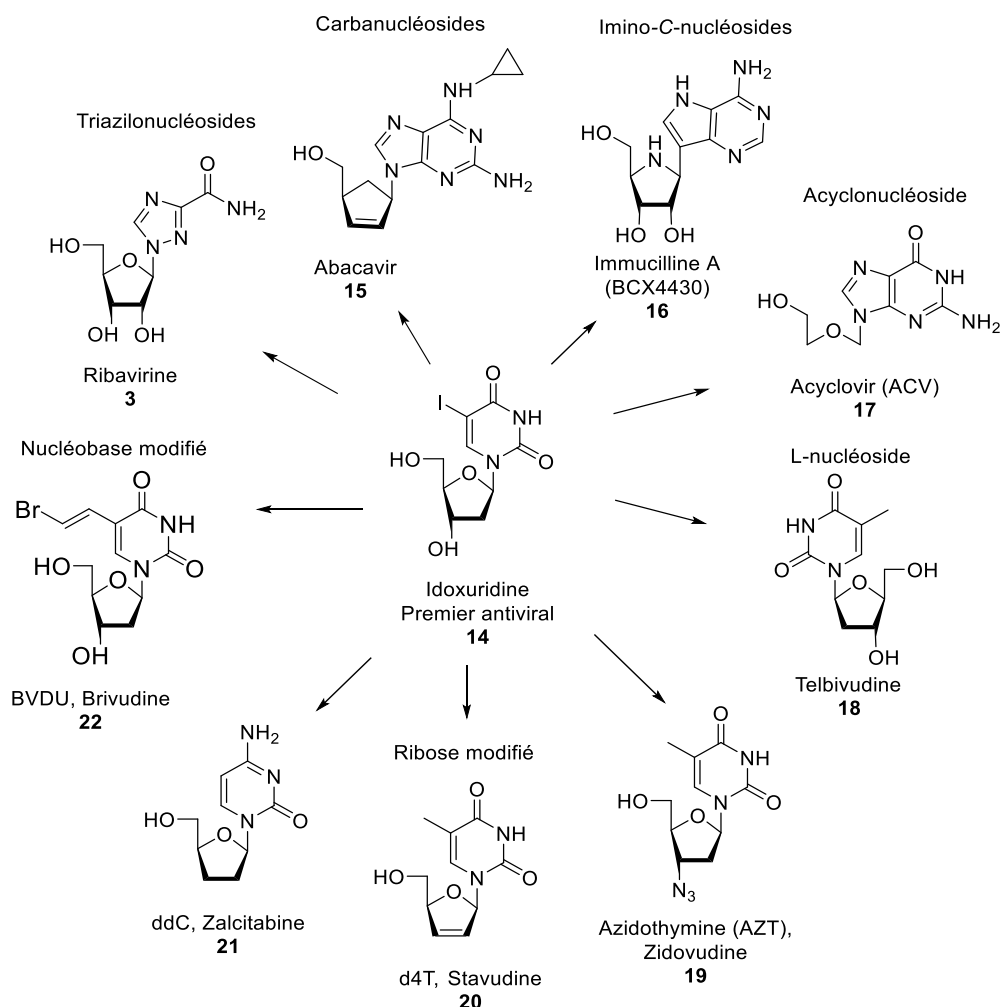


Figure 5 : Différentes classes d'analogues nucléosidiques

2.4 Mécanisme d'action et limitations des analogues de nucléosides

Les analogues de nucléosides ne sont que des formes administrées (prodrugs). Après pénétration dans la cellule,²⁷ ils doivent être convertis en nucléosides triphosphates (NTPs), s'ils visent l'inhibition de polymérases virales. Pour cela, ils subissent diverses phosphorylations par diverses nucléosides monophosphates kinases (NMPKs) puis les NDPKs cellulaires ou parfois virales (intérêt dans la recherche de sélectivité entre une cellule saine et une cellule virosée).²⁸ Une fois le nucléoside triphosphate obtenu, il agit comme inhibiteur compétitif de la polymérase virale et comme terminateur de chaîne s'il ne possède pas un hydroxyle en position 3'. Ces dérivés bloquent alors la réplication du génome viral (Figure 6).²⁹

²⁷ J. Zhang, F. Visser, K. M. King, S. A. Baldwin, J. D. Young, C. E. Cass, The role of nucleoside transporters in cancer chemotherapy with nucleoside drugs. *Cancer Metastasis Rev.* **2007**, 26, 85–110.

²⁸ D. Deville-Bonne, C. El Amri, P. Meyer, Y. Chen, L. A. Agrofoglio, J. Janin, Human and viral nucleoside/nucleotide kinases involved in antiviral drug activation: structural and catalytic properties. *Antiviral Res.* **2010**, 86, 101-20.

²⁹ L. P. Jordheim, D. Durantel, F. Zoulim, C. Dumontet, Advances in the development of nucleoside and nucleotide analogues for cancer and viral diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, 12, 447–464.

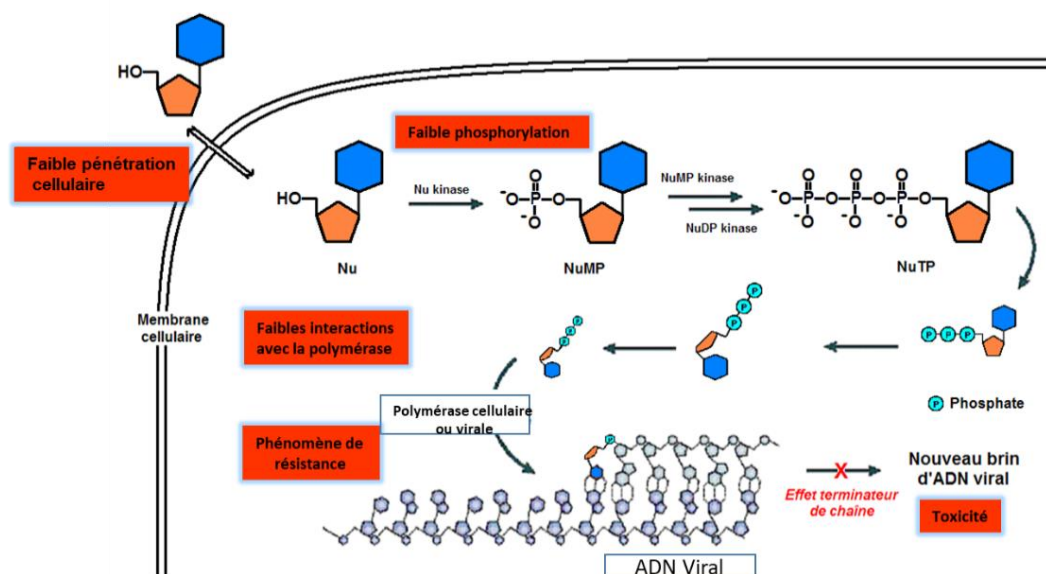


Figure 6 : Mécanisme d'action des analogues de nucléosides

Pour de nombreux analogues de nucléosides, la première étape de phosphorylation est l'étape limitante.³⁰ Une des possibilités envisagées consiste à administrer directement le nucléoside sous sa forme monophosphorylée. Cependant, cette approche se heurte à une très faible pénétration cellulaire (< 10%) liée la fonction phosphate qui est chargée négativement à pH physiologique mais aussi à une instabilité enzymatique de la liaison phosphate. Ainsi, pour contourner ces limitations et améliorer les propriétés thérapeutiques des analogues de nucléosides, ces composés sont convertis en diverses formes prodrogues, par ajout de groupements biolabiles sur la fonction phosphate ou phosphonate de sorte à en "masquer" la forme chargée.^{31,32}

3. Approche pronucléotides ou prodrogues

Les nucléosides de type monophosphate ou phosphonate traversent peu ou pas la membrane cellulaire à cause des charges négatives portées par la fonction phosphate ou acide phosphonique à pH physiologique. L'approche pronucléotide consiste ainsi à convertir la fonction acide phosphonique ou monophosphate du nucléotide en en protégeant les fonctions O⁻ par des groupes biolabiles. Les analogues phosphotriesters formés sont plus stables (il n'existe en effet pas de phosphotriesterase chez l'homme) et traversent plus efficacement la membrane cellulaire. Une fois dans la cellule, un clivage chimique et/ou enzymatique d'un des groupements biolabiles permet la libération d'un phosphate monoester

³⁰ A. Varga, C. Lionne, B. Roy, Intracellular metabolism of nucleoside/nucleotide analogues: a bottleneck to reach active drugs on HIV reverse transcriptase. *Curr. Drug Metab.* **2016**, 17, 237-252.

³¹ C. R. Wagner, V. V. Iyer, E. J. McIntee, Pronucleotides: Toward the in vivo delivery of antiviral and anticancer nucleotides. *Med. Res. Rev.* **2000**, 20, 417-451.

³² D. P. Drontle, C. R. Wagner, Designing a pronucleotide stratagem: Lessons from amino acid phosphoramidates of anticancer and antiviral pyrimidines. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, 4, 409-419.

qui sera substrat d'une phosphodiesterase et donnera alors le nucléoside monophosphate/phosphonate attendu. Ce dernier sera alors converti en nucléoside triphosphate (NTP) pour exercer son activité pharmacologique (Schéma 3).³³

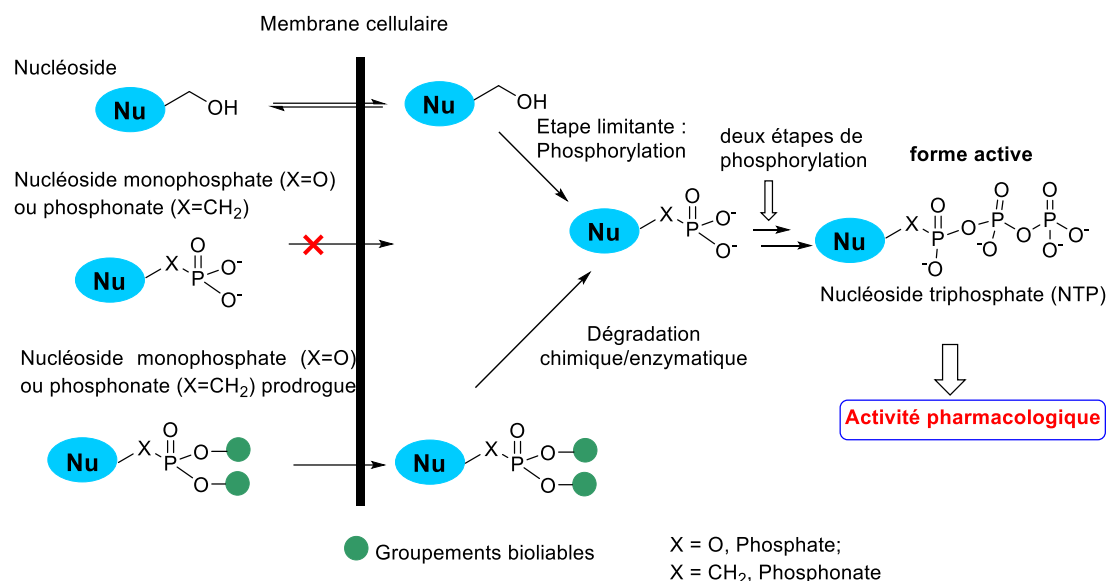


Schéma 3 : Intérêt et mode d'action des prodrogues

La stratégie des prodrogues biolabiles permet ainsi (1) de contourner la première phosphorylation limitante, (2) d'augmenter la stabilité extracellulaire du pronucléotide et (3) d'améliorer la biodisponibilité orale et la pénétration cellulaire. De manière générale les groupements biolabiles doivent posséder un bon caractère lipophile ainsi qu'une bonne solubilité/stabilité dans les fluides physiologiques. De plus, la conception des prodrogues doit également prendre systématiquement en compte les sous-produits générés lors de leur dégradation puisqu'ils peuvent présenter une toxicité pour la cellule.

S'il existe de nombreuses approches et développement de prodrogues dans la littérature, nous nous sommes focalisés sur l'utilisation de groupements biolabiles déjà validés par l'industrie pharmaceutique, puisque présents sur des principes actifs. La Figure 7 résume ainsi les groupements biolabiles utilisés au cours de ma thèse. Chaque groupement biolabile possède des caractéristiques différentes autant du point de vue de la stabilité que du mécanisme de dégradation.^{34,35} La prise en charge *in cellulo* de ces groupements biolabiles est souvent réalisée par des enzymes telles que des hydrolases, réductases et carboxyestérases.

³³ P. J. Thornton, H. Kadri, A. Miccoli, Y. Mehellou, Nucleoside phosphate and phosphonate prodrug clinical candidates. *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 10400–10410.

³⁴ S. J. Hecker, M. D. Erion, Prodrugs of phosphates and phosphonates. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 2328-2345.

³⁵ C. Schultz, Prodrugs of biologically active phosphate esters. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 885-898.

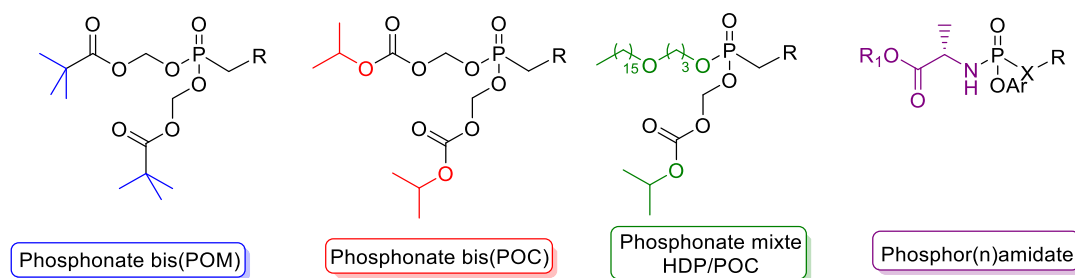


Figure 7 : Groupements biolabiles principaux envisagés

Dans le cadre de nos travaux, nous nous sommes intéressés particulièrement aux carbonyloxyméthyls avec les groupements **POM/POC**, aux chaînes lipophiles avec la chaîne **HDP** et à la technologie **Protide** (développée par C. McGuigan) avec un groupement aryle et un acide amino ester. Tous ces groupements diffèrent par leurs structures et leurs mécanismes de dégradation intracellulaire.

3.1 Les prodrogues de type carbonyloxyméthyl {*bis*(POM) et *bis*(POC)}

Parmi les quatre ANPs commercialisés, deux possèdent une prodrogue de type carbonyloxyméthyl : l'adéfovir (PMEA) est administré sous la forme prodrogue *bis*-pivaloyloxyméthyl [*bis*(POM)PMEA ou adéfovir dispivox] ; le ténofovir (PMPA) est administré sous forme *bis*-isopropylloxyméthyl carbonate [*bis*(POC)PMPA ou ténofovir disoproxil]. Ces groupements biolabiles permettent d'augmenter grandement la biodisponibilité des molécules concernées. A titre d'exemple, le PMEA ne présente sous sa forme d'acide phosphonique qu'une biodisponibilité de 8%. En présence d'un groupement *bis*(POM), cette biodisponibilité est augmentée à 30%, et son activité est multipliée par un facteur 200. Cette grande disponibilité et métabolisation est aussi une conséquence de sa stabilité. De plus, il a une durée de demi-vie supérieure à 24 h et est indiqué pour une administration par voie orale.^{36,37}

Le mécanisme de libération des formes actives est similaire pour les prodrogues *bis*(POM) et *bis*(POC), mais il subsiste quelques différences (Schéma 4). Le composé **23** est hydrolysé par une estérase, libérant un intermédiaire **24** instable, qui va spontanément émettre du formaldéhyde pour former le composé **26**. Quant à l'ester, il ne subit que l'action de l'estérase pour former cet intermédiaire. Par la suite, cette molécule subit une dégradation chimique, formant le phosphonate **30**. Après un deuxième cycle d'élimination, sous l'action plutôt d'une phosphodiesterase, le nucléoside monophosphate **26** est libéré dans la cellule.

³⁶ J. E. J. Starrett John, D. R. Tortolani, J. Russell, M. J. M. Hitchcock, V. Whiterock *et al.* Synthesis, oral bioavailability determination, and in vitro evaluation of prodrugs of the antiviral agent 9-[2-(phosphonomethoxy)ethyl] adenine (PMEA). *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 1857–1864.

³⁷ R. V. Srinivas, B. L. Robbins, M. C. Connelly, Y. F. Gong, N. Bischofberger, A. Fridland, Metabolism and in vitro antiretroviral activities of bis(pivaloyloxymethyl) prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, 37, 2247–50.

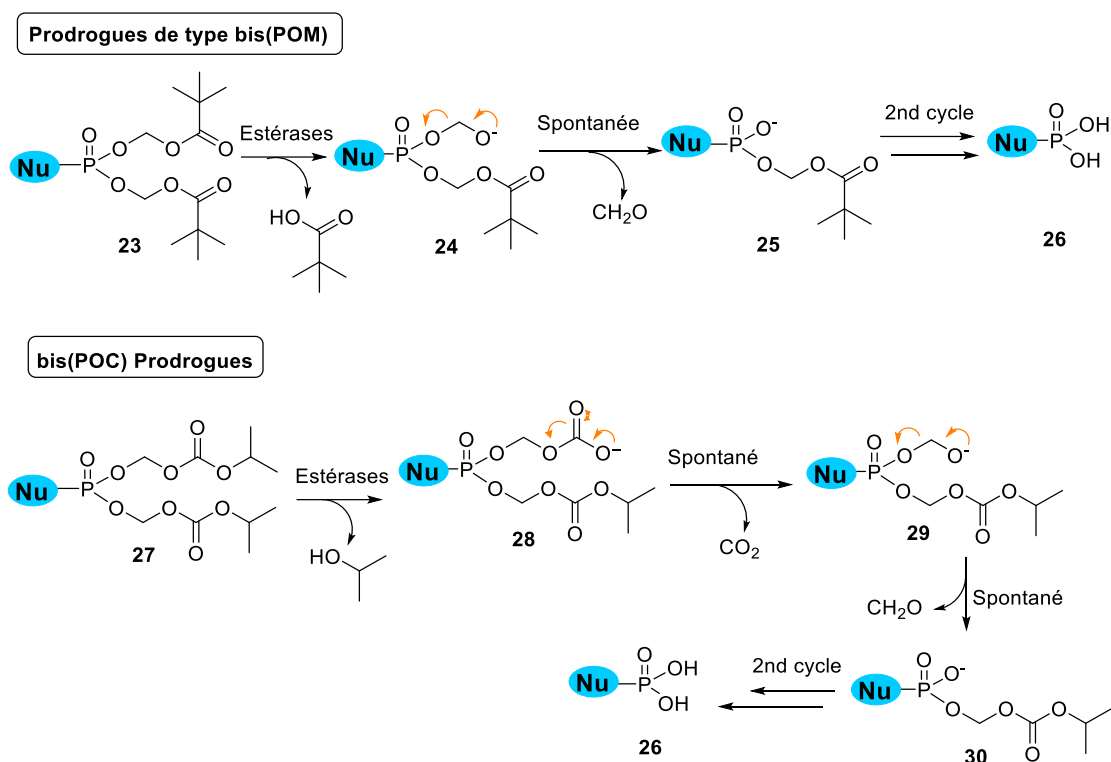


Schéma 4 : Metabolisme de *bis*(POM) et *bis*(POC) prodrogues

Dans le choix des prodrogues (bénéfice/risque), il faut aussi prendre en considération la toxicité des produits de dégradation (formaldéhyde, acide pivalique et isopropanol dans le cas de la dégradation du POC) ; par exemple, l'acide pivalique est responsable de la modification de l'homéostasie de la carnitine,³⁸ tandis que le formaldéhyde est lié à la toxicité néphrétique de ces composés.

3.2 Les prodrogues de type phosphate alkoxyalkyle

L'approche prodrogue de type phosphate alkoxyalkyle a été particulièrement développée par le groupe d'Hostetler.³⁹ Dans ce type de prodrogue, un seul des oxygènes du groupe phosphate ou phosphonate est masqué tandis que le second est laissé libre. Cette classe de prodrogue augmente la biodisponibilité orale et diminue l'accumulation des analogues de nucléosides dans les reins. La libération du nucléoside monophosphate ou phosphonate s'effectue au moyen d'une phosphodiesterase. Cette approche a été largement explorée par la société Chimerix qui a permis à deux prodrogues nucléotidiques du brincidofovir⁴⁰ **31** et CMX-157⁴¹ **32** (Schéma 5), d'accéder à des développements cliniques avancés. Seul le

³⁸ P. J. Thornton, H. Kadri, A. Miccoli, Y. Mehellou, Nucleoside phosphate and phosphonate prodrug clinical candidates. *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 10400–10410.

³⁹ K. Y. Hostetler, Alkoxyalkyl prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates enhance oral antiviral activity and reduce toxicity: current state of the art. *Antiviral Res.* **2009**, 82, 84–98.

⁴⁰ S. L. Ciesla, J. Trahan, W. B. Wan, Esterification of cidofovir with alkoxyalkanols increases oral bioavailability and diminishes drug accumulation in kidney. *Antiviral Res.* **2003**, 59, 163–171.

⁴¹ G. R. Painter, M. R. Almond, L. C. Trost, B. M. Lampert, J. Neyts, E. De Clercq et al. Evaluation of hexadecyloxypropyl-9-R-[2-(phosphonomethoxy)propyl]-adenine, CMX157, as a potential treatment for human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis B virus infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, 51, 3505–3509.

brincidofovir a reçu une autorisation d'utilisation en tant que contre-mesure médicale contre le poxvirus (responsable de la variole – agent de classe A du bioterrorisme).

HDP monoéster prodrogues

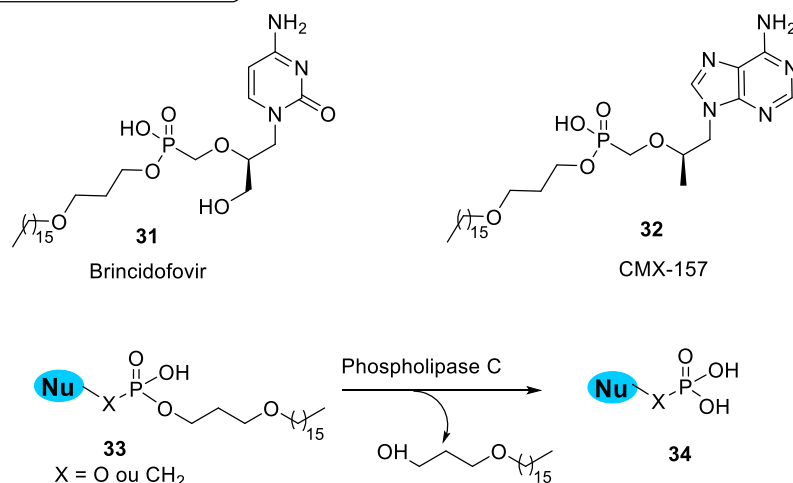


Schéma 5 : Prodrogues de type hexadecyloxypropyl (HDP) et leur métabolisme *in vivo*

- ✓ Le **brincidofovir** (HDP-HPMPC), également appelé CMX001, est une prodrogue de l'antiviral cidofovir de type hexadecyloxypropyl (HDP) phosphonate monoester. Il présente un large spectre d'activité antivirale contre les adénovirus, la variole, le cytomégalovirus, le papillomavirus, le polyomavirus et les orthopoxvirus.⁴² A titre de comparaison, le brincidofovir est 4-8 fois plus actif contre le cytomégalovirus *in vivo* que le cidofovir et possède une biodisponibilité orale de 93 % (le cidofovir a une biodisponibilité orale < 5 %). De plus, le brincidofovir a une accumulation plus faible dans le rein que le cidofovir diminuant la toxicité néphrétique liée au cidofovir.⁴³
- ✓ Le **CMX-157** est une prodrogue du ténofovir de type HDP phosphonate monoester. Ce composé avait été évalué en phase clinique II pour le traitement du HIV et du HBV. Les études précliniques et cliniques ont montré que le CMX-157 était 300 fois plus actif que le ténofovir contre le virus HIV-1.⁴⁴ Cependant, le développement clinique de ce composé a été arrêté.

Ces prodrogues sont clivées *in vivo* par la phospholipase C donnant le nucléoside monophosphate (Schéma 5). La phospholipase C est fréquente dans les tissus des mammifères, mais n'est pas présente dans le plasma ou la section pancréatique, assurant la stabilité de ces prodrogues pendant l'absorption orale et le transport du plasma vers les tissus.⁴⁵ Sous cette

⁴² D. F. Florescu, M. A. Keck, Development of CMX001 (Brincidofovir) for the treatment of serious diseases or conditions caused by DsDNA viruses expert. *Rev. Anti-Infect. Ther.* **2014**, 12, 1171– 1178.

⁴³ D. J. Bidanset, J. R. Beadle, W. B. Wan, K. Y. Hostetler, E. R. Kern, Oral activity of ether lipid ester prodrugs of cidofovir against experimental human cytomegalovirus infection. *J. Inf. Dis.* **2004**, 190, 499-503.

⁴⁴ E. R. Lanier, R. G. Ptak, B. M. Lampert, L. Keilholz, T. Hartman et al. Development of hexadecyloxypropyl tenofovir (CMX157) for treatment of infection caused by wild-type and nucleoside/nucleotide-resistant HIV. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, 54, 2901– 2909.

⁴⁵ F. Pertusati, M. Serpi, C. McGuigan, Medicinal chemistry of nucleoside phosphonate prodrugs for antiviral therapy. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy.* **2012**, 22, 181-203.

forme prodrogue, les médicaments sont facilement absorbés *in vivo* et ont un temps de circulation prolongé dans le plasma. Le métabolite actif a également une longue demi-vie dans les cellules.

3.3 Phosphoramidates et phosphonamidates (ProTides)

3.3.1 la technologie ProTide

La technologie ProTide (PROdrug + nucleoTIDE) est la stratégie prodrogue la plus réussie dans le domaine des nucléosides antiviraux et anticancéreux. Cette approche a été développée par le groupe du professeur Chris McGuigan⁴⁶ dans les années 1990 après un long travail de SAR (Structure-Activity Relationship). L'approche ProTide consiste à masquer les deux charges négatives d'un nucléoside monophosphate en un nucléoside analogue de type phosphoramidate (X = O) ou phosphonoamidate (X = CH₂) portant sur l'atome de phosphore (1) un ester d'acide aminé lié par une liaison P–N au phosphore et (2) un aryloxy, (Figure 8).

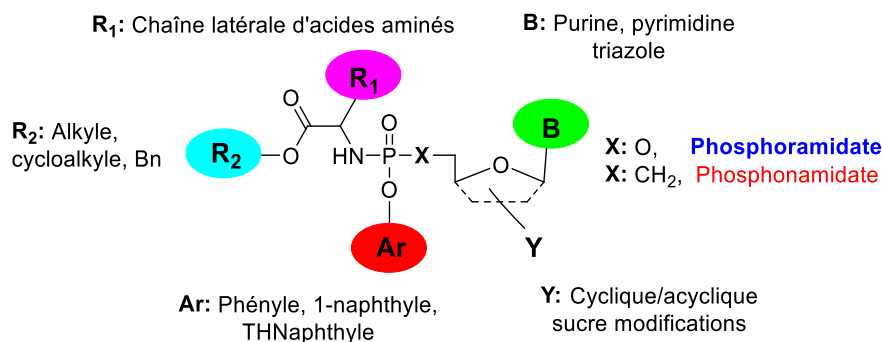


Figure 8 : Structure générale d'une prodrogue ProTide

Par cette technologie ProTide, une grande diversité structurale peut être obtenue en faisant varier : (1) l'acide aminé (R_1) normalement choisi parmi une gamme d'acides aminés naturels et non naturels, bien que généralement la L-alanine se révèle être le meilleur ; (2) la fonction ester (R_2) possédant un groupe alkyle linéaire (méthyle, éthyle, pentyle) ou ramifié (isopropyle, néopentyle) ou benzyle. Le *tert*-butyle est généralement exclu en raison de sa faible bioactivation;⁴⁷ enfin, un phényle et le 1-naphtyle (Ar) sont couramment utilisés comme composants aryle. Le groupe 5,6,7,8-tétrahydronaphtyle est apparu plus récemment comme un groupement valide et efficace.⁴⁸

En 1992, le groupe du professeur Chris McGuigan a étudié l'effet d'aryloxyphosphoramidate **36** porté par l'AZT **35** (Figure 9). Les aryloxyphosphoramidates testés ont montré une activité jusqu'à 300 fois plus importante que le nucléoside seul AZT **35** sur certaines lignées cellulaires,

⁴⁶ C. McGuigan, R. N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq, Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 1048–1052.

⁴⁷ C. McGuigan, P. W. Sutton, D. Cahard *et al.* Synthesis, anti-human immunodeficiency virus activity and esterase lability of some novel carboxylic ester-modified phosphoramidate derivatives of stavudine (d4T). *Antiviral Chem. Chemother.* **1998**, 9, 473–479.

⁴⁸ F. Pertusati, K. Hinsinger, Á. S. Flynn *et al.* PMPA and PMEA prodrugs for the treatment of HIV infections and human papillomavirus (HPV) associated neoplasia and cancer. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 78, 259–268.

témoignée par une augmentation significative de la concentration intracellulaire d'AZT monophosphate. Cela a démontré une pénétration cellulaire plus aisée pour l'AZT-ProTide, qui a un effet cytostatique plus marqué que l'antiviral commercial.^{49,50}

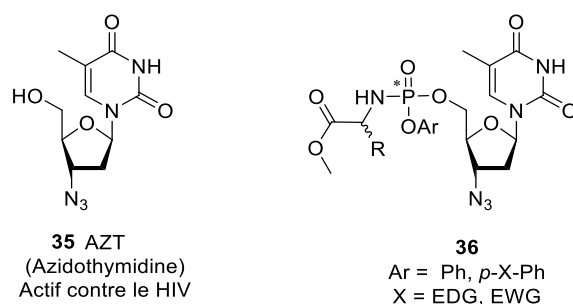


Figure 9 : AZT et ses prodrogues arylamidates

3.3.2 Nucléosides antiviraux basés sur la technologie ProTide

Ces dernières années, cette technologie ProTide a connu un grand succès dans le domaine antiviral avec trois composés commercialisés (Figure 10): le sofosbuvir, le ténofovir alafénamide et le remdésivir.

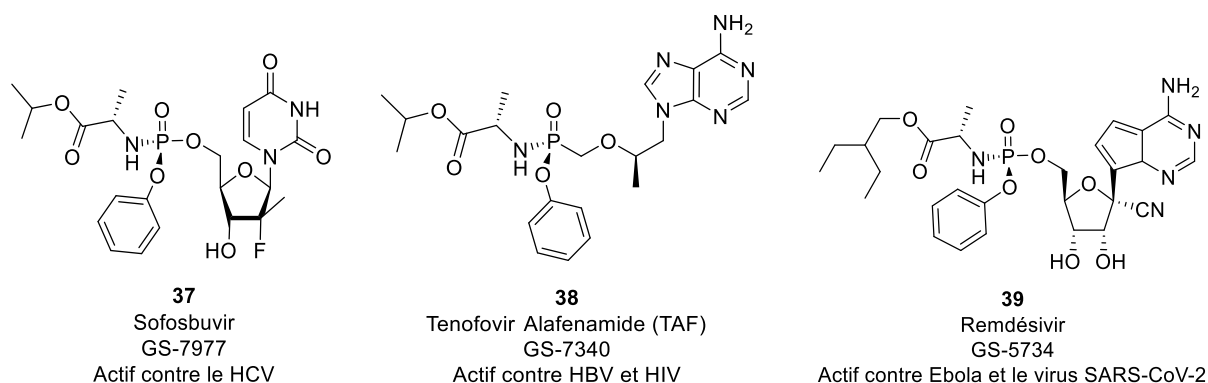


Figure 10 : Phosphor(n)amidates antiviraux approuvés par la FDA

- Le **Sofosbuvir** (Sovaldi®, GS-7977) **37** a été approuvé par la FDA en 2013 pour le traitement du HCV chronique. Il représente ainsi le premier inhibiteur de type phosphoramidate visant l'inhibition de la polymérase virale du HCV, la NS5B ARN polymérase. Le sofosbuvir a été initialement synthétisé sous forme d'un mélange 1:1 de diastéréoisomères (GS-7171), mais il a ensuite été développé cliniquement en tant qu'isomère unique avec la stéréochimie *S_p* au niveau de l'atome de phosphore, parce que cet isomère est 10 fois plus actif contre le HIV et 18 fois plus actif contre le HCV par rapport à l'isomère *R_p*.⁵¹

⁴⁹ C. McGuigan, R. N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq, Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 1048–1052.

⁵⁰ C. McGuigan, R. N. Pathirana, N. Mahmood, K. G. Devine, A. J. Hay, Aryl phosphate derivatives of AZT retain activity against HIV1 in cell lines which are resistant to the action of AZT. *Antiviral Res.* **1992**, 17, 311–321.

⁵¹ M. J. Sofia, B. Donghui, C. Wonsuk, D. Jinfu, N. Dhanapalan *et al.* Discovery of a β-D-2'-Deoxy-2'-r-fluoro-2'-β-C-methyluridine nucleotide prodrug (PSI-7977) for the treatment of hepatitis C virus. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 19, 7202–7218.

- Le **Ténofovir alafénamide fumarate** (TAF, Vemlidy®) **38** a été approuvé par la FDA en 2015 pour le traitement du HIV et plus tard en 2016 pour les infections au HBV. Encore une fois, le diastéréoisomère S_p est plus actif que le diastéréoisomère R_p , ce qui suggère que le métabolisme intracellulaire est sensible à la stéréochimie au niveau du phosphore. Les principales propriétés qui ont fait le succès du TAF sont sa stabilité dans les matrices biologiques, y compris le plasma, et son clivage intracellulaire sélectif. Le TAF est 1000 fois plus actif que le ténofovir et 10 fois plus actif que le ténofovir disoproxil.^{52,53}
- Le **Remdésivir** (GS-5734) **39** est un dérivé monophosphate d'un nucléoside analogue de l'adénine. Il a été développé initialement contre le virus Ebola.⁵⁴ Il a par la suite montré une activité antivirale également contre le virus SARS-CoV-2 et a été autorisé en juin 2020 aux Etats-Unis et en juillet 2020 en Europe sous le nom de Veklury. Il diminue le temps de rétablissement de 15 jours à 11 jours diminue la mortalité de 11,9 % à 7,1% !⁵⁵

3.3.3 Métabolisme des phosphor(n)amidate ProTides

Après pénétration cellulaire, les groupements biolabiles du phosphoramidate (ou phosphonoamidae) sont clivés en deux étapes enzymatiques ce qui libère l'analogue nucléosidique monophosphate ou monophosphonate (Schéma 6).⁵⁶

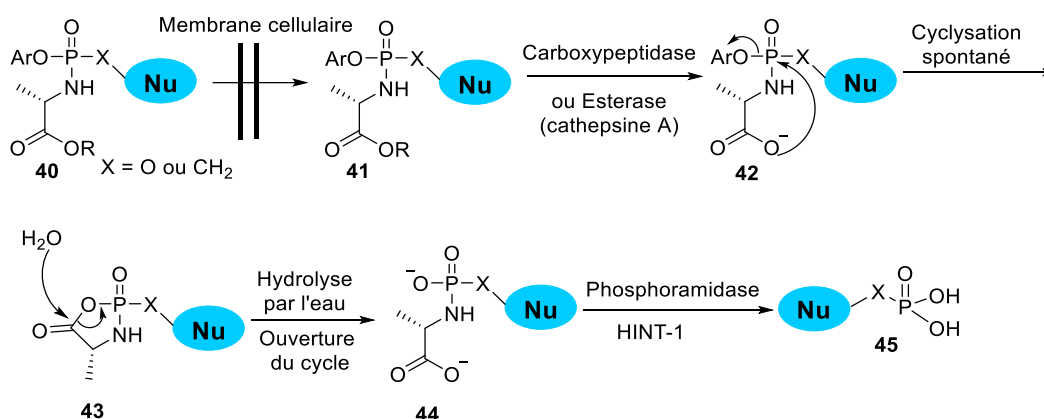


Schéma 6 : Mécanisme proposé pour le métabolisme des aryloxyphosphor(n)amidates

Dans la première étape, le motif ester de l'acide aminé est hydrolysé par des carboxypeptidases (CPA) ou par une estérase (la cathepsin A ou la carboxylestérase 1

⁵² W. A. Lee, G. X. He, E. Eisenberg, T. Cihlar, S. Swaminathan, A. Mulato, K. C. Cundy, Selective intracellular activation of a novel prodrug of the human immunodeficiency virus reverse transcriptase inhibitor tenofovir leads to preferential distribution and accumulation in lymphatic tissue. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, 49, 1898–906.

⁵³ E. J. Eisenberg, G. X. He, W. A. Lee, Metabolism of GS-7340, a novel phenyl monophosphoramidate intracellular prodrug of PMPA, in blood. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, **2001**, 20, 1091–1098.

⁵⁴ D. Siegel, H. C. Hui, E. Doerffler *et al.* Discovery and synthesis of a phosphoramidate prodrug of a pyrrolo[2,1-f][triazin-4-amino] adenine C-nucleoside (GS-5734) for the treatment of ebola and emerging viruses. *J. Med. Chem.* **2017**, 60, 1648–1661.

⁵⁵ R. T. Eastman, J. S. Roth, K. R. Brimacombe, A. Simeonov, M. Shen *et al.* Remdesivir: A review of its discovery and development leading to emergency use authorization for treatment of COVID-19. *ACS Central Science*, **2020**.

⁵⁶ P. J. Thornton, H. Kadri, A. Miccoli, Y. Mehellou, Nucleoside phosphate and phosphonate prodrug clinical candidates. *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 10400–10410.

(CES1)).⁵⁷ Le carboxylate **42** généré effectue une attaque nucléophile (S_Ni) sur le P avec départ du motif aryle, produisant un cycle instable à cinq chaînons **43**. La vitesse de l'attaque nucléophile du carboxylate sur le groupement phosphate ou phosphonate varie en fonction du nucléoside. L'hétérocycle **43** est clivé par hydrolyse et génère le métabolite phosphoramidate **44**. Enfin, la liaison P-N de **44** est hydrolysée par des enzymes de type phosphodiesterase ou phosphoramidase (histidine triad nucléotide-binding protein 1, HINT-1)⁵⁸, ce qui libère l'analogue du nucléoside monophosphate ou monophosphonate **45**.⁵⁹

4. Les acyclonucléosides phosphonates (ANPs)

4.1 Découverte des ANPs

Les acyclonucléosides phosphonates (ANPs) ont initialement été synthétisés par le groupe de Antonin Holý (Institute of Organic Chemistry and Biochemistry – Prague) et leur activité antivirale évaluée par celui de Erik De Clercq (Rega Institute for Medical Research – Leuven) dans les années 1980.⁶⁰ Les ANPs sont constitués d'une nucléobase attachée à une chaîne comportant un éther oxyde et un groupement phosphonate [liaison (HO)₂P(O)-CH₂-]. Ainsi les ANPs qui contiennent ce groupement phosphonate à la place du groupement phosphate [(HO)₂P(O)-O-], sont plus stables à l'hydrolyse et aux hydrolyses enzymatiques (phosphodiesterase et phosphatase) que leurs analogues monophosphates. L'absence de liaison N-glycosidique dans la structure des ANPs augmente encore leur résistance à la dégradation chimique et biologique. Ils n'ont besoin que de deux, au lieu de trois, étapes de phosphorylation pour atteindre le métabolite actif. De plus, les ANPs contournent la première phosphorylation limitante. Parmi les 90 médicaments antiviraux approuvés, 10 médicaments (ou combinaison de médicaments) sont les ANPs (Tableau 1).

- ✓ En 1986, le **(S)-HPMPA** [(S)-9-(3-hydroxy-2-(phosphonométhoxy) propyl) adénine, **47**] a été synthétisé à partir de l'analogue nucléosidique acyclique **(S)-DHPA** [(S)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adénine, **46**] en ajoutant le groupement phosphonométhyle (Schéma 1). Considéré comme le prototype des ANPs, le (S)-HPMPA possède un très large spectre d'activité antivirale contre les virus à ADN dont l'herpès, la variole ainsi que contre les rétrovirus.
- ✓ Le **cidofovir (S)-HPMPC** ((S)-HPMPC ((S)-9-[3-hydroxy-(2-phosphonométhoxy) propyl] cytosine, **48**), analogue du HPMPA possède une cytosine comme nucléobase à la place de l'adénine, et est commercialisé sous le nom de Vistide®.⁶¹ Synthétisé pour la première fois en 1987, il est actif sur un grand nombre de virus à ADN (papova-, adeno-,

⁵⁷ Y. Mehellou, H. S. Rattan, J. Balzarini, The ProTide prodrug technology: from the concept to the clinic. *J. Med. Chem.* **2018**, 61, 2211-2226.

⁵⁸ C. Brenner, C. Hint, F. Galt, Function, structure, evolution and mechanism of three branches of the histidine triad superfamily of nucleotide hydrolases and transferases. *Biochemistry*, **2002**, 41, 9003– 9014.

⁵⁹ D. Saboulard, L. Naesens, D. Cahard, A. Salgado, R. Pathirana, S. Velazquez, C. McGuigan, E. De Clercq *et al.* Characterization of the activation pathway of phosphoramidate triester prodrugs of stavudine and zidovudine. *Mol. Pharmacol.* **1999**, 56, 693– 704.

⁶⁰ E. De Clercq, A. Holý, I. Rosenberg, T. Sakuma, J. Balzarini, P. C. Maudgal, A novel selective broad-spectrum anti-DNA virus agent. *Nature*, **1986**, 323, 464 – 467.

⁶¹ E. De Clercq, The discovery of antiviral agents: Ten different compounds, ten different stories. *Med. Res. Rev.* **2008**, 28, 929–953.

herpes-, poxvirus, ainsi que sur les virus d'Epstein Barr). De manière générale, le cidofovir est prescrit lors des infections aux CMV chez les immunodéprimés ainsi que dans le traitement des papillomavirus.⁶²

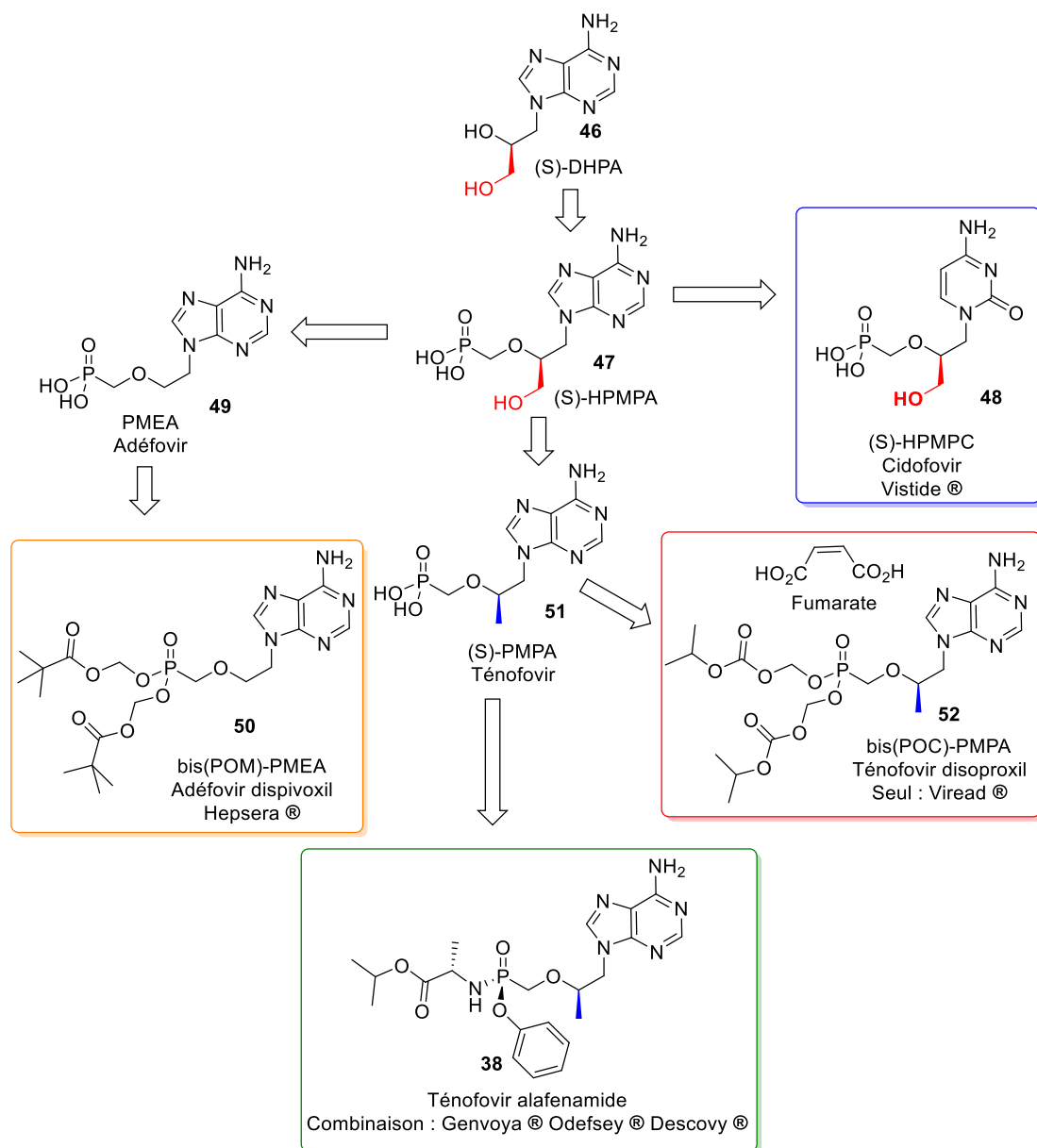


Schéma 7 : Genèse des ANPs développés (encadré : produits commercialisés)⁶³

- ✓ **L'adéfovir PMEA** [9-(2-(phosphonométhoxy) éthyl) adénine, **49**] possède comme nucléobase l'adénine et diffère du cidofovir par son absence d'hydroxyméthyle, rendant cette molécule achirale. Il possède un spectre d'activité similaire au cidofovir

⁶² E. De Clercq, Yet another ten stories on antiviral drug discovery (part D): Paradigms, paradoxes, and paraductions. *Med. Res. Rev.* **2009**, 30.

⁶³ E. De Clercq, The acyclic nucleoside phosphonates from inception to clinical use: Historical perspective. *Antiviral Research*, **2007**, 75, 1–13.

notamment sur les virus de l'herpès. Le PMEA est également actif sur les hepnavirus (hépatite B) ainsi que sur les rétrovirus (HIV). Sous forme prodrogue de type bis (pivaloyloxyméthyle), le *bis*(POM)PMEA (**50**), ou adéfovir dispivoxil, a été approuvé par la FDA en 2002 pour le traitement de l'hépatite B chronique sous le nom commercial de Hepsera®.⁶⁴

- ✓ **Le ténofovir PMPA** ((R)-9-[2- (phosphonométhoxy) propyl] adénine, **51**) a été décrit en 1993.⁶⁵ Le PMPA se différencie de son analogue PMEA par un groupement méthyle en position 2', instaurant une chiralité. Comme l'adéfovir, le ténofovir n'est pas suffisamment biodisponible. Ainsi, il est commercialisé sous une forme prodrogue de type *bis*(isopropylloxyméthyle carbonate); le *bis*(POC)PMPA, **52**, (ténofovir disoproxil) qui a été approuvé en 2001 pour le traitement des infections à HIV et en 2008 pour le traitement du HBV sous le nom de Viread®. Une autre prodrogue du PMPA, le **ténofovir alafenamide (38)** a été développé sous forme phosphoramidate et approuvé par la FDA en 2015 pour le traitement du HIV et plus tard en 2016 pour les infections par le HBV.

Tableau 1 : Résumé des ANPs en clinique

Groupe	Nom du médicament	Abréviation	Nom commercial	Virus ciblé	Mécanisme d'action	Année approuvée
Acyclo-nucléosides phosphonates	Cidofovir	CDV	Visitide	HCMV	Inhibe l'activité de l'ADN polymérase du HCMV	1996
	Ténofovir disoproxil fumarate	TDF	Viread	HIV, HBV	Concurrence avec le dATP pour inhiber l'activité de la RT du HIV et de l'ADN polymérase du HBV	2001
	Adéfovir dipivoxil	ADV	Hepsera	HBV	L'adéfovir diphosphate entre en compétition avec le dATP pour inhiber l'activité de l'ADN polymérase du HBV	2002
	Ténofovir disoproxil fumarate + emtricitabine	TDF+(-)FTC	Truvada	HIV	Inhiber la réplication du HIV	2004
	ténofovir disoproxil fumarate + éfavirenz + emtricitabine	TDF+EFV+ (-)FTC	Atripla	HIV	Inhiber la réplication du HIV	2006
	Ténofovir disoproxil fumarate+ (-)FTC	TDF+RPV+ (-)FTC	Complera, Eviplera	HIV	Inhiber la réplication du HIV	2011

⁶⁴ S. J. Hadziyannis, N. C. Tassopoulos, E. J. Heathcote, C. L. Brosgart *et al.* Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B antigen-negative chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* **2003**, 348, 800-807.

⁶⁵ J. Balzarini, A. Holý, J. Jindrich, L. Naesens, R. Snoeck, D. Schols, E. De Clercq, Differential antiherpesvirus and antiretrovirus effects of the (S) and (R) enantiomers of acyclic nucleoside phosphonates: potent and selective *in vitro* and *in vivo* antiretrovirus activities of (R)-9-(2-phosphonomethoxypropyl)-2, 6-diaminopurine. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, 37, 332-338.

	rilpivirine + emtricitabine					
	Ténofovir disoproxil fumarete + cobicistat + emtricitabine + elvitégravir	TDF+COBI+ (-)FTC+EVG	Stribild	HIV	Inhiber la réplication du HIV	2012
	Ténofovir alafénamide + cobicistat + emtricitabine + elvitégravir	TAF+COBI+ (-)FTC+EVG	Genvoya	HIV	Inhiber la réplication du HIV	2015
	Ténofovir alafénamide + rilpivirine + emtricitabine	TAF+RPV+ (-)FTC	Odefsey	HIV	Inhiber la réplication du HIV	2016
	Ténofovir alafénamide + emtricitabine	TAF+(-)FTC	Descovy	HIV	Inhiber la réplication du HIV	2016

4.2 ANPs portant une nucléobase de type O-diaminopyrimidine

En 2002, Holý et al.⁶⁶ ont rapporté la synthèse et l'activité antivirale d'une nouvelle classe d'acyclo nucléosides phosphonates, la famille des 6-[2-(phosphonométhoxy) alkoxy] pyrimidines, où la nucléobase est une pyrimidine, préférentiellement la 2,4-diaminopyrimidine (DAPY), liée à la chaîne latérale phosphonate aliphatique par une fonction éther en position C⁶ du cycle pyrimidine (Schéma 8). De part leur structure chimique, les analogues DAPYs peuvent être vus comme des mimes de purine.⁶⁷ On peut citer comme exemple de cette famille, la 2,4-diamino-6-[2-(phosphonométhoxy)éthoxy]pyrimidine (PMEO-DAPY) (**56**), 2,4-diamino-6-(R)-[2-(phosphonométhoxy)propoxy]pyrimidine [(R)-PMPO-DAPY] (**57**) et 2,4-diamino-6-(R)-[3-hydroxy-2-(phosphonométhoxy)propoxy]pyrimidine [HPMPO-DAPY] (**58**) ; ces composés possèdent un fort potentiel antiviral sur une large variété de virus à ADN (HSV-1, HSV-2, VZV...) et sur des rétrovirus (HIV-1, HIV-2).^{68,69} En effet, tout comme le HPMPO et le HPMPC (cidofovir), le HPMPO-DAPY **58** est très actif sur les papilloma-, adéno-, -herpès-, et poxvirus tandis le PMEO-DAPY **56** et le PMPO-DAPY **57** maintiennent une forte activité contre les rétrovirus (HIV) et hepnavirus (HBV). De plus,

⁶⁶ A. Holý, I. Votruba, A. G. Masojdková, R. Snoeck, L. Neasens et al. 6-[2-(Phosphonomethoxy)alkoxy]pyrimidines with antiviral activity. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 1918-1929.

⁶⁷ E. De Clercq, The clinical potential of the acyclic (and cyclic) nucleoside phosphonates: the magic of the phosphonate bond. *Biochem. Pharmacol.* **2011**, 82, 99-109.

⁶⁸ J. Balzarini, C. Pannecouque, E. De Clercq, S. Aquaro, C. F. Perno, A. Holy, Antiretrovirus activity of a novel class of acyclic pyrimidine nucleoside phosphonates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, 46, 2185-2193.

⁶⁹ E. De Clercq, G. Andrei, J. Balzarini, P. Leyssen, L. Naesens et al. Antiviral potential of a new generation of acyclic nucleoside phosphonates, the 6-[2-(phosphonomethoxy)alkoxy]-2,4- diaminopyrimidines. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids*, **2005**, 24, 331-341.

d'autres dérivés du PMEO-DAPY substitués en position 5 possèdent des activités antivirales significatives sur les rétrovirus.⁷⁰

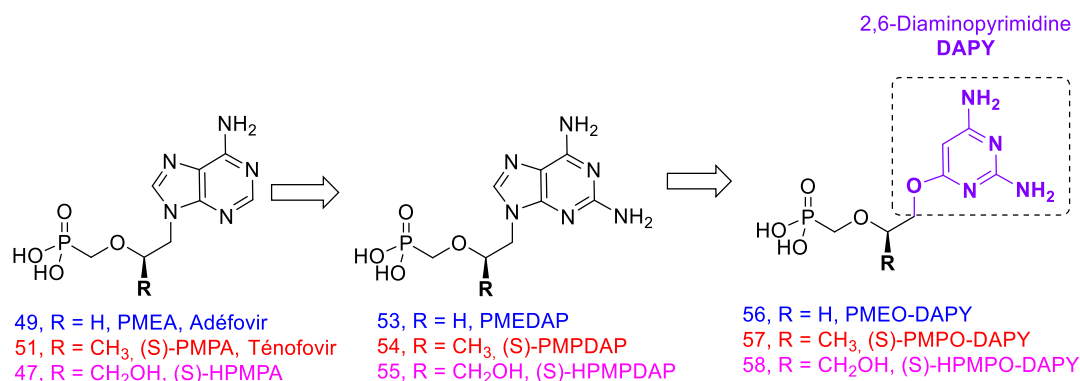


Schéma 8 : Analogues DiaminoPyrimidines (DAPYs)

4.3 Les ANPs de squelette oléfinique, une nouvelle famille

Face au succès de l'adéfovir et du ténofovir en thérapie antivirale, de nombreux analogues ont été synthétisés et leurs activités biologiques (activité et toxicité) mesurées. Des diverses modifications possibles, les ANPs possédant une chaîne alkyle insaturée entre la nucléobase et le P n'avaient été que très peu travaillés. Les premiers exemples de tels analogues datent de 1992 par les travaux de Zemlicka et al.⁷¹ qui mentionne une réaction de type Michaelis-Becker anormale en présence de système insaturé ; cependant aucune activité biologique n'est mentionnée. En 1993, Harden et al.⁷² décrivait la synthèse d'une série de phosphonoalcène et (phosphonoalcényl)oxy dérivés de purines et pyrimidines (type vinyl phosphonate) dont certains composés possédaient des activités antivirales faibles sur des virus à ADN et une très forte toxicité cellulaire tandis qu'en 1998, Lazrek et al.⁷³ proposait des ANPs de type vinylphosphonates (Z et E) dépourvus d'activité antivirale. Tous ces composés étaient sous forme acide phosphonique libre.

La conception d'ANPs oléfiniques est basée sur le remplacement de l'éther que l'on trouve dans les ANPs type Adéfovir ou Ténofovir, par un méthylène CH₂ isostère où : la longueur de liaison C-O (1,43 Å) est voisine de celle de la liaison C-CH₂ (1,54 Å), l'angle C-X-C est maintenu (111°, X = O) et 109,5° (X = CH₂). Par contre, il existe des différences au niveau du logP de 3.39 (pour X = CH₂) contre 0.77 (X = O), de la contribution au volume de Van der Waals (cm³/vol) de 10.2 (pour X = CH₂) contre 3.7 (X = O). Le passage d'une fonction C-O-C à C-CH₂-C puis à un alcène C-CH=CH conduit à un bioisostère « non classique », mais qui a été validée dans la

⁷⁰ D. Hockova, A. Holy, M. Masojdkova, G. Andrei, R. Snoeck, E. De Clercq, J. Balzarini, 5-Substituted-2,4-diamino-6-[2-(phosphonomethoxy)ethoxy]pyrimidines-Acyclic nucleoside phosphonate analogues with antiviral activity. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 5064–5073.

⁷¹ S. Megati, S. Phadtare, J. Zemlicka, Unsaturated phosphonates as acyclic nucleotide analogues. Anomalous Michaelis-Arbuzov and Michaelis-Becker reactions with multiple bond systems. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 2320-2327.

⁷² M. R. Harden, A. P. Arkin, M. J. Parratt, R. M. Perkins. Novel acyclonucleotides: synthesis and antiviral activity of alkenyl phosphonic acid derivatives of purines and a pyrimidine. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 1343-1355.

⁷³ H. B. Lazrek, A. Rochdi, H. Khaider, J.-L. Barascut, J.-L. Imbach, J. Balzarini, M. Witvrouw, C. Pannecouque, E. De Clercq, Synthesis of (Z) and (E) α-alkenylphosphonic acid derivatives of purines and pyrimidines. *Tetrahedron* **1998**, 54, 3807-3816.

littérature. Notre équipe a décrit depuis plus d'une dizaine d'années la synthèse d'ANPs possédant un squelette oléfinique, de formule générale **60** (Figure 11).

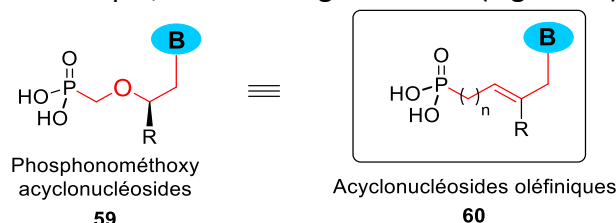


Figure 11 : ANPs de type oléfinique

Dans un premier temps, nous avons étudié l'influence de la longueur de chaîne acyclique et de la stéréochimie au niveau de l'acène sur les propriétés antivirales et sur leur capacité d'être phosphorylés au moyen de la hTMPK (*thymidine monophosphate kinase* humaine) qui phosphoryle les ANPs (Figure 12). Les tests enzymatiques ont montré que la chaîne but-2-ényle est le meilleur substrat pour l'enzyme hTMPK et que l'isomère *E* présente la meilleure affinité avec cette enzyme que l'isomère *Z*.⁷⁴

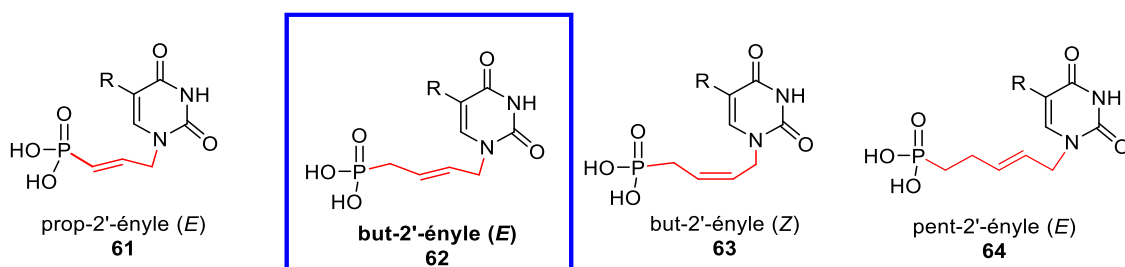


Figure 12 : ANPs oléfiniques développés par notre équipe

Le composé *lead* **62** a été co-cristallisé au sein du site accepteur de la hTMPK (équipe du Dr. Meyer, LEBS), et comparé avec les données connues de son analogue naturel, la thymidine monophosphate (TMP). Les deux structures présentent une très bonne superposition au sein de l'enzyme, ce qui a montré que le squelette (*E*)-4'-phosphono-but-2'-en-1-yle est un bon mime de la liaison C1'-O-C4'-C5' de la thymidine monophosphate et la chaîne *trans* but-2'-ényle est la mieux reconnue par l'enzyme hTMPK (Figure 13). Ces données cristallographiques sont en accord avec les résultats précédents.

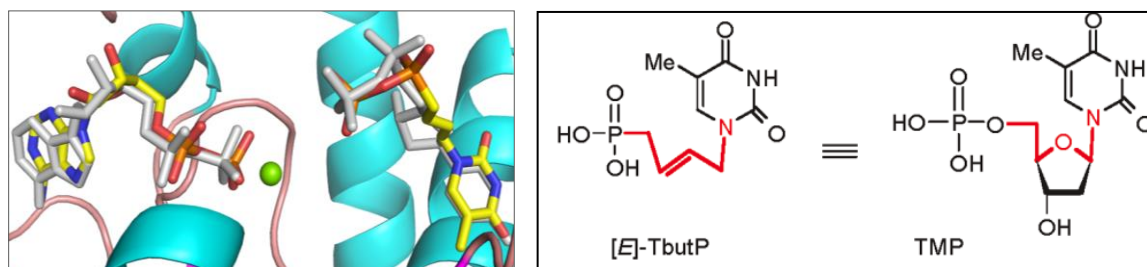


Figure 13 : Analogie structurale de la série *trans* but-2'-ényle avec la TMP

⁷⁴ D. Topalis, U. Pradère, V. Roy, C. Caillat, A. Azzouzi, J. Broggi *et al.* Novel antiviral C5-substituted pyrimidine acyclic nucleoside phosphonates selected as human thymidylate kinase substrates. *J. Med. Chem.* **2010**, 54, 222-232.

Au cours de ces dernières années, notre équipe a ainsi développé une nouvelle famille d'ANPs de type *trans* but-2'-ényle sur la base d'une approche convergente utilisant comme étape clef une métathèse croisée d'oléfines (CM). Nous avons décrit plus de 200 dérivés tous testés sur des différents virus à ADN et ARN. Parmi eux, plusieurs composés ont présenté des activités antivirales puissantes avec des EC₅₀ de l'ordre du µM, (Figure 14).

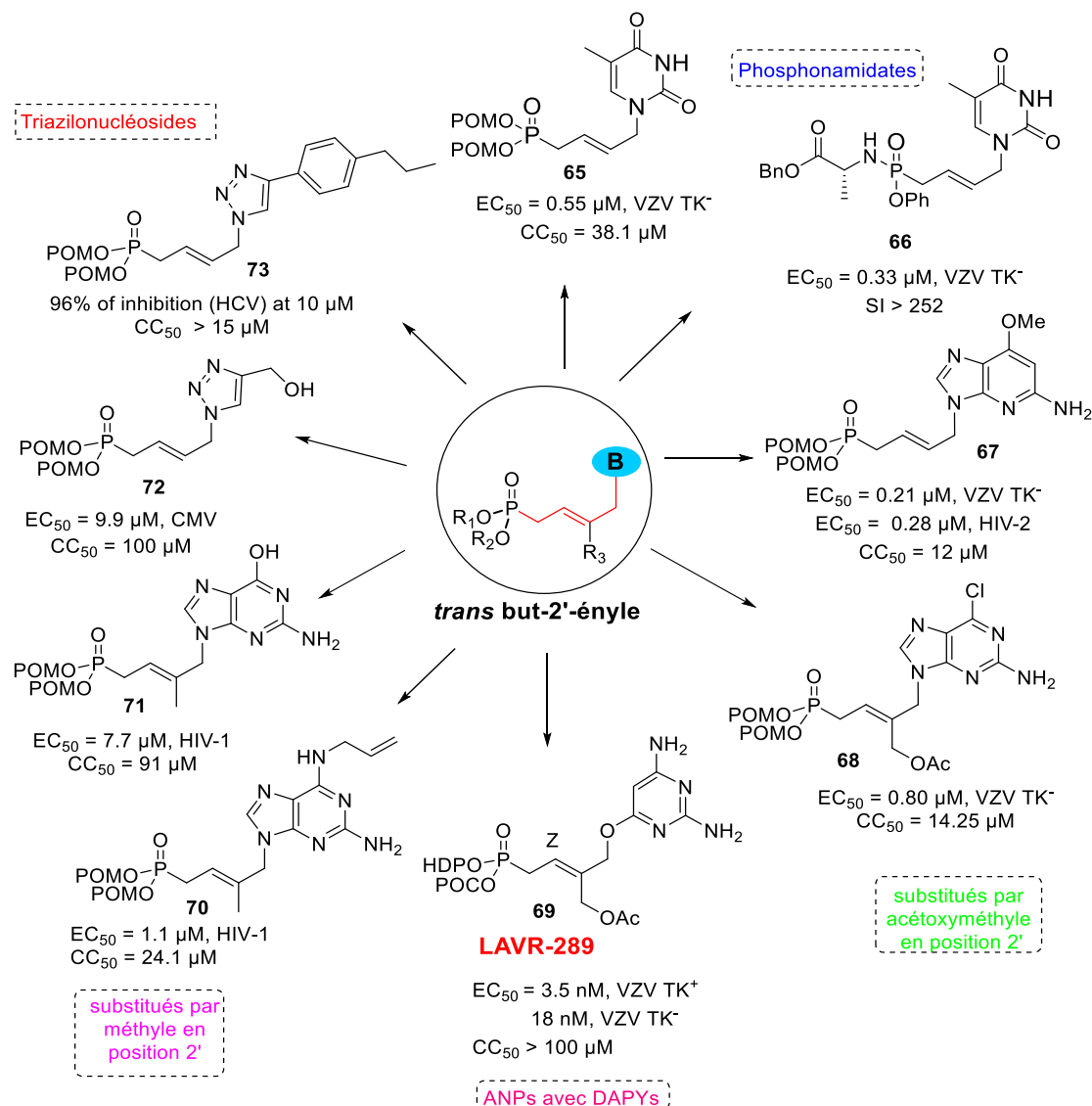


Figure 14 : Représentation des différentes molécules synthétisées au sein de notre équipe

Parmi ces composés, l'analogue **69 (LAVR-289)** possède des activités antivirales remarquables de l'ordre du nanomolaire sur de nombreux virus à ADN, sans toxicité apparente sur les premières études *in vivo*. Ce composé est la plus active à ce jour parmi les ANPs synthétisé au sein de notre laboratoire et pourrait-être un « best in class » ou « first in class » pour de nombreux virus à ADN.

5. Pourquoi avons-nous besoin de nouveaux médicaments antiviraux ?

Le développement de nouveaux médicaments contre les infections virales est lié à l'émergence de nouveaux virus comme le virus SARS-CoV-2, le virus de la grippe A (H1N1), celui de la Dengue ou de ZIKA; entre 1972 et 2015, plus de 50 nouveaux virus ont été identifiés comme agents pathogéniques de maladies humaines.^{75,76} Ces virus sont responsables de 25 % des maladies infectieuses émergentes humaines,⁷⁷ et ils constituent une menace majeure pour la santé humaine. Les exemples les plus connus sont la pandémie actuelle du Covid-19 ou celle de la grippe dite espagnole de 1918 qui fit d'après l'Institut Pasteur environ 30 à 40 millions de morts. La plupart des virus émergents chez l'homme sont zoonotiques et circulent d'abord naturellement dans un réservoir animal avant de l'infecter.

La résistance (génotypique et phénotypique) aux antiviraux constitue un problème majeur en thérapie antivirale. Dans les cas de résistance aux antiviraux, les médicaments ont une efficacité réduite ou nulle contre leur virus cible. C'est un problème inévitablement dans la thérapie antivirale qui touche tous les antiviraux.⁷⁸ Le changement de la constitution génétique des virus peut amener un virus à devenir résistant aux traitements disponibles.⁷⁹ Les mécanismes de la résistance aux antiviraux dépendent du type de virus. Les virus à ARN tels que l'hépatite C et la grippe A ont des hautes possibilités d'erreur lors de la réplication du génome car les ARN polymérases manquent d'activité de relecture. Les virus à ARN ont également de petites tailles de génome qui sont généralement inférieures à 30 kb, ce qui leur permet de maintenir une haute fréquence de mutations. Les virus à ADN, tels que le HPV et l'herpès, détournent les machines de réplication des cellules hôtes, ce qui leur donne des capacités de relecture pendant la réplication. Les virus à ADN sont donc moins sujets aux erreurs et évoluent plus lentement que les virus à ARN.⁸⁰ Par conséquent, les virus à ARN ont plus de chances de résister aux antiviraux que les virus à ADN. La méthode la plus couramment utilisée pour résoudre ce problème est la thérapie combinée, qui utilise plusieurs antiviraux en même temps chez les patients infectés. Cela diminue la probabilité qu'une mutation puisse provoquer une résistance aux antiviraux, car les antiviraux combinés ciblent différentes étapes du cycle de vie viral. Ceci est fréquemment utilisé dans les rétrovirus comme le HIV, mais également efficace contre la grippe A.⁸¹

⁷⁵ R. Barrett, C. W. Kuzawa, T. McDade, G. J. Armelagos, Emerging and re-emerging infectious diseases: the third epidemiologic transition. *Annual review of anthropology*, **1998**, 27, 247-271.

⁷⁶ O. L. Bryan-Marrugoa, J. Ramos-Jiménez, H. Barrera-Saldaña, A. Rojas-Martínez, R. Vidaltamayoc, A. M. Rivas-Estilla, History and progress of antiviral drugs: from acyclovir to direct-acting antiviral agents (DAAs) for Hepatitis C. *Medicina Universitaria*, **2015**, 17, 165–174.

⁷⁷ K. E. Jones, N. G. Patel, M. A. Levy, A. Storeygard, D. Balk, J. L. Gittleman, P. Daszak, Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, **2008**, 451, 990–3.

⁷⁸ M. García-Serradilla, C. Risco, B. Pacheco, Drug repurposing for new, efficient, broad spectrum antivirals. *Virus Res.* **2019**, 15, 264, 22-31.

⁷⁹ S. Mason, J. P. Devincenzo, S. Toovey, J. Z. Wu, R. J. Whitley, Comparison of antiviral resistance across acute and chronic viral infections. *Antiviral Res.* **2018**, 158, 103-112.

⁸⁰ H. Lodish, A. Berk, S. L. Zipursky et al. Viruses: Structure, function, and uses. *Molecular Cell Biology*. 4th edition, **2000**, Section 6.3.

⁸¹ A. Moscona, Global transmission of oseltamivir-resistant influenza. *N. Engl. J. Med.* **2009**, 5, 360, 953-956.

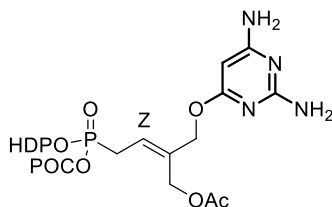
Pour toutes ces raisons, nous avons un besoin urgent de nouveaux médicaments antiviraux et il est nécessaire de trouver des nouvelles stratégies de synthèse de médicaments antiviraux. La pandémie de Covid-19 actuelle a également souligné l'urgence de développer de nouveaux médicaments antiviraux puisqu'aucun des antiviraux connus n'est actif contre ce nouveau virus. Ainsi, la conception et la synthèse de nouveaux antiviraux reste toujours d'actualité.

Chapitre II. « OBJECTIFS DE LA THESE »

Les travaux développés au cours de cette thèse sont présentés en deux grandes parties. La partie **A** est dédiée à la synthèse de nouveaux ANPs visant une activité antivirale tandis que la partie **B** concerne la préparation de dérivés de 1-C-arylglycosides précurseurs de nouveaux iminosucres et glucosamines, par le couplage croisé de Migita-Kosugi-Stille.

Partie **A** : Génération de nouveaux ANPs oléfiniques

A-1) Les précédents travaux du laboratoire ont montré que le **LAVR-289** est la molécule la plus active avec des IC_{50} de l'ordre du nanomolaire sur de nombreux virus à ADN. Ce composé a été synthétisé dans notre laboratoire à l'échelle du milligramme avec un rendement global de 2%. Cependant, il est nécessaire de synthétiser cette molécule à l'échelle de plusieurs grammes pour effectuer des études précliniques. Ainsi, notre premier objectif a été de mener un « changement d'échelle » ou « scale-up » permettant d'obtenir ce produit à l'échelle du gramme, de manière reproductible, avec de bons rendements.



LAVR-289

Figure 15 : Synthèse à l'échelle du gramme du **LAVR-289**

Dans un deuxième temps, sur la base du squelette du LAVR-289, nous avons conçu de nouveaux analogues de ce composé, par des modifications sur la base diaminopyrimidine, par des substitutions sur la chaîne insaturée mais aussi par de nouvelles prodrogues biolabiles, Figure 16.

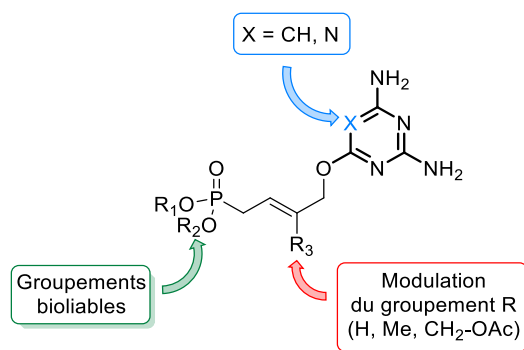


Figure 16 : Nouveaux analogues du **LAVR-289**.

A-2) Nous avons aussi décrit de nouveaux ANPs portant des nucléobases puriques et des 1,2,3-triazoles, avec la chaîne (*E*)-but-2'-ényle sous forme prodrogue de type *bis*(POC), HDP/POC et phosphonamidate (Figure 17). Nous avons développé une méthode efficace et convergente

basée sur deux réactions clefs : la métathèse croisée d'oléfines et la réaction de Mitsunobu pour les ANPs possédant une base purique ou la réaction de cycloaddition de type CuAAC pour les triazolonucléosides.

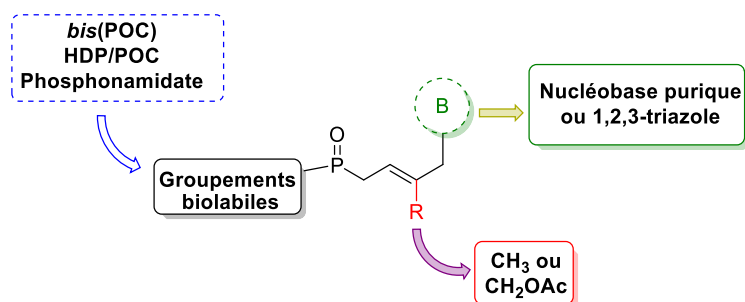


Figure 17 : Nouveaux prodrogues des triazolonucléosides

L'activité antivirale des ANPs synthétisés tout au long de ce travail de thèse a été mesurée sur divers virus à ADN/ARN en collaboration avec l'équipe du Prof. C Gaudy-Graffin, Prof. D. Brand et du Dr Julien Marlet (MAVIVH – INSERM U1259) de l'université de Tours et celle du Prof. RF Schinazi à Emory University (Atlanta, USA).

Partie B : Exploration de la réaction de Migita-Kosugi-Stille à des iminosucres

Dans la deuxième partie, nous avons étudié le « scope » de couplages croisés de Migita-Kosugi-Stille entre des iminosucres stannylés non-cycliques **74** et une petite diversité de chlorures d'aryle diversement substitués **75** (Schéma 9).



Schéma 9 : Scope de la C-glycosylation avec les chlorures d'aryle

Pour finir, une importance particulière sera donnée à la préparation de glycomimétiques en série iminosucre et sucre-C-glycosidiques de dérivés de glycosamines. Pour ce faire, après obtention des iminoalditols **77**, une stratégie de réduction de la cétone générée suivie d'une méthylation et cyclisation ou alkylation par une amine pourra conduire, respectivement, aux cibles **78** et **79**.

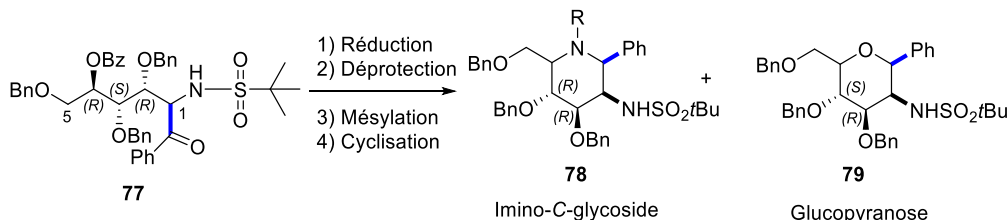


Schéma 10 : Préparation d'analogues de glycosamines en Série (imino)sucres

Chapitre III. « PARTIE A : GENERATION DE NOUVEAUX ANPs OLEFINIQUES »

A-1) Nouvelle génération d'ANPs de type 6-[4-dialkoxyphosphoryl-but-2-énoxy]pyrimidine-2,4-diamine

1. Introduction

Comme mentionné ci-dessus, parmi les prodrogues utilisées dans la chimie des analogues de nucléosides, les chaînes lipophiles de type alkoxyalkyle développées par Hostetler *et al.*⁸² possèdent un potentiel thérapeutique particulièrement très intéressant tout comme celles de type *bis*(pivaloyloxyméthyle)ester [*bis*(POM)] et disopropylloxycarbonyloxyméthyle ester [*bis*(POC)] que l'on retrouve respectivement sur le PMEPA (Hepsera – FDA 2002 contre HBV) et PMPA (Viread – FDA 2001 contre HIV), en dépit de la toxicité liée à la libération de produits secondaires (formaldéhyde,...) lors de la dégradation de la partie biolabile.

Notre équipe a décrit pour la première fois la synthèse d'une prodrogue biolabile mixte de type HDP/POC.⁸³ Dans notre volonté de continuer à explorer cette nouvelle famille d'ANPs oléfiniques et sur la base de l'Etat de l'Art, nous avons généré de nouveaux analogues, possédant un squelette de type phosphonobut-2-ényle, liés par un O en position 6 à une pyrimidine-2,4-diamine.

Ces composés sont donc des ANPs de type **6-[4-dialkoxyphosphoryl-but-2-énoxy]pyrimidine-2,4-diamine**. Parmi les divers analogues obtenus (thèse de M. Maximes Bessières – 2016), le composé **1 (LAVR-289)** possède des activités antivirales remarquables (ordre de quelques nM) sur de nombreux virus à ADN, sans toxicité visible apparente sur des premières évaluations *in vivo* sur des modèles de souris humanisées rendant compte d'une infection au zona (VZV) (Collaboration NIH – Pr Jennifer Moffatt). Ce composé, le plus actif de ces séries, est considéré comme un « lead » et il est actuellement en développement préclinique dans une approche duale. Dans le cahier des charges de ce développement, la montée en échelle (de quelques mg à > 100 mg et gr) est indispensable non seulement pour les diverses études *in vivo* que vers une potentielle transposition industrielle.

2. Données antivirales préliminaires de LAVR-289

L'activité biologique (activité et toxicité) du **LAVR-289**, le *O*-2,6-diaminopyrimidine-2'-acétoxyméthyl-but-2'-ényle phosphonate sous sa forme HDP/POC, a été mesurée sur des différents virus à ADN/ARN en collaboration avec les équipes des Pr G. Andréi et Pr. R. Snoeck

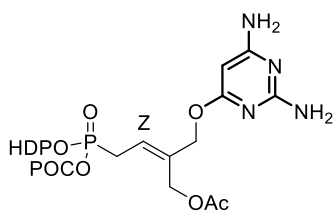
⁸² K. Y. Hostetler, Alkoxyalkyl prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates enhance oral antiviral activity and reduce toxicity: current state of the art. *Antiviral Res.* **2009**, 82, 84–98.

⁸³ U. Pradère, H. Clavier, V. Roy, S. P. Nolan, L. A. Agrofoglio, The shortest strategy for generating phosphonate prodrugs by olefin cross-metathesis – application to acyclonucleoside phosphonates. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 7324–7330.

(Rega Institute – Leuven), celle du Pr J. Moffatt (NIH – SUNY University – USA), du Dr. F. Gallardo (NEOVIRTECH (Toulouse, Fr) et du Pr. D. Brand (Université de Tours, Fr).

Le tableau ci-dessous compare les résultats du **LAVR-289** avec d'autres antiviraux pris comme référence, (Tableau 1).⁸⁴ Ce composé possède un IC₅₀ de l'ordre de quelques nanomolaires sur plusieurs virus à ADN, ce qui en fait un des composés, analogue de nucléosides, les plus actifs. Il est aussi important de souligner que ce composé maintient une activité antivirale importante, entre 7 et 10 nM, sur des lignées cellulaires VZV TK⁺ et VZV TK⁻. Le **LAVR-289** étant un acyclonucléoside phosphonate, cela indique que (1) ce type de composé reste actif sur des virus dépourvus en TK (nucléoside monophosphate kinase) et (2) que la prodrogue doit être clivée et le composé transformé en analogue triphosphate (à prouver). Il est à noter que le brivudine (BVDU) est un des plus puissants composés connus dans le cadre d'une infection au VZV, et possède une activité similaire à notre composé sur VZV TK⁺ (IC₅₀ = 10 nM). Le BVDU est par contre inactif sur les lignées VZV TK⁻ au contraire de notre composé, 1000 fois plus actif. Ce composé a également présenté une activité similaire à la brivudine sur le HSV-1 (KOS) et à l'acyclovir sur le HSV-2 (G). Par contre, notre composé est quatre fois plus actif sur le feline herpes virus que le ganciclovir (IC₅₀ = 1.4 nM), médicament standard dans le traitement des infections au feline herpes virus ; dix fois plus actif sur le HCMV que le cidofovir. Ce composé est aussi actif contre l'adénovirus avec un IC₅₀ de 0.08 µM et le HBV avec un IC₅₀ de 0.4 µM.

Tableau 1 : Résultat de l'évaluation antivirale du **LAVR-289**



LAVR-289

Composé	IC ₅₀ (µM) ^a								Cytotoxicité CC ₅₀ ^b (µM)
	HCMV	HAdV	VZV TK ⁺	VZV TK ⁻	HSV-1 (KOS)	HSV-2 (G)	Vaccinia virus	Feline Herpes Virus	
LAVR-289	0.04	0.08	0.007	0.01	0.043	0.015	0.05	0.35	>100
Acyclovir	>200	>100	3.6	15	3.8	4.4	>144	—	>100
Brivudine	0.08	250	0.01	117	0.04	50	22	—	>100
Cidofovir	0.4	1.3	0.5	nd	3.0	6.5	46	—	>100

^a Concentration requise pour réduire la cytopathogénicité virale à 50% .

^b Concentration cytotoxique requise pour réduire de 50% la croissance des cellules.

Comme mentionné précédemment, le (S)-HPMPO-DAPY (voir chapitre d'introduction) développé par le groupe de A. Holy s'avère être un des ANPs les plus efficaces pour le traitement des infections par le virus de la vaccine avec un EC₅₀ de 6.5 µM,⁶³ en comparaison

⁸⁴ L. A. Agrofoglio, V. Roy, C. De Schutter, M. Bessieres, F. Gallardo, New antiviral acyclonucleosides analogues. WO, **2019**, 206907.

notre composé **LAVR-289** est plus de 50 fois plus puissant que le (S)-HPMPO-DAPY. La Figure ci-dessous montre l'effet du **LAVR-289** sur des cellules infectées par le virus de la vaccine (modèle variole). Les cellules infectées, traitées avec notre composé, 48 h post-infection (PI), montre clairement une disparition des virions de la VV (test réalisé par la technologie Anchor® développée par la société Néovirtech). Ce résultat remarquable donne à ce composé un fort intérêt comme contre-mesures médicales dans le cas d'une infection à la variole (poxvirus).

Primary linear fibroblast infected with ANCHOR® tagged vaccinia virus-RR and imaged 48 h PI

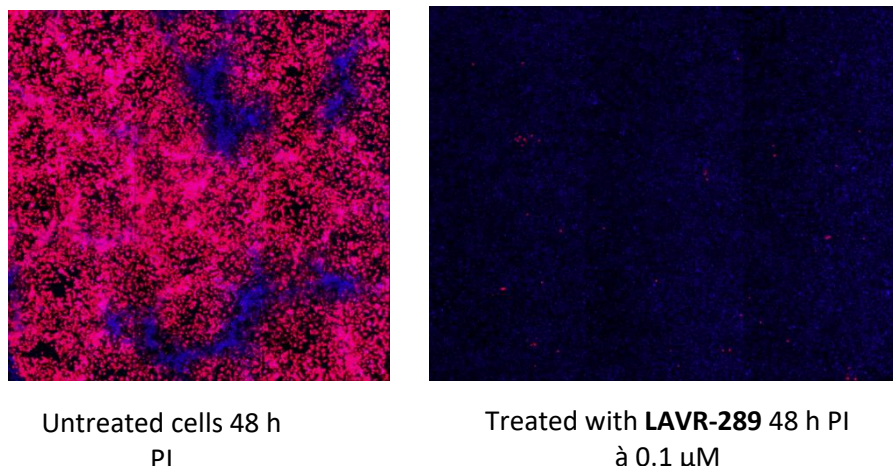


Figure 1 : Inhibition de la réplication du virus de la vaccine par composé **LAVR-289**

2.1 Synthèse initiale du LAVR-289

Le composé **LAVR-289** a été synthétisé à l'échelle du milligramme au sein de notre équipe (thèse M. Bessièrès – 2016). Une approche convergente basée sur une réaction de métathèse croisée entre un allylphosphonate diester (portant les fonctions biolabiles) et la nucléobase modifiée a été développée.

Ainsi, dans un premier temps, le dérivé HDP/POC allyle phosphonate **7** est préparé à l'échelle du gramme à partir du HDPOH **4** et du diméthyle allyle phosphonate (**5**) (Schéma 1). Pour cela, l'HDPOH⁸⁵ **4** est obtenu par mésylation de l'héxadécanol **2** dans les conditions classiques puis déplacement du mésylate formé par le 1,3-propane diol préalablement déprotoné. Dans un second temps le diméthyle allyle phosphonate **5** est activé dans des conditions classiques avec le chlorure d'oxalyle puis substitué par l'HDPOH. Le groupement POC est alors introduit sélectivement à la place du groupement méthyle par réaction du POCCL, et de NaI dans le CH₃CN pour conduire au synthon HDP/POC allyle phosphonate **7** (2,76g) avec un rendement de 88%.

⁸⁵ G. D. Kini, J. R. Beadle, H. Xie, K. A. Aldern, D. D. Richman, K. Y. Hostetler, Alkoxy propane prodrugs of foscarnet: effect of alkyl chain length on *in vitro* antiviral activity in cells infected with HIV-1, HSV-1 and HCMV. *Antiviral Res.* **1997**, 36, 43- 53.

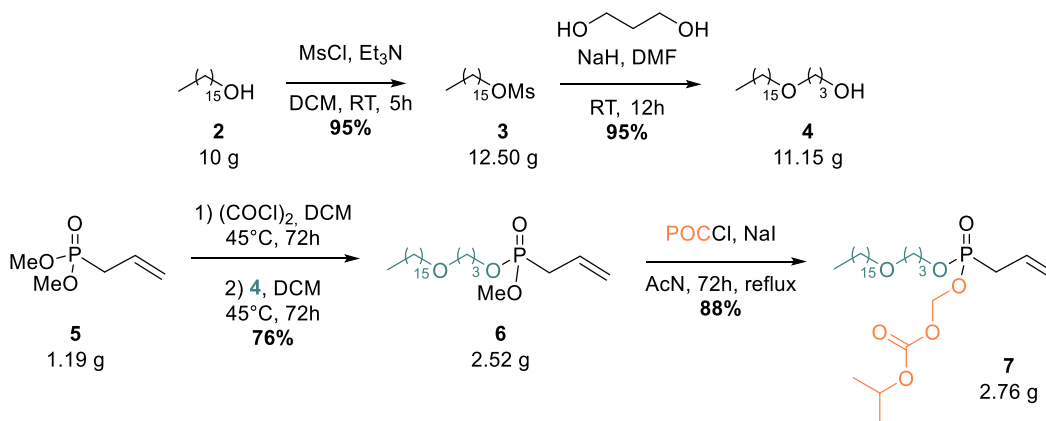


Schéma 1 : Synthèse du synthon HDP/POC allyle phosphonate **7**

Dans un second temps, à l'échelle du milligramme (200-300 mg) le précurseur énéoxy-pyrimidine-2,4-diamine **11** a été synthétisé à partir de la 6-chloro-2,4-diaminopyrimidine **8** qui réagit avec le 2-méthylène-1,3-propanediol dans les conditions développées par Krawczyk *et al.*⁸⁶, c'est à dire en présence de *tert*-butoxyde de sodium dans le *tert*-butanol pendant 24 h à 100 °C. Ces conditions permettent d'obtenir la 2,4-diaminopyrimidine *O*-alkylée en position C-6 **9**, avec un rendement de 65%. L'acétylation de l'hydroxyle du composé **9** se fait en présence d'anhydride acétique, d'acétate de sodium dans l'acétonitrile sous irradiation micro-onde conduit à **10**. La protection des amines libres du composé **10** par des groupement Boc a été effectuée en présence d'un excès de Boc₂O et 0,35 équivalent de DMAP dans le THF sous activation micro-ondes pour donner **11** avec un rendement de 84%. Le couplage de l'alcène **11** avec l'allylphosphonate **7** a été réalisé dans des conditions de métathèse croisée, sous ultrasons pendant 20 h à 55 °C, le catalyseur au ruthénium de type NG-II étant ajouté en trois fois 5 mol% à t = 0, 3 et 6 h. Le produit attendu **12** est alors isolé sous la forme d'un mélange *Z* et *E* : 1/1. A ce stade, le mélange n'est pas séparable. Il est à noter de plus que le phosphore est un centre de chiralité pouvant être P_S ou P_R. Ce sont donc en réalité 4 diastéréoisomères qui existent, mais seuls les isomères *Z* et *E* pourront être séparés par chromatographie liquide sur gel de silice. Après clivage des fonctions *tert*-butoxycarbonyles (Boc) en milieu acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane pendant trois heures à température ambiante (Schéma 2), les isomères *E* et *Z* sont séparés par plusieurs colonnes chromatographiques sur gel de silice. Le composé **13a** (isomère *Z*) est le **LAVR-289**.

⁸⁶ S. H. Krawczyk, Nucleobase phosphonate analogs for antiviral treatment, WO20050123245 (A2) **2005-02-1**.

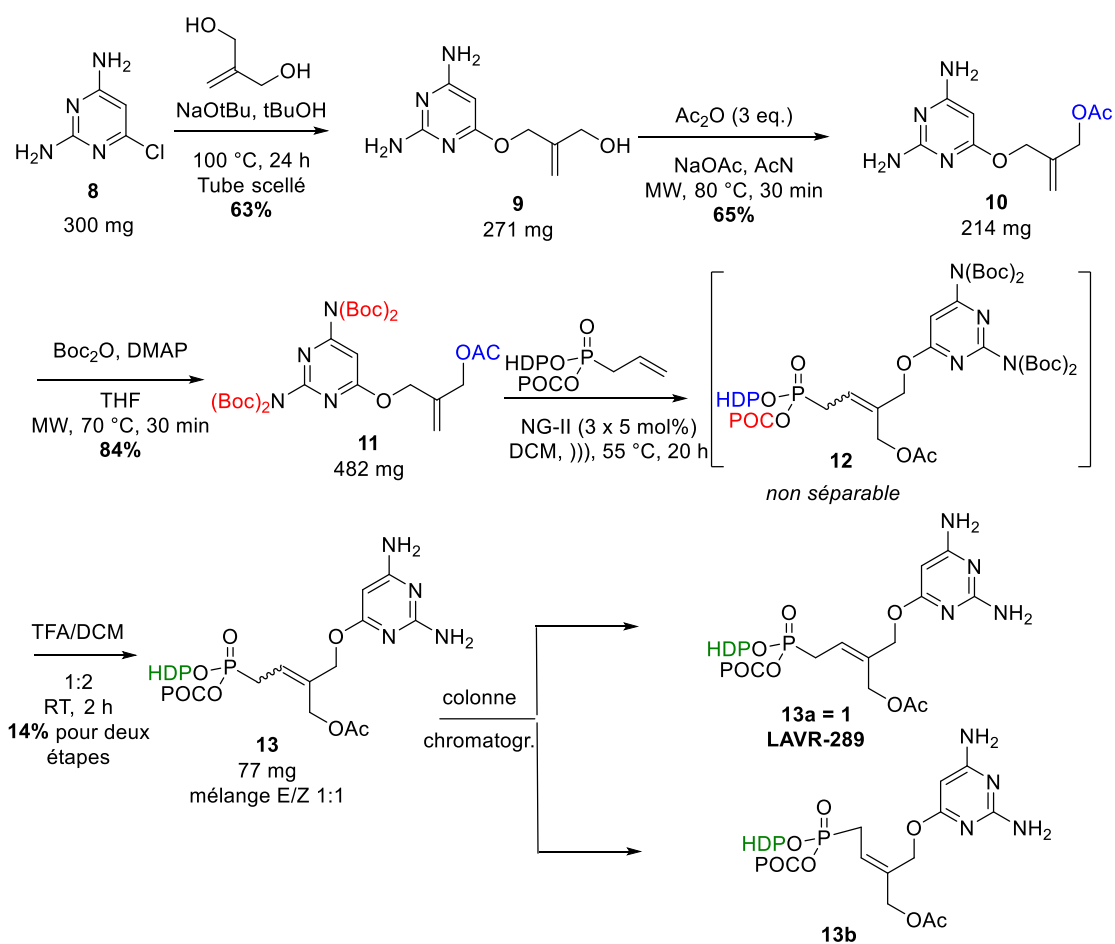


Schéma 2 : Synthèse initiale à l'échelle du milligramme du composé LAVR-289 (non publiée)

Le composé **LAVR-289** a ainsi été synthétisé à l'échelle de quelques dizaines de milligramme, de manière convergente, avec un rendement global de 3% en neuf étapes.

La transposition de ce protocole à l'échelle de plusieurs centaines de mg et *a fortiori* de gr, soulève les problèmes suivants :

- Acétylation de l'alcool du composé **9** concomitante avec de la *N*-acylation.
- L'utilisation d'un micro-onde n'est pas adaptable à la synthèse à large échelle.
- Le rendement de la réaction de la métathèse croisée reste modéré.
- La séparation des diastéréoisomères *E* et *Z* reste difficile.

Au cours cette partie, nous essaierons ainsi de surmonter ces obstacles. L'étape clef de cette synthèse convergente du composé **LAVR-289** étant une réaction de métathèse croisée, il nous semble opportun de faire quelques rappels sur cette réaction.

2.2 Rappels sur la métathèse croisée d'oléfines

La réaction de métathèse croisée est un des outils synthétiques importants menant à la formation de liaisons C=C en chimie organique,^{87,88} qui a été largement appliquée à la synthèse d'analogues carbocycliques et acycliques de nucléosides.^{89,90} La métathèse croisée d'oléfines permet le couplage de deux oléfines de substitution et réactivités différentes. Elle peut conduire à la formation de l'oléfine hétérodimère souhaitée **16** (Z et E) mais aussi à des homodimères **17** et **18** (Z et E), qui peuvent de nouveau entrer dans le cycle catalytique de cette réaction, (Schéma 3).

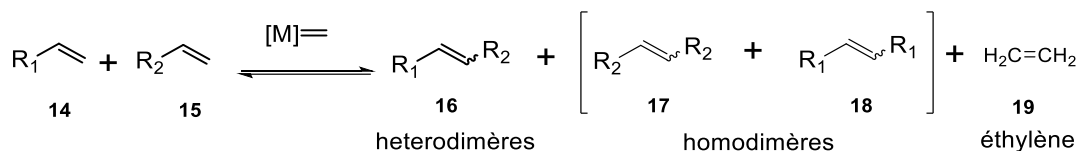


Schéma 3 : La métathèse croisée

Le mécanisme général de la métathèse croisée⁹¹ est le suivant : le substrat éthylénique **14** se coordonne avec le métal de transition **A** *via* une cycloaddition [2+2] afin de former le premier métalocyclobutane **B**. Ce cycle à 4 chaînons se réarrange tout en libérant de l'éthylène **19** et un carbène **C**. Le second substrat éthylénique **15** se coordonne avec ce carbène **C** *via* une cycloaddition [2+2] pour former un autre métalocyclobutane **D**. Enfin, ce dernier se réarrange de la même manière pour libérer l'oléfine souhaitée **16** (Schéma 4).⁹²

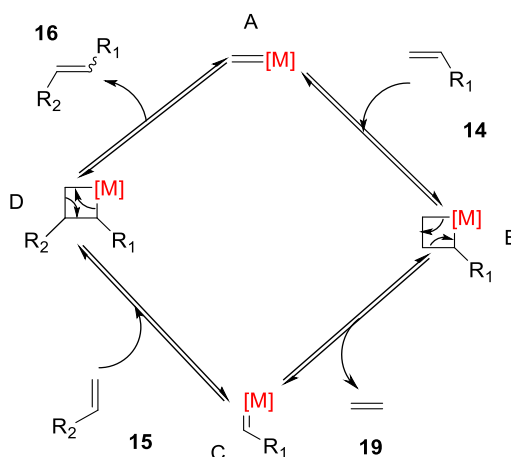


Schéma 4 : Mécanisme de la métathèse croisée

Sur la base de ce mécanisme, on remarque que l'un des problèmes majeurs de ce couplage est la formation des deux homodimères **17** et **18**. Notre but est de déplacer l'équilibre de

⁸⁷ K. Żukowska, K. Grela, In *Comprehensive Organic Synthesis II*, Elsevier, **2014**, 1257–1301.

⁸⁸ A. H. Hoveyda, A. R. Zhugralin, The remarkable metal-catalysed olefin metathesis reaction. *Nature* **2007**, 450, 243–251.

⁸⁹ F. Amblard, S. P. Nolan, L. A. Agrofoglio, Metathesis strategy in nucleoside chemistry. *Tetrahedron* **2005**, 61, 7067–7080.

⁹⁰ L. A. Agrofoglio, S. P. Nolan, Olefin metathesis route to antiviral nucleosides. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, 5, 1541–1558.

⁹¹ J. L. Hérissou, Y. Chauvin, Catalyse de transformation des oléfines par les complexes du tungstène. II. Télomérisation des oléfines cycliques en présence d'oléfines acycliques. *Makromol. Chem.* **1971**, 141, 161–176.

⁹² S. J. Connon, S. Blechert, Recent developments in olefin cross-metathesis. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2003**, 42, 1900–1923.

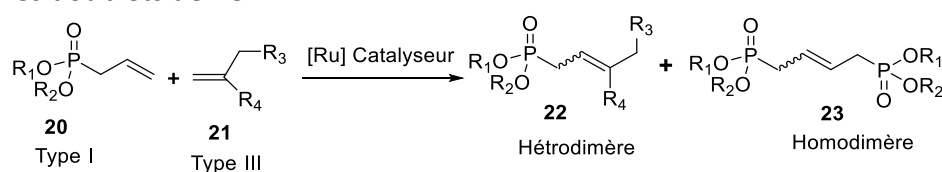
formation des homodimères vers l'hétérodimère souhaité **16**. En effet, cet équilibre dépend de la réactivité des oléfines envers le catalyseur employé. Grubbs *et al.*⁹³ a proposé un modèle empirique permettant d'obtenir l'hétérodimère souhaité en classant les oléfines en quatre catégories selon leur tendance à former des homodimères et l'aptitude de ces derniers à être à réagir avec comme un nouvel alcène dans la réaction et à former l'hétérodimère souhaité. Le classement proposé est donc le suivant :

- Type I : homodimérisation rapide; homodimères consommables.
- Type II : homodimérisation lente; consommation homodimère modérée
- Type III : pas d'homodimérisation; participe à la métathèse croisée avec les oléfines de Type I et II.
- Type IV : ne participe pas à la réaction de métathèse croisée.

Réactivité d'oléfine : Type I > Type II > Type III > Type IV

Le modèle de Grubbs propose, pour augmenter la sélectivité de cette réaction, de choisir deux oléfines de réactivité différente. Ainsi, une excellente sélectivité est possible si l'on utilise par exemple un alcène hautement réactif (Type I) avec un moins réactif (Type II ou III) (Schéma 7).⁹⁴ Il est aussi important de noter que le choix de l'alcène initial ou final désiré (alcène di- ou trisubstitué, *cis* ou *trans*) impose souvent le catalyseur complexe métal-alkylidène. Nous souhaitons former ici un alcène trisubstitué en utilisant comme précurseur l'alcène 1,1-disubstitué **21** et l'oléfine terminale **20** ; l'utilisation de catalyseurs de Schrock ou ceux de Grubbs première génération n'est pas possible car ces catalyseurs ne sont pas suffisamment réactifs envers les oléfines 1,1-disubstitués dont **21**. Les alcènes gem-disubstitués sont parfois du type IV, c.a.d., spectateurs dans la métathèse croisée. L'attention s'est donc tournée vers les catalyseurs de type Grubbs de seconde génération, notamment celui de Nolan-Grubbs et celui d'Hoveyda-Grubbs (Schéma 5) :

- Le catalyseur de Nolan-Grubbs (NG-II) **24**, diffère du catalyseur de Grubbs-II par l'utilisation d'un imidazol-2-ylidène *N,N*-disubstitué comme ligand du ruthénium.
- Le catalyseur d'Hoveyda-Grubbs (HG-II) **25**, possède un groupement chélatant *ortho*-isopropoxy attaché au cycle benzénique. Cet atome d'oxygène chélatant remplace un groupement tricyclohexylphosphine. Cette modification donne déjà une espèce à 14 électrons plus réactive donc stabilisée par chélation du Ru avec les doublets de l'O.



⁹³ A. K. Chatterjee, T. L. Choi, D. P. Sanders, R. H. Grubbs, A General model for selectivity in olefin cross metathesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11360-11370.

⁹⁴ A. K. Chatterjee, R. H. Grubbs, Synthesis of trisubstituted alkenes via olefin cross-metathesis. *Org. Lett.* **1999**, 1, 1751-1753.

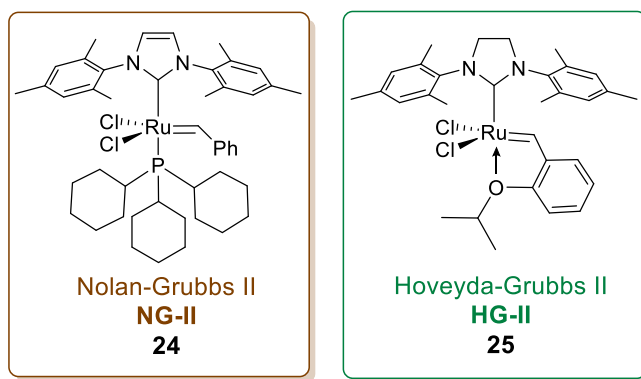


Schéma 5 : Modèle général de métathèse croisée réalisée dans ce chapitre

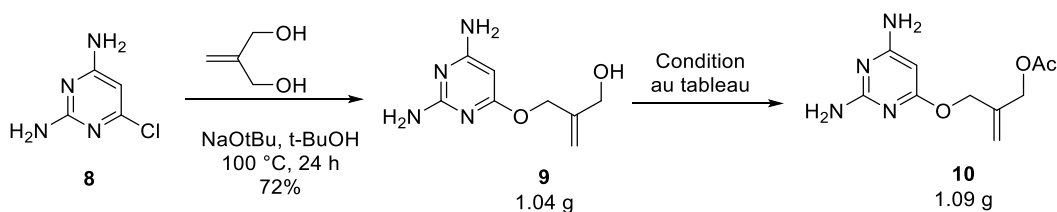
3. Notre travail

3.1 Synthèse à l'échelle du gramme du LAVR-289

3.1.1 Synthèse du 2-[(2,6-diaminopyrimidin-4-yl)oxymethyl]allyl acétate (**10**)

Suivant le schéma synthétique précédemment élaboré, la 2,4-diamino-6-chloropyrimidine (**8**) subit une réaction de S_NAr en présence du 2-méthyl-1,3-propanediol et de *tert*-butoxyde de sodium dans le *tert*-butanol pendant 24 h à 100°C.⁹⁵ En partant de 2 grammes de produits de départ, l'hétérocycle alkylé **9** est obtenu avec un bon rendement de 72%. L'acylation de **9** conduites sur 300 mg en présence d'anhydride acétique, d'acétate de sodium et sous activation microonde (MW) avait permis l'obtention de **10** avec 63% de rendement. Cependant, amener à l'échelle du gramme, nous avons observé que le rendement chute drastiquement ; nous avons alors réalisé une optimisation de cette réaction (Tableau 2).

Tableau 2 : Optimisation de l'étape d'acétylation à l'échelle du gramme



Entrée	Réactif	Base/Enzyme	Solvant	Temps	T(°C)	Rdt
1	Anhydride acétique	NaOAc (2 éq.)	CH ₃ CN	30 min (MW)	80 °C	38%
2	Anhydride acétique	NaOAc (2 éq.)	CH ₃ CN	24 h	t.a	34%
3	Acétate de vinyle	CAL-B (100% W/W)	CH ₃ CN	90 min	35 °C	70%
4	Acétate de vinyle	CAL-B (50% W/W)	CH ₃ CN	4 h	35 °C	86%

⁹⁵ S. H. Krawczyk, Nucleobase phosphonate analogs for antiviral treatment, WO20050123245, **2005**, 02-10.

- ✓ **Entrée 1 et 2 :** l'acétylation en présence d'anhydride acétique, d'acétate de sodium dans l'acétonitrile sous irradiation micro-onde a conduit, après 30 min à 80 °C, au produit acétylé **10** avec un rendement de 38%. Un excès d'anhydride acétique conduit à la protection (monoacétylation) des fonctions amines, ce qui fait chuter le rendement de manière drastique et empêche la formation du composé **10**. Dans les mêmes conditions qu'à petite échelle, nous avons effectué cette réaction pendant 24 h à température ambiante mais les rendements restent très moyens et la réaction peu sélective de la *O*-alcylation.
- ✓ **Entrée 3 :** Les travaux précédemment développés au sein de notre équipe⁹⁶ ont permis de montrer que l'acétylation de l'alcool est possible à l'aide d'une enzyme, la lipase B de *Candida Antarctica* (CAL-B), via une réaction chémo-enzymatique. Nous avons donc effectué cette réaction en appliquant cette méthode, en présence d'acétate de vinyle comme agent⁹⁷ d'acétylation et de 100% masse/masse (W/W) d'enzyme par rapport à l'hydroxyle. Cette catalyse enzymatique nous a permis d'obtenir le produit souhaité **10** avec un rendement de 70% après 90 min de réaction à 35 °C à partir de 500 mg du composé de départ.
- ✓ **Entrée 4 :** Nous avons également utilisé d'autres conditions développées au laboratoire (Thèse Dr. Ozkan Sari) en partant d'un gramme de réactif hydroxylé avec une quantité d'enzyme à 50% W/W. La réaction suivie par CCM, nous montre la conversion totale du produit de départ au bout de 4 h à 35°C. Dans ce cas nous obtenons un rendement de 86% en produit **10**. **Il est à noter que des essais sur plus de quatre grammes de réactif ont conduit au produit désiré avec un rendement de 80%.**

L'action catalytique de la lipase B de *Candida Antarctica* repose principalement sur la triade Asp187, His224 et Ser105 (Figure 2).⁹⁸ Dans le cycle catalytique, l'acétate de vinyle est d'abord complexé de façon réversible à l'enzyme libre formant ainsi le complexe de Michaelis-Menten. Après positionnement du substrat dans le site actif, l'attaque nucléophile de la Ser105 sur le groupement carbonyle du substrat donne l'espèce intermédiaire tétraédrique 1. La charge négative générée sur le substrat est alors stabilisée par trois liaisons hydrogène provenant des protons amides des résidus Thr40, Gln106 et de la chaîne latérale de la Thr40 provenant de la poche oxyanionique. La forme protonée de His224 obtenue après récupération du proton de la Ser105, est stabilisée par interaction avec Asp187. Le résidu His224 transfère alors ce proton à l'alkyle oxygène du substrat pour retrouver la neutralité provoquant ainsi le départ de l'alcool vinylique. Il en résulte une forme intermédiaire dite "acyl-enzyme" dans laquelle le résidu Ser105 est sous une forme acétylée. Le composé **9** attaque alors le groupement carbonyle de l'acyl-enzyme conduisant ainsi à l'intermédiaire tétraédrique 2. Au cours de ce processus, un proton est transféré du composé **9** vers His224 tandis que les charges positives

⁹⁶ O. Sari, M. Hamada, V. Roy, S. P. Nolan, L. A. Agrofoglio, The preparation of tsubstituted alkenyl nucleoside phosphonates under ultrasound-assisted olefin cross-metathesis. *Org. Lett.* **2013**, 15, 4390–4393.

⁹⁷ C. D. Magnusson, G. G. Haraldsson, Chemoenzymatic synthesis of symmetrically structured triacylglycerols possessing short-chain fatty acids. *Tetrahedron* **2010**, 66, 2728-2731.

⁹⁸ E. M. Anderson, K. M. Larsson, O. Kirk, One biocatalyst—many applications: the use of *Candida Antarctica* B-Lipase in organic synthesis. *Biocatal. Biotransform.* **1998**, 16, 181-204.

et négatives sont stabilisées de la même façon que décrit précédemment. Le proton de His224 est alors transféré à l'alkyle oxygène de la Ser105 de façon à restaurer la liaison carbonyle du substrat. Le composé acétylé **10** est régénéré après départ de l'enzyme libre finalisant ainsi le cycle catalytique.

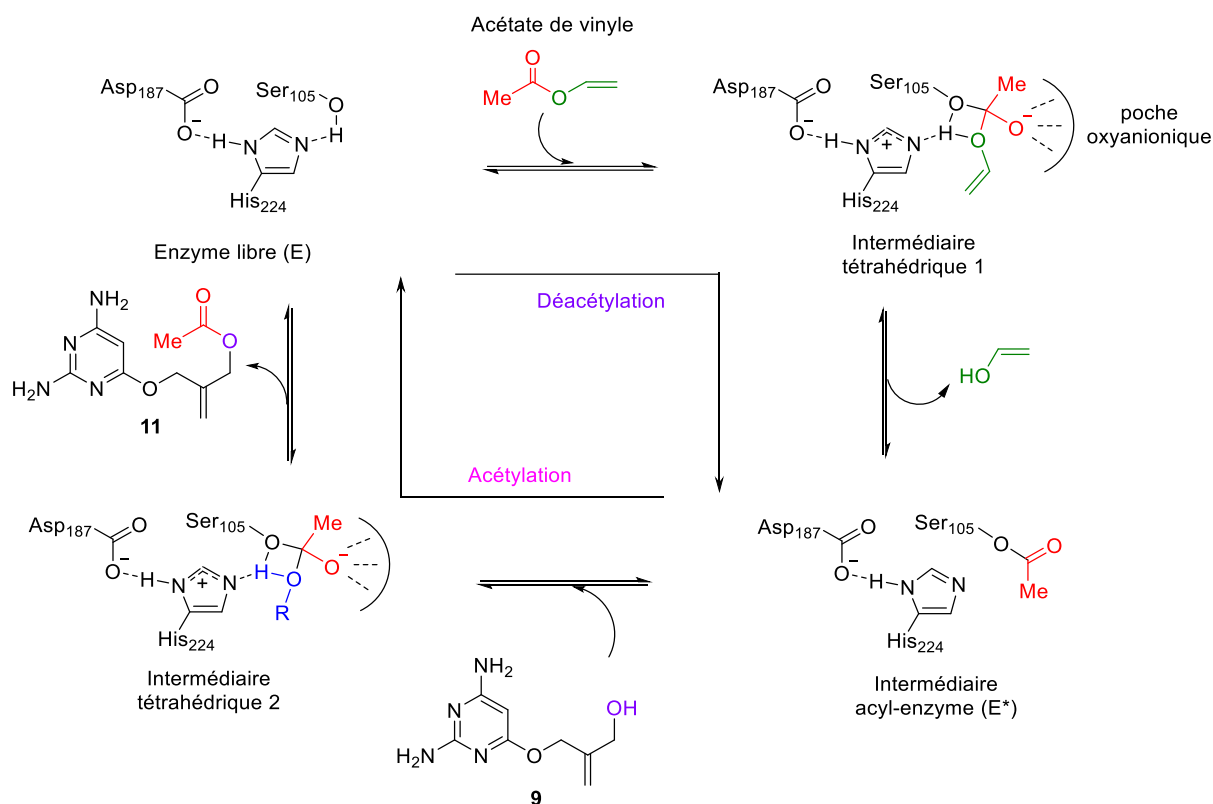


Figure 2 : Mécanisme de l'acétylation enzymatique par CAL-B¹⁰

Il est connu que la réaction de métathèse croisée souffre de la présence d'amines libres qui peuvent empoisonner le catalyseur (métal) par leur doublet libre ; ainsi la protection par des groupements encombrants et désactivateurs de type carbamate (Boc) est alors effectuée en présence d'un excès de Boc₂O et 0.35 équivalent de DMAP dans le THF. Après 30 minutes d'irradiation micro-ondes à 70 °C, le composé **11** est isolé avec un rendement de 84% (482 mg). Cependant, la contenance des réacteurs pour l'irradiation micro-ondes ne convient pas pour la réaction sur grande quantité, et nous avons alors effectué cette réaction à température ambiante pendant une nuit à l'échelle du gramme. Le composé désiré **11** a été alors isolé avec un rendement de 78% (2.08 g) (Schéma 6).

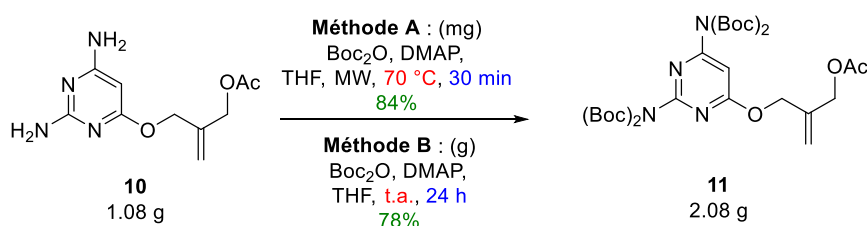


Schéma 6 : Protection des groupements aminos

3.1.2 Synthèse du dérivé HDP/POC-allylphosphonate **7**

La synthèse de cette prodrogue mixte HDP/POC a été décrite et mise au point par notre équipe. Afin de synthétiser l'intermédiaire clé, l'HDP/POC allylphosphonate **7**, nous avons tout d'abord synthétisé l'alcool HDPOH **4**. L'hexadécanol **2**, précurseur commercial, est activé sous forme de mésylate, par addition à température ambiante et sous conditions anhydres, de chlorure de méthanesulfonyle dans le CH₂Cl₂. Après 5 h d'agitation dans la condition basique, la sulfone **3** correspondante est alors isolée avec un rendement de 91%. Elle subit une SN2 par du propane-1,3-diol commercial en présence de NaH pour produire après 12 h de réaction à température ambiante, l'alcool HDPOH **4** avec un rendement de 90%. La sélectivité obtenue pour le dérivé mono-alkylé s'explique par l'utilisation de 2.5 équivalents de NaH et 5 équivalents de 1,3-propane diol pour 1 équivalent de produit mésylé. Le diméthylallylphosphonate **5** subit une monochloration en présence de chlorure d'oxalyle, pendant 72 h au reflux du dichlorométhane. L'intermédiaire chloré est alors substitué par l'alcoolate d'hexadécylpropyloxy conduisant au composé **6** avec 80% de rendement. Finalement, la transformation du groupement méthoxy en *isopropyl oxyméthyl carbonate* se fait dans les mêmes conditions que précédemment, aboutissant à la formation HDP/POC-allylphosphonate **7** avec un rendement final de 71%. Cette synthèse présente un rendement global de 57% et peut être effectuée à une échelle de plusieurs grammes, ce qui rend ce composé très facile d'accès (Schéma 7).

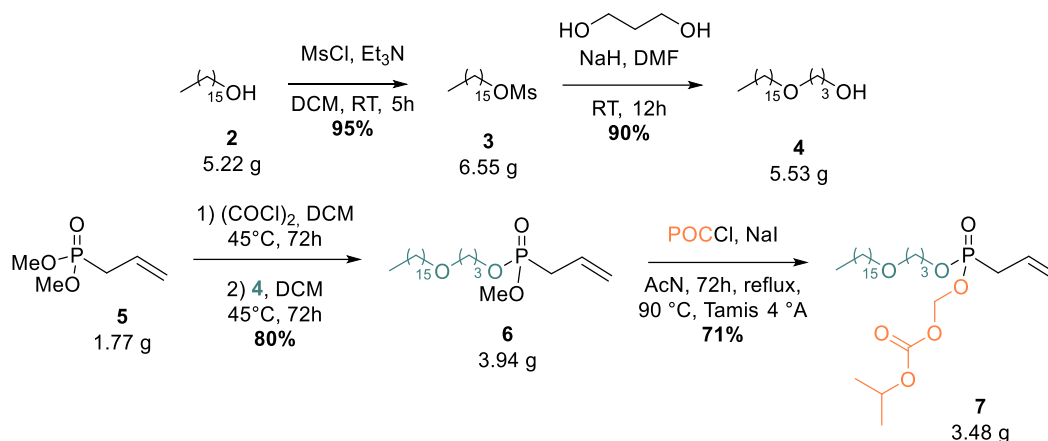
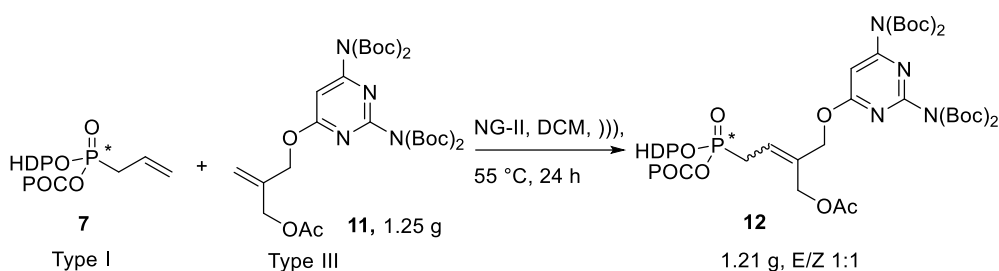


Schéma 7 : Synthèse de l'HDP/POC-allylphosphonate **7**

3.1.3 Réaction de métathèse croisée entre le composé **7** et le composé **11**

Les deux oléfines **7** (type I) et **11** (type III) ainsi obtenues sont alors engagées dans une réaction de métathèse croisée pour conduire au composé **LAVR-289** protégé attendu. La mise en place d'une optimisation à cette échelle a été nécessaire (Tableau 3).

Tableau 3 : Optimisation de la réaction de métathèse



Entrée	Catalyseur	Rendement
1	NG-II (3 × 5 mol%)	43%
2	NG-II (4 × 3,8 mol%)	47%
3	NG-II (5 × 3 mol%)	55%

La métathèse croisée a été réalisée dans le dichlorométhane sous ultrasons pendant 24 h à 55 °C, avec du catalyseur de Nola-Grubbs ; le produit **12** attendu a été isolé avec un rendement allant de 43 à 55%. Nous avons observé que la manière d'ajouter les 15 mol% de catalyseur avait une forte influence sur le rendement. En effet, lorsque le catalyseur est ajouté en trois fois 5 mol% à $t = 0, 3$ et 6 h, le rendement est de 43 %, alors que lorsqu'il est ajouté en cinq fois 3 mol% à $t = 0, 3, 6, 9$ et 21 h, le rendement passe à 55 %. Des essais réalisés avec de plus grandes charges catalytiques ou des ajouts plus nombreux n'ont pas amélioré le rendement.

Le dérivé **11** est une oléfine de type III qui ne forme pas d'homodimère mais qui présente une grande gêne stérique ainsi qu'une faible réactivité. Or, il ne faut pas oublier que la réaction de métathèse d'oléfines passe par des intermédiaires métallocyclobutanes forcément sensibles aux effets stériques. Ceci peut être une explication non seulement au rendement modéré obtenu mais aussi à l'absence de sélectivité de l'alcène formé, le produit **12** étant obtenu sous la forme d'un mélange $E/Z = 1/1$ non séparable à cette échelle.

Il est à noter que le problème de la stéréosélectivité de formation de l'alcène (Z et E) reste un challenge plus important en métathèse croisée qu'en fermeture de cycle par métathèse qui est souvent thermodynamiquement plus favorable et pour laquelle il existe des catalyseurs plus sélectifs d'un alcène final E (le plus favorisé) et plus récemment Z.

Ainsi, **12** est directement engagé dans une étape de déprotection des groupements Boc en présence de TFA dans du dichlorométhane anhydre pendant trois heures à température ambiante, permettant l'obtention du mélange des deux oléfines Z et E avec un excellent rendement de 95% (Schéma 8). Les analyses par RMN du brut réactionnel ont permis de définir un mélange équimolaire du composé Z et composé E. La détermination de la configuration des deux molécules est obtenue par des RMN ^1H , ^{13}C et HMBC qui ont tout d'abord, conjointement permis d'attribuer avec précision chaque atome de carbone et protons en α de l'insaturation, et un NOESY prouvant la configuration de ces différents composés (Figure 3). L'analyse NOESY (couplage proton-proton dans l'espace) permet de

distinguer les atomes d'hydrogène spatialement proches. La Figure 3 est un agrandissement du couplage entre les protons en α de la double liaison : du côté du phosphore ($\text{CH}_2\text{-P}$), de la 2,4-diaminopyrimidine ($\text{CH}_2\text{-O-DAPY}$) et de l'acétate ($\text{CH}_2\text{-OAc}$). Une analyse HPLC nous a également permis d'identifier sans ambiguïté les deux stéréoisomères *Z* et *E*.

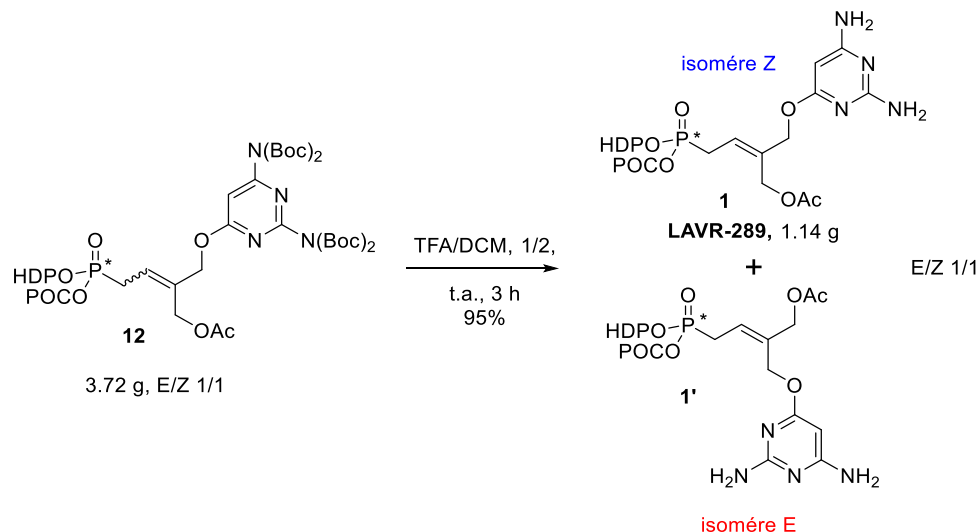


Schéma 8 : Déprotection des carbamates

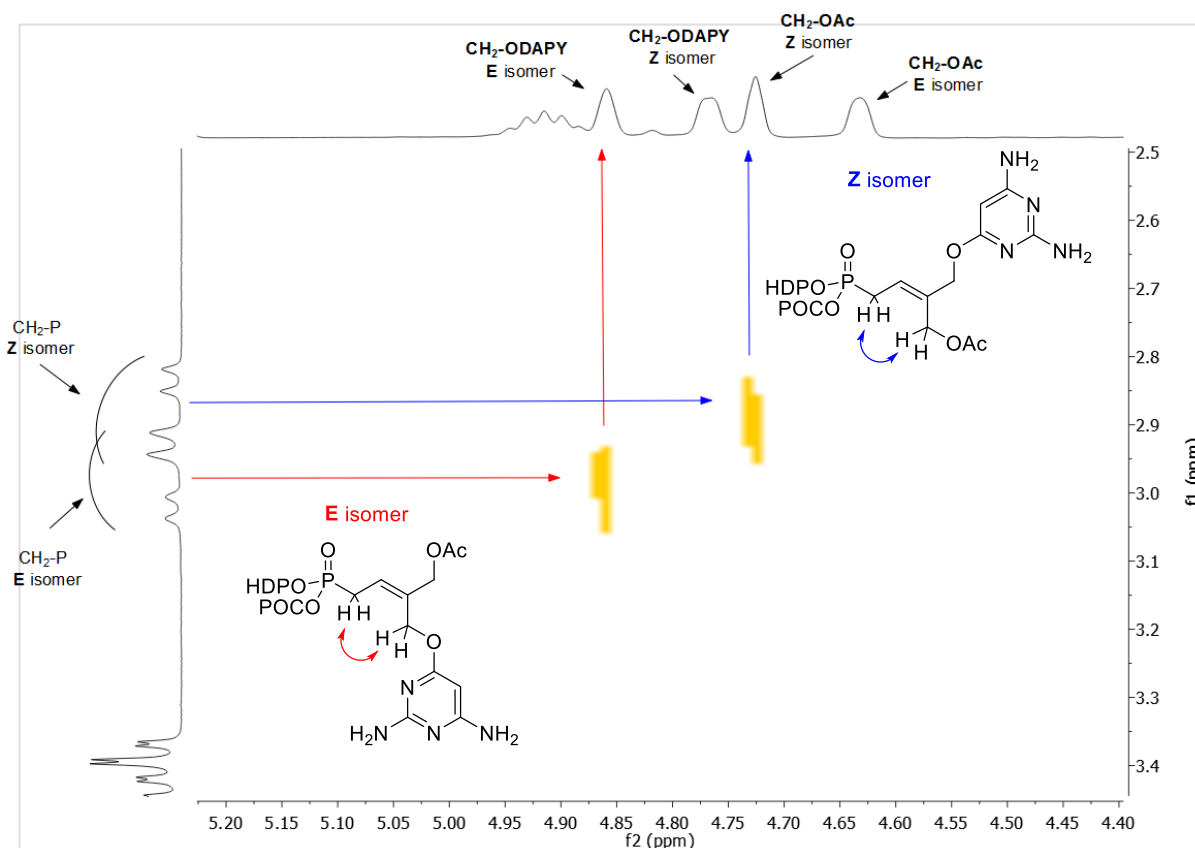


Figure 3 : Spectre NOESY du composé LVR-289 (13a) et de son stéréoisomère (13b)

En conclusion, nous avons été en capacité de reproduire la synthèse du lead **LAVR-289** à une échelle de plusieurs 100 mg, voire du gr. Toutes les analyses permettent une parfaite reproductibilité ; cependant, nous n'avons pas encore été en mesure de trouver les conditions lors de la réaction de métathèse croisée qui permettent l'obtention totalement stéréocontrôlée de l'alcène Z souhaité. Ce point reste toujours un objectif important et il faudrait peut-être envisager, et d'autant plus pour une synthèse à l'échelle de plusieurs grammes, une approche différente évitant cette séparation laborieuse par plusieurs chromatographies liquides sur gel de silice.

3.2 Synthèse d'analogues du LAVR-289

3.2.1 Préparation de la prodrogue bis(POC) phosphonates du LAVR-289

Nous nous sommes ensuite intéressé à l'obtention d'un nouvel 6-[4-dialkoxyphosphoryl-but-2-enoxy]pyrimidine-2,4-diamine analogue du **LAVR-289** dans lequel les groupements dialkoxy liés au P sont constitués par le groupement POC (pivaloyloxycarbonyl). Ce groupe biolabile a montré son intérêt pharmaceutique étant la prodrogue du PMPA ou Ténofovir disoproxil (fumarate). Une molécule de *bis*(POC)PMPA libère deux molécules d'*isopropanol*, du CO₂, du formaldéhyde et une molécule de PMPA. Le clivage d'un premier ester par une carboxyestérase conduit au mono(POC)PMPA qui est alors substrat d'une phosphodiesterase pour donner la forme active PMPA.

La synthèse de cet analogue débute par l'obtention du *bis*(POC)-allylphosphonate **26**. Celle-ci est réalisée à partir du diméthylallylphosphonate **5** par traitement avec le chlorométhyl *isopropyl* carbonate (POCCL) en présence d'iodure de sodium dans l'acétonitrile à reflux. La réaction est relativement lente et nécessite entre 48-72 h pour atteindre une conversion totale donnant le *bis*(POC)-allylphosphonate **26** avec 76 % de rendement, (Schéma 9).

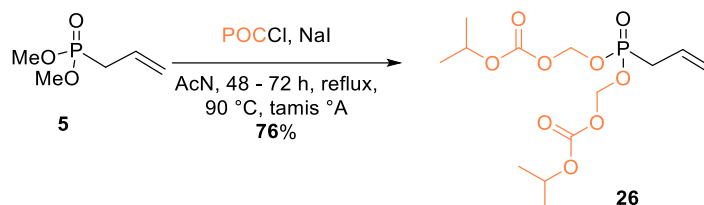


Schéma 9 : Synthèse du *bis*(POC)allylphosphonate

La préparation de **26** a été aussi réalisée sous irradiation micro-ondes à 100 °C, mais bien qu'une conversion totale soit observée après seulement 2 h, le produit désiré **26** a été isolé avec un rendement plus faible (58 %) qu'en chauffage classique. Ces conditions peuvent être une alternative acceptable car elles offrent un temps de réaction beaucoup plus raisonnable.

Le mécanisme (Schéma 10) passe par un échange d'halogène entre l'iodure de sodium et l'espèce chlorée **27** (le chlorométhyl isopropyl carbonate), rendant la substitution nucléophile par le diméthoxyallylphosphonate possible sur la position halogénée du dérivé iodé **28** et générant le méthyloxyphosphonium **29**. Après déméthylation par attaque de I⁻, cette séquence est effectuée une seconde fois pour conduire au composé **26** désiré. Il est à noter qu'il est nécessaire d'être dans des conditions strictement anhydres par la grande réactivité

des intermédiaires formés, avec notamment des sels d'iode séchés à haute température sous vide, pour éliminer toute trace d'eau résiduelle.

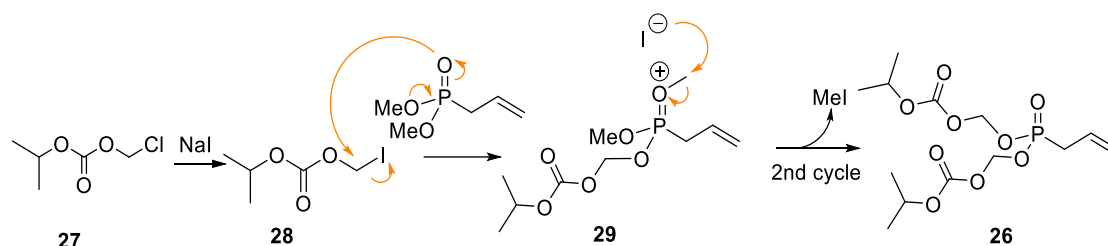


Schéma 10 : Mécanisme d'insertion des groupements POC

Le *bis*(POC)allylphosphonate **26** ainsi généré est couplé au 2-[(2,6-diaminopyrimidin-4-yl)oxymethyl]allyl acétate protégé (**11**) par réaction de métathèse croisée avec 15 mol% de catalyseur de NG-II dans le dichlorométhane. L'addition du catalyseur a été effectuée comme précédemment par ajout de cinq portions égales de 3 mol% à $t = 0, 3, 6, 9$ et 21 h. Après 24 h à reflux du CH_2Cl_2 , à 55°C , sous ultrasons, le composé **30**, qui est obtenu sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères ($E/Z : 1/1$), avec un rendement de 57% (Schéma 11). Ici aussi, il est préféré d'effectuer la séparation délicate des deux stéréoisomères non pas à cette étape mais après clivage des groupements protecteurs Boc.

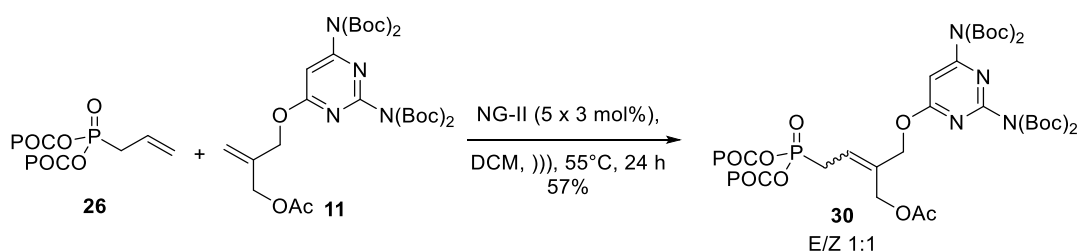


Schéma 11 : Formation du *bis*(POC) dérivé **30** dans des conditions de métathèse croisée

Ainsi, dans une dernière étape, les groupements carbamates sont déprotégés dans les mêmes conditions que précédemment décrites, *i.e* en présence d'acide trifluoroacétique (2 eq.) dans le dichlorométhane anhydre pendant 3 heures à température ambiante. Le composé souhaité a été obtenu avec un rendement de 85% (Schéma 12). Les deux stéréoisomères (E/Z) sont séparés facilement, et chaque isomère pur a été envoyé en test biologique.

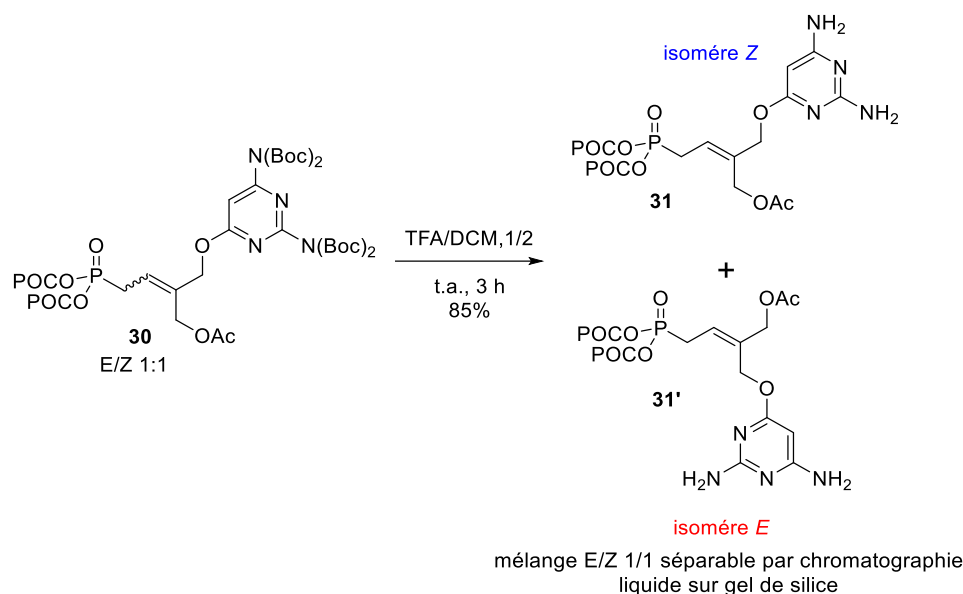
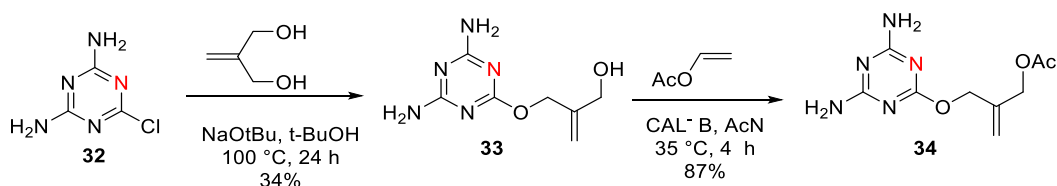


Schéma 12 : Déprotection des carbamates et séparation des stéréoisomères

3.2.2 Préparation d'un analogue de LAVR-289 portant une nucléobase de type 1,3,5-triazine

Une autre modification du **LAVR-289** a consisté à remplacer la 1,4-diaminopyrimidine par une 1,4-diamino-1,3,5-triazine afin de juger son impact sur l'effet antiviral. Les travaux d'A. Holy^{99,100} avaient montré qu'une telle substitution pouvait permettre de maintenir l'activité antivirale du PMEODAPY tout en améliorant sa sélectivité sur une polymérase virale (c.a.d., diminuant sa toxicité).¹⁰¹

La synthèse débute par la réaction entre la 2-chloro-4,6-diamino-1,3,5-triazine **32** et le 2-méthylène-1,3-propenediol en présence de *tert*-butoxyde de sodium dans le *tert*-butanol pendant 24 h à 100 °C. La 2,4-diamino-1,3,5-triazine-6-oxyméthylallyl alcool **33** est isolée avec un rendement de 34%. La base nucléique subit une acétylation chimioenzymatique à l'aide du CAL-B et d'acétate de vinyle pendant 4 h à 35 °C dans l'acétonitrile, produisant l'oléfine **34** avec un rendement de 87% (Schéma 13).



⁹⁹ M. Krečmerová, M. Masojdková, A. Holý, Acyclic nucleoside phosphonates with 5-azacytosine base moiety substituted in C-6 position. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2010**, 18, 387-395.

¹⁰⁰ M. Krečmerová, A. Holý, A. Pískala, M. Masojdková, G. Andrei, E. De Clercq *et al.* Antiviral activity of triazine analogues of 1-(S)-[3-hydroxy-2-(phosphonomethoxy)propyl]cytosine (cidofovir) and related compounds. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 1069-77.

¹⁰¹ S. De Castro, G. Fernández-Cureses, G. Andrei, R. Snoeck, P. A. Sánchez-Murcia *et al.* Conservation of antiviral activity and improved selectivity in PMEODAPYm upon pyrimidine to triazine scaffold hopping. *Antiviral Res.* **2015**, 122, 64-8.

Schéma 13 : Synthèse de la 2,4-diamino-1,3,5-triazine acétylée

En prévision de la réaction de métathèse croisée d'oléfines, les fonctions amines sont protégées par le groupement Boc. Après 30 minutes sous irradiation micro-ondes à 70 °C, le composé **35** est isolé avec un rendement de 75% (Schéma 14).

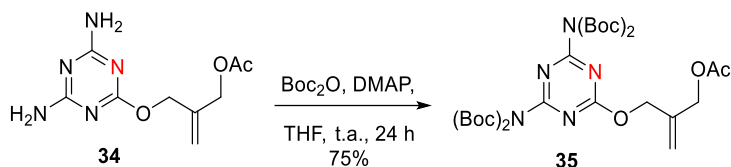


Schéma 14 : Protection des fonctions amines du composé **34**

Cette oléfine disubstituée est ensuite engagée dans la réaction de métathèse croisée qui est effectuée de la même façon que son analogue pyrimidique, en présence du catalyseur de NG-II dans le dichlorométhane pendant 24 h à 55 °C sous ultrasons ; le composé **36** est obtenu avec un rendement de 22% (Schéma 15). Le faible rendement s'explique par les trois azotes de la 1,3,5-triazine susceptibles de complexer/empoisonner le catalyseur au ruthénium. La réaction n'est pas stéréocontrôlée et conduit à un mélange $Z/E = 1:1$.

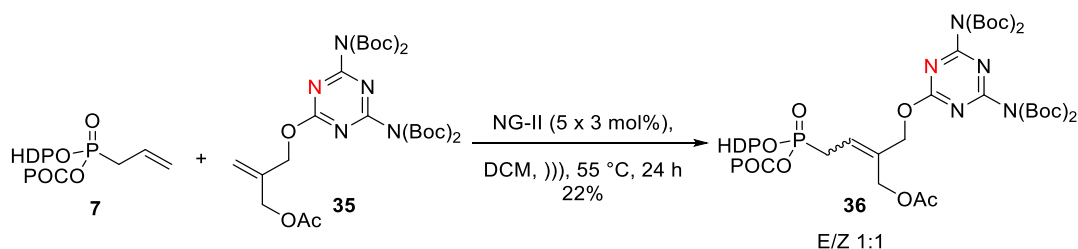


Schéma 15 : Couplage organométallique au ruthénium

Après clivage des groupements carbamates en milieu TFA/ CH_2Cl_2 (1:2), après 3 heures à température ambiante, le composé **37** est obtenu avec un rendement de 84% (Schéma 16).

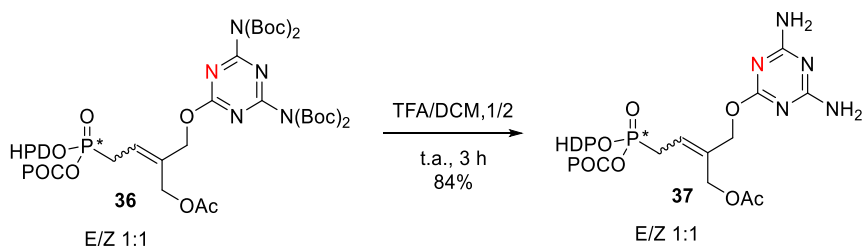


Schéma 16 : Clivage du groupement carbamates

En dépit de tous nos efforts, nous n'avons pas été en capacité de séparer les deux diastéréoisomères (E/Z) et ce mélange a été envoyé pour évaluation biologique. En cas de résultats intéressants, de nouveaux travaux seront menés pour séparer ces isomères, peut-être via une dérivatisation ?

3.2.3 Préparation d'un analogue phosphoramidate de LAVR-289

Comme mentionné dans l'introduction, les pronucléotides de type phosphoramidate utilisant la technologie ProTides développée par le Pr. Christopher McGuigan ont montré leur succès à travers plusieurs médicaments (Sofosbuvir, Remdésivir ou le Tenofovir Alafénamide). Ces prodrogues permettent d'augmenter l'activité antivirale d'un nucléoside en augmentant sa biodisponibilité, $t_{1/2}$ vie mais aussi à repositionner des nucléosides sur de nouvelles applications thérapeutique (ex. : BVDU est un antiviral, et son analogue ProTide BVDUMP est un anticancéreux), mais aussi à révéler l'activité des nucléosides inactifs *per se*.

Il est à noter que l'introduction sur un nucléoside d'une fonction phosphoramidate ou phosphonoamidate introduit un nouveau centre de chiralité, celui du P qui peut être ainsi *Rp* et *Sp*. Si dans un premier temps, les évaluations biologiques peuvent se faire avec ce mélange *Rp* et *Sp*, en cas d'activité biologique d'intérêt, il peut être judicieux de séparer ces deux stéréoisomères. Dans les exemples précités (Sofosbuvir, Remdésivir ou Tenofovir anafénamide), la forme antivirale la plus active possède une chiralité de type *Sp*.

Il existe dans la littérature plusieurs précurseurs dont le phosphoramidate **40** qui est préparé par couplage du phosphorochloridate **39** avec le sel de l'ester de L-alanine **38** et qui est obtenu sous la forme d'un mélange 1:1 de diastéréoisomères *Rp* et *Sp*.^{102, 103} De manière plus intéressante, Ross et *al.*¹⁰⁴ ont préparé plusieurs réactifs phosphoramidates chiraux portant des phénols substitués qui agiraient comme groupes partants pendant l'étape de phosphorylation. Le phosphoramidate de pentafluorophénol **41** a été préparé par réaction du dichlorophosphate de phényle avec du chlorhydrate d'ester isopropylique de la L-alanine suivie par l'addition de pentafluorophénol (Schéma 17). Après filtration des sels, le solide brut a été trituré dans un mélange d'acétate d'éthyle à 20% dans des hexanes en solubilisant uniquement l'isomère *Sp* souhaité **43** (dr > 98%). Le réactif *p*-nitrophényl phosphoramidate **42** a été quant à lui préparé à partir du dichlorophosphate de phényle avec du chlorhydrate d'ester isopropylique de la L-alanine puis par l'addition de 4-nitrophényl (Schéma 17). A ce stade, deux cristallisations successives dans l'éther diisopropylique permettent d'isoler le réactif *Sp* **44** avec un rendement de 22% (dr > 96%). Dans la littérature, la stéréochimie du phosphore a été aussi déterminée par cristallographie aux rayons X.

¹⁰² C. Aesop, Discovery of the first C-nucleoside HCV polymerase inhibitor (GS-6620) with demonstrated antiviral response in HCV infected patients. *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 1812-1825.

¹⁰³ U. Pradere, C. Ethel, G. A. Steven, J. Coats, F. Amblard, R. F. Schinazi, Synthesis of nucleoside phosphate and phosphonate prodrugs. *Chem. Rev.* **2014**, 114, 18, 9154-9218.

¹⁰⁴ B. S. Ross, P. G. Reddy, H. R. Zhang, S. Rachakonda, M. J. Sofia, Synthesis of diastereomerically pure nucleotide phosphoramidates. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 20, 8311-8319.

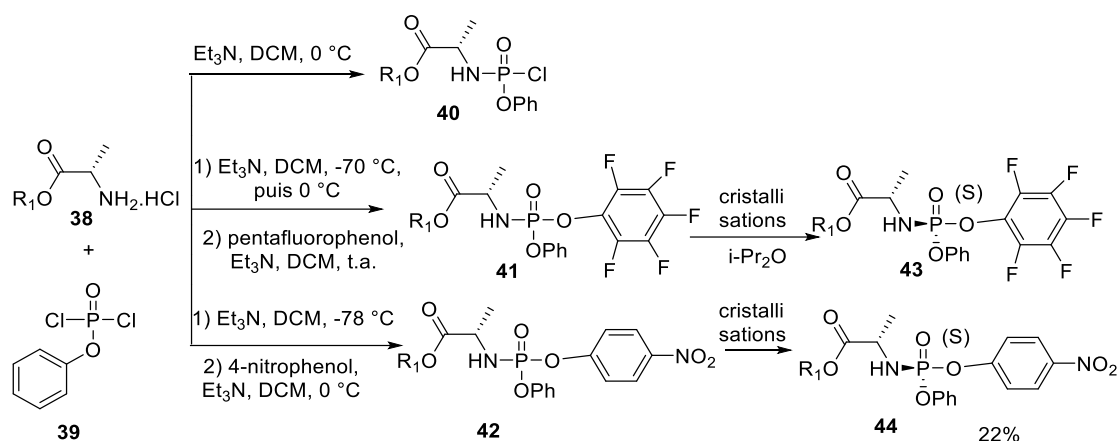


Schéma 17 : Préparation de synthon phosphoramidates

Les nucléosides aryloxyphosphoramidates sont généralement préparés par couplage des nucléosides parents avec les synthons phosphoramidates soit par activation de l'intermédiaire imidazolium avec NMI, soit par déprotonation en position 5' du nucléoside par du *t*BuMgCl et substitution nucléophile ultérieure par les synthons phosphoramidates.

- **Méthode au NMI:** Depuis la première utilisation du couplage médié par NMI pour la synthèse de la prodrogue aryloxyphosphoramidate de l'AZT par McGuigan *et al.*¹⁰⁵ en 1992, de nombreux pronucléotides ont été préparés avec succès par cette approche (Schéma 18).

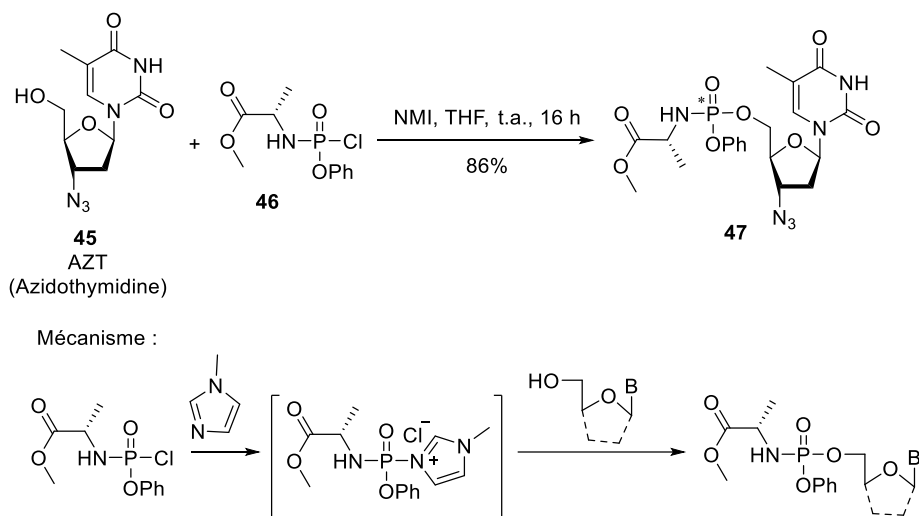
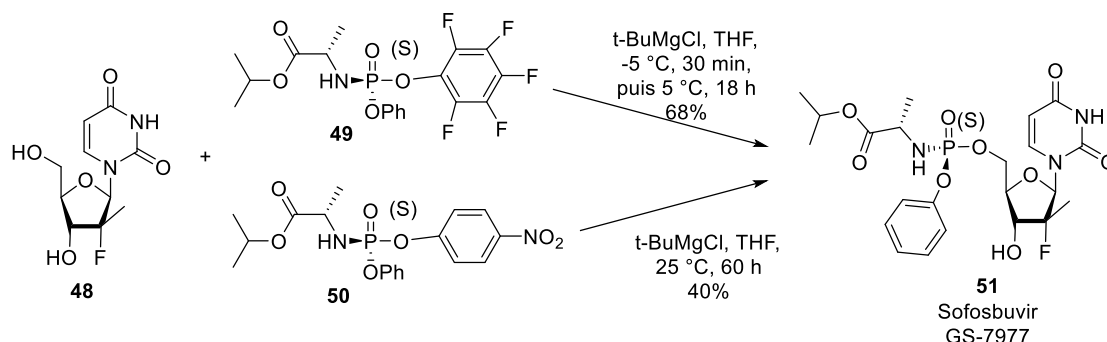


Schéma 18 : Préparation des prodrogues d'AZT avec la méthode au NMI¹⁰⁶

¹⁰⁵ C. McGuigan, R. N. Pathirana, N. Mahmood, K. G. Devine, A. J. Hay, Aryl phosphate derivatives of AZT retain activity against HIV-1 in cell lines which are resistant to the action of AZT. *Antiviral. Res.* **1992**, 17, 311.

¹⁰⁶ C. McGuigan, R. N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq, Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 1048.

- **Méthode au *t*BuMgCl**: la méthode utilisant le *t*BuMgCl comme réactif a été utilisée avec succès pour préparer de nombreux nucléosides phosphoramidates.¹⁰⁷ La synthèse du sofosbuvir **51**, présentée ci-dessous, en est un exemple récent. Le 2'-C-Me-2'-F-nucléoside **48** réagit avec 2,1 équiv de *t*-BuMgCl dans le THF anhydre puis est additionné à 1,2 équiv de phosphoramidate de pentafluorophénol **49** ou de *p*-nitrophényl phosphoramidate **50**. Après une agitation de 18 h à 5 °C (ou 60 h à 25 °C), la prodrogue désirée est obtenue avec un rendement de 68% (ou 40%), (Schéma 19). Dans le cas de l'utilisation du phosphoramidate de pentafluorophénol **49**, un travail à basse température (-5 °C) et une addition lente du réactif diminueraient la formation de produits secondaires, 3' et 5'-biphosphorylés. *Il est important de noter que ces conditions maintiennent une excellente diastéréosélectivité, c.a.d., peu ou pas de racémisation au niveau de l'atome de phosphore chiral.*



Mécanisme :

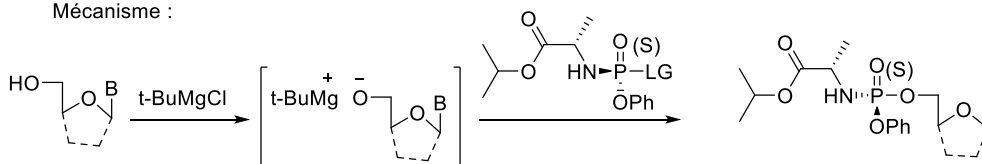


Schéma 19 : Synthèse du Sofosbuvir utilisant la méthode au *t*BuMgCl

Ces deux approches sont substrat-dépendantes, et il est donc très difficile de prédire *a priori* laquelle utiliser pour le meilleur résultat.

Plus récemment, Simmons *et al.*¹⁰⁸ ont développé une nouvelle méthodologie hautement diastéréo- et régiosélectives pour la préparation de nucléosides-5'-phosphoramidates, par utilisation d'un acide de Lewis. Le Tableau 4 compare ces divers couplages :

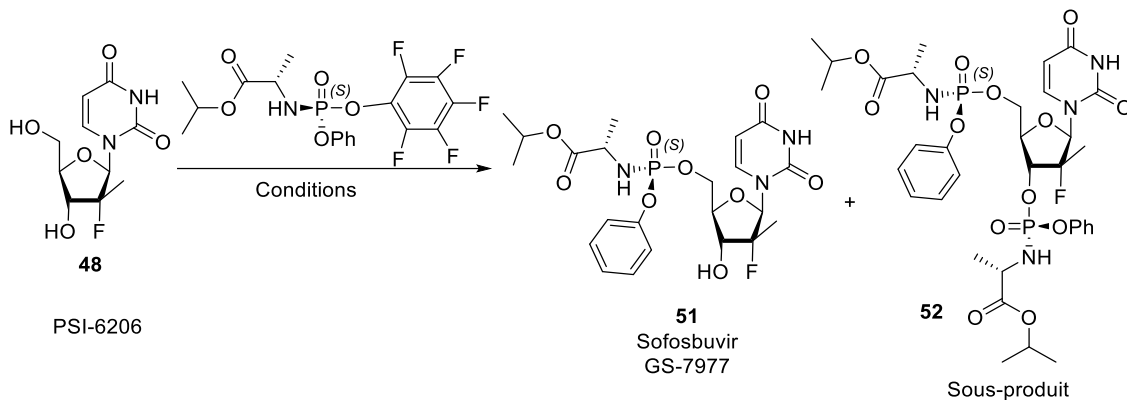
- ✓ **Entrée 1** : Le couplage du précurseur **48** avec le synthon phosphoramidate chiral **49** médié par 2,1 équiv de *t*-BuMgCl dans le THF à température ambiante conduit au sofosbuvir **51** avec un rendement 60% et à un sous-produit **52** (20%). La diastéréosélectivité (*S_p/R_p*) est de 298.
- ✓ **Entrée 2** : Une diminution de la température entre -5 °C et +5 °C limite la formation du sous-produit mais diminue aussi la diastéréosélectivité de cette réaction.

¹⁰⁷ M. Uchiyama, Y. Aso, R. Noyori, Y. Hayakawa, *O*-selective phosphorylation of nucleosides without *N*-protection. *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 373.

¹⁰⁸ B. Simmons, Z. Liu, A. Klapars, A. Bellomo, S. M. Silverman, Mechanism-based solution to the ProTide synthesis problem: selective access to Sofosbuvir, Acelarin, and INX-08189. *Org. Lett.* **2017**, 19, 2218– 2221.

- ✓ **Entrée 3** : L'utilisation de 0,5 équiv de chlorure de diméthylaluminium au sein de la pyridine permet l'obtention du sofosbuvir **51** avec 84% de rendement, mais surtout une excellente stéréosélectivité (S_p/R_p) de > 500 et régiosélectivité en faveur du 5'-OH.

Table 4 : Phosphorylation sélective en position 5' du composé **48**



Entrée	Conditions	Rendement		Diastereoselectivité (S_p/R_p)
		Sofosbuvir	Sous-produit	
1	2.1 équ. t-BuMgCl, THF, t.a	60%	20%	298
2	2.1 équ. t-BuMgCl, THF, -5 à 5°C	68%	8%	> 100
3	0.50 équ. Me ₂ AlCl, pyridine, t.a	84%	0.76%	> 500

La Figure 4 décrit cette approche en présence d'un acide de Lewis et le rôle de ce dernier dans la diastéréosélectivité et régiosélectivité obtenue.

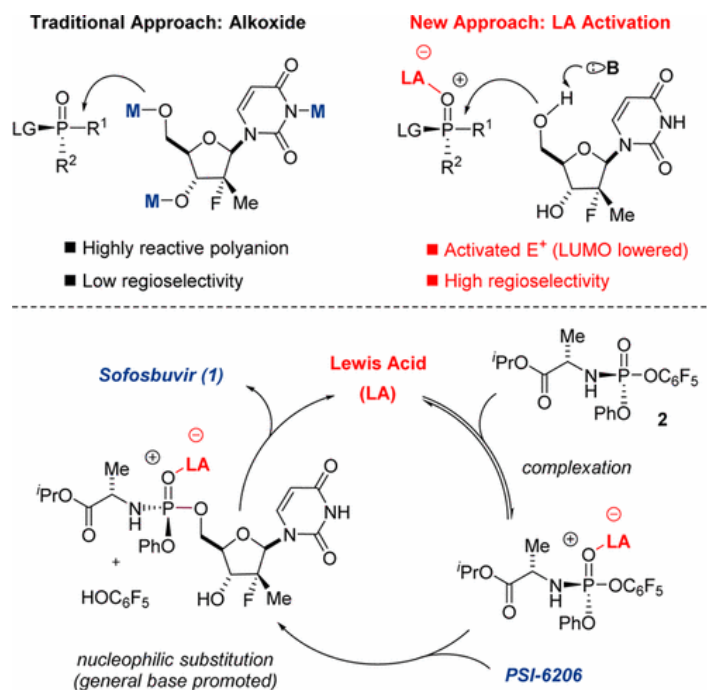


Figure 4 : Mécanisme de la phosphorylation avec l'acide de Lewis

Ainsi, pour préparer un analogue phosphoramidate du LAVR-289, nous avons tout d'abord préparé le (*E*)-4-(2,6-diaminopyrimidin-4-yl)oxybut-2-en-1-ol (**54**) ou son isomère (*Z*)-**56** à partir du 6-chloro-2,4-diaminopyrimidine et du but-2-en-1,4-diol, respectivement *E* ou *Z*, en présence de *tert*-butoxyde de sodium dans le *tert*-butanol pendant 24 h à 100 °C, avec un rendement similaire d'environ 65% (Schéma 20).

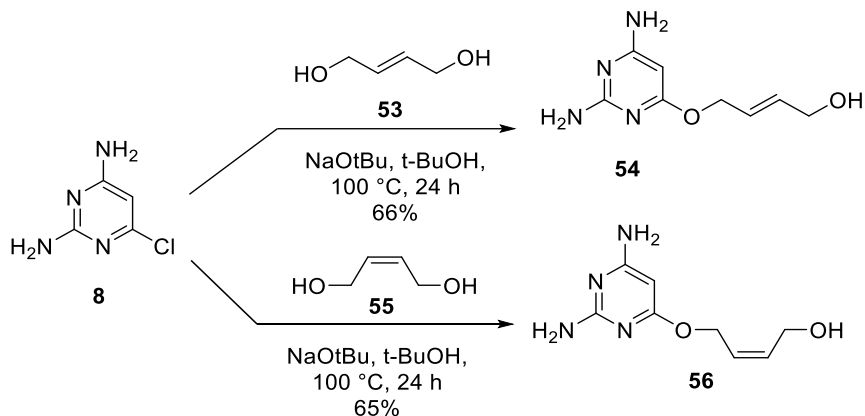


Schéma 20 : Synthèse des diaminomyrimidines de départ

Par la suite, nous avons préparé les deux phosphoramidates en utilisant la méthode au *t*BuMgCl choisie car nous n'avons pas de problème de régiosélectivité dans ces séries. Le couplage de ces précurseurs avec le phosphoramidate de pentafluorophénol **49** médié par 2,1 équiv. de *t*BuMgCl dans le THF anhydre pendant 22 h à température ambiante a donné les produits désirés **57** et **58**, respectivement avec un rendement de 74% et 72% (Schéma 21).

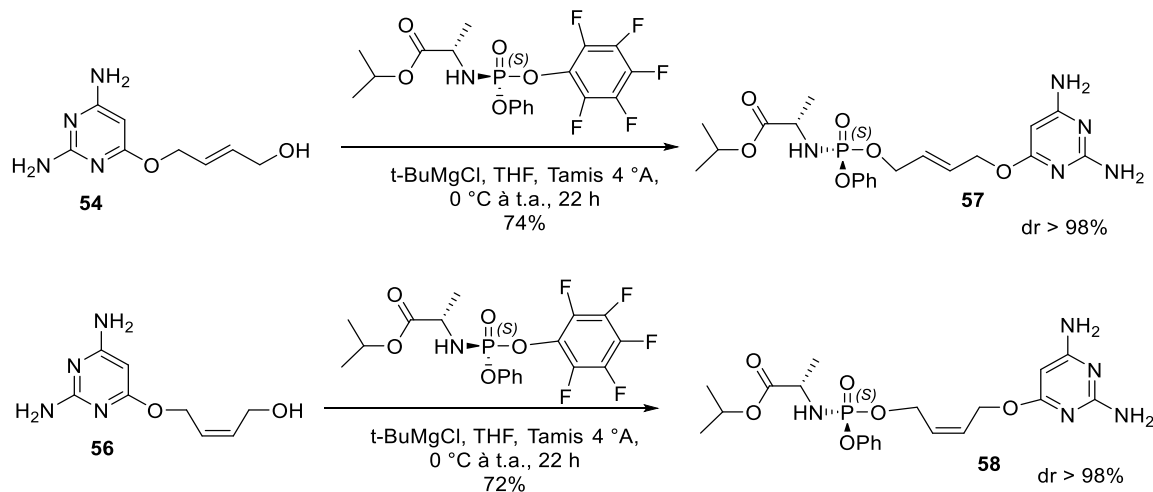


Schéma 21 : Synthèse d'analogues phosphoramidates du LAVR-289

3.3 Synthèse d'analogues phosphonoamidate du LAVR-289

3.3.1 Généralités

Les pronucléotides aryloxyphosphonoamidates sont généralement préparés par quatre méthodes différentes (Figure 5) :

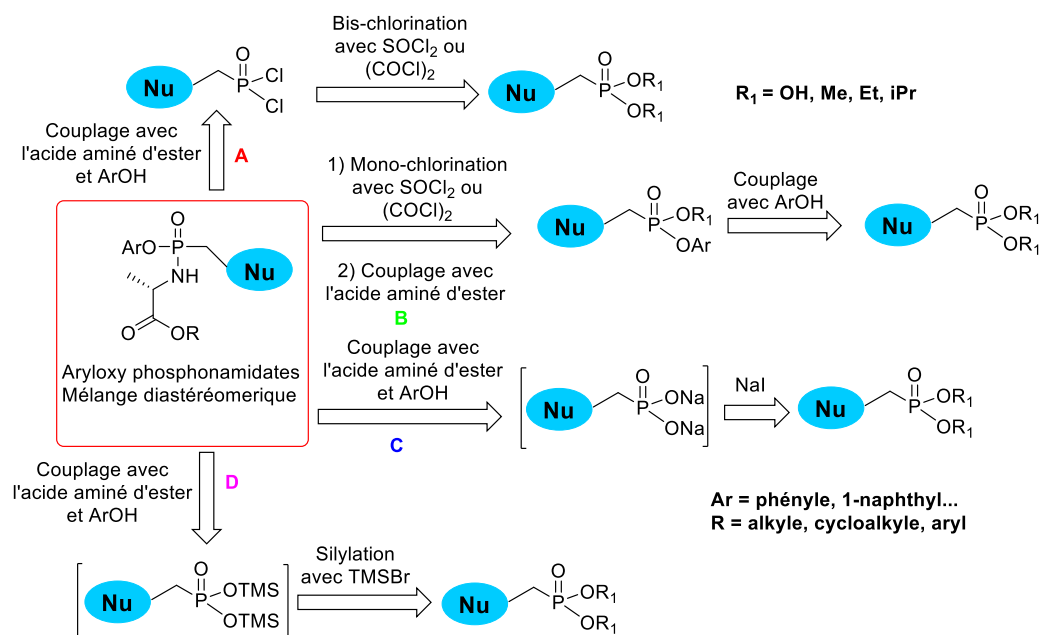


Figure 5 : Diverses rétrosynthèses pour la synthèse de phosphoramidates¹⁰⁹

- ✓ Par une bis-chloration avec SOCl_2 ou $(\text{COCl})_2$ et couplage avec des alcools aryliques et des esters d'acides aminés. Par exemple, Chapman *et al.*¹¹⁰ a proposé la synthèse du Ténofovir TAF **61** à partir du PMPA **59** à l'échelle du kilogramme (Schéma 22). Plutôt que de passer par une double substitution nucléophile successive, cette voie fait intervenir dans un premier temps un couplage à l'aide de dicyclohexylcarbodiimide en présence de triéthylamine. Une fois le monoacide phosphonique **60** obtenu, cette position est ensuite chlorée afin d'introduire l'ester d'alanine et aboutir au mélange d'isomères **61** avec un rendement d'environ 24% sur ces deux étapes. La faiblesse de cette stratégie synthétique se situe au niveau du rendement, étant donné que le PMPA se synthétise industriellement en 6 étapes avec un rendement global de 15%, conduisant après sa fonctionnalisation en phosphoramidate à un rendement de 3.5%.¹¹¹

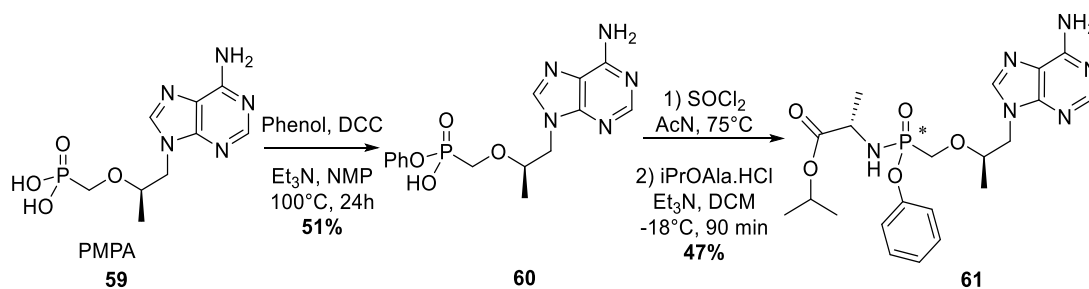


Schéma 22 : Synthèse du TAF **61** à partir du PMPA **59**

¹⁰⁹ M. Slusarczyk, M. Serpi, F. Pertusati, Phosphoramidates and phosphoramidates (ProTides) with antiviral activity. *Antivir. Chem. Chemother.* **2018**, 26, 2040206618775243.

¹¹⁰ N. Bischofberger, PMPA preparation, US-5733788-A, **1996**-07-26.

¹¹¹ C. Ballatore, C. McGuigan, E. De Clercq, J. Balzarini, Synthesis and evaluation of novel amidate prodrugs of PMEA and PMPA. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 1053–1056.

- ✓ Par couplage avec des alcools aryliques (1 équiv.) suivi d'une mono-chloration du nucléoside arylphosphonate et couplage subséquent par des esters d'acides aminés.
- ✓ Par activation avec NaI et puis couplage avec des alcools aryliques et des esters d'acides aminés¹¹².
- ✓ Par la réaction de McKenna utilisant du TMSBr et un couplage ultérieur avec des alcools aryliques et des esters d'acides aminés¹¹³ et appliquée aux nucléosides.¹¹⁴ Par exemple, le GS-9131 possède un profil thérapeutique très intéressant puisqu'étant efficace contre toutes les souches de HIV avec une activité de 3 nM sur les cellules primaires infectées par HIV ; il est 2000 à 3000 fois plus puissant que sous sa forme acide phosphonique. Sa synthèse (Schéma 23) part du dérivé **62** qui subit une désalkylation en présence de TMSBr dans CH₃CN et a ensuite donné le sel de sodium **63**. Enfin, le phosphonamide prodrogue GS-9131 a été préparé dans la condition basique en utilisant l'activation de la 2,2'-dithiodipyridine et de la triphénylphosphine suivie d'un traitement avec un mélange de phénol et de L-Alanine éthyl ester. Encore une fois, la limitation se situe au niveau du rendement, le GS-9131 est synthétisé en neuf étapes avec un rendement global de 4,2%.

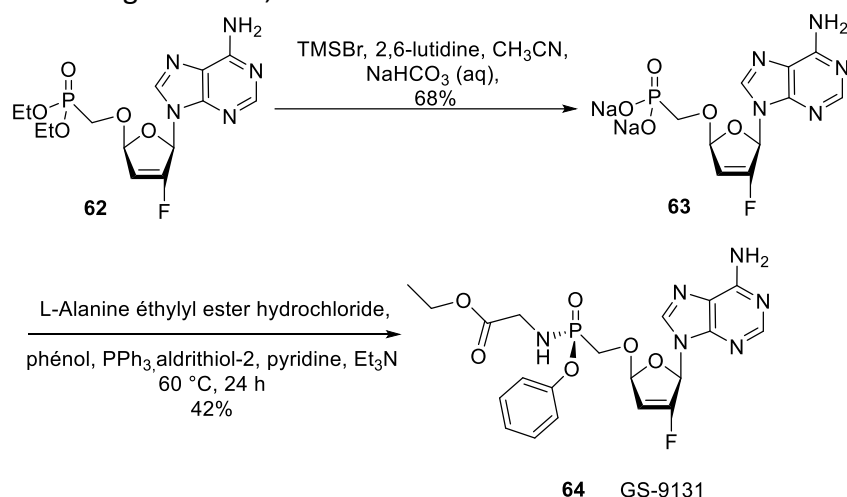


Schéma 23 : Synthèse du GS-9131

3.3.2 Quelques prodrogues ANPs de type phosphonoamidate

En ce qui concerne les prodrogues ANPs de type phosphonoamidate par la réaction de McKenna, F. Pertusati *et al.*¹¹⁵ ont appliqué la synthèse ProTides au *trans*-but-2-enyl thymine

¹¹² N. A. Lentini, C. H. C. Hsiao, G. B. Crull, A. J. Wiemer, D. F. Wiemer, Synthesis and bioactivity of the alanyl phosphonamide stereoisomers derived from a butyrophilin ligand. *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, 10, 9, 1284–1289.

¹¹³ S. Thatipally, V. Dammalapati, V. Kallam *et al.* An improved process for the preparation of tenofovir alafenamide or pharmaceutically acceptable salts thereof. WO2015040640 A3, PCT/IN2014/ 000614, **2015**.

¹¹⁴ P. Jansa, O. Baszczyński, M. Dračinský, I. Votruba, Z. Zidek, G. Bahador, Z. Janeba, A novel and efficient one-pot synthesis of symmetrical diamide (bis-amidate) prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates and evaluation of their biological activities. *Euro. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 3748–3754.

¹¹⁵ F. Pertusati, S. Serafini, N. Albady, R. Snoeck, G. Andrei, Phosphonoamidate prodrugs of C5-substituted pyrimidine acyclic nucleosides for antiviral therapy. *Antiviral Research* **2017**, 143, 262–268.

65 dont nous avons décrit les premiers la synthèse (Schéma 24). Divers analogues phosphonoamidates **67** ont ainsi été obtenus avec des rendements faibles allant de 2% à 18%, ce qui en fait le principal handicap de cette approche linéaire.

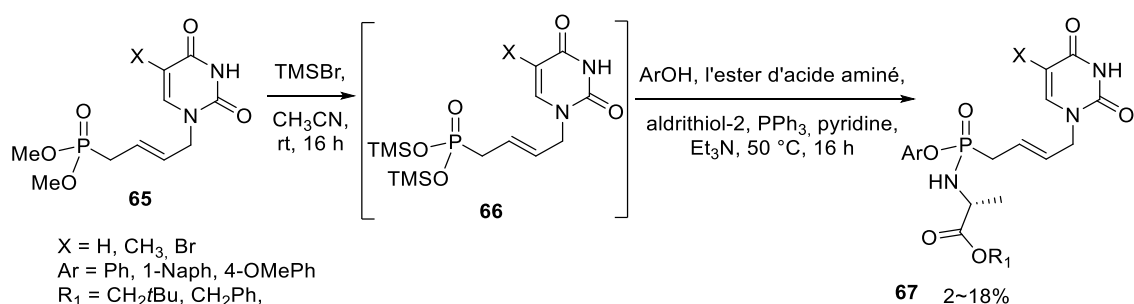


Schéma 24 : Synthèse du (*E*)-but-2'-enyl pyrimidine ProTide *via* l'ester de bis triméthylsilyle

En 2018, notre équipe¹¹⁶ a développé une approche convergente d'obtention des (*E*)-but-2-énylnucléosides phosphonoamidates en utilisant la métathèse croisée d'oléfines, dans l'eau et sous ultrasonication avec le catalyseur de NG-II. Divers analogues **70** substitués en C-5 par Me, F, Cl ont alors été isolés avec de meilleurs rendements de 35 à 44% (Schéma 25).

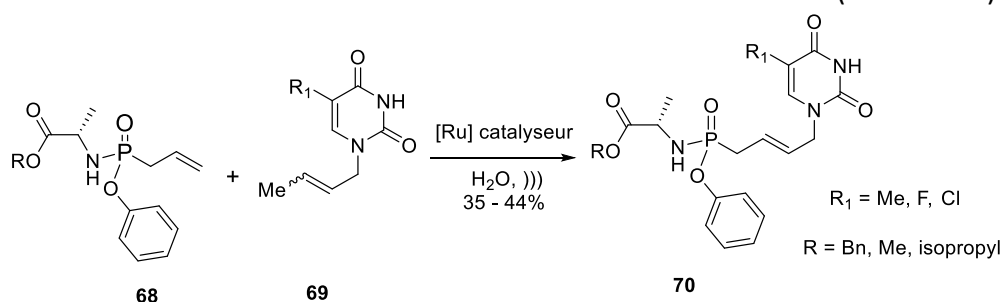


Schéma 25 : Travaux antérieurs de notre équipe

Notre approche a alors été utilisée par Pertusati et *al.*¹¹⁷ pour la synthèse de divers (*E*)-but-2-énylnucléoside phosphonoamidates, composés possédant des activités anti-tumorales intéressantes (Schéma 26).

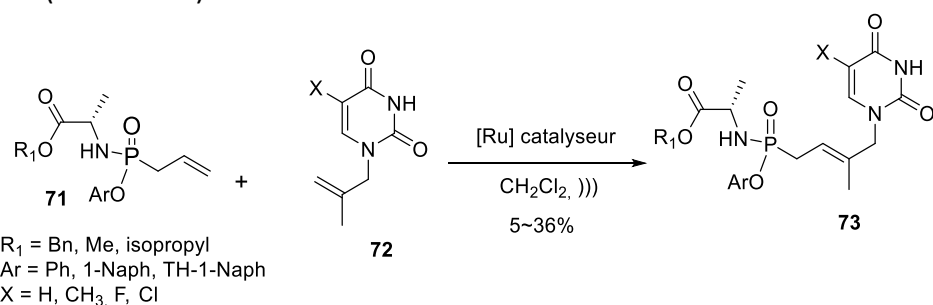


Schéma 26 : Synthèse du (*E*)-but-2'-enyl pyrimidine ProTide *via* la métathèse croisée

¹¹⁶ M. Bessières, V. Hervin, V. Roy, A. Chartier, R. Snoeck, G. Andrei, J. F. Lohier, L. A. Agrofoglio, Highly convergent synthesis and antiviral activity of (*E*)-but-2-enyl nucleoside phosphonoamidates. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 146, 678–686.

¹¹⁷ E. Pileggia, M. Serpia, G. Andreib, D. Scholsb, R. Snoeckb, F. Pertusatia, Expedient synthesis and biological evaluation of alkenyl acyclic nucleoside phosphonate prodrugs. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, 26, 3596–3609.

3.3.3 Synthèse de divers analogues du LAVR-289 de type phosphonoamidate

Sur la base des travaux précédents, nous nous sommes intéressés à synthétiser divers analogues du LAVR-289 sous la forme de phosphonoamidates et possédant une nucléobase de type 1,4-diaminopyrimidine (Figure 6).

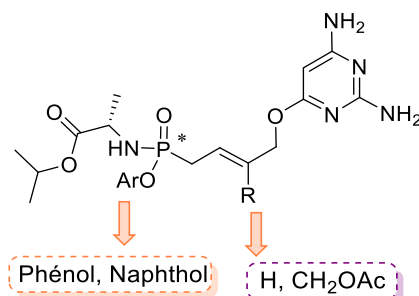


Figure 6 : Modèle de molécules à synthétiser

3.3.3.1 Rétrosynthèse

La formation des phosphonoamidates **74** peut être effectuée par une réaction de métathèse croisée entre des précurseurs **75** et un synthon allylé portant les groupements biolabiles **76** provenant du diméthoxyallylphosphonate **5**, (Schéma 27).

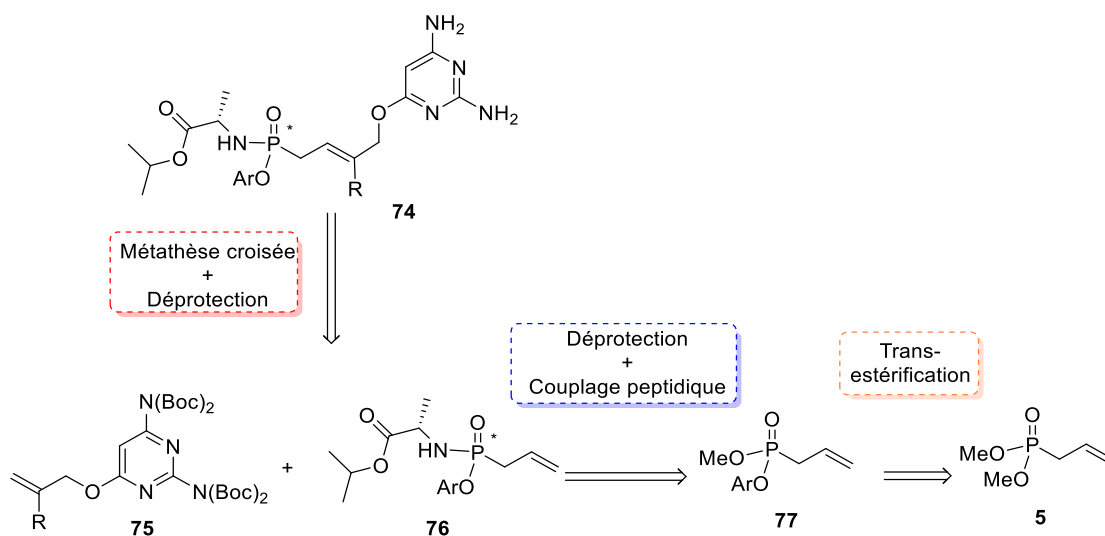


Schéma 27 : Rétrosynthèse proposée

3.3.3.2 Synthèse

Partant du diméthylallylphosphonate **5**, nous avons mis au point deux conditions de transestérification sur le phosphonate, (Schéma 28):

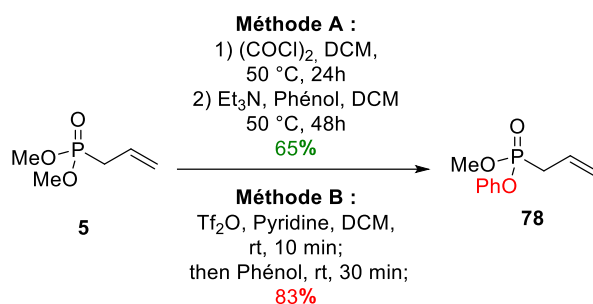


Schéma 28 : Transestérification du diméthylallylphosphonate

La première méthode utilise le chlorure d'oxalyle pour générer un intermédiaire chloré qui sera alors déplacé par le phénol en milieu basique. Le produit **78** est isolé avec 65% de rendement (sur deux étapes).^{118, 119} La deuxième méthode passe par l'utilisation de l'anhydride triflique (Tf₂O) dont le mécanisme est proposé ci-dessous (Schéma 29).¹²⁰ Le diméthylallylphosphonates **5** est d'abord activé par Tf₂O à température ambiante. L'oxygène terminal du phosphonate **5** subit l'attaque de Tf₂O et conduit à un intermédiaire phosphonium I, qui serait ensuite converti en intermédiaire phosphonate II TfO-substitué par réaction de substitution nucléophile SN1. La pyridine attaque alors l'intermédiaire II qui est transformé en pyridinium phosphonate intermédiaire III hautement réactif. Enfin, l'intermédiaire III réagit avec le phénol par une réaction de substitution pour donner le methoxyphenoxy allylphosphonate **78** souhaité avec un rendement de 83%. De ces deux méthodes, la seconde est une approche plus économique et préférée pour générer des phosphonates mixtes dans des conditions de réaction douces.

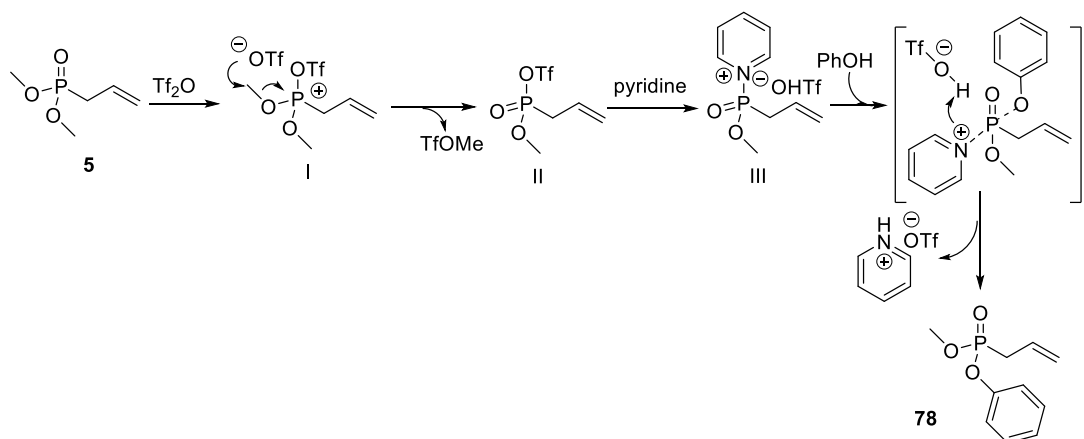


Schéma 29 : Mécanisme proposé

¹¹⁸ J. J. Colton, D. T. Yin, P. Grochulski, R. J. Kazlauskas, Molecular Basis of Chiral Acid Recognition by Candida rugosa Lipase: X-Ray Structure of Transition State Analog and Modeling of the Hydrolysis of Methyl 2-Methoxy-2-phenylacetate. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, 353, 2529–2544.

¹¹⁹ X. Li, D. Zhang, H. Pang, F. Shen, H. Fu, Y. Jiang, Y. Zhao, Synthesis of a Diverse Series of Phosphacoumarins with Biological Activity. *Org. Lett.* **2005**, 7, 4919–4922.

¹²⁰ H. Huang, J. Denne, C. H. Yang, H. Wang, J. Y. Kang, Direct Aryloxylation/Alkyloxylation of Dialkyl Phosphonates for the Synthesis of Mixed Phosphonates. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2018**, 57, 6624–6628.

Une fois la mono transestérification effectuée, l'intermédiaire **78** est couplé avec la L-Alanine isopropyl ester par (1) une hydrolyse du groupement méthoxy, suivi d'un couplage peptidique avec cet acide aminé ou (2) par addition sur **78** du bromotriméthylsilane dans l'acétonitrile (Schéma 30). Après 24 heures de réaction à température ambiante, le produit **79** est isolé avec un excellent rendement de 91%. Une fois cette espèce obtenue, un couplage peptidique est alors effectué et le composé désiré **80** est obtenu sous forme de diastéréoisomères (chiralité du P) avec un rendement de 63%.¹²¹

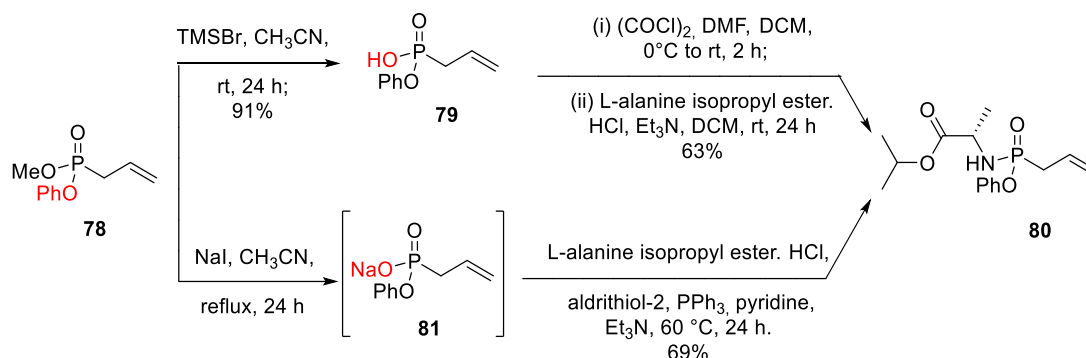
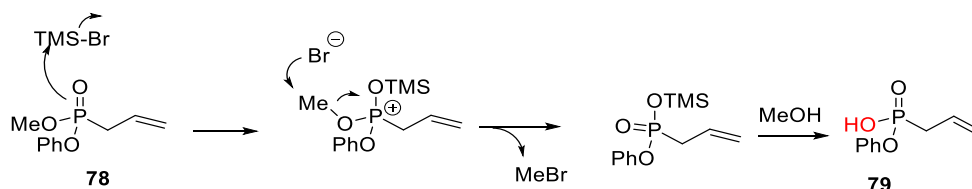


Schéma 30 : Chemin synthétique visant l'obtention du phosphonamide **80**

Les deux mécanismes rendant-compte de la déprotection du méthyl ester du phosphonate **78** par la réaction de McKenna sont présentés ci-dessous (Schéma 31).¹²² Il est important de noter qu'à la fin de la réaction, l'excès de TMSBr est coévaporé avec par addition de MeOH.

Mécanisme 1:



Mécanisme 2 :

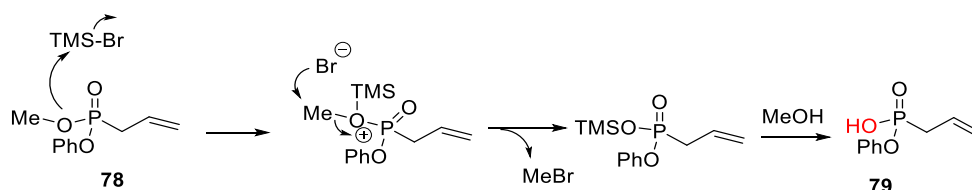


Schéma 31 : Mécanisme de déprotection d'un alkoxyphosphonate par la réaction de McKenna

¹²¹ D. Sikora, T. Nonas, T. Gajda, O-Ethyl 1-azidoalkylphosphonic acids versatile reagents for the synthesis of protected phosphonamide peptides. *Tetrahedron* **2001**, 57, 1619–1625.

¹²² C. E. McKenna, M. T. Higa, N. H. Cheung, M. C. McKenna, The facile dealkylation of phosphonic acid oialkyl esters by bromotrimethylsilane. *Tetrahedron Lett.* **1977**, 18, 155-158.

La deuxième approche¹²³ utilisant du NaI dans l'acétonitrile conduit au clivage sélectif du méthoxyphosphonate **78** en sel de sodium **81** qui est immédiatement dissout dans un mélange de pyridine/Et₃N puis couplé à la L-alanine, en présence du phénol, de PPh₃ et d'aldrithiol-2 dans la pyridine. Après 24 h à 60 °C, le composé **80** est obtenu sous forme de diastéréoisomères avec un rendement de 69%. Cette deuxième voie est plus efficace et plus courte et est donc préférée. Le Schéma 32 ci-dessous rappelle le mécanisme du couplage peptidique entre le phosphonate **81** et la L-Alanine isopropyl ester.¹²⁴

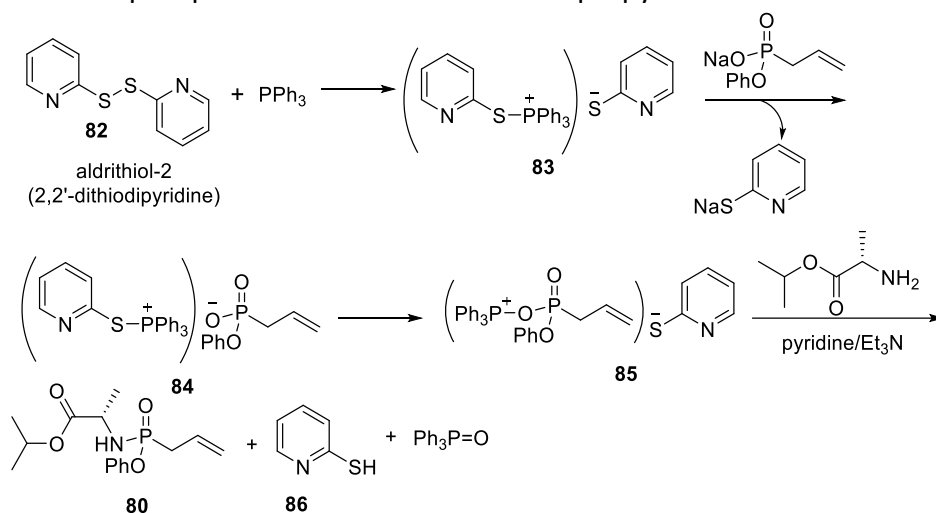


Schéma 32 : Mécanisme proposée

Récemment, le groupe de Pertusati¹¹⁷ a publié une synthèse rapide, one-pot d'allylphosphonoamidates. Cette méthodologie offre une stratégie de gain de temps par rapport aux méthodes précédentes. En bref, le diméthylallylphosphonate **5** commercial est converti en ester triméthylsilylique **87** par une réaction mettant en jeu un excès de bromotriméthylsilane et en présence de 2,6-lutidine comme capteur de l'acide bromhydrique généré par l'hydrolyse de l'excès de TMSBr utilisé. Des conditions rigoureusement anhydres doivent être respectées. En raison de l'instabilité hydrolytique de cet ester, le composé **87** n'est pas isolé et immédiatement dissout dans une solution de pyridine/Et₃N à laquelle est ajoutée le L-Alanine isopropyl ester, un excès de phénol, une solution de PPh₃ et d'aldrithiol-2 dans la pyridine. L'aryloxy allylphosphonoamidate synthon **80** est obtenu sous forme de diastéréoisomères (chiralité du P) avec un rendement de 55% (Schéma 33).

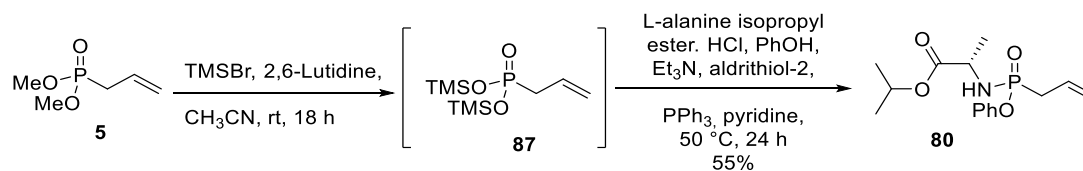


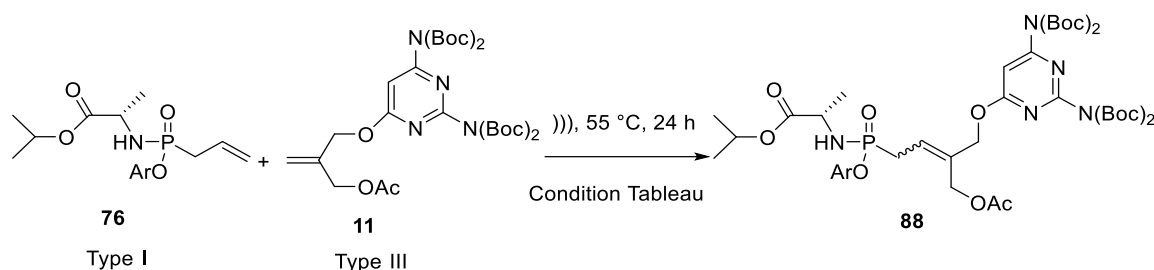
Schéma 33 : Chemin synthétique visant l'obtention du phosphonamide **80**

¹²³ N. A. Lentini, C. H. C. Hsiao, G. B. Crull, A. J. Wiemer, D. F. Wiemer, Synthesis and bioactivity of the alanyl phosphonamide stereoisomers derived from a butyrophilin ligand. *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, 10, 9, 1284–1289.

¹²⁴ T. Mukaiyama and M. Hashimoto, Phosphorylation of alcohols and phosphates by oxidation-reduction condensation. *Bull. Chem. Soc. Japan* **1971**, 44, 196-199.

Nous avons alors effectué divers essais de métathèse croisée entre l'allylphosphonamidate **76** où R = 1-naphtol ou le phénol et le dérivé **11** (Tableau 5) dans des conditions similaires à celles précédemment décrites.

Tableau 5 : Essais de métathèse croisée entre le composé **11** et l'allylphosphonamidate **76**



Entrée	Ar	Solvant	Equivalents (Phosphonate - Nucleobase)	Catalyseur (5 x 3 mol%)	Rendement
1	1-Naphtol	H ₂ O	1 - 2	NG-II	/
2	1-Naphtol	H ₂ O	1 - 2	HG-II	/
3	1-Naphtol	CH ₂ Cl ₂	1 - 2	NG-II	/
4	1-Naphtol	CH ₂ Cl ₂	1 - 2	HG-II	/
5	1-Naphtol	CH ₂ Cl ₂	2 - 1	NG-II	/
6	1-Naphtol	CH ₂ Cl ₂	2 - 1	HG-II	/
7	Phénol	H ₂ O	1 - 2	NG-II	/
8	Phénol	CH ₂ Cl ₂	1 - 2	NG-II	/

Cependant, quelque soit les conditions, catalyseur de Nola-Grubbs (entrée 1) ou d'Hoveyda-Grubbs (entrée 2, solvant [eau (entrées 1 et 2) ou dichlorométhane (entrées 3-6)] qui influe sur la réactivité du système catalytique), ou le choix d'aryloxy [1-naphtol (entrées 1-6) ou phénol (entrée 7,8)], nous n'avons jamais été en mesure d'obtenir le composé **88** désiré.

Nous avons émis comme première hypothèse que ce manque de réactivité pouvait venir de l'utilisation d'oléfines peu réactives, dans le modèle empirique de Grubbs. En effet, les oléfines de type II sont plus réactives que celles de type III (dont le composé **11**) ; nous sommes ainsi partis de différents précurseurs pour améliorer la réactivité du système. Ainsi, le dérivé 6-(but-2-énoxy)pyrimidine-2,4-diamine protégé **90** (oléfine de type II) est préparé en appliquant la même méthode que précédemment décrite : la 6-chloro-1,4-pyrimidine **8** subit une S_NAr par du crotyl alcool en présence de *tert*-butoxyde de sodium dans le *tert*-butanol pendant 24 h à 100 °C. Les fonctions amines de **89** sont alors protégées à l'aide du *tert*-butoxycarbonyl conduisant à l'oléfine **90** désirée, (Schéma 34).

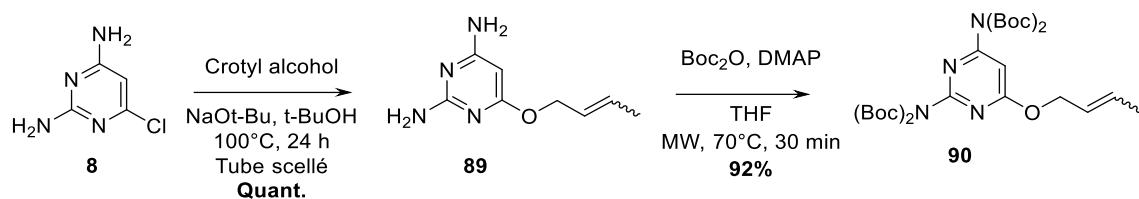
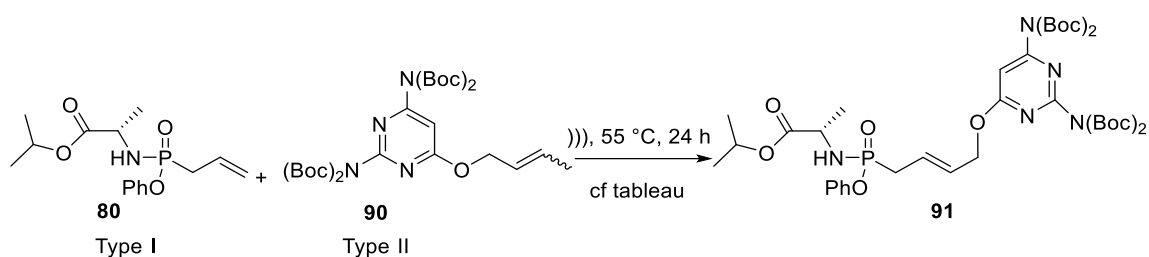


Schéma 34 : Préparation du dérivé **90** possédant un crotyl éther

La réaction de métathèse croisée est alors appliquée entre ces deux oléfines de réactivités améliorées **80** et **90** (Tableau 6). Cependant, ici aussi, nous n'avons pas été en mesure de détecter la formation du phosphonoamidate **91** souhaité !

Tableau 6 : Essais de métathèse croisée entre la crotylpyrimidine **90** et le phosphonoamidate **80**



Entrée	Solvant	Equivalents (Phosphonate - Nucleobase)	Catalyseur (5 x 3 mol%)	Rendement
1	H ₂ O	1 - 2	HG-II	/
2	H ₂ O	1 - 2	NG-II	/
3	CH ₂ Cl ₂	1 - 2	HG-II	/
4	CH ₂ Cl ₂	1 - 2	NG-II	/

Nous avons alors supposé comme deuxième hypothèse que l'acide aminé présent pouvait soit empoisonner le catalyseur au ruthénium (métal alkylidène), soit de part l'encombrement stérique induit empêcher la formation des métallocyclobutanes, intermédiaires réactionnels du cycle catalytique des oléfination par métathèse croisée.

Pour contourner cette difficulté, nous avons alors décidé d'effectuer la réaction de métathèse croisée avant de réaliser le couplage peptidique. Ces réactions ont alors été réalisées dans le CH₂Cl₂ en présence de 15 mol% de catalyseur de NG-II. Après 24 heures sous sonication à 55 °C, le composé désiré **92** est produit avec un bon rendement de 66%. Une analyse RMN montre très clairement qu'il s'agit du seul isomère *E*. Dans des conditions similaires, le composé **93** est obtenu avec un rendement de 62%, sous la forme d'un mélange de stéréoisomères *Z/E* 1:1 non séparables, (Schéma 35).

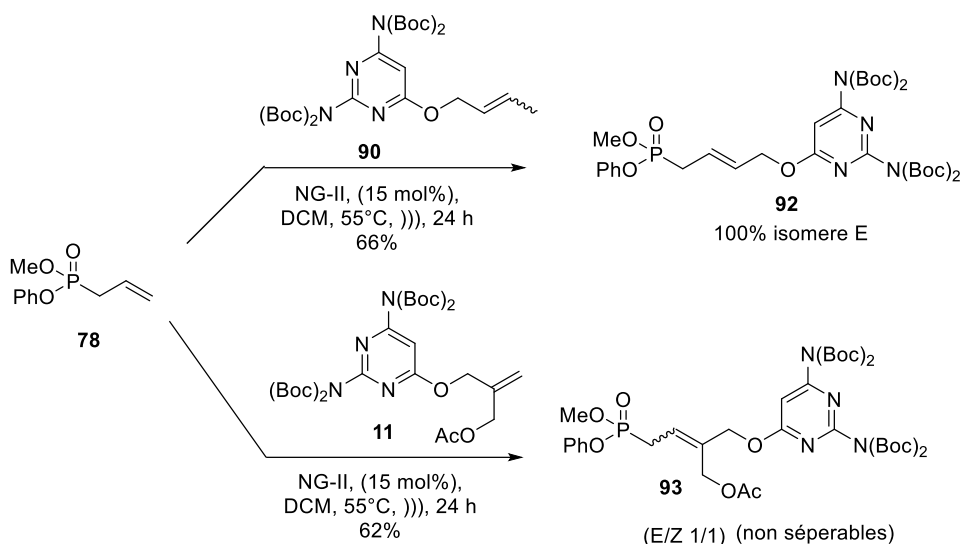


Schéma 35 : Métathèse croisée entre le phosphonate **78** et les dérivés **90** et **93**

De plus, l'analyse par RMN du composé **93** met en évidence la présence d'un mélange équivalent des deux isomères de l'alcène $Z/E = 1:1$. La présence de ces deux isomères est indiquée par des analyses 2D HMBC et NOESY (Figure 7). La NOESY (couplage proton-proton dans l'espace), nous a permis de visualiser le couplage entre les protons en α de la double liaison : du côté du phosphore ($\text{CH}_2\text{-P}$), de la 2,4-diaminopyrimidine ($\text{CH}_2\text{-ODAPY}$) et de l'acétate ($\text{CH}_2\text{-OAc}$). Les analyses ^1H , ^{13}C et HMBC ont conjointement permis d'attribuer avec précision chaque atome sur le spectre. Enfin, l'analyse NOESY a permis de confirmer ces structures, par la visualisation de deux signaux corrélés entre les protons situés en α du phosphore et les CH_2 pour chaque isomère (Schéma 36).

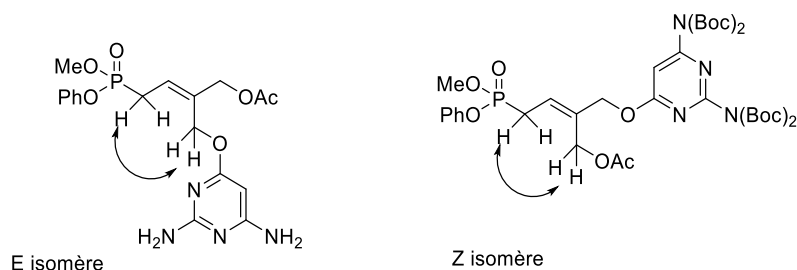


Schéma 36 : Corrélation NOESY permettant de distinguer les stéréoisomères Z et E

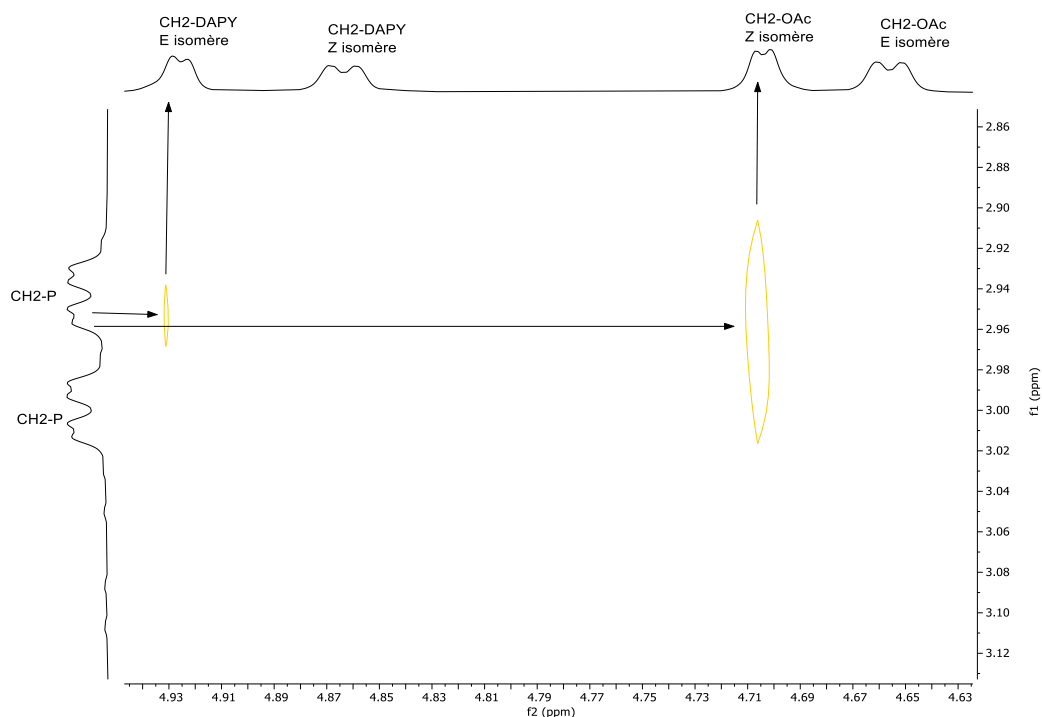


Figure 7 : Spectre RMN NOESY du composé **93**

Nous avons alors réalisé divers essais de couplage peptidique entre les phosphonates **92** et **93** ainsi obtenus et la L-alanine isopropyl ester (Schéma 37) dans les conditions précitées. Cependant, après 24 h à 60 °C, aucune trace des composés désirés **95** ou **96** n'a été observée.

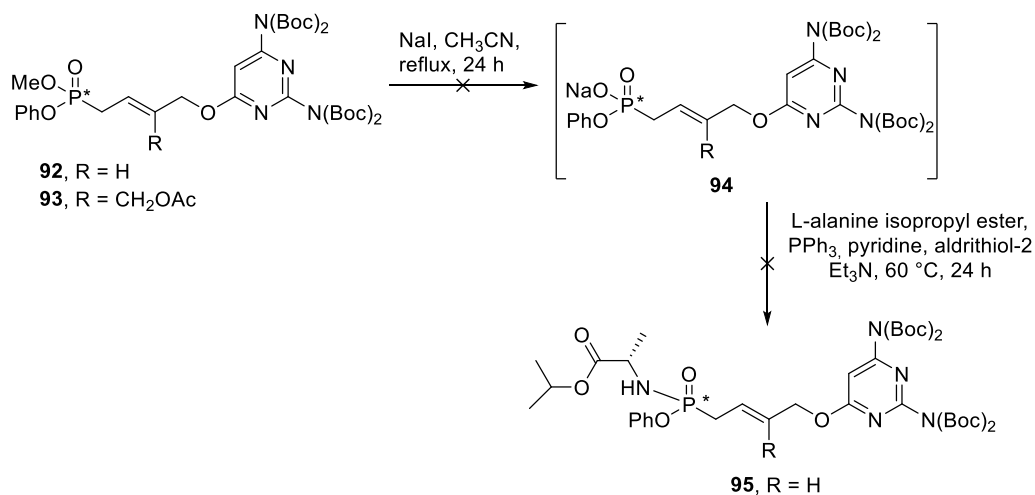


Schéma 37 : Essai de couplages peptidiques

3.3.4 Synthèse d'ANPs oléfiniques de type phosphonoamidates possédant une thymine

Face aux difficultés rencontrées, nous avons supposé que dans l'approche précédente, l'échec du couplage peptidique était lié à la 2,4-diaminopyrimidine protégée, et nous avons alors

réalisé la synthèse d'analogues substitués par une thymine (liée par une *N*-alkylation) en place de cet hétérocycle (lié par une *O*-alkylation). La rétrosynthèse envisagée (Schéma 38) introduit l'acide aminé à la fin de la synthèse ; la thymine est introduite dans des conditions de Mitsunobu à partir du synthon hydroxylé **99** obtenu par une déprotection enzymatique du diacétate **100**. **100** peut provenir d'une réaction de métathèse croisée des oléfines **101** et **102**.

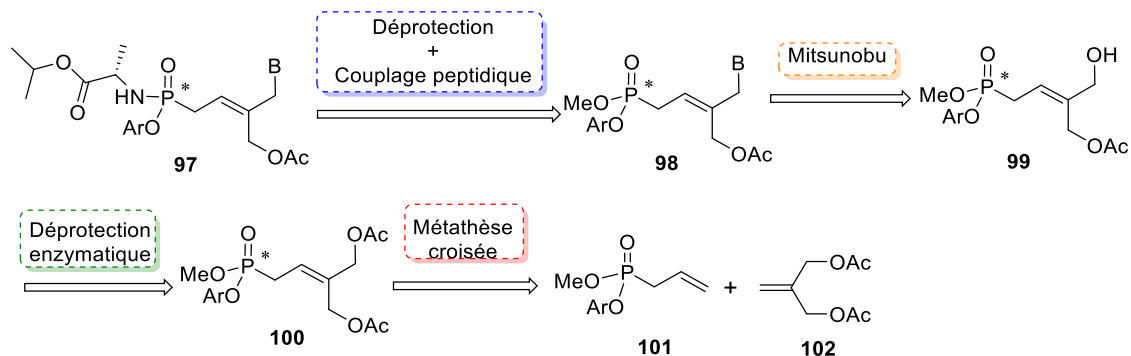


Schéma 38 : Nouvelle rétrosynthèse envisagée

3.3.4.1 Synthèse

Ainsi, le diacétate **102** est obtenu à partir du diol commercial **103** par une acétylation chemoenzymatique au moyen de la lipase B de *Candida Antarctica* (CAL-B), (Schéma 39). Cette procédure permet d'isoler quantitativement le produit **102** par simple filtration de la lipase et évaporation du solvant.

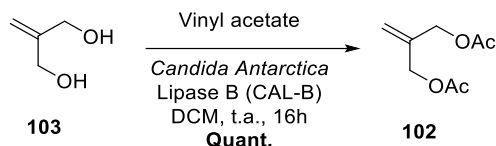


Schéma 39 : Synthèse de l'intermédiaire oléfinique diacétate

Par la suite, l'aryllallylphosphonate **104** subit une réaction de métathèse croisée avec le diacétate **102** en présence de 6 mol% du catalyseur de Nolan-Grubbs II, sous ultrasons pendant 20 h au reflux du dichlorométhane pour conduire à **105** avec un bon rendement de 88%. La déacétylation du composé **105** ainsi formé se fait par voie enzymatique, en présence de 50% w/w de la lipase B de *Candida Antarctica*, et le phosphonate **106** est obtenu avec un rendement de 52% (Schéma 40). L'analyse RMN permet de déterminer la configuration absolue de l'alcène, ici *Z*.

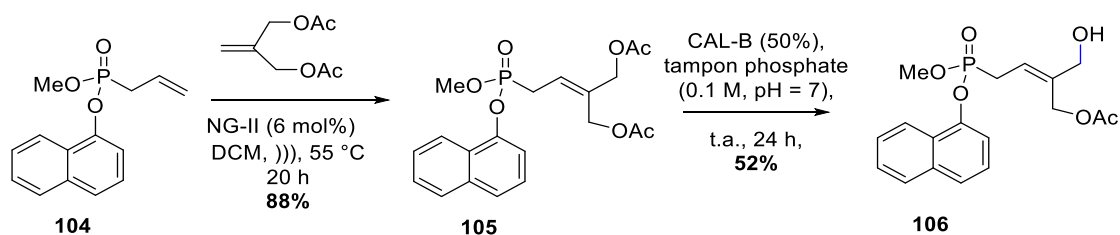


Schéma 40 : Métathèse puis déacétylation enzymatique

Pour introduire la thymine dans des conditions de Mitsunobu, il est préférable de protéger la fonction N^3 (par un Bz ou un Boc) pour limiter la formation de produits secondaires et faciliter les purifications. La thymine **107** est dibenzoylée en N^1 et N^3 par utilisation d'un excès de chlorure de benzoyle dans un mélange ACN/pyridine (Schéma 41).¹²⁵ Le produit **108** obtenu est alors ensuite sélectivement déprotégé en N^1 par un traitement avec une solution aqueuse de carbonate de potassium dans le 1,4-dioxane à 70 °C pendant 2 h. Après traitement, le produit **109** est obtenu avec un rendement de 96 %.

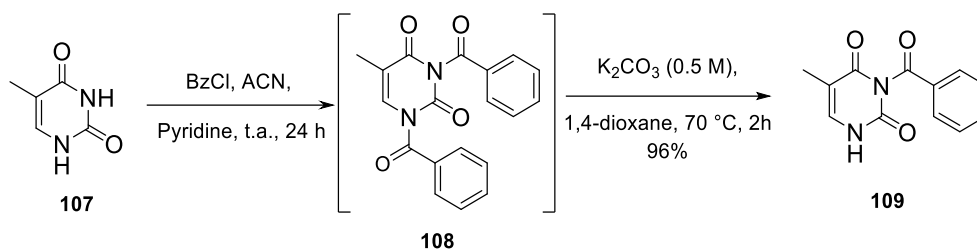


Schéma 41 : N^3 -Benzoylation de la thymine

En 2014, notre équipe a mis un point une méthode pratique pour protéger sélectivement des nucléobases pyrimidiniques en position N^3 par du Boc ; la thymine est d'abord entièrement protégée en N^1 et N^3 par un excès du dicarbonate de *tert*-butyle (Boc_2O) et 0,35 équivalent de 4-*N,N*-(diméthylamino) pyridine (DMAP) dans le THF sous micro-ondes à 70 °C. La déprotection sélective de la position N^1 par traitement avec SiO_2 dans du diéthoxyméthane / éthanol (9:1) conduit au composé souhaité **111** avec un rendement de 95% (Schéma 42).¹²⁶

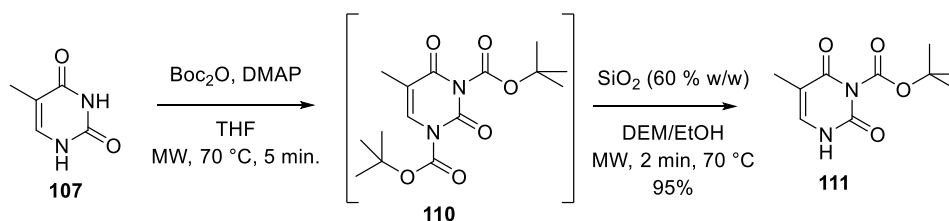


Schéma 42 : Protection sélective de la thymine en position N^3

La thymine ainsi protégée réagit avec l'alcool allylique **106** dans des conditions de Mitsunobu, (*i.e* en présence de triphénylphosphine et de DIAD, à reflux du THF anhydre pendant 24 h) pour donner les produits **112** et **113**, respectivement, avec des rendements modérés de 36% et 48% (Schéma 43).

¹²⁵ M. Frieden, M. Giraud, B. C. Reese, Q. Song, Synthesis of 1-[*cis*-3-(hydroxymethyl)cyclobutyl]-uracil, -thymine and -cytosine. *J. Chem. Soc.* **1998**, 1, 2827-2832.

¹²⁶ M. Bessières, V. Roy, L. A. Agrofolio, A convenient, highly selective and eco-friendly N-Boc protection of pyrimidines under microwave irradiation. *RSC Adv.* **2014**, 4, 59747–59749.

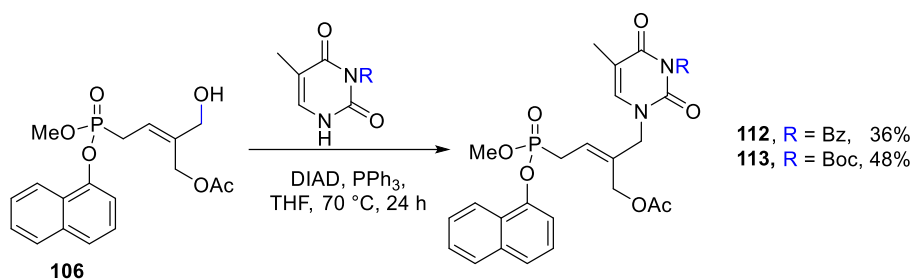


Schéma 43 : Couplage de Mitsunobu

La déprotection du groupe benzyle par traitement avec de l'ammoniac méthanolique a conduit à la formation « prévisible » du diène **114** (Schéma 44). Le groupe Bz n'est ainsi pas adapté à cette synthèse.

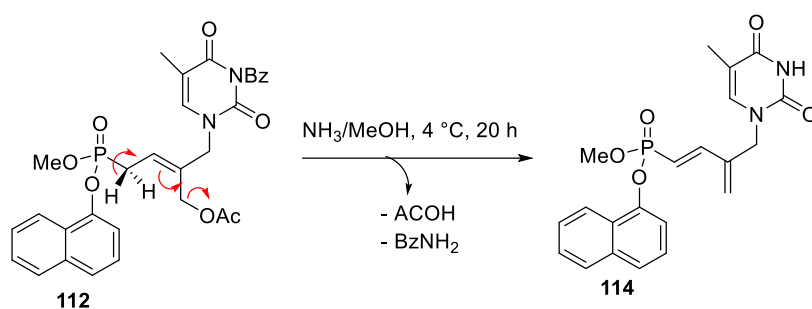


Schéma 44 : Déprotection en conditions basiques

Enfin, faute de temps, nous n'avons pas été en mesure d'explorer les premiers essais de couplage de la L-alanine sur le phosphonate **115**; en effet, la monodéprotection de **113** par du TMSBr n'a pas été concluante (Schéma 45).

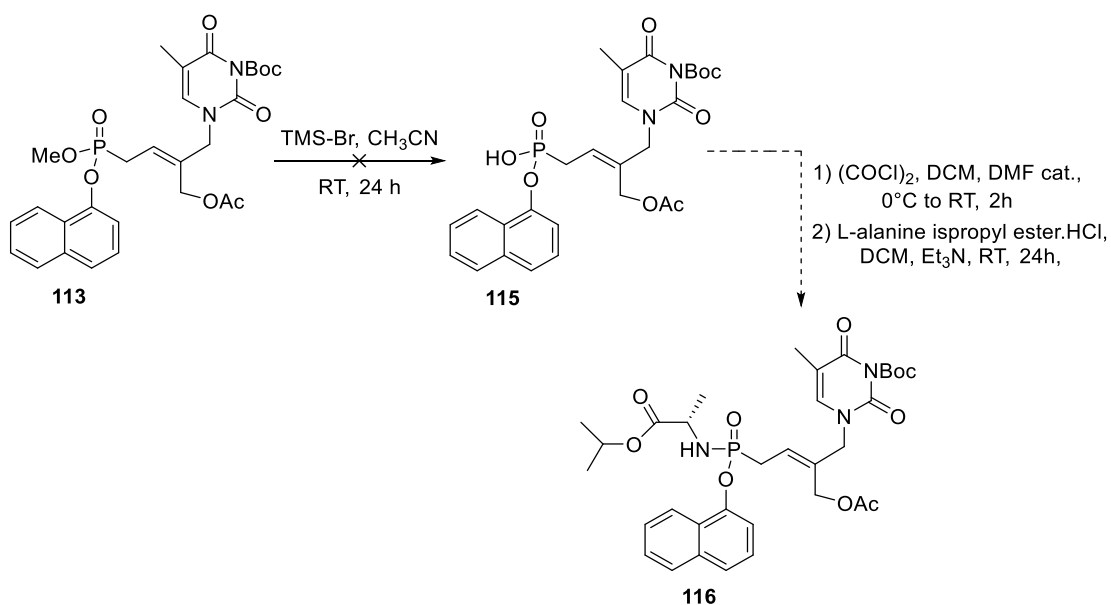


Schéma 45 : Tentative de synthèse du phosphonoamidate **116**

4. Conclusion et perspectives

Au cours de ces premiers travaux de thèse, nous avons d'abord vérifié la reproductibilité et la robustesse de la synthèse du composé **LAVR-289** nous permettant d'obtenir ce composé à l'échelle de plusieurs centaines de mg, voire de g. Certaines étapes ont été optimisées dont l'acétylation du groupement hydroxyle par une réaction chemoenzymatique au moyen de la lipase B de *Candida Antarctica* (Schéma 46), réaction qui est applicable à l'échelle du gramme.

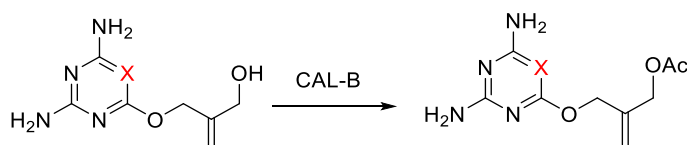


Schéma 46 : Optimisation d'acétylation

Nous avons généré de nouveaux ANPs de type 6-[4-dialkoxyphosphoryl-but-2-enoxy)pyrimidine-2,4-diamine ou -2,4-diamino-1,3,5-triazine par une approche convergente basée sur la réaction de métathèse croisée (Schéma 47). Nous avons également amélioré le rendement de la réaction de métathèse croisée entre les phosphonates et les pyrimidines alkylées par ajout en plusieurs fois du catalyseur de métathèse. Ce couplage ruthéno-catalysé nous a permis de synthétiser le composé **LAVR-289** à large échelle et plusieurs analogues de ce composé ont été obtenus. La déprotection des deux diastéréoisomères (E/Z) a été réalisée par plusieurs colonnes chromatographiques fastidieuses sur gel de silice.

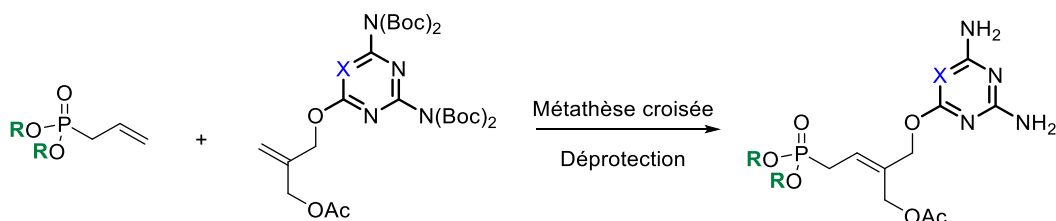


Schéma 47 : Synthèse des ANPs phosphonates *via* métathèse croisée optimisée

Par la suite, nous avons réalisé avec succès la synthèse de deux phosphoramidates acyclique portant le motif 6-O-(2,4-diamino)pyrimidine (Figure 8). Cette approche ouvre la voie à de nouveaux analogues.

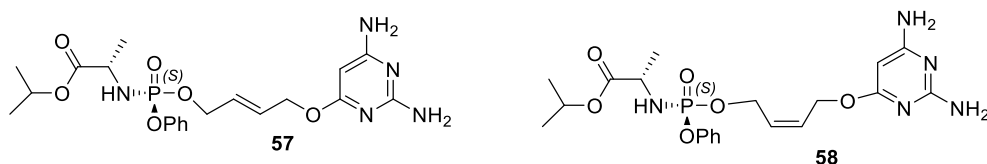


Figure 8 : Synthèse d'ANPs oléfiniques de type phosphoramidate

Nous avons enfin tenté, sans succès, de synthétiser des analogues de nos ANPs oléfiniques sous la forme d'une prodrogue de type phosphonoamidate. Nous n'avons pu conclure sur le fait d'effectuer la réaction de métathèse croisée avant ou après le couplage peptidique :

- Au niveau de la réaction de métathèse croisée, nous avons réalisé sans succès plusieurs essais dans l'eau ou le dichlorométhane avec le catalyseur de NG-II ou de HG-II sous ultrasons. La réactivité des oléfines utilisées, une gêne stérique importante, la présence d'atomes de N, susceptibles d'empoisonner le catalyseur peuvent être quelques raisons de ces échecs. D'autres voies d'activation de la réaction sous ultrasons sont à explorer car l'accumulation des homodimères et l'incapacité de dégazer l'éthylène avec un flux d'argon ou d'azote sont les problèmes majeurs de l'utilisation des ultrasons. Nous proposons alors d'explorer cette réaction sous un chauffage classique puis ajouter le phosphoramidate goutte à goutte afin de favoriser la formation de l'hétérodimère souhaité (Schéma 48).

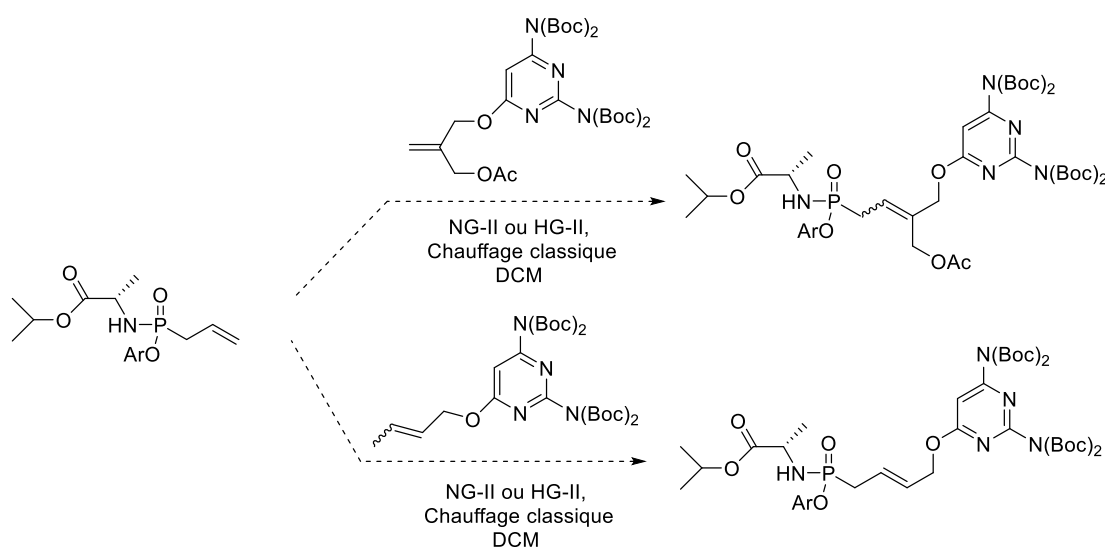


Schéma 48 : Proposition de nouvelles conditions pour la métathèse croisée

- Au niveau du couplage peptidique, nous avons essayé sans succès la méthode au NaI. Notre deuxième perspective possible serait d'effectuer cette réaction dans d'autres conditions. Une alternative solution serait que le phosphonate soit converti en ester triméthylsilylique en présence de bromotriméthylsilane et de 2,6-lutidine, puis d'effectuer un couplage direct avec l'acide aminé d'ester correspondant (Schéma 49).

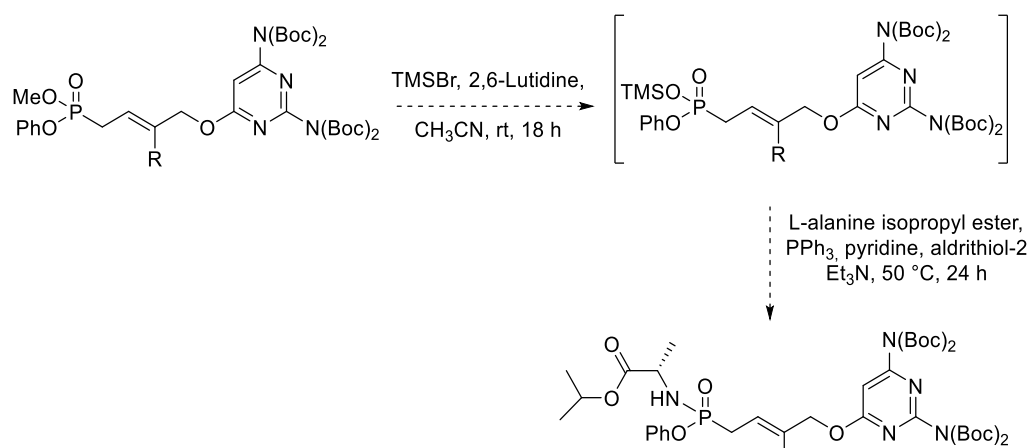


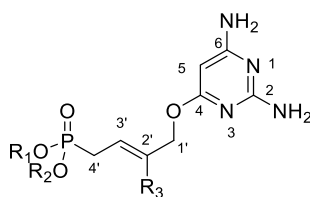
Schéma 49 : Essai de couplages peptidiques

5. Partie expérimentale

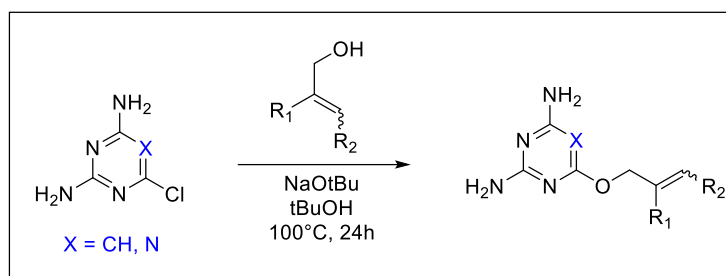
5-1) GENERAL

Unless otherwise stated, all reagents were purchased from commercial sources and used as received. THF (99.9% GC) with 2,6-di-*tert*butyl-4-methylphenol (250 mg/L) as stabilizer was purified by passage through a column containing activated alumina under nitrogen pressure (Dry Solvent Station GT S100, GlassTechnology, Geneva, CH). Dichloromethane (99.99% GC) was distilled from calcium hydride and used as solvent in reactions under anhydrous conditions. Four Å MS was activated by drying in an oven at 500 °C (48 h). It was then allowed to reach room temperature and kept over CaCl₂ in a desiccator prior to use. All reactions requiring anhydrous conditions were carried out using oven-dried glassware and under an atmosphere of dry Ar or N₂. Microwave reactions were carried out in a Biotage Initiator apparatus. The reactions under ultrasound were carried out with Elmasonic P30H apparatus with a frequency of 80 kHz and effective power of 100 W. NMR spectra were recorded at 298 K with a Bruker Avance III HD nanobay 400 MHz spectrometer equipped with a BBO probe. The nuclei-signal assignments were done with the aid of 1 D [¹H-NMR, ¹³C-NMR, Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT)] and 2 D Correlation Spectroscopy [(¹H–¹H COSY and ¹H–¹³C Heteronuclear Single Quantum Coherence (HSQC)] experiments. When appropriate or in case of ambiguous proton and carbon, assignments were established using ¹⁹F NMR, heteronuclear multiple-bond correlation (HMBC), and nuclear Overhauser effect spectroscopy (NOESY). ¹H-NMR (400 MHz) chemical shift values are listed in parts per million (ppm) downfield from TMS as the internal standard or relative to the corresponding non-deuterated solvent. Data are reported as follow: chemical shift (ppm on the δ scale), multiplicity (s = singlet, d = doublet, dd = doublet of doublet, ddd = doublet of doublet of doublet, t = triplet, q (quartet) and m = multiplet), coupling constant J (Hz), and integration. ¹³C-NMR (101 MHz) chemical shifts are given in ppm relative to the corresponding nondeuterated solvent or TMS as the internal standard. High Resolution Mass spectra (HRMS) were performed on a Bruker maXis mass spectrometer by the “Fédération de Recherche ICOA/CBM (FR 2708) platform. Infrared spectra were recorded with a Thermo Scientific Nicolet IS10 FTIR spectrometer using diamond ATR golden gate sampling and are reported in wave numbers (cm⁻¹). The reactions were monitored by thin layer chromatography (TLC) analysis using silica gel precoated plates (Kieselgel 60F254, E. Merck). Compounds were visualized by UV irradiation and/or spraying with phosphomolybdic acid (PMA) stain, potassium permanganate solution or ninhydrin stain, followed by charring at around 150°C. Flash column chromatography on silica gel was performed on Silica Gel 60 M (0.040-0.063 mm, E. Merck). Melting points were determined with a Kofler Heizbank Reichert Type 7841 apparatus and are uncorrected. Organic solutions were concentrated under reduced pressure with a Buchi rotary evaporator.

Numbering of described ANPs

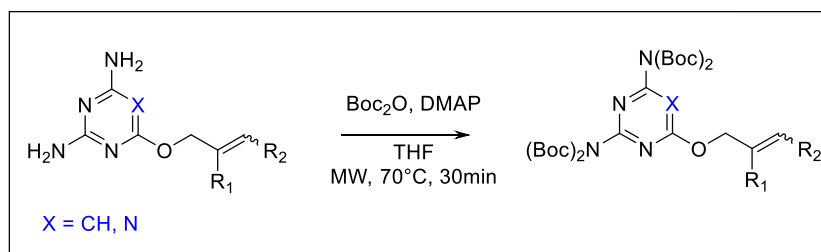


GENERAL PROCEDURE 1



To a mixture of 2,6-diamino-4-chloropyrimidine or 2-chloro-4,6-diamino-1,3,5-triazine (1 eq.) in tBuOH was added the corresponding allylic alcohol (3 eq.), followed by NaOtBu (2 eq.). After 24 h stirring at 100 °C, the mixture was concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography on silica gel (eluting CH₂Cl₂/MeOH) to give desired compounds.

GENERAL PROCEDURE 2



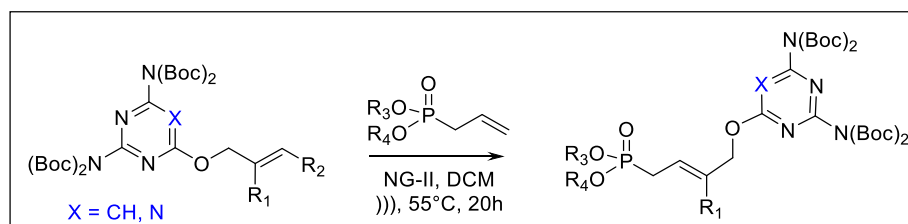
Method A:

Di-*tert*-butyl dicarbonate (6 eq.) and 4-(dimethylamino)pyridine (0.35 eq.) were added to a solution of compound (1 eq.) in THF in a closed microwave reaction vessel. After MW-irradiation for 30 min at 70 °C, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure and purified by flash column chromatography on silica gel using petroleum ether/EtOAc as eluent affording expected compounds as colorless oil.

Method B:

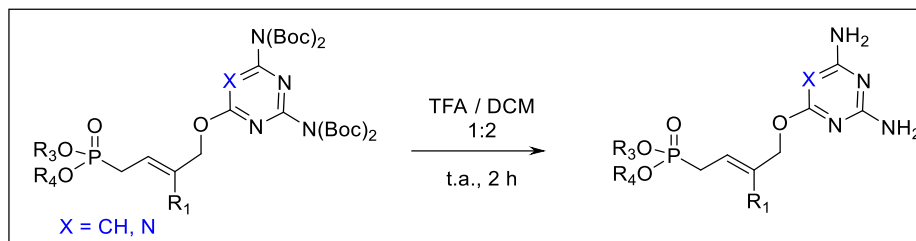
Di-*tert*-butyl dicarbonate (6 eq.) and 4-(dimethylamino) pyridine (0.35 eq.) were added to a solution of compound (1 eq.) in anhydrous THF under argon. The mixture was stirred overnight at room temperature. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by flash column chromatography on silica gel using petroleum ether/EtOAc as eluent affording expected compound as colorless oil.

GENERAL PROCEDURE 3



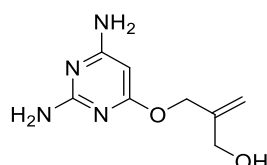
To a solution of pyrimidine or triazine (1.0 eq.) and allylphosphonate (2.0 eq.) in freshly distilled CH₂Cl₂ (0.1 M), Nolan-Grubbs Catalyst 2nd Generation (15%) was added. The catalyst addition was performed in five equal portions of 3 mol% at t = 0, 3, 6, 9 and 21 h over the course of the reaction. The mixture was sonicated at 55 °C (80 kHz, 100 W) under a gentle nitrogen flow for 24 h. After evaporation of all volatiles, the purification by flash column chromatography on silica gel using an elution gradient of Petroleum ether/EtOAc gave desired compounds as brown oil.

GENERAL PROCEDURE 4



Trifluoroacetic acid (100 eq.) was added dropwise to a mixture of protected compound (1 eq.) in CH₂Cl₂ (2:1 CH₂Cl₂/TFA v/v). The reaction was stirred at room temperature for 3 h and then the mixture was diluted with CH₂Cl₂, neutralized with saturated NaHCO₃ (aq.) until pH=7. Two phases were separated and aqueous phase was extracted with EtOAc (3 times). The organic layer was dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. Pure compounds were obtained after purification by flash column chromatography on silica gel with CH₂Cl₂/MeOH as eluent.

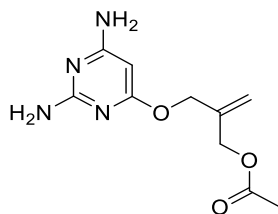
2-[(2,6-diaminopyrimidin-4-yl)oxymethyl]prop-2-en-1-ol (9)



Chemical Formula: C₈H₁₂N₄O₂
Molecular Weight: 196,21

Following general procedure 1, to a mixture of 2,4-diamino-6-chloropyrimidine (2.02 g, 1 eq., 13.95 mmol) in *t*BuOH (80 ml), 2-methylene-1,3-propenediol (3.33 mL, 3 eq., 41.84 mmol), followed by NaOtBu (2.68 g, 2 eq., 27.89 mmol) were introduced. After 24h stirring at 100 °C, the mixture was concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography on silica gel (eluting CH₂Cl₂/MeOH 9:1) to give desired compound **9** as a colorless oil (1.97 g, 72%). ¹H-NMR (400 MHz, Acetone) δ 5.60 (bs, 2H, NH₂), 5.51 (bs, 2H, NH₂), 5.24 (s, 1H, H⁵), 5.17 (m, 1H, CH₂=C), 5.11 (m, 1H, CH₂=C), 4.74 (s, 2H, CH₂-O), 4.10 (s, 2H, CH₂OH). ¹³C-NMR (101 MHz, Acetone) δ 171.64 (C⁶), 167.39 (C²), 164.18 (C⁴), 147.10 (CH₂=C), 111.64 (CH₂=C), 77.96 (C⁵), 66.04 (CH₂-O), 63.46 (CH₂-OH). HRMS-ESI (*m/z*) [M+H]⁺ calcd for C₈H₁₃N₄O₂ 197.1033, found 197.1029.

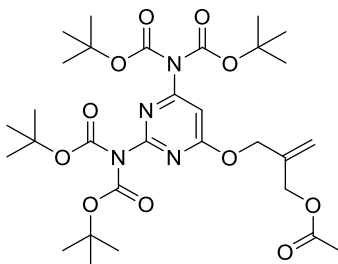
2-[(2,6-diaminopyrimidin-4-yl)oxymethyl]allyl acetate (**10**)



Chemical Formula: C₁₀H₁₄N₄O₃
Molecular Weight: 238,25

To a solution of compound **9** (1.04 g, 1 eq., 5.31 mmol) in acetonitrile (110 ml), vinyl acetate (1.47 mL, 3 eq., 15.93 mmol) and *Candida antarctica* lipase B (CAL-B, 50% w/w, 0.52 g) were added at 35 °C. The mixture was stirred for 4 h at 35 °C, then all the solids were filtered off and washed with acetone (3 x 20 mL). The organic layer was then collected, dried over MgSO₄ and all the volatiles were removed by rotary evaporation. The residue was purified on a silica gel column eluting with CH₂Cl₂/MeOH (95:5), allowing the obtention of compound **10** (1.09 g, 86%) as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, Acetone) δ 5.73 (bs, 2H, NH₂), 5.66 (bs, 2H, NH₂), 5.28 (m, 1H, CH₂=C), 5.27 (s, 1H, H⁵), 5.23 (m, 1H, CH₂=C), 4.76 (s, 2H, CH₂-O), 4.64 (s, 2H, CH₂-OAc), 2.05 (s, 3H, CH₃). ¹³C-NMR (101 MHz, Acetone) δ 171.34 (C⁶), 170.66 (C=O), 167.25 (C⁴), 164.06 (C²), 141.67 (CH₂=C), 114.95 (CH₂=C), 77.87 (C⁵), 65.73 (CH₂-O), 64.96 (CH₂-OAc), 20.69 (CH₃). HRMS-ESI (*m/z*) [M+H]⁺calcd for C₁₀H₁₅N₄O₃ 239.1139, found 239.1137.

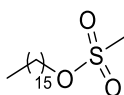
2-[[2,6-bis[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]pyrimidin-4-yl]oxymethyl]allyl acetate (**11**)



Chemical Formula: C₃₀H₄₆N₄O₁₁
Molecular Weight: 638,7150

Di-*tert*-butyl dicarbonate (5.94 g, 6 eq. 27.22 mmol) and 4-(dimethylamino)pyridine (194 mg, 0.35 eq. 1.59 mmol) were added to a solution of compound **10** (1.08 g, 1 eq. 4.54 mmol) in anhydrous THF under argon. The mixture was stirred overnight at room temperature. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by flash column chromatography on silica gel using petroleum ether/EtOAc (9:1) as eluent affording expected compound **11** (2.08 g, 78%) as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.95 (s, 1H, H⁵), 5.31 (s, 1H, CH₂=C), 5.27 (s, 1H, CH₂=C), 4.84 (s, 2H, CH₂-O), 4.62 (s, 2H, CH₂-OAc), 2.04 (s, 3H, CH₃), 1.48 (s, 18H, CH₃^{Boc}), 1.41 (s, 18H, CH₃^{Boc}). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 171.24 (C⁶), 170.57 (C=O^{Ac}), 159.97 (C⁴), 156.45 (C²), 150.44 (C=O^{Boc}), 149.96 (C=O^{Boc}), 138.68 (CH₂=C), 116.75 (CH₂=C), 96.03 (C⁵), 84.27 (C^{quatBoc}), 83.17 (C^{quatBoc}), 67.00 (CH₂-O), 64.67 (CH₂-OAc), 27.88 (CH₃^{Boc}), 27.78 (CH₃^{Boc}), 20.88 (CH₃^{Ac}). HRMS-ESI (*m/z*) [M+H]⁺calcd for C₃₀H₄₇N₄O₁₁ 639.3236, found 639.3231.

Hexadecylmethanesulfonate (3)

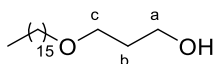


Chemical Formula: C₁₇H₃₆O₃S

Molecular Weight: 320,53

Anhydrous triethylamine (3.00 mL, 1.0 equiv., 21.53 mmol) was added to a solution of starting material hexadecyl alcohol **2** (5.22 g, 1.0 equiv., 21.53 mmol) in dry dichloromethane (50 mL). The temperature was set to 0°C, and methansulfonyl chloride (1.67 mL, 1.0 equiv., 21.53 mmol) was added dropwise. The solution was stirred at room temperature during 5 h then kept at -4 °C during 72 h, and the precipitate was then filtrated. The filtrate was evaporated and purified by silica gel column (EtOAc/PE, 1/9) to afford desired compound **3** (6.55 g, 95%) as a white powder. **CAS** : 124-63-0 ; **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 4.22 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃), 3.00 (s, 3H, CH₃-S), 1.71 (tt, *J* = 14.5, 6.6 Hz, 2H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃), 1.23 (s, 26H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃), 0.85 (m, 3H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃).

Hexadecyloxypropyl alcohol (4)

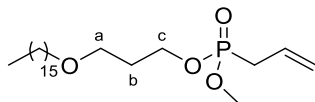


Chemical Formula: C₁₉H₄₀O₂

Molecular Weight: 300,53

Under N₂ atmosphere, 1,3-propanediol (3.95 mL, 5.0 equiv., 55.06 mmol) was dissolved in 100 mL of anhydrous DMF, and sodium hydride (60% in oil, 1.10 g, 2.5 equiv., 27.53 mmol) was carefully added. The solution was stirred for 30 minutes at room temperature, followed by the addition of **3** (3.53 g, 1.0 equiv., 11.01 mmol). This mixture was stirred for 12 h at room temperature, and the crude product was quenched with cold water (100 mL), dissolved in EtOAc (50 mL), extracted 5 times with water (5 x 50 mL), washed with brine (50 mL) and dried over MgSO₄. After evaporation of all volatiles, the product was purified by flash column chromatography on silica gel (EtOAc/PE, 2/8) to give compound **4** (2.97 g, 90%) as a white powder. **CAS**: 23377-40-4; **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 3.78 (q, *J* = 5.5 Hz, 2H, H^a), 3.61 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H, H^c), 3.43 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃), 2.48 (s, 1H, OH), 1.83 (quint, *J* = 5.6 Hz, 2H, H^b), 1.55 (quint, *J* = 6.9 Hz, 2H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃), 1.26 (s, 26H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃), 0.88 (m, 3H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃).

1-[3-[allyl(methoxy)phosphoryl]oxypropoxy]hexadecane(6)



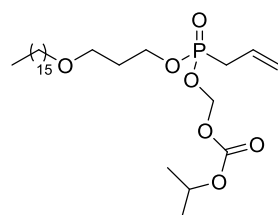
Chemical Formula: C₂₃H₄₇O₄P

Molecular Weight: 418,60

Oxalylchloride (3.03 mL, 3.0 equiv., 35.38 mmol) was added to a solution of dimethyl allylphosphonate **5** (1.77 g, 1.0 equiv., 11.79 mmol) in dichloromethane (50 mL). This mixture was refluxed during 72 h at 45 °C. After evaporation of all volatiles, the crude compound was diluted in 50 mL of CH₂Cl₂. Hexadecyloxypropyl alcohol **4** (3.72 g, 1.05 equiv., 12.38 mmol) and freshly distilled

triethylamine (2.47 mL, 1.5 equiv., 17.69 mmol) were then added subsequently and the resulting solution was refluxed during 72 h at 45 °C. The volatiles were removed under reduced pressure, and the residue was purified by flash column chromatography on silica gel (EtOAc/PE, 4/6) to afford compound **6** (3.94 g, 80%) as a white amorphous solid. **CAS:** 1258789-65-9; **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 5.75 (m, 1H, CH=CH₂), 5.23 (m, 2H, CH=CH₂), 4.13 (dt, *J* = 6.5, 1.7 Hz, 2H, H^c), 3.73 (d, *J* = 10.9 Hz, 3H, O-CH₃), 3.48 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, H^a), 3.38 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₂-O), 2.62 (ddt, *J* = 22.0, 7.4, 1.1 Hz, 2H, CH₂-P), 1.91 (p, *J* = 6.3 Hz, 2H, H^b), 1.54 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH₂-CH₂-O), 1.32-1.22 (m, 26H, CH₂), 0.87 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH₃). **¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 127.3, 127.2 (CH=CH₂), 120.1, 120.0 (CH=CH₂), 71.2 (O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃), 66.5 (C^c), 63.3 (C^a), 52.6, 52.5 (OCH₃), 31.9, 31.8, 30.9, 30.8, 30.4, 29.7, 29.6 (3C), 29.5, 29.3, 26.1, 22.7 (CH₂-P, C^b, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃), 14.1 (CH₃). **³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃)** δ 28.3. **HRMS (ESI):** *m/z* [M+Na]⁺calcd for C₂₃H₄₇O₄NaP: 441.3110, found: 441.3122.

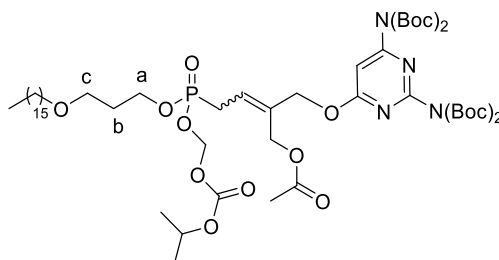
(HDP/POC) allylphosphonate (**7**)



Chemical Formula: C₂₇H₅₃O₇P
Molecular Weight: 520.69

To a solution of compound **6** (4.66 g, 1.0 equiv., 11.12 mmol) in dry acetonitrile (50 mL), chloromethylisopropylcarbonate (2.23 mL, 1.5 equiv., 16.68 mmol), anhydrous sodium iodide (1.75 g, 1.05 equiv., 11.68 mmol) and molecular sieves were respectively added and the mixture was refluxed at 90 °C during 48 h under N₂ atmosphere. After cooling, acetonitrile was evaporated and molecular sieves were filtrated. The mixture was diluted with 200 mL of ethyl acetate, washed by 50 mL of water, 50 mL of aqueous solution of Na₂S₂O₃ and 50 mL of brine. The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtrated, evaporated and purified by silica gel column chromatography on silica gel (EtOAc/PE, 25/75) to give pure HDP/POC allylphosphonate **7** (4.05 g, 71%) as a colorless oil. **CAS:** 1258789-66-0; **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 5.84-5.68 (m, 1H, CH=CH₂), 5.68-5.58 (m, 1H, O-CH₂-O), 5.27-5.17 (m, 2H, CH=CH₂), 4.92 (sept., *J* = 6.3 Hz, 1H, CH(CH₃)₂), 4.22-4.10 (m, 2H, H^a), 3.47 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, H^c), 3.37 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃), 2.67 (dd, *J* = 22.4, 7.4 Hz, 2H, CH₂-P), 1.91 (quint, *J* = 6.3 Hz, 2H, H^b), 1.55 (quint, *J* = 6.9 Hz, 2H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃), 1.33-1.20 (s, 26H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃; 6H, CH(CH₃)₂), 0.86 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃). **¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 153.2 (C=O), 126.6, 126.5 (CH=CH₂), 120.6, 120.5 (CH=CH₂), 84.4, 84.3 (O-CH₂-O), 73.0, 71.2 (CH(CH₃)₂), 66.5 (C^c), 63.3 (C^a), 32.7, 31.9, 31.3, 30.7, 29.7, 29.6, 29.5, 29.3, 26.1, 22.7, 21.6, 14.1 (CH₃). **³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃)** δ 26.7. **HRMS (ESI):** *m/z* [M+Na]⁺calcd for C₂₇H₅₃O₇NaP: 543.3427, found: 543.3435.

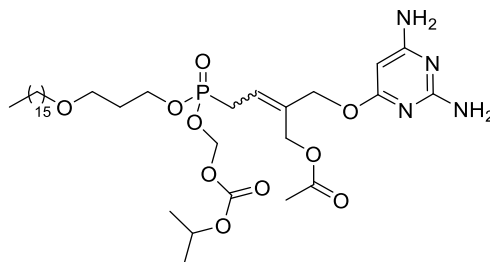
[(*E/Z*)-2-[2,6-bis[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]pyrimidin-4-yl]]-4-[3-hexadecoxypropoxy-(isopropoxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]but-2'-enyl] acetate (12**)**



Chemical Formula: C₅₅H₉₅N₄O₁₈P
Molecular Weight: 1131.35

Following the general procedure 3, to a solution of compound **11** (1.25 g, 1.0 eq., 1.95 mmol) and HDP/POC allylphosphonate **7** (2.03 g, 2.0 eq., 3.90 mmol) in freshly distilled CH₂Cl₂ (30 mL), Nolan-Grubbs Catalyst 2nd Generation (249 mg, 15 mol%, 0.29 mmol) was added. The catalyst addition was performed in five equal portions of 3 mol% at t = 0, 3, 6, 9 and 21 h over the course of the reaction. The mixture was sonicated at 55 °C (80 kHz, 100 W) under a gentle nitrogen flow for 24 h. After evaporation of all volatiles, the purification by flash column chromatography on silica gel using an elution gradient of Petroleum ether/EtOAc (6/4) gave the mixture of the two diastereoisomers **12** (Z/E 1/1) (1.21 g, 55%) as a brown oil. Diastereoisomer mixture (Z/E 50%/50%); ¹H-NMR (250 MHz, Acétone) δ 7.03 (s, 1H, H⁵, E isomer), 7.02 (s, 1H, H⁵, Z isomer), 5.81-5.78 (m, 1H, CH=C), 5.64-5.60 (m, 2H, O-CH₂-O), 5.06 (d, J = 2.5 Hz, 2H, CH₂-ODAPY, E isomer), 4.96 (d, J = 4.1 Hz, 2H, CH₂-ODAPY, Z isomer), 4.89 (sept, J = 6.1 Hz, 1H, CH(CH₃)₂), 4.79 (d, J = 2.5 Hz, 2H, CH₂-OAc, E isomer), 4.70 (d, J = 2.5 Hz, 2H, CH₂-OAc, Z isomer), 4.16-4.10 (m, 2H, H^a), 3.49 (t, J = 6.1 Hz, 2H, H^c), 3.41 (t, J = 6.4 Hz, 2H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃), 2.86 (dd, J = 23.4, 8.0 Hz, 2H, CH₂-P), 2.01 (s, 3H, CH₃, Ac), 1.88 (quint, J = 6.3 Hz, 2H, H^b), 1.55 (quint, J = 6.9 Hz, 2H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃), 1.53 (s, 18H, CH₃, Boc), 1.48 (s, 18H, CH₃, Boc), 1.30-1.22 (m, , 26H, O-CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃; 6H, CH(CH₃)₂), 0.88 (m, 3H, CH₃, HDP).

[(*E/Z*)-2-[(2,6-diaminopyrimidin-4-yl)oxymethyl]-4-[3-hexadecoxypropoxy (isopropoxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]but-2'-enyl] acetate (13**)**



Chemical Formula: C₃₅H₆₃N₄O₁₀P
Molecular Weight: 730.88

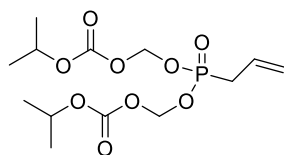
The title compound was prepared according to the general procedure 4, from compound **12** (3.72 g, 1 eq., 3.29 mmol), trifluoroacetic acid (25.0 mL, 100 eq., 328.81 mmol) in CH₂Cl₂ (50.0 mL) for 3 h. After evaporation of all volatiles, a flash column chromatography (MeOH/CH₂Cl₂ 3/97) give the mixture of the two diastereoisomers **13** (Z/E 1/1) (2.29 mg, 95%) as a colorless oil, these two diastereoisomers were separated by second column chromatography on silica gel.

Pure diastereoisomer Z: LAVR-289: ¹H-NMR (400 MHz, Acetone) δ 5.82 (q, J = 8.1 Hz, 3H, CH=C, NH₂), 5.69-5.60 (m, 4H, H^{2'}, NH₂ O-CH₂-O), 5.22 (s, 1H, H⁵), 4.88 (sept., J = 6.1 Hz, 1H, CH(CH₃)₂), 4.78 (d, J =

4.1 Hz, 2H, **CH₂-ODAPY**), 4.72 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, **CH₂-OAc**), 4.16-4.10 (m, 2H, **H^a**), 3.49 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, **H^c**), 3.41 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, O-**CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃**), 2.90 (dd, *J* = 23.4, 8.0 Hz, 2H, CH₂-P), 2.03 (s, 3H, CH₃ Ac), 1.88 (quint, *J* = 6.3 Hz, 2H, **H^b**), 1.56 (quint, *J* = 6.9 Hz, 2H, O-CH₂**CH₂(CH₂)₁₃CH₃**), 1.30-1.22 (m, , 26H, O-CH₂CH₂(**CH₂**)₁₃CH₃; 6H, CH(**CH₃**)₂), 0.87 (m, 3H, CH₃, HDP). **¹³C-NMR (101 MHz, Acetone)** δ 170.41 (C⁶), 169.83 (C=O OAc), 153.19 (C=O POC), 135.31 (C^{3'}), 122.90 (d, *J* = 11.1 Hz, C²), 84.40 (d, *J* = 5.6 Hz, O-CH₂-O), 77.12 (C⁵), 72.58 (**CH(CH₃)₂**), 70.60 (CH₂-O), 66.45 (C^{1'}), 65.20 (C^a), 63.02 (d, *J* = 7.0 Hz, C^c), 59.28 (CH₂-OAc), 31.73 (CH₂ aliphatic), 30.68 (d, *J* = 6.1 Hz, C^b), 29.65 (CH₂ aliphatic), 29.46 (CH₂ aliphatic), 29.37 (CH₂ aliphatic), 29.17 (CH₂ aliphatic), 26.11 (d, *J* = 138.9 Hz, CH₂-P), 26.07 (CH₂ aliphatic), 22.42 (CH₂ aliphatic), 20.92 (CH₂ aliphatic), 19.83 (CH₂ aliphatic), 13.44 (CH₃). **³¹P NMR (162 MHz, Acetone)** δ 26.59. **HRMS-ESI (*m/z*)** [M+H]⁺calcd for C₃₅H₆₄N₄O₁₀P: 731.4359, found: 731.4351.

Pure diastereoisomer *E*: **¹H-NMR (400 MHz, Acetone)** δ 5.81 (m, 1H, CH=C), 5.69-5.60 (m, 6H, H^{2'}, NH₂), 5.23 (s, 1H, H⁵), 4.88 (sept., *J* = 6.1 Hz, 1H, CH(CH₃)₂), 4.84 (d, *J* = 4.1 Hz, 2H, **CH₂-ODAPY**), 4.62 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, **CH₂-OAc**), 4.16-4.10 (m, 2H, **H^a**), 3.48 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, **H^c**), 3.39 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, O-**CH₂CH₂(CH₂)₁₃CH₃**), 2.93 (dd, *J* = 23.4, 8.0 Hz, 2H, CH₂-P), 2.01 (s, 3H, CH₃ Ac), 1.88 (quint, *J* = 6.3 Hz, 2H, **H^b**), 1.55 (quint, *J* = 6.9 Hz, 2H, O-CH₂**CH₂(CH₂)₁₃CH₃**), 1.30-1.22 (m, , 26H, O-CH₂CH₂(**CH₂**)₁₃CH₃; 6H, CH(**CH₃**)₂), 0.87 (m, 3H, CH₃, HDP). **¹³C-NMR (101 MHz, Acetone)** δ 170.41 (C⁶/C=O), 169.83 (C⁶/C=O), 166.18 (C⁴/C²), 162.98 (C⁴/C²), 153.19 (C=O POC), 135.60 (d, *J* = 14.5 Hz, C^{3'}), 121.47 (d, *J* = 11.3 Hz, C²), 84.43 (d, *J* = 6.0 Hz, O-CH₂-O), 77.09 (C⁵), 72.60 (**CH(CH₃)₂**), 70.62 (CH₂-O), 66.24 (C^{1'}), 65.34 (C^a), 63.04 (d, *J* = 7.0 Hz, C^c), 60.17 (CH₂-OAc), 59.31 (CH₂-OAc), 31.75 (CH₂ aliphatic), 30.69 (d, *J* = 6.0 Hz, CH₂-b), 29.52(CH₂ aliphatic), 29.48(CH₂ aliphatic), 29.39(CH₂ aliphatic), 29.18(CH₂ aliphatic), 26.24 (d, *J* = 138.9 Hz, CH₂-P), 26.08(CH₂ aliphatic), 22.44(CH₂ aliphatic), 20.95(CH₂ aliphatic), 19.88(CH₂ aliphatic), 13.48 (CH₃). **³¹P NMR (162 MHz, Acetone)** δ 26.72. **HRMS-ESI (*m/z*)** [M+H]⁺calcd for C₃₅H₆₄N₄O₁₀P: 731.435457, found: 731.434067.

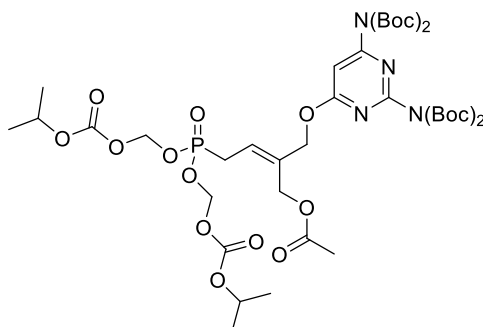
bis(POC)-allyl phosphonate (26)



Chemical Formula: C₁₃H₂₃O₉P
Molecular Weight: 354.2918

To an acetonitrile (25 mL) solution of dimethyl allylphosphonate **5** (3.00 g, 1.0 equiv., 19.98 mmol), anhydrous sodium iodide (7.49 g, 2.5 equiv., 49.96 mmol), chloromethylisopropyl-carbonate (6.69 mL, 2.5 equiv., 49.96 mmol) and molecular sieves were added. The mixture was refluxed at 90 °C during 72 h under N₂ atmosphere. After cooling, acetonitrile was evaporated and molecular sieves were filtrated. The mixture was diluted with 220 mL of ethyl acetate, washed by 60 mL of water, 60 mL of aqueous solution of Na₂S₂O₃ and 60 mL of brine. The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtrated, evaporated and purified by silica gel column chromatography on silica gel (EtOAc/PE, 25/75) to give pure *bis*(POC) allylphosphonate **26** (5.34 g, **76%**) as a colorless oil. **CAS:** 1258789-64-8; **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 5.82-5.71 (m, 1H, CH₂=CH), 5.68 (dd, 2H, *J* = 11.6, 5.4 Hz, O-CH₂-O), 5.65 (dd, 2H, *J* = 11.6, 5.4 Hz, O-CH₂-O), 5.30-5.22 (m, 2H, CH₂=CH), 4.94 (sept., *J* = 6.2 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 2.74 (tdd, *J* = 22.8, 7.4, 1.1 Hz, 2H, CH₂-P), 1.33 (d, *J* = 6.3 Hz, 12H, CH(CH₃)₂). **¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 153.2 (C=O), 125.7, 125.6 (CH₂=CH), 121.3, 121.2 (CH₂=CH), 84.1, 84.0 (O-CH₂-O), 73.2 (CH(CH₃)₂), 32.9, 31.5 (CH₂-P), 21.6 (CH(CH₃)₂). **³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃)** δ 27.99. **HRMS (ESI):** *m/z* [M+Na]⁺calcd for C₁₃H₂₃NaO₉Pr: 377.0977, found: 377.0990.

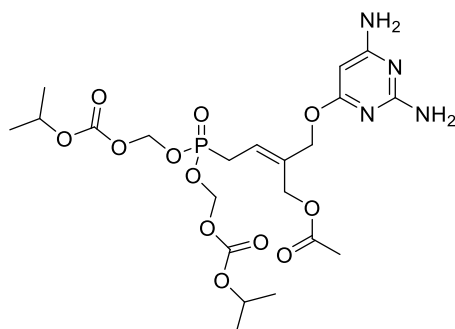
[(E/Z)-4-[bis(isopropoxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]-2-[[[2,6-bis[bis(tert-butoxycarbonyl)-amino]pyrimidin-4-yl]oxymethyl]but-2-enyl] acetate (30**)**



Chemical Formula: C₄₁H₆₅N₄O₂₀P
Molecular Weight: 964,95

Following the general procedure 3, to a solution of compound **11** (991 mg, 1.0 eq., 1.55 mmol) and *bis*(POC) allylphosphonate **26** (1.10 g, 2.0 eq., 3.10 mmol) in freshly distilled CH₂Cl₂ (20 mL), Nolan-Grubbs Catalyst 2nd Generation (198 mg, 15 mol%, 0.23 mmol) was added. The catalyst addition was performed in five equal portions of 3 mol% at t = 0, 3, 6, 9 and 21 h over the course of the reaction. The mixture was sonicated at 55 °C (80 kHz, 100 W) under a gentle nitrogen flow for 24 h. After evaporation of all volatiles, the purification by flash column chromatography on silica gel using an elution gradient of Petroleum ether/EtOAc (6/4) gave the mixture of the two diastereoisomers **30** (Z/E 1/1) (853 mg, 55%) as a brown oil. Diastereoisomer mixture (Z/E 50%/50%): ¹H-NMR (250 MHz, Acétone) δ 7.04 (s, 1H, H⁵, E isomer), 7.02 (s, 1H, H⁵, Z isomer), 5.94-5.80 (m, 1H, CH=C), 5.72-5.61 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.05 (d, J = 2.5 Hz, 2H, CH₂-ODAPY, E isomer), 4.96 (d, J = 4.1 Hz, 2H, CH₂-ODAPY, Z isomer), 4.91 (sept, J = 6.3 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 4.77 (d, J = 2.5 Hz, 2H, CH₂-OAc, E isomer), 4.69 (d, J = 2.5 Hz, 2H, CH₂-OAc, Z isomer), 3.02 (dd, J = 23.4, 8.0 Hz, 2H, CH₂-P), 2.00 (s, 3H, CH₃, Ac), 1.53 (s, 18H, CH₃, Boc), 1.47 (s, 18H, CH₃, Boc), 1.30 (d, J = 6.3 Hz, 12H, CH(CH₃)₂).

[(E/Z)-4-[bis(isopropoxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]-2-[(2,6-diaminopyrimidin-4-yl)oxymethyl]but-2-enyl] acetate (31** et **31'**)**

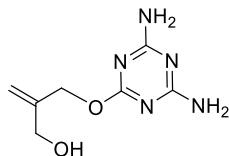


Chemical Formula: C₂₁H₃₃N₄O₁₂P
Molecular Weight: 564,4848

The title compound was prepared according to the general procedure 4, from compound **30** (821 mg, 1 eq., 0.85 mmol), trifluoroacetic acid (6.55 mL, 100 eq., 85.08 mmol) in CH₂Cl₂ (15 mL) for 3 h. After evaporation of all volatiles, a flash column chromatography (MeOH/CH₂Cl₂ 3/97) gave the mixture of the two diastereoisomers **31** et **31'** (Z/E 1/1) (408 mg, 85%) as a colorless oil, these two diastereoisomers were separated by second column chromatography on silica gel.

Pure diastereoisomer Z: Produit **31** : $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Acetone) δ 5.67 (m, 9H, $\text{CH}=\text{C}$, $\text{O-CH}_2\text{-O}$, NH_2), 5.27 (s, 1H, H^5), 4.94 (sept, $J = 6.7$ Hz 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.77 (d, $J = 4.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-ODAPY}$), 4.72 (d, $J = 2.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-OAc}$), 2.97 (dd, $J = 23.3, 8.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}$), 2.02 (s, 3H, CH_3 , Ac), 1.31 (d, $J = 6.2$ Hz, 12H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, Acetone) δ 170.49 (C^6), 169.96 ($\text{C}=\text{O}$ OAc), 165.80 (C^4), 162.63 (C^2), 153.12 ($\text{C}=\text{O}$ POC), 136.16 (d, $J = 14.7$ Hz, C^3), 120.69 (d, $J = 11.6$ Hz, C^2), 84.18 (d, $J = 6.2$ Hz, $\text{O-CH}_2\text{-O}$), 77.11 (C^5), 72.77 ($\text{C}^{\text{CH POC}}$), 66.29 (d, $J = 2.5$ Hz, C^1), 59.27 (d, $J = 2.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-OAc}$), 26.46 (d, $J = 139.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-P}$), 20.92 (CH_3 POC), 19.83 (CH_3 Ac). ^{31}P NMR (162 MHz, Acetone) δ 26.51. HRMS-ESI (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{P}$: 565.1911, found: 565.1904.

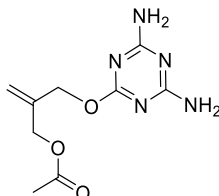
2-[(2,6-diamino-1,3,5-triazine-4-yl)oxymethyl]prop-2-en-1-ol (**33**)



Chemical Formula: $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}_2$
Molecular Weight: 197,20

Following the general procedure 1, to a mixture of 2-chloro-4,6-diamino-1,3,5-triazine (1.01 g, 1 eq., 6.87 mmol) in *t*BuOH (40 mL), 2-methylene-1,3-propenediol (1.68 mL, 3 eq., 20.61 mmol), followed by NaOtBu (1.32 g, 2 eq., 13.74 mmol) were introduced. After 24 h stirring at 100 °C, the mixture was concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography on silica gel (eluting $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1) to give desired compound **33** as a white solid (451 mg, 34%). $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, Acetone- d_6) δ 6.02 (s, 4H, NH_2), 5.18 (s, 1H, $\text{CH}_2=\text{C}$), 5.13 (s, 1H, $\text{CH}_2=\text{C}$), 4.76 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-ODAPY}$), 4.12 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-OH}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, Acetone- d_6) δ 171.34 (C^6), 170.47 (C^4), 169.17 (C^2), 145.75 ($\text{CH}_2=\text{C}$), 110.76 ($\text{CH}_2=\text{C}$), 66.01 ($\text{CH}_2\text{-ODAPY}$), 62.56 ($\text{CH}_2\text{-OH}$). HRMS-ESI (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_2$ 198.1033, found 198.1029.

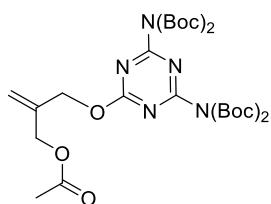
2-[(2,6-diamino-1,3,5-triazine-4-yl)oxymethyl]allyl acetate (**34**)



Chemical Formula: $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_3$
Molecular Weight: 239,24

To a mixture of compound **33** (391 mg, 1 eq., 1.98 mmol) in CH_3CN , vinyl acetate (0.55 mL, 3 eq., 5.95 mmol) and *Candida antarctica* lipase B (CAL-B, 50% w/w, 196 mg) were added. The mixture was stirred for 4 h at 35 °C, then all the solids were filtered off and washed with acetone. All the volatiles were removed by rotary evaporation. The residue was purified on a silica gel column eluting $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 97:3, allowing the obtention of compound **34** as white solid (412 mg, 87%). $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) δ 5.36 (s, 1H, $\text{CH}_2=\text{C}$), 5.28 (s, 1H, $\text{CH}_2=\text{C}$), 5.00 (s, 4H, NH_2), 4.81 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-ODAPY}$), 4.67 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-OAc}$), 2.09 (s, 3H, CH_3). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 171.52 (C^6), 171.11 ($\text{C}=\text{O}$), 170.47 (C^4), 166.63 (C^2), 137.84 ($\text{CH}_2=\text{C}$), 117.80 ($\text{CH}_2=\text{C}$), 68.29 ($\text{CH}_2\text{-ODAPY}$), 64.65 ($\text{CH}_2\text{-OAc}$), 20.82 (CH_3). HRMS-ESI (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_3$ 240.109116, found 240.108820.

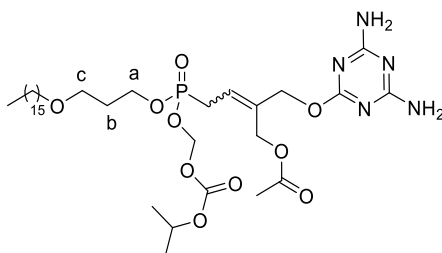
2-[[2,6-bis[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-1,3,5-triazine-4-yl]oxymethyl]allyl acetate (**35**)



Chemical Formula: C₂₉H₄₅N₅O₁₁
Molecular Weight: 639,70

The title compound was prepared according to the general procedure 2. Di-*tert*-butyl dicarbonate (2.26 g, 6 eq., 10.33 mmol) and 4-(Dimethylamino)pyridine (74 mg, 0.35 eq., 0.60 mmol) were added to a solution of compound **34** (412 mg, 1 eq., 1.72 mmol) in THF anhydrous (10 mL). The reaction mixture was stirred for 24 h at room temperature. After evaporation of all volatiles, the crude product was purified by flash column chromatography on silica gel using petroleum ether/EtOAc (9:1) as eluent affording expected tetra-Boc-protected compound **35** (828 mg, 75%) as colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.39 (s, 1H, CH₂=C), 5.33 (s, 1H, CH₂=C), 4.91 (s, 2H, CH₂-ODAPY), 4.66 (s, 2H, CH₂-OAc), 2.04 (s, 3H, CH₃), 1.51 (s, 36H, CH₃^{Boc}). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 171.52 (C⁶), 171.11 (C=O^{Ac}), 170.47 (C⁴), 166.63 (C²), 149.20 (C=O^{Boc}), 137.84 (CH₂=C), 117.80 (CH₂=C), 84.37 (C^{quat} Boc), 68.29 (CH₂-ODAPY), 64.65 (CH₂-OAc), 27.67 (CH₃^{Boc}), 20.82 (CH₃^{Ac}).

[(*E/Z*)-2-[(2,6-diamino-1,3,5-triazine-4-yl)oxymethyl]-4-[3-hexadecyloxypropoxy (isopropoxycarbonyl oxymethoxy)phosphoryl]but-2'-enyl] acetate (**37**)

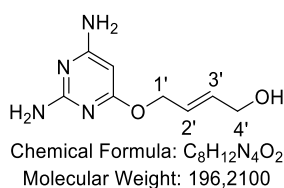


Chemical Formula: C₃₄H₆₂N₅O₁₀P
Molecular Weight: 731.87

To a solution of protected triazine **35** (398 mg, 1 eq., 0.62 mmol) and phosphonate (648 mg, 2 eq., 1.24 mmol) in freshly distilled CH₂Cl₂ (15 mL), Nolan-Grubbs Catalyst 2nd Generation (53 mg, 15 mol%, 0.062 mmol) was added. The catalyst addition was performed in five equal portions of 3 mol% at t = 0, 3, 6, 9 and 21 h over the course of the reaction. The mixture was sonicated at 55 °C (80 kHz, 100 W) under a gentle nitrogen flow for 24 h. After evaporation of all volatiles, the purification by flash column chromatography on silica gel using an elution gradient of Petroleum PE/EtOAc (7/3) gave the mixture of the two diastereoisomers (Z/E 1/1) as brown oil. Trifluoroacetic acid (0.97 mL, 100 eq., 12.63 mmol) was directly added dropwise to a mixture of Boc-compound (143 mg, 1 eq., 0.13 mmol) in CH₂Cl₂ (2:1 CH₂Cl₂/TFA v/v). The reaction was stirred at room temperature for 3 h and then the mixture was diluted with CH₂Cl₂, neutralized with saturated NaHCO₃ (aq.) until pH 7. Two phases were separated and aqueous phase was extracted with EtOAc (3 times). The organic layer was dried over MgSO₄, filtrated and concentrated under reduced pressure. Pure compounds were obtained after purification by flash column chromatography on silica gel with CH₂Cl₂/MeOH (97:3) as eluent affording deprotected compound **37** as a colorless oil (77 mg, 19% for two steps, E/Z 1/1). Diastereoisomer mixture (Z/E 50%/50%): ¹H-NMR (400 MHz, Acétone) δ 6.33 (s, 4H, 2NH₂), 5.81 (m, 1H, CH=C), 5.67 (m, 2H, O-CH₂-O), 4.92 (m, 1H, , CH₃-CH-CH₃, POC), 4.87 (d, J = 2.00 Hz, 2H, CH₂-ODAPY, E isomer), 4.78 (d, J = 2.00 Hz,

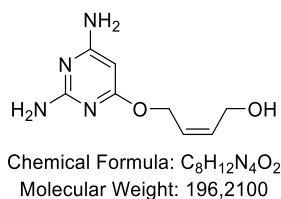
2H, CH₂-ODAPY, Z isomer), 4.73 (d, *J* = 2.20 Hz, 2H, CH₂-OAc, E isomer), 4.64 (d, *J* = 3.60 Hz, 2H, CH₂-OAc, Z isomer), 4.14 (m, 2H, CH₂-c), 3.48 (q, *J* = 6.20 Hz, 2H, CH₂-a), 3.39 (td, *J* = 6.60, 2.70 Hz, 2H, (CH₂)₁₄-CH₂-O, HDP), 2.86 (dd, *J* = 23.40, 8.00 Hz, 2H, CH₂-P), 2.02 (s, 3H, CH₃, Ac), 1.88 (m, 2H, CH₂-b), 1.52 (m, 2H, (CH₂)₁₃-CH₂-CH₂-O, HDP), 1.29 (m, 32H, (CH₂)₁₃, HDP, 2CH₃, POC), 0.88 (t, *J* = 6.80 Hz, 3H, CH₃, HDP). **¹³C-NMR (101 MHz, Acétone)** δ 171.99 (C⁶/C=O), 171.00 (C⁶/C=O), 170.75 (C⁴/C²), 169.96 (C⁴/C²), 154.16 (C=O, POC), 135.92 (d, *J* = 2.60 Hz, C³), 122.59 (d, *J* = 11.30 Hz, C²), 85.45 (t, *J* = 5.70 Hz, O-CH₂-O), 73.60 (d, *J* = 1.80 Hz, CH^{POC}), 71.60 (CH₂-O), 71.06 (C¹), 68.07 (d, *J* = 2.40 Hz, CH₂-a), 67.23 (d, *J* = 3.4 Hz), 66.32 (d, *J* = 2.2 Hz), 64.12 (d, *J* = 7.0 Hz), 62.18 (d, *J* = 2.1 Hz), 60.30 (d, *J* = 2.1 Hz, CH₂-c, CH₂-OAc, CH₂-O), 32.72 (CH₂ aliphatic), 31.65 (dd, *J* = 6.10, 2.00 Hz, CH₂-b), 30.96 (CH₂ aliphatic), 29.48 (CH₂ aliphatic), 29.39 (CH₂ aliphatic), 29.18 (CH₂ aliphatic), 27.24 (d, *J* = 138.9 Hz, CH₂-P), 27.05 (CH₂ aliphatic), 23.42 (CH₂ aliphatic), , 21.93 (d, *J* = 1.30 Hz, CH₂ aliphatic), 20.89 (d, *J* = 5.10 Hz, CH₂ aliphatic), 14.47 (CH₃). **HRMS-ESI (*m/z*)** [M+H]⁺ calcd for C₃₄H₆₃N₅O₁₀P 732.430706, found 732.429264.

(E)-4-(2,6-diaminopyrimidin-4-yl)oxybut-2-en-1-ol (54)



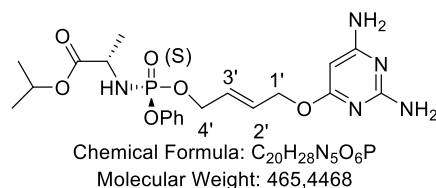
Following the general procedure 1, from 2,4-diamino-6-chloropyrimidine (492 mg, 1 eq., 3.40 mmol), *E*-buten-1,4-diol (900 mg, 3 eq., 10.21 mmol) and NaOtBu (654 mg, 2 eq., 6.81 mmol) in *t*BuOH (20 mL), compound **54** was obtained as a white solid (439 mg, 66%) after purification by flash column chromatography on silica gel with CH₂Cl₂/MeOH (95:5). **¹H-NMR (400 MHz, DMSO)** δ 5.99 (bs, 2H, NH₂), 5.84 (bs, 2H, NH₂), 5.83-5.74 (m, 2H, H^{2'}, H^{3'}), 5.04 (s, 1H, H⁵), 4.74 (t, *J* = Hz, 1H, OH), 4.62 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H, H^{1'}), 3.93 (m, 2H, H^{4'}). **¹³C-NMR (101 MHz, DMSO)** δ 170.19 (C⁶), 166.48 (C²/C⁴), 163.37 (C²/C⁴), 134.37 (C³), 125.12 (C²), 76.63 (C⁵), 64.90 (C¹), 61.51, 61.23 (C^{4'}). **HRMS-ESI (*m/z*)** [M+H]⁺ calcd for C₈H₁₃N₄O₂ 197.103302, found 197.103369.

(Z)-4-(2,6-diaminopyrimidin-4-yl)oxybut-2-en-1-ol (56)



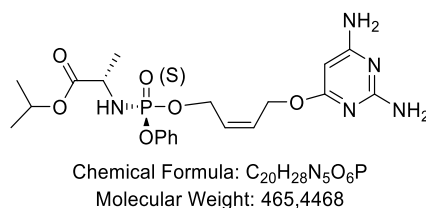
Following the general procedure 1, from 2,4-diamino-6-chloropyrimidine (2.02 g, 1 eq., 13.95 mmol), *Z*-buten-1,4-diol (3.44 mL, 3 eq., 41.84 mmol) and NaOtBu (2.68 g, 2 eq., 27.89 mmol) in *t*BuOH (20 mL), compound **56** was obtained as a white solid (1.78 g, 65%) after purification by flash column chromatography on silica gel with CH₂Cl₂/MeOH (95:5). **¹H-NMR (250 MHz, DMSO)** δ 5.99 (bs, 2H, NH₂), 5.85 (bs, 2H, NH₂), 5.68-5.54 (m, 2H, H^{2'}, H^{3'}), 5.03 (s, 1H, H⁵), 4.74 (t, *J* = Hz, 1H, OH), 4.65 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H, H^{1'}), 4.05 (m, 2H, H^{4'}). **¹³C-NMR (101 MHz, DMSO)** δ 170.19 (C⁶), 166.48 (C²/C⁴), 163.37 (C²/C⁴), 134.37 (C³), 125.12 (C²), 76.63 (C⁵), 64.90 (C¹), 61.51, 61.23 (C^{4'}). **HRMS-ESI (*m/z*)** [M+H]⁺ calcd for C₈H₁₃N₄O₂ 197.103302, found 197.103053.

isopropyl (2S)-2-[[[(E)-4-(2,6-diaminopyrimidin-4-yl)oxybut-2-enoxy]-phenoxyphosphoryl]amino]propanoate (57)



To a stirred suspension of **54** (149 mg, 1 eq., 0.76 mmol) in anhydrous THF (7 mL) was added dropwise a 1.7 M solution of *tert*-butylmagnesium chloride in THF (0.94 mL, 2.1 eq., 1.59 mmol) over a period of 3 min at 0 °C under argon. The white suspension was stirred at this temperature for 30 min, and then was stirred for additional 30 min at room temperature. The reaction mixture was cooled to 0 °C, and then a solution of (*S*)-2-[(*S*)-(2,3,4,5,6-pentafluorophenoxy)-phenoxy phosphorylamino]propionic acid isopropyl ester (413 mg, 1.2 eq., 0.91 mmol) in THF (5 mL) was added dropwise over a period of 3 min. The mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for 20 h, then cooled to 0 °C, and quenched with methanol (1.5 mL). After evaporation of all solvents, the residue was purified by flash column chromatography on silica gel with $CH_2Cl_2/MeOH$ (98:2) to afford compound **57** as a white solid (260 mg, 74 %). **¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ 7.35 – 7.28 (m, 2H, H^{Ar}), 7.24 – 7.20 (m, 2H, H^{Ar}), 7.17 – 7.12 (m, 1H, H^{Ar}), 5.99 – 5.84 (m, 2H, $CH=CH$), 5.25 (s, 1H, H^5), 5.02 (hept, J = 6.2 Hz, 1H, $OCH(CH_3)_2$), 4.79 (bs, 2H, NH_2), 4.72 (d, J = 5.0 Hz, 2H, $CH_2-ODAPY$), 4.60 (dd, J = 8.0, 5.1 Hz, 4H, NH_2 ; CH_2-O-P), 4.03 – 3.93 (m, 1H, $CH-NH$), 3.88 (t, J = 10.4 Hz, 1H, $CH-NH$), 1.36 (d, J = 6.9 Hz, 3H, $CH_3-CH-NH$), 1.24 (dd, J = 6.3, 3.5 Hz, 6H, $OCH(CH_3)_2$). **¹³C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$)** δ 173.19, 173.12 (O-C=O), 170.76 (C^6), 165.38 (C^2/C^4), 162.58 (C^2/C^4), 150.83, 150.77 (O- C^{Ar}), 129.63 (CH^{Ar}), 129.28 (C^3), 127.45, 127.38 (C^2), 124.80, 124.79 (CH^{Ar}), 120.20, 120.15 (CH^{Ar}), 78.45 (C^5), 69.23 ($OCH(CH_3)_2$), 66.57, 66.52 (C^4), 64.98 (C^1), 50.34, 50.32 ($CH-NH$), 21.70, 21.63 ($OCH(CH_3)_2$), 21.01, 20.96 ($CH_3-CH-NH$). **³¹P NMR (162 MHz, $CDCl_3$)** δ 2.49. **HRMS-ESI (m/z)** [$M+H$]⁺ calcd for $C_{20}H_{29}N_5O_6P$ 466.184997, found 466.185362.

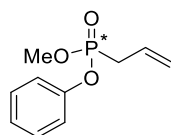
isopropyl (2S)-2-[[[(Z)-4-(2,6-diaminopyrimidin-4-yl)oxybut-2-enoxy]-phenoxyphosphoryl]amino]propanoate (58)



To a stirred suspension of **56** (100 mg, 1 eq., 0.51 mmol) in anhydrous THF (5 mL) was added dropwise a 2.0 M solution of *tert*-butylmagnesium chloride in diethyl ether (0.54 mL, 2.1 eq., 1.07 mmol) over a period of 3 min at 0 °C under argon. The white suspension was stirred at this temperature for 30 min, and then was stirred for additional 30 min at room temperature. The reaction mixture was cooled to 0 °C, and then a solution of (*S*)-2-[(*S*)-(2,3,4,5,6-pentafluorophenoxy)-phenoxy phosphorylamino]propionic acid isopropyl ester (277 mg, 1.2 eq., 0.61 mmol) in THF (3 mL) was added dropwise over a period of 3 min. The mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for 20 h, then cooled to 0 °C, and quenched with methanol (1 mL). After evaporation of all solvents, the residue was purified by flash column chromatography on silica gel with $CH_2Cl_2/MeOH$ (98:2) to afford compound **58** as a white solid (171 mg, 72 %). **¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ 7.28 (t, J = 7.9 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.19 (d, J = 8.5 Hz H^{Ar}), 7.12 (t, J = 7.3 Hz, 1H, H^{Ar}), 5.78 – 5.68 (m, 2H, $CH=CH$), 5.20 (s, 1H, H^5), 5.13 (bs, 2H, NH_2), 4.98 (hept, J = 6.2 Hz, 1H, $OCH(CH_3)_2$), 4.87 (bs, 2H, NH_2), 4.73 (d, J = 5.5 Hz, 2H, $CH_2-ODAPY$), 4.82 –

4.76 (m, 2H, **CH**₂-O-P), 4.40 – 4.25 (m, 1H, **CH**-NH), 3.95 (dt, *J* = 16.4, 8.2 Hz, 1H, **CH**-NH), 1.33 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H, **CH**₃-CH-NH), 1.20 (dd, *J* = 6.3, 3.5 Hz, 6H, OCH(**CH**₃)₂). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 173.47, 173.40 (O-C=O), 170.61 (C⁶), 165.61 (C²/C⁴), 162.71 (C²/C⁴), 150.86, 150.79 (O-C^q Ar), 129.73 (**CH**^{Ar}), 129.03 (C³), 127.79, 127.72 (C²), 124.94 (**CH**^{Ar}), 120.25, 120.20 (**CH**^{Ar}), 78.04 (C⁵), 69.34 (OCH(**CH**₃)₂), 62.90, 62.85 (C^{4'}), 61.31 (C¹), 50.52, 50.42 (**CH**-NH), 21.76, 21.68 (OCH(**CH**₃)₂), 20.92, 20.87 (**CH**₃-CH-NH). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 2.95. HRMS-ESI (*m/z*) [M+H]⁺ calcd for C₂₀H₂₉N₅O₆P 466.184997, found 466.184774.

Methoxyphenoxyallylphosphonate (78)



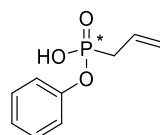
Chemical Formula: C₁₀H₁₃O₃P
Molecular Weight: 212.18

Method A: To a mixture of dimethylallylphosphonate **5** (4.9 g, 1 eq., 32.5 mmol) and CH₂Cl₂ (150 mL), oxalyl chloride (8.6 mL, 3 eq., 97.5 mmol) was added. The reaction was stirred 24 h at reflux, followed by the removal of the volatiles *under reduced pressure* to obtain the chloromethylallylphosphonate. In another flask, a solution of phenol (6.12 g, 2 eq., 65 mmol), triethylamine (8.8 mL, 2 eq., 65 mmol) and CH₂Cl₂ (150 mL) was stirred at room temperature. The phosphonate residue was then dissolved in CH₂Cl₂ (150 mL), and slowly added to this solution, and refluxed during 48 h. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel, eluting with Petroleum ether/Ethyl acetate 8/2, to afford **78** as a colorless oil (4.5 g, 65%).

Method B: To a solution of dimethylallylphosphonate **5** (2.0 g, 1 eq., 13.32 mmol) and Tf₂O (3.36 mL, 1.5 eq., 19.98 mmol) in dry CH₂Cl₂ (40 mL) was added anhydrous pyridine (2.13 mL, 2 eq., 26.64 mmol). The reaction was stirred 10 min at room temperature, then phenol (3.13 g, 2.5 eq., 33.30 mmol) was added. After stirring for 30 min at room temperature, the resulting mixture was concentrated to give the crude product, which was then purified by silica gel column chromatography on silica gel, eluting with Petroleum ether/Ethyl acetate 8/2, to afford **78** as a colorless oil (2.35 g, 83%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.29 (m, 2H, **H**^{Ar}), 7.15 (m, 3H, **H**^{Ar}), 5.80 (m, 1H, **CH**=CH₂), 5.24 (m, 2H, **CH**₂=CH), 3.76 (d, *J* = 11.1 Hz, 3H, OCH₃), 2.73 (dd, *J* = 22.0, 7.3 Hz, 2H, **CH**₂-P). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 150.46 (d, *J* = 8.5 Hz, C^{quat}), 129.72 (C^{Ar}), 126.59 (d, *J* = 11.6 Hz, **CH**=CH₂), 124.95 (d, *J* = 1.3 Hz, C^{Ar}), 120.67 (d, *J* = 14.8 Hz, **CH**₂=CH), 120.42 (d, *J* = 4.4 Hz, C^{Ar}), 53.16 (d, *J* = 5.1 Hz, OMe), 31.21 (d, *J* = 139.9 Hz, **CH**₂-P). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 25.06. HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₀H₁₄O₃P : 213.067507, found : 213.067461.

Phenyloxy allylphosphinic acid (79)

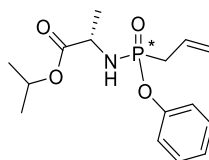


Chemical Formula: C₉H₁₁O₃P
Molecular Weight: 198.1578

Bromotrimethylsilane (8.9 mL, 6 eq., 61.8 mmol) was slowly added to a solution of **78** (2.2 g, 1 eq., 10.3 mmol) in CH₂Cl₂ (110 mL). After 24 h at room temperature and evaporation of all volatiles, the crude product was co-evaporated five times with methanol (5 x 15 mL). The residue was then purified

by flash column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂ / MeOH 95/5) to obtain desired product **79** as an amorphous white solid (1.85 g, 91%). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.12 (s, 1H, OH), 7.28 (m, 2H, H^{Ar}), 7.14 (m, 3H, H^{Ar}), 5.79 (m, 1H, CH=CH₂), 5.22 (m, 2H, CH₂=CH), 2.67 (dd, *J* = 22.5, 7.3 Hz, 2H, CH₂-P). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 150.18 (d, *J* = 8.9 Hz, C^{quat}), 129.61 (C^{Ar}), 126.65 (d, *J* = 11.4 Hz, CH=CH₂), 124.92 (C^{Ar}), 120.79 (d, *J* = 4.4 Hz, C^{Ar}), 120.66 (d, *J* = 14.9 Hz, CH₂=CH), 31.55 (d, *J* = 141.5 Hz, CH₂-P). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 26.26. HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₉H₁₂O₃P : 199.0525, found : 199.0518.

Isopropyl (2S)-2-[[allyl(phenoxy)phosphoryl]amino]propanoate (**80**)



Chemical Formula: C₁₅H₂₂NO₄P
Molecular Weight: 311.32

Method A: The compound **79** (616 mg, 1 eq., 3.11 mmol) was dissolved in CH₂Cl₂ (12 mL). A catalytic amount of DMF (0.072 mL) was then introduced, followed by the addition of oxalyl chloride (0.53 mL, 2 eq., 6.22 mmol). After 30 min. at 0 °C and 1 h 30 at room temperature, the volatiles were removed, and the residue diluted with 8 mL of CH₂Cl₂ to afford solution A. A second solution was prepared with L-alanine isopropyl ester chlorhydrate (625 g, 1.2 eq., 3.73 mmol), freshly distilled triethylamine (3.47 mL, 8 eq., 24.87 mmol) and CH₂Cl₂ (12 mL). To this mixture the solution A was slowly added at 0 °C, and stirred 24 h at room temperature. After the described work-up, the residue was purified twice by flash column chromatography on silica gel, eluting with PE/EA (65:35) to afford the mixture of the two diastereoisomers **80** as a colorless oil. (610 mg, 63%, ratio diastereoisomer 1:diastereoisomer 2 of 6:4)

Method B: The compound **78** (878 mg, 1 eq., 4.14 mmol) was dissolved in anhydrous acetonitrile (20 mL), flame-dried sodium iodine (682 mg, 1.1 eq., 4.55 mmol) were added. The mixture was heated to reflux and stirred overnight. The mixture was cooled to room temperature and the volatiles were removed under reduced pressure to afford the mono sodium salt, which was used to the next step without further purification.

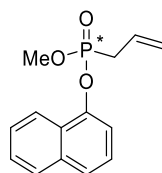
To the concentrate was added in sequence L-alanine isopropyl ester chlorhydrate (1.39 g, 2 eq., 8.28 mmol), anhydrous pyridine (15 mL) and freshly distilled triethylamine (3.46 mL, 6 eq., 24.83 mmol), and the resulting mixture was stirred at room temperature. In separate flask, 2,2'-dithioldipyridine (5.47 g, 6 eq., 24.83 mmol) and triphenylphosphine (6.51 g, 6eq., 24.83 mmol) were dissolved in an equal amount of anhydrous pyridine (15 mL) and the resulting mixture was stirred at room temperature for 20 min. This solution was added to the mixture of monosodium salt and the reaction mixture was heated to 60 °C and stirred overnight at 60 °C. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure, and the residue was dissolved in EtOAc, filtered through a pad of Celite. The filtrate was concentrated under reduced pressure. The concentrate was dissolved in CH₂Cl₂ and purified by column chromatography on silica gel, eluting with PE/EA (7 : 3) to afford the mixture of the two diastereoisomers **80** as a colorless oil. (884 mg, 69%, ratio diastereoisomer 1 : diastereoisomer 2 of 6:4)

Method C: In a round bottom flask, under argon atmosphere, 2,6-Lutidine (3.09 mL, 4 eq., 26.64 mmol) and trimethylsilyl bromide (TMSBr, 4.31 mL, 5 eq., 33.30) were added to a solution of dimethyl allylphosphonate (1.0 g, 1 eq., 6.66 mmol) in anhydrous acetonitrile (50 mL). The mixture was stirred for 16 h at room temperature and then the volatiles were evaporated *in vacuo* without any contact with air. Then the flask was charged with dry L-alanine isopropyl ester hydrochloride (1.08 g, 1 eq.,

6.66 mmol), dry phenol (3.76 g, 6 eq., 39.97 mmol), dry triethylamine (13.93 mL, 15 eq., 99.91 mmol) and dry pyridine (20 mL) and heated to 50 °C to obtain a homogenous solution. To this mixture was then added a solution of aldrithiol-2 (8.80 g, 6 eq., 39.97 mmol) and triphenylphosphine (10.48 g, 6 eq., 39.97 mmol) in dry pyridine (20 mL) under argon atmosphere. The resulting mixture was stirred at 50 °C for 16 h. After evaporating all the volatiles, the residue was purified by column chromatography on silica gel, eluting with PE/EA (7 : 3) to afford the mixture of the two diastereoisomers **80** as a colorless oil. (1.14 g, 55%, ratio diastereoisomer 1 : diastereoisomer 2 of 6:4)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.32 (m, 2H, H^{Ar}), 7.19 (m, 3H, H^{Ar}), 5.92 (m, 1H, CH=CH₂), 5.28 (m, 2H, CH₂=CH), 4.99 (pd, *J* = 6.3, 4.9 Hz, 1H, CH-iPr), 4.04 (m, 1H, CH-NH), 3.38 (2 x t, *J* = 10.1 Hz, 1H, NH), 2.78 (m, 2H, CH₂-P), 1.26 (m, 9H, CH₃-CH-NH, CH₃ iPr). **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃)** δ 173.24 (d, *J* = 5.7 Hz, C=O), 150.58 (d, *J* = 9.5 Hz, C^{quat}), 150.45 (d, *J* = 9.9 Hz, C^{quat}), 129.65 (C^{Ar}), 129.59 (C^{Ar}), 127.71 (d, *J* = 11.4 Hz, C^{2'}), 127.53 (d, *J* = 11.4 Hz, C^{2'}), 124.69 (C^{Ar}), 124.65 (C^{Ar}), 120.75 (C^{3'}/C^{Ar}), 120.70 (C^{3'}/C^{Ar}), 120.68 (C^{3'}/C^{Ar}), 120.64 (C^{3'}/C^{Ar}), 120.59 (C^{3'}/C^{Ar}), 120.55 (C^{3'}/C^{Ar}), 120.50 (C^{3'}/C^{Ar}), 69.09 (CH iPr), 69.07 (CH iPr), 49.77 (CH-NH), 49.62 (CH-NH), 34.30 (d, *J* = 129.3 Hz, CH₂-P), 21.71 (CH₃), 21.70 (CH₃), 21.67 (CH₃), 21.62 (CH₃), 21.60 (CH₃), 21.57 (CH₃). **³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃)** δ 26.77, 26.35. **HRMS (ESI)** : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₅H₂₃NO₄P : 312.135921 found : 312.135945.

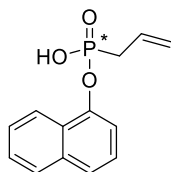
Methyl naphthalen-2-yl allylphosphonate (**104**)



Chemical Formula: C₁₄H₁₅O₃P
Molecular Weight: 262,2448

To a mixture of dimethylallylphosphonate **5** (1.70 g, 1 eq., 11.26 mmol) and dry CH₂Cl₂ (50 mL), oxalyl chloride (2.90 mL, 3 eq., 33.77 mmol) was added. The reaction was stirred for 24 h under reflux, followed by the removal of the volatiles *under reduced pressure* to obtain the chloromethylallyl phosphonate. In another flask, a solution of 1-naphtol (2.11 g, 1.3 eq., 14.64 mmol), triethylamine (3.14 mL, 2 eq., 22.52 mmol) and CH₂Cl₂ (50 mL) was stirred at room temperature. The phosphonate residue was then dissolved in CH₂Cl₂ (50 mL), and slowly added to this solution, and refluxed during 48 h. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel, eluting with Petroleum ether/Ethyl acetate 8/2, to afford compound **104** as a colorless oil (1.53 g, 52%). **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 8.19 – 8.11 (m, 1H, H^{Ar}), 7.90 – 7.82 (m, 1H, H^{Ar}), 7.70 – 7.63 (m, 1H, H^{Ar}), 7.56 – 7.48 (m, 3H, H^{Ar}), 7.40 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H, H^{Ar}), 5.98 – 5.84 (m, 1H, CH=CH₂), 5.33 – 5.21 (m, 2H, CH₂=CH), 3.83 (d, *J* = 11.1 Hz, 3H, OCH₃), 2.90 (dd, *J* = 22.0, 7.3 Hz, 2H, CH₂-P). **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃)** δ 146.41, 146.32 (O-C^{q, Ar}), 134.84 (C^{q, Ar}), 127.83 (CH^{Ar}), 126.65 (CH^{Ar}), 126.59, 126.48 (CH=CH₂), 126.37 (CH^{Ar}), 125.61, 125.60 (CH^{Ar}), 124.92, 124.90 (CH^{Ar}), 121.64 (CH^{Ar}), 121.03, 120.88 (CH=CH₂), 115.55, 115.52 (CH^{Ar}), 53.61, 53.54 (OMe), 32.12, 30.73 (CH₂-P).

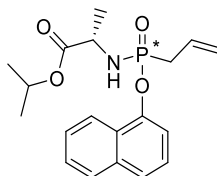
Naphthalen-2-yl hydrogen allylphosphonate (**117**)



Chemical Formula: C₁₃H₁₃O₃P
Molecular Weight: 248,2178

Bromotrimethylsilane (2.14 mL, 6 eq., 16.22 mmol) was slowly added to a solution of compound **104** (709 mg, 1 eq., 2.70 mmol) in anhydrous CH₃CN (25 mL) under argon. The mixture was stirred for 24 h at room temperature. After evaporation of all volatiles, the crude product was co-evaporated five times with methanol (5 x 20 mL). The residue was then purified by flash column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂ / MeOH 95/5) to obtain desired product **117** as an amorphous white solid (605 mg, 90%). ¹H-NMR (250 MHz, MeOD) δ 8.45 – 8.24 (m, 1H, H^{Ar}), 7.96 – 7.77 (m, 1H, H^{Ar}), 7.75 – 7.34 (m, 5H, H^{Ar}), 6.08 – 6.03 (m, 1H, CH=CH₂), 5.23 – 4.99 (m, 2H, CH₂=CH), 2.76 (dd, *J* = 22.5, 7.3 Hz, 2H, CH₂-P). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 146.42, 146.34 (O-C^q, Ar), 134.87 (C^q, Ar), 127.86 (CH^{Ar}), 126.68 (CH^{Ar}), 126.60, 126.51 (CH=CH₂), 126.39 (CH^{Ar}), 125.62, 125.60 (CH^{Ar}), 124.95, 124.93 (CH^{Ar}), 121.67 (CH^{Ar}), 121.12, 121.08 (CH=CH₂), 115.56, 115.53 (CH^{Ar}), 32.29, 30.83 (CH₂-P). HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₃H₁₄O₃P : 249.067507, found : 249.067432.

O-(1-Naphthyl)-(isopropoxy-L-alanine)-allylphosphonate (**118**)

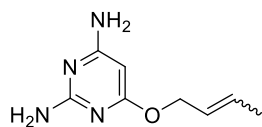


Chemical Formula: C₁₉H₂₄NO₄P
Molecular Weight: 361,3778

The compound **117** (324 mg, 1 eq., 1.31 mmol) was dissolved in anhydrous CH₂Cl₂ (10 mL). A catalytic amount of DMF (0.03 mL) was then introduced, followed by the addition of oxalyl chloride (0.23 mL, 2 eq., 2.61 mmol). After 30 min. at 0 °C and 1 h 30 at room temperature, the volatiles were removed, and the residue diluted with 8 mL of CH₂Cl₂ to afford solution A. A second solution was prepared with L-alanine isopropyl ester chlorhydrate (263 mg, 1.2 eq., 1.57 mmol), freshly distilled triethylamine (1.46 mL, 8 eq., 10.44 mmol) and CH₂Cl₂ (10 mL). To this mixture, the solution A was slowly added at 0 °C, and stirred for 24 h at room temperature. After the described work-up, the residue was purified twice by flash column chromatography on silica gel, eluting PE/EA (7:3) to afford the mixture of the two diastereoisomers **118** as a colorless oil (233 mg, 50%, ratio diastereoisomer 1 : diastereoisomer 2 of 6:4). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (dt, *J* = 6.8, 3.3 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.83 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.66 – 7.56 (m, 2H, H^{Ar}), 7.56 – 7.48 (m, 2H, H^{Ar}), 7.38 (q, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.07 – 5.89 (m, 1H, CH=CH₂), 5.40 – 5.24 (m, 2H, CH=CH₂), 4.91 (hept, *J* = 6.2 Hz, 1H, OCH(CH₃)₂), 4.15 – 3.97 (m, 1H, CH-NH), 3.44 (dt, *J* = 62.1, 10.7 Hz, 1H, CH-NH), 3.02 – 2.80 (m, 2H, CH₂-P), 1.25 (d, *J* = 7.8 Hz, 1.5H, NHCHCH₃), 1.21 – 1.10 (m, 7.5H, NHCHCH₃, OCH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 173.59, 173.14, 173.08 (OC=O), 146.46, 146.27 (O-C^q, Ar), 134.80, 134.76 (C^q, Ar), 127.89, 127.86 (CH=CH₂), 126.51 (C^q, Ar), 126.48 (C^q, Ar), 126.26, 126.24 (CH^{Ar}), 125.65 (CH^{Ar}), 124.48, 124.43 (CH^{Ar}), 121.45, 121.40 (CH^{Ar}), 120.91, 120.84, 120.77, 120.70 (CH=CH₂), 115.90, 115.86, 115.47, 115.43 (CH^{Ar}), 69.09, 69.07 (OCH(CH₃)₂), 49.79, 49.69 (NHCHCH₃), 33.7 (CH₂P), 33.5 (CH₂P), 20.5 (OCH(CH₃)₂), 20.4 (OCH(CH₃)₂), 20.3 (OCH(CH₃)₂), 19.7

(NHCHCH₃), 19.1 (NHCHCH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ: 30.01, 29.43. HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₉H₂₅NO₄P : 362.151571, found : 362.151503.

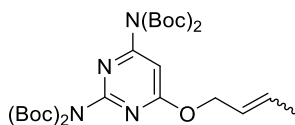
6-[(*E*)-but-2-enoxy]pyrimidine-2,4-diamine (**89**)



Chemical Formula: C₈H₁₂N₄O
Molecular Weight: 180,2110

Following the general procedure 1, to a solution of 2,4-diamino-6-chloropyrimidine (100 mg, 1 eq., 0.69 mmol) in *t*BuOH (2 mL) was introduced crotyl alcohol, mixture of *cis* and *trans* isomers (0.18 mL, 3 eq., 2.08 mmol) and NaOtBu (133 mg, 2 eq., 1.38 mmol). Desired compound **89** (125 mg, quantitative yield) was obtained after purification as a colorless oil, as a *cis* and *trans* mixture. ¹H-NMR (400 MHz, Acetone) δ 5.70 (m, 2H, H^{2'/3'}), 5.53 (bs, 2H, NH₂), 5.45 (bs, 2H, NH₂), 5.15 (s, 1H, H⁵), 4.56 (m, 2H, CH₂-O), 1.66 (m, 3H, CH₃). ¹³C-NMR (101 MHz, Acetone) δ 171.50 (C⁶), 167.15 (C²), 164.15 (C⁴), 129.96 (C^{2'/3'}), 127.65 (C^{2'/3'}), 77.78 (C⁵), 66.26 (CH₂-O), 17.85 (CH₃). HRMS-ESI (*m/z*) [M+H]⁺ calcd for C₈H₁₃N₄O 181.1084, found 181.1081.

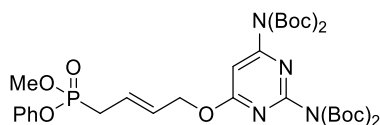
tert-Butyl-*N*-[2-[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-6-[(*E*)-but-2-enoxy]pyrimidin-4-yl]-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-carbamate (**90**)



Chemical Formula: C₂₈H₄₄N₄O₉
Molecular Weight: 580,6790

Di-*tert*-butyl dicarbonate (2.90 g, 6 eq., 13.32 mmol) and 4-(Dimethylamino)pyridine (95 mg, 0.35 eq., 0.78 mmol) were added to a solution of compound **89** (400 mg, 1 eq., 2.22 mmol) in THF (10 mL), pursuing conditions of general procedure 2. The expecting compound **90** (1.19 g, 92%) was obtained as a colorless oil after purification by flash column chromatography on silica gel. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.85 (s, 1H, H⁵), 5.81 (m, 1H, H^{3'}), 5.67 (m, 1H, H^{2'}), 4.73 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂-O), 1.69 (dd, *J* = 6.4, 1.5 Hz, 3H, CH₃), 1.47 (s, 18H, CH₃^{Boc}), 1.40 (s, 18H, CH₃^{Boc}). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 171.51 (C⁶), 159.87 (C⁴), 156.5 (C²), 150.47 (C=O^{Boc}), 150.02 (C=O^{Boc}), 131.55 (C^{2'/3'}), 125.19 (C^{2'/3'}), 96.63 (C⁵), 84.07 (C^{q, Boc}), 83.03 (C^{q, Boc}), 67.78 (CH₂-O), 27.87 (CH₃^{Boc}), 27.77 (CH₃^{Boc}), 17.84 (CH₃). HRMS-ESI (*m/z*) [M+H]⁺ calcd for C₂₈H₄₅N₄O₉ 581.3181, found 581.3179.

tert-Butyl *N*-[2-[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-6-[(*E*)-4-[methoxy(phenoxy)phosphoryl] but-2-enoxy]pyrimidin-4-yl]-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-carbamate (**92**)

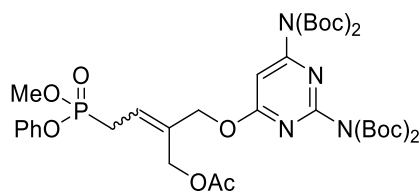


Chemical Formula: C₃₅H₅₁N₄O₁₂P
Molecular Weight: 750,7828

Following the general procedure 3, to a solution of compound **90** (553 mg, 1.0 eq., 0.95 mmol) and methoxyphenoxyallylphosphonate **78** (404 mg, 2.0 eq., 1.90 mmol) in freshly distilled CH₂Cl₂ (10 mL),

Nolan-Grubbs Catalyst 2nd Generation (121 mg, 15 mol%, 0.14 mmol) was added. The catalyst addition was performed in five equal portions of 3 mol% at t = 0, 3, 6, 9 and 21 h over the course of the reaction. The mixture was sonicated at 55 °C (80 kHz, 100 W) under a gentle nitrogen flow for 24 h. After evaporation of all volatiles, the purification by flash column chromatography on silica gel using an elution gradient of Petroleum ether/EtOAc (6/4) gave the desired compound **92** (468 mg, 66%) as a brown oil. **¹H-NMR (400 MHz, Acetone)** δ 7.37 (dd, *J* = 8.6, 7.3 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.26 – 7.16 (m, 3H, H^{Ar}), 6.99 (s, 1H, H⁵), 6.06 – 5.86 (m, 2H, CH=CH), 5.00 – 4.76 (m, 2H, CH₂-ODAPY), 3.79 (d, *J* = 11.1 Hz, 3H, OCH₃), 2.87 (dd, *J* = 22.3, 6.7 Hz, 2H, CH₂-P), 1.53 (s, 18H, CH₃^{Boc}), 1.47 (s, 18H, CH₃^{Boc}). **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃)** δ 171.35 (C⁶), 169.99, 160.10 (C⁴), 156.76 (C²), 150.39 (C=O^{Boc}), 149.81 (C=O^{Boc}), 129.66 (CH^{Ar}), 129.57, 129.42, 124.74 (C^{2'/3'}), 124.42, 124.31 (C^{2'/3'}), 120.56 (CH^{Ar}), 120.51 (CH^{Ar}), 95.65 (C⁵), 83.85 (C^{q, Boc}), 82.70 (C^{q, Boc}), 82.42 (C^{q, Boc}), 66.87, 66.85 (CH₂-O), 59.64 (CH₂-O), 52.59, 52.53 (OCH₃), 30.10 (CH₂-P), 28.72 (CH₂-P), 27.11 (CH₃^{Boc}), 27.00 (CH₃^{Boc}), 19.94, 13.62. **HRMS (ESI)** : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₃₅H₅₂N₄O₁₂P : 751.331386, found 751.330979.

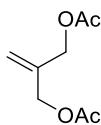
[(Z)-2-[[2,6-bis[bis(tert-butoxycarbonyl)amino]pyrimidin-4-yl]oxymethyl]-4-[methoxy (phenoxy) phosphoryl]but-2-enyl] acetate (93**)**



Chemical Formula: C₃₈H₅₅N₄O₁₄P
Molecular Weight: 822,8458

Following the general procedure 3, to a solution of compound **11** (404 mg, 1.0 eq., 0.63 mmol) and methoxyphenoxyallylphosphonate **78** (269 mg, 2.0 eq., 1.27 mmol) in freshly distilled CH₂Cl₂ (10 mL), Nolan-Grubbs Catalyst 2nd Generation (81 mg, 15 mol%, 0.095 mmol) was added. The catalyst addition was performed in five equal portions of 3 mol% at t = 0, 3, 6, 9 and 21 h over the course of the reaction. The mixture was sonicated at 55 °C (80 kHz, 100 W) under a gentle nitrogen flow for 24 h. After evaporation of all volatiles, the purification by flash column chromatography on silica gel using an elution gradient of Petroleum ether/EtOAc (5/5) gave the mixture of the two diastereoisomers **93** (Z/E 1/1) (334 mg, 64%) as a brown oil. Diastereoisomer mixture (Z/E 50%/50%): **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 7.34 (td, *J* = 7.9, 7.2, 4.2 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.19 (t, *J* = 8.9 Hz, 3H, H^{Ar}), 6.96 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, H⁵), 5.97 – 5.84 (m, 1H, CH=C), 4.93 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, CH₂-ODAPY, E isomer), 4.86 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H, CH₂-ODAPY, Z isomer), 4.70 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, CH₂-OAc, Z isomer), 4.66 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, CH₂-OAc, E isomer), 3.81 (dd, *J* = 11.1, 6.2 Hz, 3H, OCH₃), 2.97 (ddd, *J* = 22.7, 8.1, 2.9 Hz, 2H, CH₂-P), 2.03 (d, *J* = 14.2 Hz, 3H, CH₃^{Ac}), 1.52 (d, *J* = 1.7 Hz, 18H, CH₃^{Boc}), 1.45 (d, *J* = 2.9 Hz, 18H, CH₃^{Boc}). **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃)** δ 171.14, 171.07 (C⁶), 170.61, 170.44 (OC=O), 159.90, 159.87 (C⁴), 156.42, 156.28 (C²), 150.44, 150.37 (C=O^{Boc}), 149.92, 149.86 (C=O^{Boc}), 134.44, 134.34, 134.30, 134.20 (CH=C), 129.83 (CH^{Ar}), 125.11 (CH^{Ar}), 122.95, 122.84 (CH=C), 120.37, 120.33 (CH^{Ar}), 95.88, 95.83 (C⁵), 84.24, 84.21 (C^{q, Boc}), 83.19, 83.13 (C^{q, Boc}), 68.36 (CH₂-ODAPY, Z isomer), 65.80 (CH₂-OAc, E isomer), 62.16 (CH₂-ODAPY, E isomer), 59.48 (CH₂-OAc, Z isomer), 53.40, 53.33 (OCH₃), 28.18 (CH₃^{Boc}), 28.15 (CH₃^{Boc}), 28.11 (CH₃^{Boc}), 27.89 (CH₃^{Boc}), 27.83 (CH₃^{Boc}), 27.71 (CH₃^{Boc}), 26.81, 26.75 (CH₂-P), 25.41, 25.35 (CH₂-P), 20.86, 20.73 (CH₃^{Ac}). **³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃)** δ : 24.00, 23.88. **HRMS (ESI)** : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₃₈H₅₆N₄O₁₄P : 823.352516, found 823.351553.

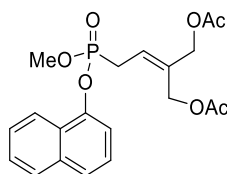
1,3-diacetoxy-2-methylenepropane (**102**)



Chemical Formula: $C_8H_{12}O_4$
Molecular Weight: 172,18

To a solution of 2-methylenepropan-1,3-diol (3.48 g, 1 eq., 39.5 mmol) in CH_2Cl_2 (17 mL) vinyl acetate (7.61 g, 2 eq., 79.0 mmol) and *Candida antarctica* lipase B (CAL-B, 10 % w/w, 348 mg) were sequentially added. The solution was stirred at room temperature for 16 hours, followed by the removal of all solids by simple filtration. The filtrate was concentrated by rotary evaporation, and the crude product was filtrated on a layer of silica gel, to afford the desired compound **102** as a colorless oil (6.80 g, quant.). **CAS** : 3775-29-9; **1H -NMR (250 MHz, $CDCl_3$)** δ 5.25 (s, 2H, $CH_2=C$), 4.57 (s, 4H, CH_2), 2.06 (s, 6H, CH_3).

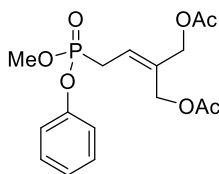
[2-(acetoxymethyl)-4-[methoxy(1-naphthoxy)phosphoryl]but-2-enyl] acetate (**105**)



Chemical Formula: $C_{20}H_{23}O_7P$
Molecular Weight: 406,3708

To a solution of compound **104** (1.05 g, 1.0 eq., 4.01 mmol) and 1,3-diacetoxy-2-methylenepropane **102** (1.38 g, 2.0 eq., 8.02 mmol) in freshly distilled CH_2Cl_2 (50 mL), Nolan-Grubbs Catalyst 2nd Generation (205 mg, 6 mol%, 0.24 mmol) was added. The catalyst addition was performed in three equal portions of 2 mol% at $t = 0, 3$ and 6 h over the course of the reaction. The mixture was sonicated at 55 °C (80 kHz, 100 W) under a gentle nitrogen flow for 24 h. After evaporation of all volatiles, the purification by flash column chromatography on silica gel using an elution gradient of Petroleum ether/EtOAc (5/5) gave the desired compound **105** (1.43 g, 88%) as a colorless oil. **1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$)** δ 8.13 – 8.07 (m, 1H, H^{Ar}), 7.88 – 7.82 (m, 1H, H^{Ar}), 7.67 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H^{Ar}), 7.56 – 7.47 (m, 3H, H^{Ar}), 7.40 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H, H^{Ar}), 5.88 (q, $J = 7.9$ Hz, 1H, $CH=C$), 4.59 (d, $J = 2.9$ Hz, 4H, CH_2OAc), 3.81 (d, $J = 11.1$ Hz, 3H, OCH_3), 3.04 (ddd, $J = 22.7, 8.0, 3.4$ Hz, 2H, CH_2-P), 2.05 (s, 3H, CH_3^{Ac}), 1.99 (s, 3H, CH_3^{Ac}). **^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$)** δ 170.61, 170.51 ($OC=O$), 146.30, 146.21 ($O-C^{Ar}$), 134.84 (C^{Ar}), 134.46, 134.32 ($C=CH$), 127.87, 126.71, 126.44, 125.60, 125.59, 125.03, 125.02 (CH^{Ar}), 122.68, 122.56 ($C=CH$), 121.51 (CH^{Ar}), 115.48, 115.45 (CH^{Ar}), 65.73, 65.71 (CH_2-OAc), 59.36, 59.34 (CH_2-OAc), 53.62, 53.55 (OCH_3), 26.81, 25.41 (CH_2-P), 20.88, 20.71 (CH_3^{Ac}). **HRMS (ESI)** : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{20}H_{24}PO_7$: 407.125416, found 407.125632.

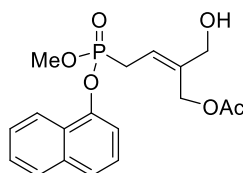
[2-(acetoxymethyl)-4-[methoxy(1-phenyloxy)phosphoryl]but-2-enyl] acetate (**118**)



Chemical Formula: $C_{16}H_{21}O_7P$
Molecular Weight: 356,3108

To a solution of compound **78** (1.37 g, 1.0 eq., 6.45 mmol) and 1,3-diacetoxy-2-methylenep propane **102** (2.22 g, 2.0 eq., 12.89 mmol) in freshly distilled CH₂Cl₂ (65 mL), Nolan-Grubbs Catalyst 2nd Generation (329 mg, 6 mol%, 0.39 mmol) was added. The catalyst addition was performed in three equal portions of 2 mol% at t = 0, 3 and 6 h over the course of the reaction. The mixture was sonicated at 55 °C (80 kHz, 100 W) under a gentle nitrogen flow for 24 h. After evaporation of all volatiles, the purification by flash column chromatography on silica gel using an elution gradient of Petroleum ether/EtOAc (5/5) gave the desired compound **118** (1.79 g, 78%) as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.32 (dd, J = 8.7, 7.1 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.16 (m, 3H, H^{Ar}), 5.83 (q, J = 7.8, 7.3 Hz, 1H, CH=C), 4.63 (d, J = 2.5 Hz, 2H, CH₂OAc), 4.59 (d, J = 4.0 Hz, 2H, CH₂OAc), 3.79 (d, J = 11.1 Hz, 3H, OCH₃), 2.92 (dd, J = 22.7, 8.1 Hz, 2H, CH₂-P), 2.05 (s, 3H, CH₃^{Ac}), 2.02 (s, 3H, CH₃^{Ac}). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.62 (OC=O), 170.50 (OC=O), 150.42, 150.34 (O-C^q, Ar), 134.39, 134.25 (C=CH), 129.82 (CH^{Ar}), 125.13, 125.12 (CH^{Ar}), 122.81, 122.70 (C=CH), 120.35, 120.30 (CH^{Ar}), 65.78, 65.75 (CH₂-OAc), 59.41, 59.39 (CH₂-OAc), 53.38, 53.31 (OCH₃), 26.68, 25.28 (CH₂-P), 20.87 (CH₃^{Ac}), 20.74 (CH₃^{Ac}).

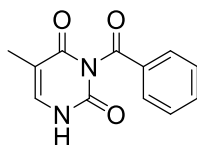
[(Z)-2-(hydroxymethyl)-4-[methoxy(1-naphthyloxy)phosphoryl]but-2-enyl] acetate (**106**)



Chemical Formula: C₁₈H₂₁O₆P
Molecular Weight: 364,3338

In a flask charged with compound **105** (1.05 g, 1 eq., 2.57 mmol) phosphate buffer (20 mL, 0.1 M, pH = 7.0) and *Candida antarctica* lipase B (CAL-B, 50% w/w, 523 mg) were added. The resulting mixture was stirred for 24 h at 37 °C, then filtered and the recovered solids were washed with EtOAc (3 x 30 mL). The organic layers were afterwards collected, dried over magnesium sulfate and all the volatiles were removed by rotary evaporation. The residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel (EtOAc/PE, 8/2) to give the desired compound **106** (487 mg, 52%) as a colorless oil. This compound was stored at -20 °C in the dark, in order to prevent any racemization. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.11 (dd, J = 8.0, 1.8 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.88 – 7.82 (m, 1H, H^{Ar}), 7.67 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.57 – 7.48 (m, 3H, H^{Ar}), 7.41 (t, J = 7.9 Hz, 1H, H^{Ar}), 5.88 – 5.75 (m, 1H, CH=C), 4.58 (d, J = 2.4 Hz, 2H, CH₂OAc), 4.10 (d, J = 4.4 Hz, 2H, CH₂OH), 3.82 (d, J = 11.1 Hz, 3H, OCH₃), 3.02 (ddd, J = 22.5, 8.0, 3.2 Hz, 2H, CH₂-P), 1.99 (s, 3H, CH₃^{Ac}). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 171.01 (OC=O), 146.37, 146.28 (O-C^q, Ar), 139.20, 139.06 (C=CH), 134.82 (C^q, Ar), 127.90, 126.75, 126.46, 125.62, 125.60, 125.01 (CH^{Ar}), 121.52 (CH^{Ar}), 119.80, 119.69 (C=CH), 115.42, 115.39 (CH^{Ar}), 65.12, 65.09 (CH₂-OH), 59.53, 59.51 (CH₂-OAc), 53.58, 53.51 (OCH₃), 26.62, 25.22 (CH₂-P), 20.78 (CH₃^{Ac}). HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺calcd for C₁₈H₂₂PO₆ : 365.114851, found 365.115071.

N³-Benzoylthymine (**109**)

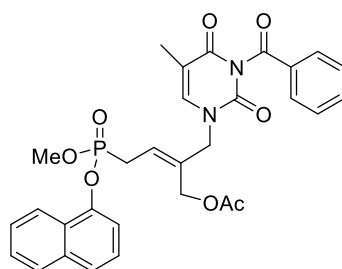


Chemical Formula: C₁₂H₁₀N₂O₃
Molecular Weight: 230,2230

To a solution of thymine (1.0 g, 1 eq., 7.93 mmol) in a 2/5 mixture of dry pyridine and dry acetonitrile (20 mL) was added benzoyl chloride (2.76 mL, 3 equiv., 23.79 mmol). The reaction mixture was stirred

24 h at room temperature and concentrated under reduced pressure. The residue was partitioned between dichloromethane and water. The organic layer was separated and then evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in a mixture of aqueous potassium carbonate 0.5 M (20 mL) and 1,4-dioxane (40 mL) and stirred at 70 °C until complete conversion (2 h). The solution was cooled down to room temperature and the pH was lowered to 5 by addition of glacial acetic acid. The volatiles were evaporated under reduced pressure to initiate precipitation. The aqueous mixture was filtered and the residue was washed with cold water and diethyl ether to obtain the desired N³-benzoylthymine **109** (1.75 g, 96%) as a white solid. **CAS** : 4330-20-5. **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 10.12 (s, 1H, NH), 7.95 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.66 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.52 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.06 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H⁶), 1.91 (d, *J* = 1.1 Hz, 3H, CH₃).

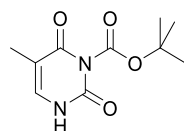
[(Z)-2-[(3-benzoyl-5-methyl-2,4-dioxo-pyrimidin-1-yl)methyl]-4-[methoxy(1-naphthyloxy)phosphoryl]but-2-enyl] acetate (112)



Chemical Formula: C₃₀H₂₉N₂O₈P
Molecular Weight: 576,5418

Monoacetate phosphonate derivative **106** (385 mg, 1.5 equiv., 1.06 mmol) was dissolved in THF (10 mL), then protected thymine **109** (162 mg, 1 equiv., 0.71 mmol) and PPh₃ (277 mg, 1.5 equiv., 1.06 mmol) were sequentially added, then DIAD (0.21 mL, 1.5 equiv., 1.06 mmol) was added dropwise at 0 °C. The mixture was heated at 70 °C for 24 h. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel CH₂Cl₂/MeOH (97:3) to give desired product **112** (194 mg, 48%). **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 8.10 – 8.04 (m, 1H, H^{Ar}), 7.90 (dd, *J* = 8.4, 1.3 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.87 – 7.81 (m, 1H, H^{Ar}), 7.67 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.59 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.52 (t, *J* = 4.3 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.47 – 7.38 (m, 4H, H^{Ar}), 7.02 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H⁶), 5.85 (q, *J* = 7.6 Hz, 1H, CH=C), 4.58 (d, *J* = 2.6 Hz, 2H, CH₂OAc), 4.38 (d, *J* = 4.0 Hz, 2H, CH₂-N), 3.79 (d, *J* = 11.2 Hz, 3H, OCH₃), 3.07 (dd, *J* = 22.7, 8.0 Hz, 2H, CH₂-P), 1.95 (s, 3H, CH₃^{Ac}), 1.85 (s, 3H, CH₃^{Ar}). **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃)** δ 170.55 (OC=O), 168.90 (Ph-C=O), 162.95 (C^{2/4}), 149.88 (C^{2/4}), 146.19, 146.10 (O-C^{q, Ar}), 139.04 (C⁶), 134.97, 134.85 (C^{q, Ar}), 134.03, 133.89 (C=CH), 131.57, 130.44, 129.12, 127.97, 126.85, 126.62, 125.59, 125.57, 125.21, 125.20 (CH^{Ar}), 124.41, 124.30 (C=CH), 121.29 (CH^{Ar}), 115.50, 115.46 (CH^{Ar}), 111.13 (C^{q, Ar}), 59.54, 59.52 (CH₂-OAc), 53.73, 53.66 (OCH₃), 51.35, 51.33 (CH₂-N), 27.03, 25.63 (CH₂-P), 20.62 (CH₃^{Ac}), 12.35 (CH₃^{Ar}). **HRMS (ESI)** : m/z [M+H]⁺ calcd for C₃₀H₃₀N₂O₈P : 577.173429, found 577.172915.

tert-Butyl-5-methyl-2,4-dioxypyrimidine-3-carboxylate (111)

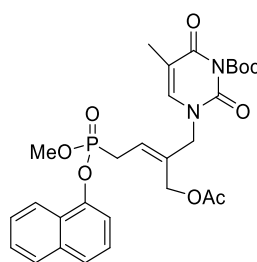


Chemical Formula: C₁₀H₁₄N₂O₄
Molecular Weight: 226,2320

To a solution of thymine (300 mg, 1 eq., 2.38 mmol) in THF (20 mL) Boc₂O (1.56 g, 3 eq., 7.14 mmol) and DMAP (102 mg, 0.35 eq., 0.83 mmol) were added. After microwave irradiation at 70 °C for 5

minutes, the solution was evaporated under reduced pressure and the *N*¹,*N*³-bis-boc-thymine was used in the next step without further purification. The crude was then diluted in 5 mL of DEM/EtOH (9/1) with SiO₂ (60% w/w), and activated under microwave irradiation (MW, 70°C, 2 min). After evaporation of all the volatiles, the resulting *N*³-substituted thymine was purified by flash chromatography (PE/EtOAc 9:1) to afford the desired product **111** (511 mg, 95 %) as a white solid. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.12 (s, 1H, NH), 7.06 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H⁶), 1.91 (d, *J* = 1.1 Hz, 3H, CH₃), 1.59 (s, 9H, CH₃^{Boc}). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 161.90, 150.80, 147.91, 136.10, 110.47, 86.97, 27.46, 12.27. HRMS (ESI) :m/z [M+H]⁺calcd for C₁₀H₁₅N₂O₄ : 227.1033, found 227.1032.

tert-Butyl 3-[(Z)-2-(acetoxymethyl)-4-[methoxy(1-naphthyloxy)phosphoryl]but-2-enyl]-5-methyl-2,6-dioxo-pyrimidine-1-carboxylate (113)



Chemical Formula: C₂₈H₃₃N₂O₉P
Molecular Weight: 572.5508

Monoacetate phosphonate derivative **106** (283 mg, 1.5 equiv., 0.78 mmol) was dissolved in THF (8 mL), then protected thymine **111** (117 mg, 1 equiv., 0.52 mmol) and PPh₃ (204 mg, 1.5 equiv., 0.78 mmol) were sequentially added, then DIAD (0.15 mL, 1.5 equiv., 0.78 mmol) was added dropwise at 0 °C. The mixture was heated at 70 °C for 24 h. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel CH₂Cl₂/MeOH (97:3) to give desired product **113** (160 mg, 36%). ¹H-NMR (250 MHz, MeOD) δ 8.18 – 8.12 (m, 1H, H^{Ar}), 7.98 – 7.92 (m, 1H, H^{Ar}), 7.81 – 7.76 (m, 1H, H^{Ar}), 7.65 – 7.58 (m, 2H, H^{Ar}), 7.51 – 7.47 (m, 2H, H^{Ar}), 7.29 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H⁶), 5.84 (td, *J* = 8.1, 6.7 Hz, 1H, CH=C), 4.65 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, CH₂OAc), 4.45 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H, CH₂-N), 3.88 (d, *J* = 11.2 Hz, 3H, OCH₃), 3.26 (dd, *J* = 22.8, 8.0 Hz, 2H, CH₂-P), 1.97 (s, 3H, CH₃^{Ac}), 1.82 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, CH₃^{Ar}), 1.59 (s, 9H, CH₃^{Boc}).

Chapitre IV. A-2) SYNTHÈSE DE TRANS BUT-2'-ENYL-PHOSPHONO NUCLEOSIDES SOUS FORME PRODROGUE VISANT LE VIRUS DE L'HEPATITE B

1. Le virus de l'hépatite B

L'infection par le HBV est un problème majeur de santé publique mondial, avec plus de 257 millions de personnes infectées et près de 887 000 décès par an dans le monde selon les statistiques de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 2015.¹²⁷ Le virus de l'hépatite B (HBV) a été découvert en 1963 et appartient au genre Orthohepadnavirus de la famille des Hepadnaviridae ; les patients infectés par le HBV ont un risque élevé de développer un cancer du foie.^{128,129} La particule de HBV, d'un diamètre d'environ 42 à 46 nm,¹³⁰ contient un génome d'ADN circulaire double brin (ADNdb ou ADNrc) d'environ 3200 nucléotides. Au cours de l'infection, le génome, transporté jusqu'au noyau, est converti en ADNccc (ADN circulaire covalentement clos). L'ADNccc sert alors de matrice pour la transcription des ARN viraux. Le HBV est l'un des rares virus non rétroviraux connus qui utilisent la transcription inverse dans le cadre de son processus de réplication. Le cycle de réplication du HBV qui se déroule à la fois dans le cytoplasme et dans le noyau des hépatocytes est complexe (Figure 1).

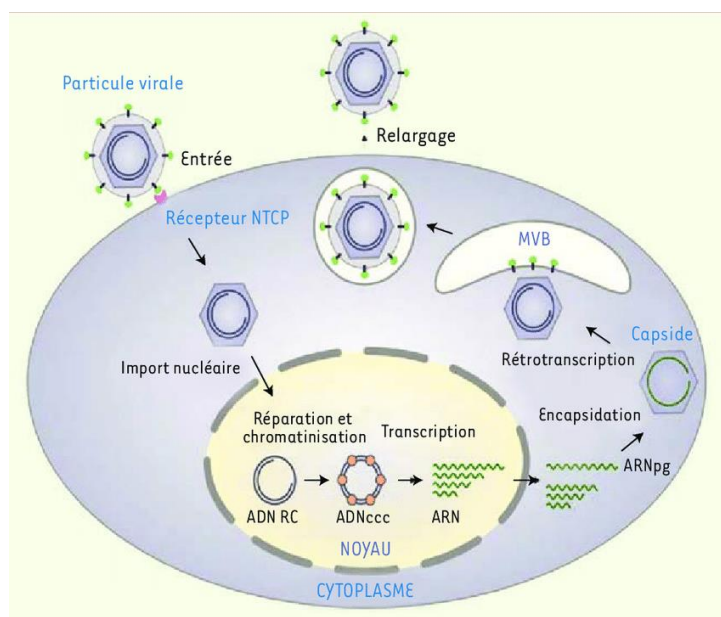


Figure 1 : Cycle de réplication du HBV dans un hépatocyte¹³¹

¹²⁷ <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>

¹²⁸ M. K. White, J. S. Pagano, K. Khalili, Viruses and human cancers: along road of discovery of molecular paradigms. *Clin. Microbiol. Rev.* **2014**, 27, 463–481.

¹²⁹ D. Maucourt-Boulch, C. De Martel, S. Franceschi, M. Plummer, Fraction and incidence of liver cancer attributable to hepatitis B and C viruses worldwide. *Int. J. Cancer.* **2018**, 142, 2471-2477.

¹³⁰ A. SellsM, M. L. Chen, G. Acs, Production of hepatitis B virusparticles in Hep G2 cells transfected with cloned hepatitis B virus DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1987**, 84, 1005–1009.

¹³¹ N. Lydie, M. K. Sakina, Le récepteur neural des œstrogènes bêta : Un nouvel acteur dans la maturation pubertaire femelle. *Médecine/sciences*, **2016**, 32, 433-460.

L'infection virale débute par l'attachement de la particule à la surface des hépatocytes. Le génome viral entre dans la cellule suite à son interaction avec le récepteur : le *sodium-taurocholate cotransporting polypeptide* (NTCP). La capside contenant le génome viral est ensuite importée dans le noyau où l'ADN viral est libéré. L'ADNrc est alors réparé par des facteurs cellulaires et converti en ADNccc. L'ADNccc s'associe avec des protéines cellulaires histones en une structure chromatinienne. L'ADNccc est alors transcrit en ARN messagers (ARNm), permettant la production des protéines virales. L'ARN prégénomique est encapsidé dans les capsides néosynthétisées et rétrotranscrit en ADNrc. Après acquisition d'une enveloppe au niveau des corps multivésiculaires (MVB), les nouvelles particules virales sont relarguées de la cellule par exocytose. Depuis nombreuses années, le traitement de l'infection par le HBV se base sur l'interféron (IFN) et six inhibiteurs analogues de nucléosides/nucléotides de la polymérase virale.¹³² Cependant, la présence de cet ADNccc, forme de persistance du HBV dans les hépatocytes, peu sensible à l'action des antiviraux anti-HBV,¹³³ explique l'urgence de développer de nouvelles thérapies.

2. Les analogues des nucléosides actifs contre le HBV

Les analogues des nucléosides constituent la principale famille de médicaments dans le traitement de l'hépatite B. Six analogues des nucléosides (adéfovir dipivoxil **1**, ténofovir disoproxil **2**, ténofovir alafénamide **3**, lamivudine **4**, telbivudine **5** et entécavir **6**) ont été approuvés par la FDA contre HBV(Figure 2).¹³⁴

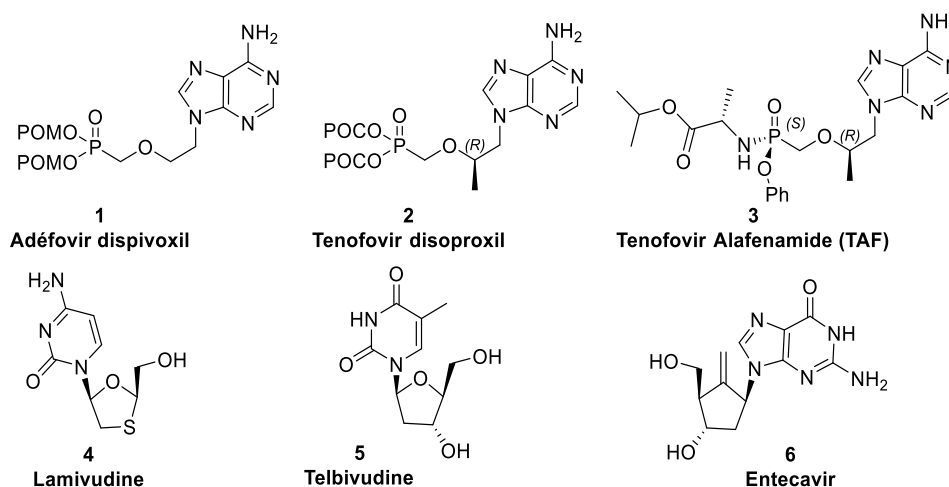


Figure 2 : Analogues de nucléos(t)ides dans le traitement de HBV

Ces six médicaments sont des inhibiteurs de la polymérase virale du HBV, par inhibition compétitive réversible de la transcriptase inverse virale, une ADN polymérase virale, qui

¹³² Y. Pei, C. Wang, S. F. Yan, G. Liu, Past, current, and future developments of therapeutic agents for treatment of chronic hepatitis B virus infection. *J. Med. Chem.* **2017**, 60, 15, 6461-6479.

¹³³ P. A. Revill, F. V. Chisari, J. M. Block, M. Dandri, A. J. Gehring, H. Guo, J. Hu, A. Kramvis *et al.* A global scientific strategy to cure hepatitis B. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* **2019**, 4, 545-558.

¹³⁴ K. Onitsuka, R. Tokuda, N. Kuwata-Higashi, H. Kumamoto, M. Aoki, S. Imoto *et al.* Synthesis and evaluation of the anti-hepatitis B virus activity of 4'-Azido-thymidine analogs and 4'-Azido-2'-deoxy-5-methylcytidine analogs: structural insights for the development of a novel anti-HBV agent. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, **2020**, 39, 4, 518-529.

transcrit de manière inverse (rétro-transcrit) l'ARN en ADN. Après phosphorylation par des kinases cellulaires, ces composés sont incorporés par la transcriptase inverse dans la chaîne nucléotidique en construction. Certains agissent comme terminateur de chaîne (si dépourvus de 3'-OH) ou par effet retard (c.a.d., après quelques intégrations dans l'ADN viral). L'entécavir, le ténofovir disoproxil (TDF) et le ténofovir alafénamide (TAF) sont les trois analogues des nucléosides actuellement les plus largement utilisés pour le traitement de première ligne de l'hépatite B chronique. Ils ont une barrière génétique à la résistance beaucoup plus élevée que les précédents (telbivudine, lamivudine et adéfovir dipivoxil).^{135,136}

- ✓ La **lamivudine** (3TC) a été le premier analogue de nucléoside approuvé pour le traitement de l'infection du HBV. C'est un β -L-nucléoside qui est administrée par voie orale, rapidement absorbé avec une biodisponibilité supérieure à 80 %.¹³⁷
- ✓ La **telbivudine** est la β -L-thymidine ; c'est un médicament spécifique et sélectif de HBV, administré par voie orale. Les essais cliniques ont montré qu'il est significativement plus efficace que la lamivudine ou l'adéfovir dipivoxil.^{138,139}
- ✓ L'**entécavir** est un carbanucléoside d'efficacité antivirale plus puissante que les autres médicaments et la fréquence des mutations de résistance est très faible.^{140, 141}
- ✓ Le **ténofovir** et **adéfovir** sont des acyclonucléosides phosphonates qui sont administrés sous forme prodrogue. Ils sont actifs aussi sur le HIV. Ces molécules sont puissantes, de métabolisation améliorée car, sous forme phosphonate, ils ont déjà contourné la première étape limitante de monophosphorylation d'un nucléoside.

Cependant, le traitement prolongé avec des analogues de nucléosides antiviraux peut conduire à l'émergence de la résistance aux médicaments et à des effets indésirables graves.¹⁴² Par exemple, une résistance de la lamivudine a été rapportée chez ~15 à 25% des patients après 12 mois de traitement.^{143,144} Il est donc particulièrement important d'explorer et de découvrir de nouveaux médicaments contre l'hépatite B.

¹³⁵ J. Marlet, C. Lier, E. Roch, M. Maugey, A. Moreau, B. Combe, S. Lefevre, L. d'Alteroche, D. Barbereau, X. Causse, F. Bastides, M. N. Bachelier, D. Brand, C. Gaudy-Graffin, Revisiting HBV resistance to entecavir with a phenotypic approach. *Antiviral Res.* **2020**, 181, 104869.

¹³⁶ K. Agarwal, T. Berg, M. Buti, H. L. A. Janssen, G. Papatheodoridis, F. Zoulim, F. Tacke, EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.*, **2017**, 67, 2, 370-398.

¹³⁷ C. L. Lai, J. Dienstag, E. Schiff, N. W. Leung, M. Atkin, C. Hunt, N. Brown *et al.* Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B. *Clin. Infect. Dis.* **2003**, 36, 687-696.

¹³⁸ J. Hou, Y. K. Yin, D. Xu, D. Tan, J. Niu, X. Zhou, Y. Wang *et al.* Telbivudine versus lamivudine in chinese patients with chronic hepatitis B: Results at 1 year of a randomized, double-blind trial. *Hepatology*. **2008**, 47, 447-454.

¹³⁹ Y. F. Liaw, E. Gane, N. Leung, S. Zeuzem, Y. Wang, C. L. Lai, E. J. Heathcote *et al.* 2-year globe trial results: Telbivudine is superior to lamivudine in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* **2009**, 136, 486-495.

¹⁴⁰ R. Samunuri, M. Toyama, R. S. Pallaka, S. Neeladri, A. K. Jha, M. Baba, C. Bal, Synthesis and anti-HBV activity of carbocyclic nucleoside hybrids with salient features of entecavir and aristeromycin. *RSC Med. Chem.* **2020**, 11, 597-601.

¹⁴¹ L. Kang, J. Pan, J. Wu, J. Hu, Q. Sun, J. Tang, Anti-HBV drugs: progress, unmet needs, and new hope. *Viruses* **2015**, 7, 4960-77.

¹⁴² F. Zoulim, S. Locarnini, Hepatitis B virus resistance to nucleos(t)ide analogues. *Gastroenterol.* **2009**, 137, 1593-1608.

¹⁴³ Y. F. Liaw, N. W. Leung, T. T. Chang, R. Guan, D. I. Tai, K. Y. Ng, R. N. Chien, J. Dent, L. Roman, S. Edmundson, C. L. Lai, Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group, *Gastroenterology* **2000**, 119, 172-180.

¹⁴⁴ W. E. Delaney, S. Locarnini, T. Shaw, Resistance of hepatitis B virus to antiviral drugs: current aspects and directions for future investigation. *Antivir. Chem. Chemoth.* **2001**, 12, 41-75.

3. Notre travail

Les précédents travaux du laboratoire (confère ci-dessus : Introduction et Chapitre A1) ont montré l'intérêt d'une nouvelle famille d'acyclophosphononucleosides (ANPs) oléfiniques possédant un squelette de type « *trans* but-2'-ényle » reliant le phosphonate à la nucléobase.

Sur la base de l'Etat de l'Art et du « squelette » de nos ANPs nous nous sommes, dans un premier temps, intéressé à la synthèse d'analogues du Ténofovir disoproxil (Schéma 1).

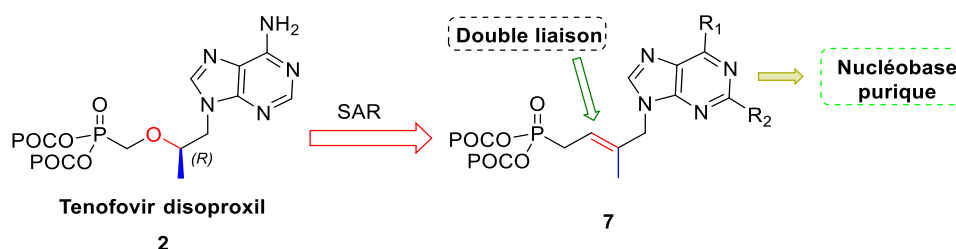


Schéma 1 : Rationalisation des molécules cibles à synthétiser

3.1 Analogues *trans* 2'-methyl-but-2'-ényle phosphononucleosides portant une guanine ou adénine

3.1.1 Rétrosynthèse

La rétrosynthèse des dérivés *trans* 2'-méthyl-but-2'-ényle phosphononucleosides est présentée dans le Schéma 2. Nous envisageons dans un premier temps d'introduire les bases azotées sur le synthon **8** par un couplage de Mitsunobu. Le dérivé **9** sera synthétisé par réaction de métathèse croisée entre un *bis*(POC) allyle phosphonate **10** et le 2-méthylprop-2-èn-1-ol. Le *bis*(POC) allyle phosphonate **10** sera synthétisé à partir du diméthylallyl phosphonate **11** par réaction de transestérification. Ces produits seront synthétisés sous forme prodroque *bis*(POC). L'étape clef reste la réaction de métathèse croisée des oléfines.

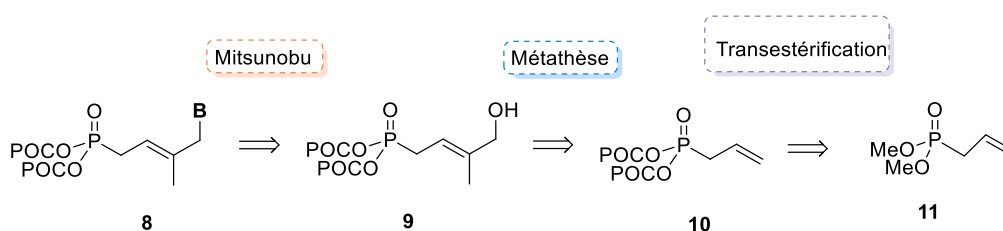
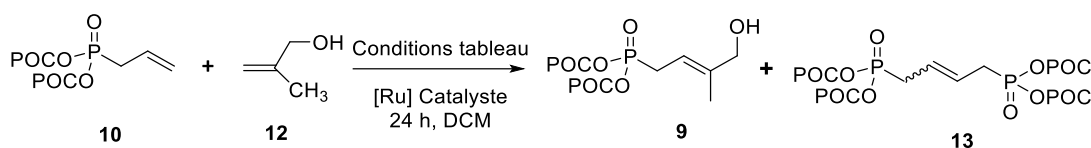


Schéma 2 : Rétrosynthèse envisagée

3.1.2 Synthèse du précurseur phosphonate hydroxylé 9

Nous avons tout d'abord réalisé une réaction de métathèse croisée entre le *bis*(POC) l'allylphosphonate **10** et l'oléfine disubstituée correspondante afin de synthétiser le phosphonate hydroxylé **9** (Tableau 1).

Tableau 1 : Conditions optimisées de métathèse croisée



Entrée	Catalyseur (5 × X mol%)	Equivalents (Phosphonate - Bromo/Hydroxyoléfine)	Conditions (température, activation)	Rendement
1	NG-II (5 × 3)	2 - 1	40 °C, Δ	31 %
2	HG-II (5 × 3)	2 - 1	40 °C, Δ	35 %
3	NG-II (5 × 3)	2 - 1	55 °C,)))	74 %
4	NG-II (5 × 3)	1 - 2	55 °C,)))	43 %
5	HG-II (5 × 3)	1 - 2	55 °C,)))	59 %
6	HG-II (5 × 3)	2 - 1	55 °C,)))	94 %
7	HG-II (5 × 2)	2 - 1	55 °C,)))	71%

- ✓ **Entrée 1** : Dans un premier essai, nous avons fait une réaction de métathèse croisée entre le *bis*(POC) allylphosphonate **10** et le 2-méthyl-2-propén-1-ol **12** afin d'obtenir les oléfines trisubstituées. Cette réaction a été réalisée dans du dichlorométhane en utilisant 15 mol% de catalyseur de Nolan-Grubbs de 2ème génération (NG-II), introduits en 5 ajouts de 3 mol% à t = 0, 3, 6, 9 et 21 h avec un excès de phosphonate. Après 24 h de reflux sous le chauffage classique, le composé **9** est obtenu avec un rendement de 31%.
- ✓ **Entrée 2** : Le catalyseur de Nolan-Grubbs de 2ème génération est remplacé par le catalyseur de Hoveyda-Grubbs de 2ème génération (HG-II). Ce changement a abouti à une légère augmentation du rendement de 31% à 35% dans les mêmes conditions.
- ✓ **Entrée 3** : Nous avons également étudié l'activation sous ultrasons. Une activation durant 24 h à 55°C a permis d'obtenir un rendement de 74%. Cette modification de l'activation a conduit une grande augmentation du rendement. Par conséquent, l'utilisation des ultrasons présentent un grand intérêt dans la métathèse de ces 2 oléfines.
- ✓ **Entrée 4 et 5** : Sous ultrasons, la variation du nombre d'équivalents, avec introduction de l'hydroxyoléfine en excès par rapport au phosphonate, donne 43% d'hétérodimères en présence du catalyseur de NG-II et 59% d'hétérodimères en présence du catalyseur de HG-II. Ce changement du nombre d'équivalents a provoqué de la diminution du rendement.
- ✓ **Entrée 6** : Le produit désiré **9** a été obtenu avec un excellent rendement de 94% en utilisant le catalyseur d'Hoveyda-Grubbs avec un excès de phosphonate et une irradiation aux ultrasons à 55 °C pendant 24 h. Le remplacement du catalyseur de NG-II par celui d'HG-II conduit à un excellent rendement de 94% de produit souhaité **9**.

- ✓ **Entrée 7** : Enfin, la nécessité d'une charge catalytique de 15 mol% a été vérifiée par l'introduction de 10 mol% de catalyseur. Le rendement passe dans ces conditions de 94% à 71% de rendement, ce qui justifie l'utilisation de cette charge.

Ce travail d'optimisation a souligné l'importance des ultrasons dans cette réaction de métathèse, qui permettent l'obtention d'oléfines trisubstituées avec d'excellents rendements.

La détermination de la structure et de la configuration du produit hydrolysé **9** a été réalisée par expérience RMN de type NOESY (Figure 3). Dans cette corrélation (couplage proton-proton dans l'espace), il est possible de voir les atomes d'hydrogènes spatialement proches. Le composé **9** *trans* a été identifié par observation d'un effet NOESY entre le proton vinylique et le méthylène portant la fonction hydroxyle. Un second effet NOESY existe également entre le méthylène en *alpha* du phosphore et le méthyle. Ces résultats confirment bien la configuration *trans* de notre produit. Cependant, aucun effet NOESY entre le proton vinylique et le méthyle est observé et aucun effet NOESY entre le méthylène en *alpha* du phosphore et le méthylène portant l'hydroxyle est observé. Ces résultats confirment bien que seulement le composé *trans* est formé dans cette réaction, sans aucune trace du composé *cis*.

➤ Identification des régioisomères

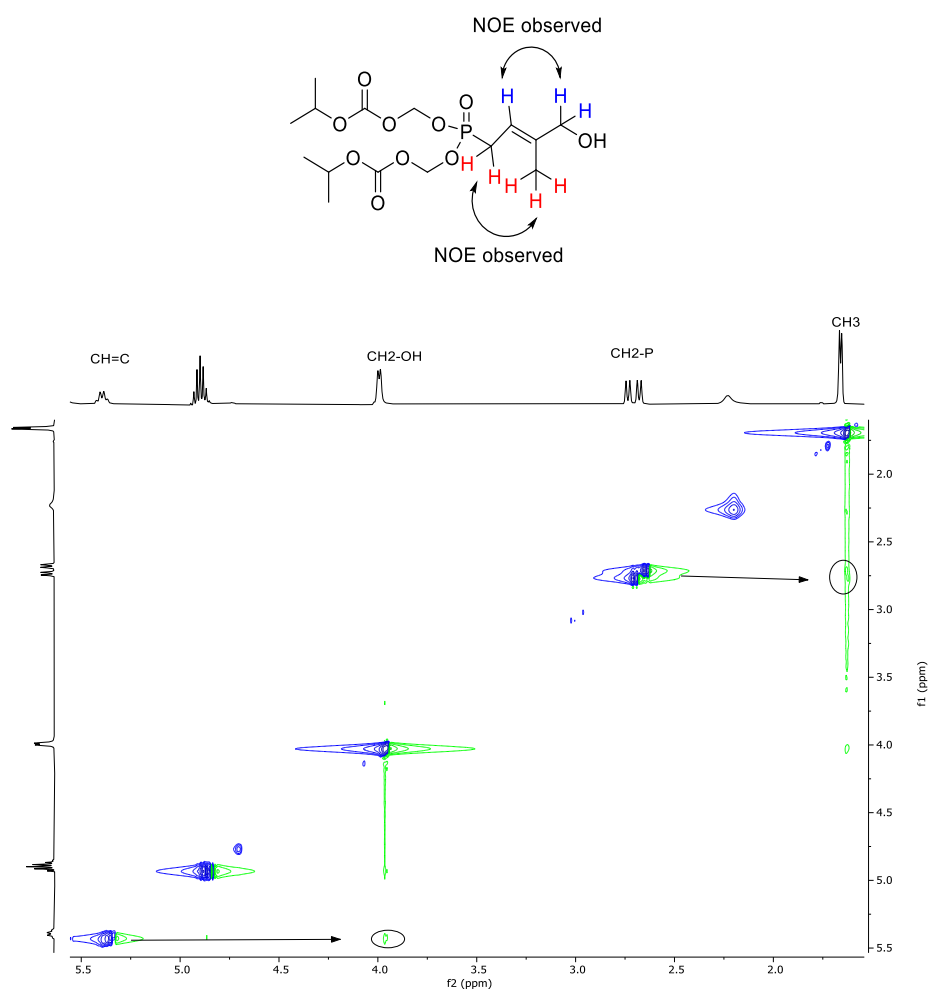


Figure 3 : Spectre NOESY du produit 9

3.1.3 Introduction des nucléobases dans des conditions de Mitsunobu

Dans la chimie des nucléosides, la réaction de Mitsunobu a été largement utilisée pour introduire les nucléobases. Cependant, la régiosélectivité n'est pas totale et dans le cas d'une purine, on peut obtenir un N^9 et N^7 alkylation, même si le N^9 reste le régioisomère majoritaire (encombrement en C-6). Dans le cas d'une nucléobase pyrimidinique, on observe de la N - et O -alkylation.

Ainsi, l'acide [(*E*)-4-hydroxy-3-méthyl-but-2-enyl]phosphonique sous sa forme *bis*(POC) **9** réagit dans des conditions de Mitsunobu avec diverses purines (Schéma 3) : la 2-amino-6-chloropurine et l'adénine. Nous avons choisi le THF qui est considéré comme le solvant idéal pour cette réaction car il offre une parfaite régiosélectivité en permettant notamment d'obtenir exclusivement l'isomère N^9 . Les conditions de Mitsunobu développées par l'équipe de Shah *et coll.* ont été reprises. Les réactions ont été réalisées entre 1 équiv. du dérivé *bis*(POC) **9** et 1 équiv. de nucléobase, en présence de 2.1 équiv. de triphénylphosphine et de DIAD. Après 6 h à reflux, nous avons ajouté une deuxième portion d'hydroxyl phosphonate de *bis*(POC) (1 équiv.), PPh₃ (2,1 équiv.) et DIAD (2,1 équiv.) puis le mélange est de nouveau chauffé à reflux du THF pendant 18 h pour donner le dérivé de 2-amino-6-chloropurine **14** et le dérivé de l'adénine **15** avec des rendements respectifs de 54% et 47% (Schéma 3).

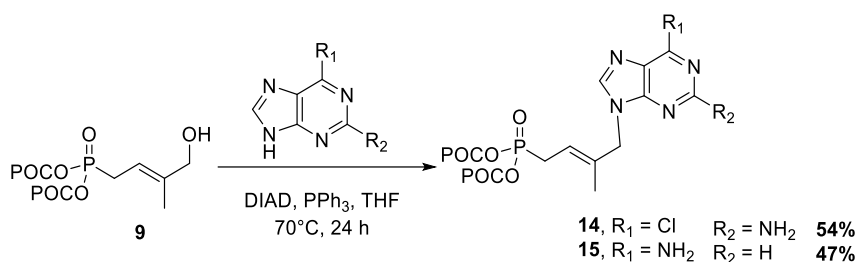
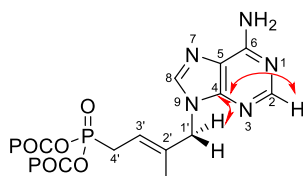


Schéma 3 : Couplage de Mitsunobu avec les bases puriques

La N^9 -alkylation de nos composés a été systématiquement confirmée par expérience HMBC (couplage proton-carbone longue distance) entre les protons $H_{1'}$ de la chaîne acyclique et le proton aromatique H_2 , et le carbone quaternaire C_4 . Les protons $H_{1'}$ et H_2 du produit de la N^9 -alkylation sont tous les deux couplés au même carbone C_4 . Dans le cas du produit de la N^7 -alkylation, ces mêmes protons sont couplés à des carbones différents. Les protons $H_{1'}$ sont couplés avec le carbone C_5 , et le proton H_2 avec le carbone C_4 . À titre d'exemple, pour le dérivé de l'adénine **15** nous observons une corrélation entre les protons $H_{1'}$ de la chaîne acyclique et le carbone quaternaire C_4 (Figure 4). Ce même carbone présente également une corrélation en J^3 avec le proton aromatique H_2 . Le produit correspond donc à l'isomère alkylé en position N^9 . La régiosélectivité sur le N^9 est totale, les analyses RMN ne montrant pas d'isomère N^7 .



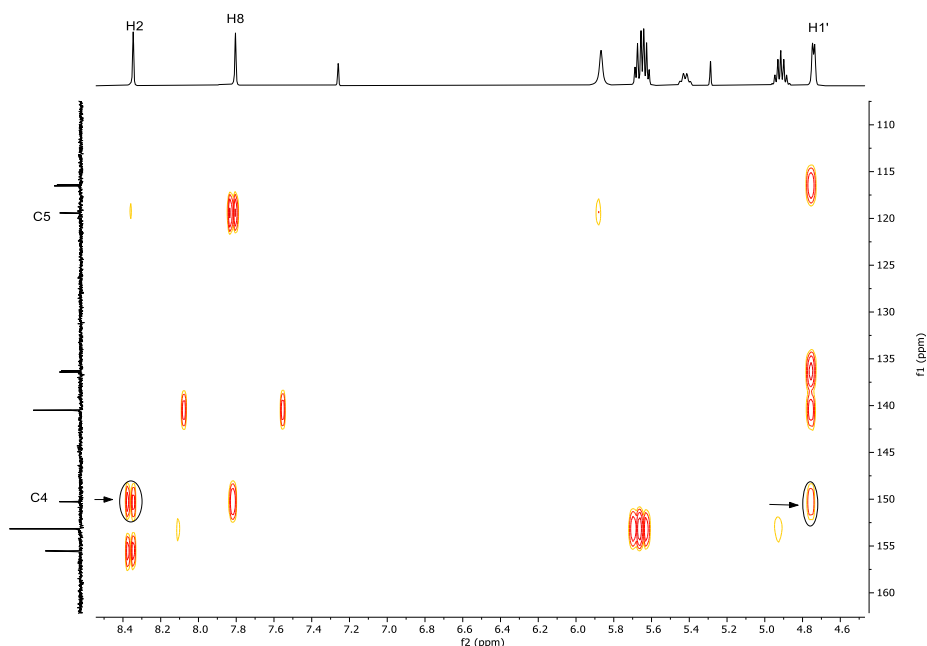


Figure 4 : Expérience HMBC du composé 15

La 2-amino-6-chloropurine est un précurseur de la guanine. Il est possible d'oxyder l'atome de chlore présent dans le noyau 2-amino-6-chloropurine au moyen d'une solution d'acide formique aqueux (dans un mélange (1:1) acide formique/eau), sous activation micro-ondes à 80 °C, (Schéma 4). Le composé souhaité **16** est obtenu avec 75% de rendement en 30 minutes.

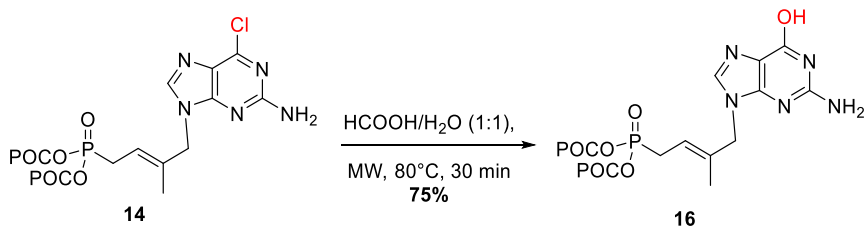
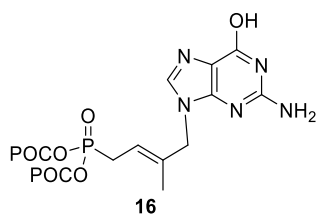


Schéma 4 : Formation d'ANP possédant la guanine

3.1.4 Evaluation biologique

L'activité antivirale des ANPs synthétisés a été mesurée sur divers virus à ADN/ARN en collaboration avec l'équipe du Prof. C Gaudy-Graffin, Prof. D. Brand et du Dr. Julien Marlet (MAVIVH – INSERM U1259) de l'université de Tours et celle du Prof. RF Schinazi à Emory University (Atlanta, USA). Parmi ces molécules, le composé **16** présente une activité contre le HBV avec une EC_{50} de 8.5 μM et $CC_{50} > 100$ à 10 μM (Figure 5).



HBV, $EC_{50} = 8.5 \mu M$
 $CC_{50} > 100$

Figure 5 : Structure et activité anti-HBV du dérivé **16**

3.1.5 Conclusions et perspectives

Au cours de ce projet, nous avons synthétisé trois nouveaux analogues du ténofovir disoproxil en utilisant comme étape clef une métathèse croisée d'oléfines. Seul le composé **16** (analogue avec une guanine) possède une activité anti-HBV intéressante de l'ordre de quelques μM . Dans la continuité de nos précédents travaux et des technologies prodrogues, il serait intéressant de synthétiser des analogues de type phosphonamidate (Figure 6).

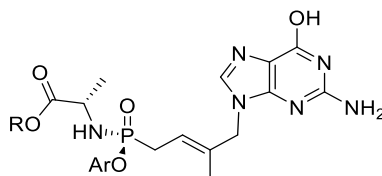


Figure 6 : Structure de phosphonamidates d'intérêt potentiel

3.2 Analogues *trans* 2'-methyl-but-2'-ényle phosphononucleosides de type *bis*(POC) ou *bis*(POM) portant une nucléobase 1,2,3-triazole modifiée

3.2.1 Les 1,2,3-triazolonucléosides

L'utilisation de triazoles comme nucléobase en chimie des nucléosides a été largement explorée;¹⁴⁵ les composés formés ont généralement une stabilité accrue *in vivo*, et certains possèdent des propriétés biologiques d'intérêt (comme antiviraux, antitumoraux, sondes biologiques, ...).¹⁴⁶ Ce noyau est particulièrement stable aux conditions acides, basiques, oxydantes et réductrices, et possède aussi une bonne résistance aux dégradations métaboliques.¹⁴⁷ Cet hétérocycle se révèle donc être un bon candidat pour une utilisation comme nucléobase modifiée.

¹⁴⁵ F. Amblard, J. H. Cho, R. F. Schinazi, Cu(I)-catalyzed Huisgen azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition reaction in nucleoside, nucleotide, and oligonucleotide chemistry. *Chem Rev.* **2009**, 109, 4207-20.

¹⁴⁶ S. Raic-Malic, A. Mescic, Recent trends in 1,2,3-Triazolo-nucleosides as promising anti-infective and anticancer agents. *Curr. Med. Chem.* **2015**, 22, 1462-99.

¹⁴⁷ G. C. Tron, T. Pirali, R. A. Billington, P. L. Canonico, G. Sorba, A. A. Genazzani, Click chemistry reactions in medicinal chemistry: applications of the 1,3-dipolar cycloaddition between azides and alkynes. *Med. Res. Rev.* **2008**, 28, 278-308.

La ribavirine **17** a été le premier nucléoside possédant comme hétérocycle un triazole (de type 1,3,5); doté d'une puissante activité antivirale, il a été utilisé, initialement, en association avec l'interféron dans le traitement du virus de l'hépatite C.¹⁴⁸ La ribavirine intervient *per se* dans la synthèse *de novo* de nucléotides puriques mais aussi sous sa forme trisphorylée dans l'inhibition de la polymérase virale. La ribavirine en tant que médicament a été source d'inspiration pour la synthèse de divers 1,2,3-triazolonucléosides.^{149,150} La première synthèse d'analogues nucléosidiques possédant une nucléobase de type 1,2,3-triazole a été décrite en 1972 par S. Umezawa *et al.*¹⁵¹ dont le composé **18** qui présente des activités antivirales significatives et cytotoxiques. En 2003 puis en 2005, divers analogues carbocycliques 2'-désoxy ont été synthétisés dans notre laboratoire.^{152, 153} Le composé **21** et l'acide phosphonique **22** ont respectivement des activités de 44 et 37 μM sur le HIV-1. En 2006, C.K. Chu *et al.*¹⁵⁴ a décrit la synthèse d'analogues de la néplanocine possédant une base imidazole- et 1,2,3-triazole-4-carboxamide **23** ainsi que 1,2,4-triazole-3-carboxamide, dont seul le composé 1,2,3- triazole **23** présente une activité significative de 0.4 μM sur le virus de la vaccine (VV). En 2007, E. De Clercq *et al.*¹⁵⁵ a développé une série de composés 1,2,3-triazolo 2'-iodo-2'-désoxyribosyles. Des deux séries de composés, seul le 2'-désoxy-2'-iodo-4-(o-méthoxy)phényle (**24**) a montré une activité de 4.5 $\mu\text{g/mL}$ sur le VZV TK⁺.

¹⁴⁸ S. Brillanti, G. Mazzella, E. Roda, Ribavirin for chronic hepatitis C : and the mystery goes on. *Digestive and Liver Disease*, **2011**, 43, 425-430.

¹⁴⁹ Y. Xia, F. Qu, L. Peng, Triazole nucleoside derivatives bearing aryl functionalities on the nucleobases show antiviral and anticancer activity. *Mini reviews in medicinal chemistry*, **2010**, 10, 806-821.

¹⁵⁰ A. Krajczyk, K. Kulinska, T. Kulinski, B. L. Hurst, C. W. Day, D. F. Smee, T. Ostrowski *et al.* Antivirally active ribavirin analogues--4,5-disubstituted 1,2,3-triazole nucleosides : biological evaluation against certain respiratory viruses and computational modelling. *Antivir. Chem. Chemother.* **2014**, 29, 23, 161-71.

¹⁵¹ O. Makabe, S. Fukatsu, S. Umezawa, Synthesis of some nucleoside analogs of substituted 1,2,3-triazole. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1972**, 45, 2577-2579.

¹⁵² Y. Saito, V. Escuret, D. Durantel, F. Zoulim, R. F. Schinazi, L. A. Agrofoglio, Synthesis of 1,2,3-triazolocarbanucleoside analogues of ribavirin targeting an HCV in replicon. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 3633-3639.

¹⁵³ N. Joubert, R. F. Schinazi, L. A. Agrofoglio, Efficient Pd(0)-catalyzed synthesis of 1,2,3-triazolo-3'-deoxycarbanucleosides and their analogues. *Tetrahedron* **2005**, 61, 11744-11750.

¹⁵⁴ J. H. Cho, D. L. Bernard, R. W. Sidwell, E. R. Kern, C. K. Chu, Synthesis of cyclopentenyl carbocyclic nucleosides as potential antiviral agents against orthopoxviruses and SARS. *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 1140-1148.

¹⁵⁵ J. Perez-Castro, O. Caamano, F. Fernandez, M. D. Garcia, C. Lopez, E. De Clercq, Synthesis of 4-substituted-1,2,3-triazole carbanucleoside analogues of ribavirin via click chemistry. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 3805-3813.

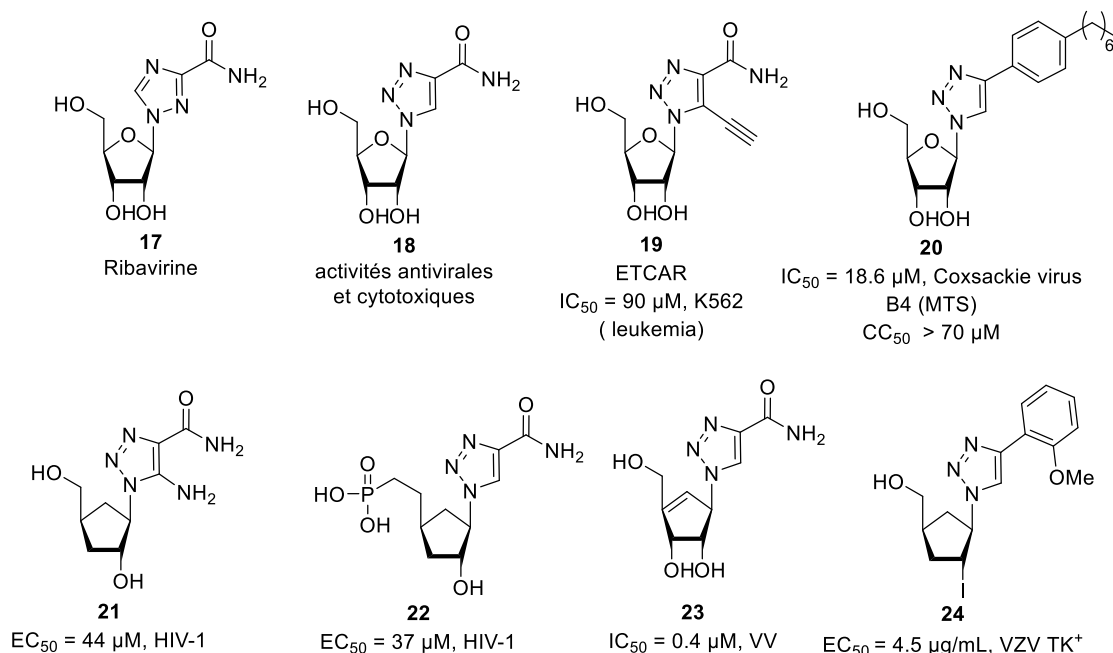


Figure 7 : Quelques analogues de 1,2,3-triazolynucléosides

La réaction clef pour la construction de cet hétérocycle est la réaction 1,3-dipolaire de Huisgen.

3.2.2 Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen catalysée par le cuivre (I) (CuAAC)

En 1963, Rolf Huisgen¹⁵⁶ a décrit la première fois la synthèse du motif 1,2,3-triazole par une cycloaddition 1,3-dipolaire entre un alcyne et un azoture sous activation thermique. Cependant, cette réaction conduit à un mélange de deux régioisomères 1,4- et 1,5-disubstitués. Sharpless *et al.*¹⁵⁷ en 2002 a optimisé cette réaction de cycloaddition par une catalyse au Cu(I) permettant alors l'obtention sélective du régioisomère 1,4-disubstitué **27**, (Schéma 5). On parle de cycloaddition d'azido-alcyne catalysée par le cuivre(I) ou CuAAC.

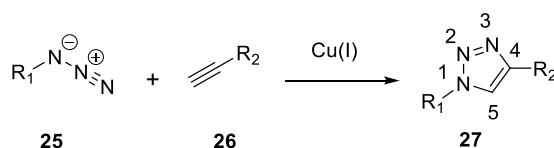


Schéma 5 : Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen catalysé par le cuivre (CuAAC)

Le mécanisme proposé par Fokin et Sharpless (Schéma 6)¹⁵⁸ est le suivant : le Cu(II) est réduit *in situ* en Cu(I) par l'ascorbate de sodium. Le Cu(I) va former un complexe- π avec l'alcyne terminal pour donner l'intermédiaire **A**. Le proton acide de l'alcyne permet de former l'intermédiaire **B**. Un second Cu(I) forme un complexe- π avec **B** conduisant à l'intermédiaire **C**. Le rapprochement de l'azoture permet par la coordination des électrons de l'azote de

¹⁵⁶ R. Huisgen, 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, 2, 565–598.

¹⁵⁷ V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes. *Angew. Chem. Int., Ed. Engl.* **2002**, 41, 2596-2599.

¹⁵⁸ V. O. Rodionov, V. V. Fokin, M. G. Finn, Mechanism of the ligand-free CuI-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, 44, 2210-2215.

l'azoture sur le Cu(I) et forme l'intermédiaire **D**. La cyclisation a alors lieu par l'attaque de l'azote nucléophile coordonnée au cuivre sur le carbone électrophile et provoque le départ d'un atome de Cu(I) pour former l'intermédiaire **E**. Enfin, une protonation permet d'obtenir le produit final où le proton provient de l'alcyne vrai de départ.

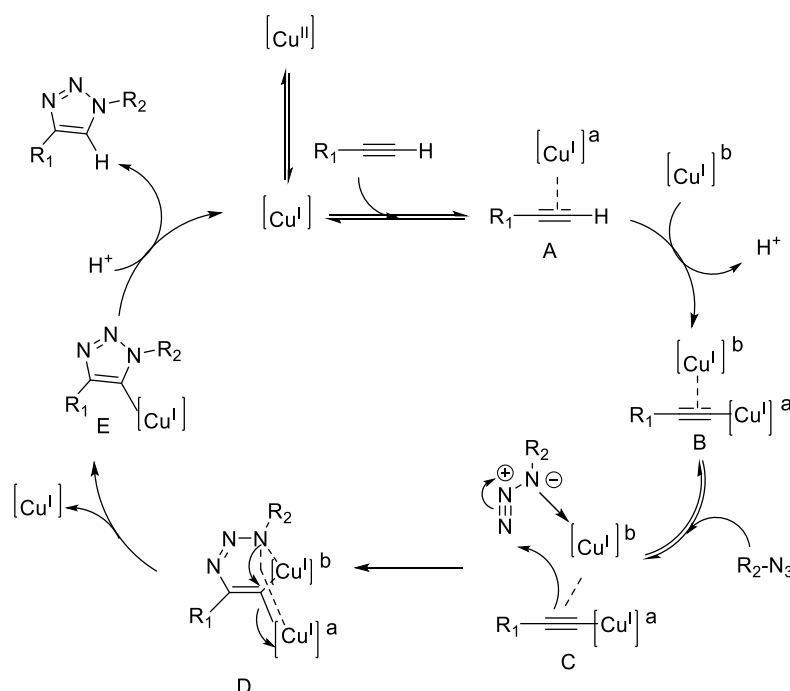


Schéma 6 : Mécanisme d'une CuAAC

3.2.3 Notre travail

Précédemment, nous avons synthétisé l'analogue (*E*)-but-2-ényl nucléoside phosphonate de la thymine sous forme prodrogue *bis*(POM) **28** ; ce composé possède des activités significatives sur VZV TK⁻ ($EC_{50} = 0.55 \mu M$ et CC_{50} de $38.1 \mu M$), (Figure 8).⁷⁴ Ce composé est considéré comme le premier de ce type d'ANP, le plus actif sur ce virus. Sur la base de la structure de la ribavirine et de celle du composé **28**, nous avons alors décrit de nouveaux analogues de 1,2,3-triazolonucléosides en série ANPs. La majorité des dérivés issue de cette série inhibait la répllication du HCV *in vitro*, entre 70 % et 96 % à une concentration de $10 \mu M$. De plus, le dérivé hydroxyméthyle **30** était aussi actif contre le CMV avec une EC_{50} de $9.9 \mu M$ pour une CC_{50} de $100 \mu M$.¹⁵⁹ Dans une démarche de type Structure-Activité-Relation (SAR), ces résultats nous ont conduit à concevoir et synthétiser de nouveaux analogues possédant divers groupements biolabiles [*bis*(POC), HDP/POC ou phosphonamidates] et substituants en position 2' comme le groupement méthyle ou acetoxy-méthyle (Figure 8).

¹⁵⁹ M. Hamada, V. Roy, T. R. McBrayer, T. Whitaker, C. Urbina-Blanco, S. P. Nolan, J. Balzarini, R. Snoeck, G. Andrei, R. F. Schinazi, L. A. Agrofoglio, Synthesis and broad spectrum antiviral evaluation of *bis*(POM) prodrugs of novel acyclic nucleosides. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 67, 398-408.

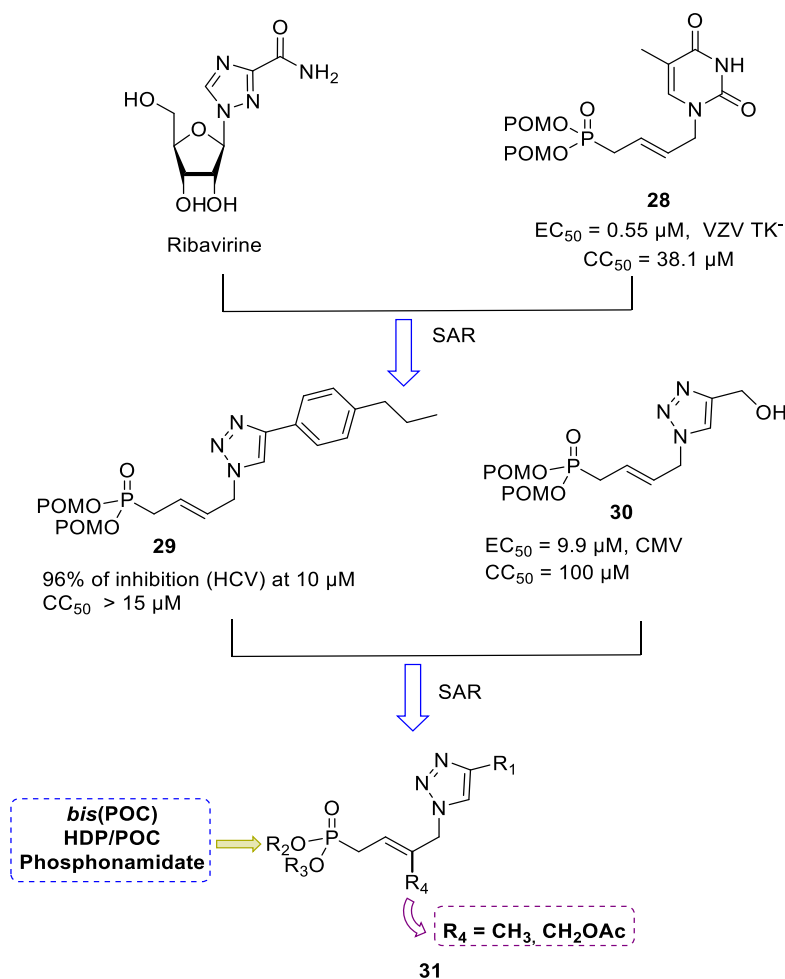


Figure 8 : Rationalisation des molécules cibles

Ainsi, dans cette partie, nous décrivons la synthèse de quatre différentes séries d'analogues d'ANPs mettant en jeu la réaction CuAAC entre un 4-azido-but-2-ényle phosphonate et divers alcynes vrais aromatiques et alkyles, (Figure 9).

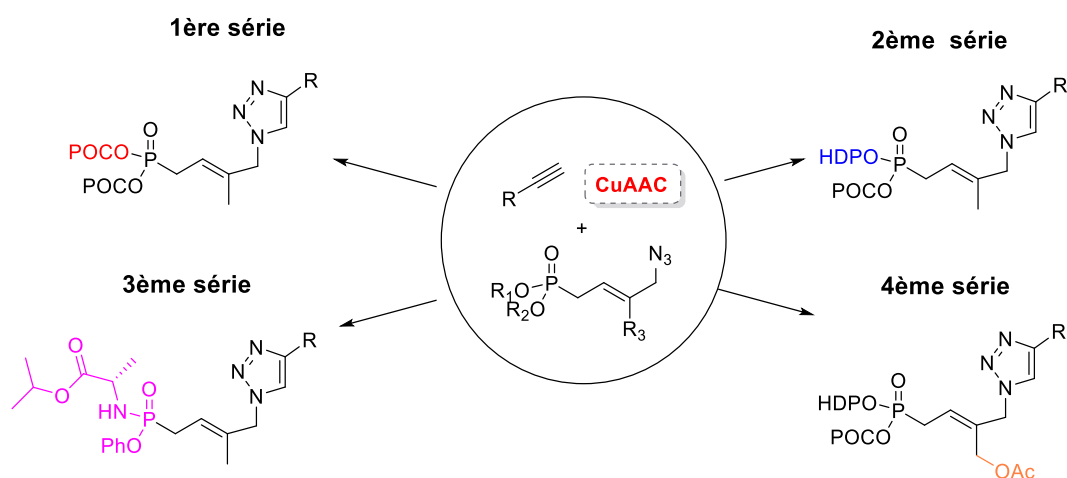


Figure 9 : Quatre série d'analogues de 1,2,3-triazolonucléosides à synthétiser

3.2.3.1 Schéma de rétrosynthèse

La rétrosynthèse des dérivés de *trans*-but-2'-enyle 1,2,3-triazolonucléosides phosphonates/phosphonamidates **31** est présentée dans la Schéma 7. Nous envisageons dans un premier temps de réaliser la réaction CuAAC entre le phosphonate azidé **32** et divers alcynes vrais. L'azoture **32** est obtenu par la mésylation d'alcool et puis la substitution nucléophile (S_N2) sur la mésylate. Le dérivé **33** provient d'une réaction de métathèse croisée entre un allylphosphonate **34** sous forme *bis*(POC), HDP/POC ou phosphonamidate et le 2-méthylprop-2-èn-1-ol **12**. Cette voie de synthèse convergente a permis la synthèse de plus d'une trentaine de dérivés sous forme prodrogue *bis*(POC), HDP/POC et phosphonamidate. Cette voie de synthèse aussi montre la faciliter d'apporter de la diversité moléculaire.

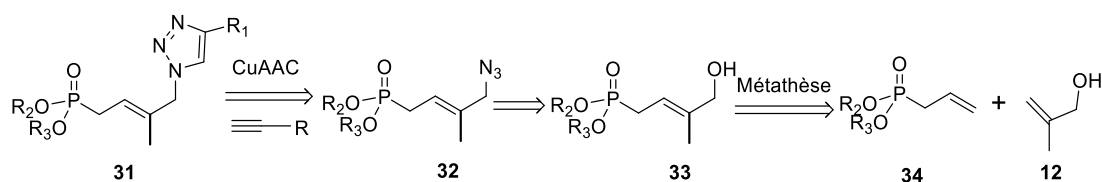


Schéma 7 : Rétrosynthèse envisagée

3.2.3.2 Synthèse du synthon phosphonate d'azido en série *bis*(POC)

Le composé **9** subit une mésylation de 0 °C à température ambiante au sein du dichlorométhane anhydre en présence de chlorure de méthanesulfonyle ; le produit résultant est directement engagé sans purification, et réagit avec de l'azoture de sodium au sein du DMF à température ambiante pendant 5 h pour conduire au composé **36** avec un rendement de 93% (Schéma 8). L'analyse infra-rouge permet de visualiser à 2100 cm⁻¹ la vibration du N₃.

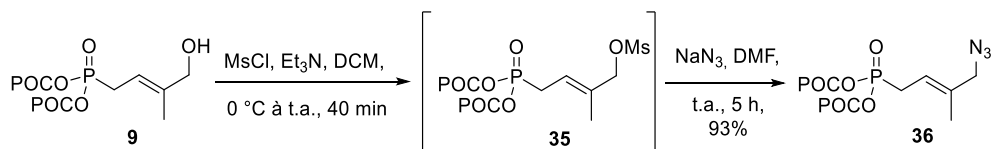


Schéma 8 : Préparation de l'azoture **36**

3.2.3.3 Synthèse d'alcynes

Nous avons été amenés à synthétiser divers alcynes trop onéreux ou non commerciaux. Ainsi, le *N*-(prop-2-yn-1-yl) octanamide (**39**) a été préparé quantitativement à partir de la propargyl amine (**37**) et du chlorure d'octanoyl (**38**) en présence de di-*iso*-propylethylamine (DIPEA) dans le CH₂Cl₂ anhydre pendant 2 h (Schéma 9). Le *N*-méthylprop-2-ynamide (**41**) et le *N*-éthylprop-2-ynamide (**42**) ont été synthétisés à partir de la méthylamine et éthylamine, respectivement, et du propiolate de méthyle (**40**) dans l'eau à 0 °C pendant 2 h. Les composés ont été obtenus avec des rendements variant de 35% à 46% (Schéma 9).¹⁶⁰

¹⁶⁰ S. Kotha, G. Sreevani, [2 + 2 + 2] Cyclotrimerization with propargyl halides as copartners: formal total synthesis of the antitumor Hsp90 inhibitor AT13387. *ACS Omega*. **2018**, 3, 1850-1855.

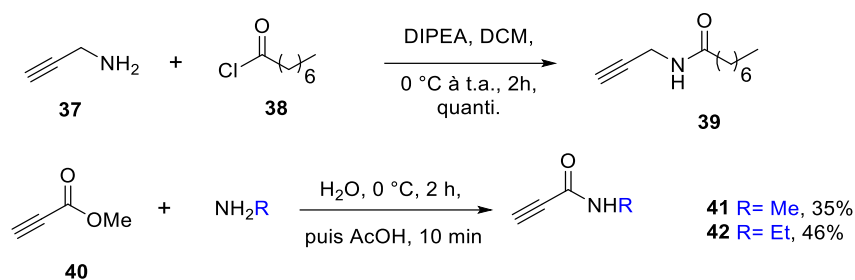
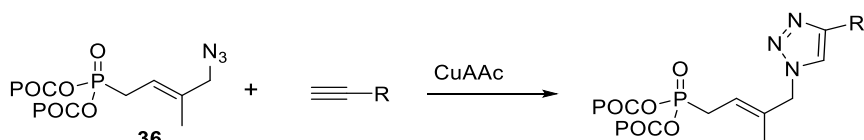


Schéma 9 : Préparation des alcynes **39**, **41** et **42**

3.2.3.4 Synthèse des 1,2,3-triazoles dans des conditions de réaction CuAAC

L'azoture **36** réagit avec divers alcynes dans des conditions de réaction CuAAC, (Tableau 2). Les réactions mettent en jeu 1 équivalent d'azoture **36** et 1.3 équivalent d'alcynes, en présence de 0,1 équivalent de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ et 0.6 équivalent de l'ascorbate de sodium dans du $t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$ (2: 1) à 40 °C. Dans ces conditions, une série de nouveaux analogues 1,2,3-triazolonucléosides a été obtenue avec des rendements variant de 21% à 94%.

Tableau 2 : Réaction de CuAAC entre le composé **36** et une diversité d'alcynes



Entrée	R	Produit	Méthode	Rendement (%)
1		43	A	83
2		44	A	88
3		45	A	85
4		46	A	84
5		47	A	91
6		48	A	79
7		49	B	48
8		50	B	71
9		51	A	21
10		52	B	78
11		53	B	94
12		54	A	69
13		55	A	63
14		56	A	64

15		57	A	82
16		58	A	91

Method A: CuSO₄.5H₂O, Sodium ascorbate, tBuOH/H₂O (2:1), 40 °C, 2 h

Method B: CuSO₄.5H₂O, Sodium ascorbate, tBuOH/H₂O (2:1), 40 °C, overnight (18~24 h)

Seul le 3,3-diethoxy-1-propyne a été hydrolysé sur la silice pendant la purification formant alors l'aldéhyde **51** (Schéma 10), avec un rendement de 21%.

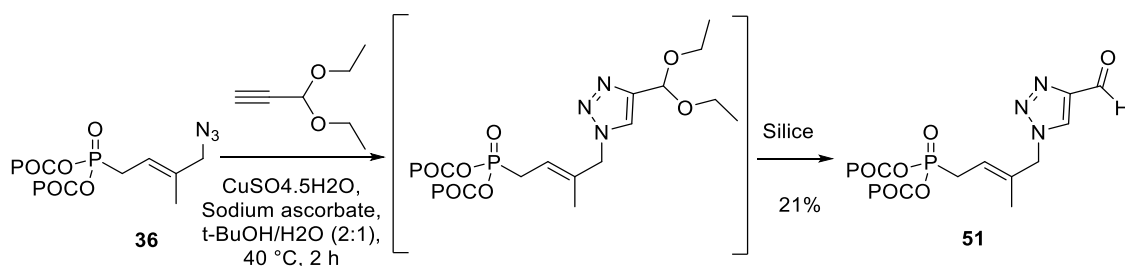


Schéma 10 : Préparation du composé **51**

L'addition de l'acide propionique (**60**) sur l'azido **59**, sous irradiation micro-onde à 125 °C pendant 1 h, conduit au produit de décarboxylation **61**; ceci a déjà été observé par notre équipe,¹⁵⁹ (Schéma 11). L'addition d'acide boronique (BAC)¹⁶¹ permet d'éviter cette réaction parasite et le dérivé d'acide carboxylique **62** est alors obtenu avec un rendement de 58% à température ambiante dans le DCE pendant 30 h.

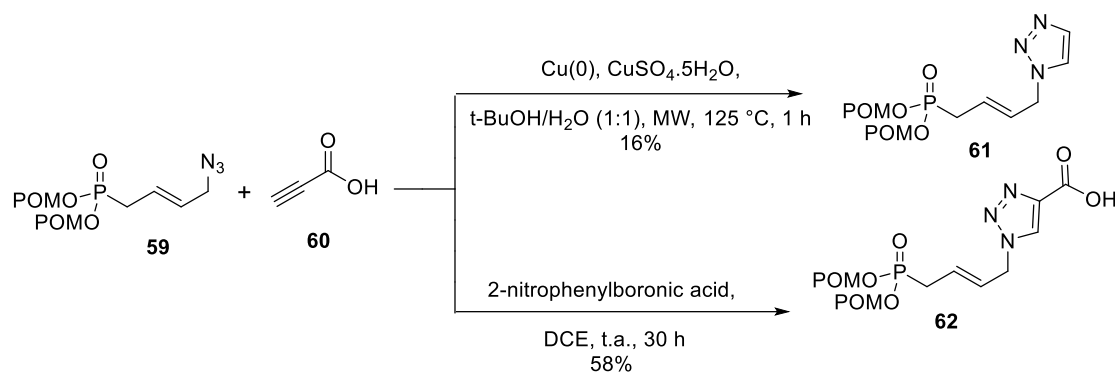


Schéma 11 : Préparation du composé **62**¹⁵⁹

Nous avons suivi la même procédure précédente et le produit souhaité **63** a été obtenu avec un rendement de 57% (Schéma 12).

¹⁶¹ H. Zheng, R. McDonald, D. G. Hall, Boronic acid catalysis for mild and selective [3+2] dipolar cycloadditions to unsaturated carboxylic acids. *Chem. Eur. J.* **2010**, 16, 5454–5460.

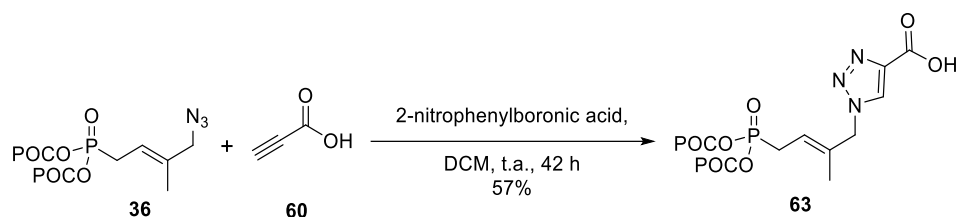


Schéma 12 : Préparation du composé **63**

3.2.4 Evaluation biologique

L'activité antivirale des ANPs synthétisés a été mesurée sur divers virus à ADN/ARN en collaboration avec l'équipe du Prof. C Gaudy-Graffin, Prof. D. Brand et du Dr. Julien Marlet (MAVIVH – INSERM U1259) de l'université de Tours, celle du Prof. RF Schinazi à Emory University (Atlanta, USA) pour le HIV-1 et du Prof. Bruno Coutard (Aix-Marseille Université) pour la COVID-19. Le résultat de l'évaluation antivirale contre HBV, HIV et SARS-CoV-2 est présenté dans le tableau 3. Dans le cadre d'une infection au HBV, les composés **43** et **47** présentent une inhibition 51 % et 50 % de la réplication du virus HBV à une concentration de 10 μ M. Le composé **45** présente une efficacité similaire sur HBV et HIV. Ces composés ont également été testés sur le virus SARS-CoV-2, mais aucune activité significative n'a été trouvée.

Tableau 3 : Résultat de l'évaluation antivirale contre HBV, HIV et SARS-CoV-2

Composé	R	% inhibition à 10 μ M			Cytotoxicité à 10 μ M %cell viability
		HBV	HIV	SARS-CoV-2	
43		51%	<1%	<1%	96%
44		25%	<1%	<1%	88%
45		42%	44.4%	<1%	89%
46		39%	41.8%	<1%	100%
47		50%	29.9%	<1%	95%
48		<1%	30.7%	<1%	100%
49		10%	12.3%	<1%	79%
50		28%	<1%	12%	100%
51		33%	28.4%	<1%	95%
52		40%	<1%	<1%	100%

53		<1%	42%	5%	100%
54		40%	38.8%	10%	100%
55		12%	<1%	<1%	57%
56		28%	22.4%	<1%	60%
57		<1%	36.4%	<1%	60%
58		14%	31.2%	<1%	54%
63		<1%	12.9%	<1%	90%
Entécavir		92%	-	-	96%
Remdesivir		-	-	100%	-

3.3 Analogues *trans*-2'-methyl-but-2'-ényle phosphononucleosides de type prodrogue mixte HDP/POC portant une nucléobase 1,2,3-triazole modifiée

Le changement des groupements biolabiles est intéressant pour mesurer l'impact sur l'activité thérapeutique ; ici nous avons décidé de synthétiser des prodrogues mixtes HDP/POC dont nous avons démontré l'intérêt par le composé **LAVR-289** (voir ci-dessus).

3.3.1 Synthèse de l'azoture

La réaction de métathèse croisée entre l'HDP/POC allylphosphonate **120** et le 2-méthyl-2-propen-1-ol **63** (3-hydroxy-2-méthylpropène) est effectuée dans le dichlorométhane, en présence du catalyseur HG-II (15 mol%) et sous ultrasons à 55 °C pendant 24 h. Le composé souhaité **121** est isolé avec un bon rendement de 88% sous la forme du stéréoisomère exclusive (*E*). La structure de l'isomère *E* a été déterminée par RMN NOESY. Le composé **121** est activé par mésylation et le composé **122** est engagé dans l'étape suivante sans autre purification. Le mésylate est déplacé par l'azoture de sodium au sein du DMF à température ambiante pendant 5 h et le composé **123** souhaité est isolé avec un rendement de 84% (Schéma 13). L'analyse infra-rouge confirme bien la présence du groupe N₃, vers 2100 cm⁻¹.

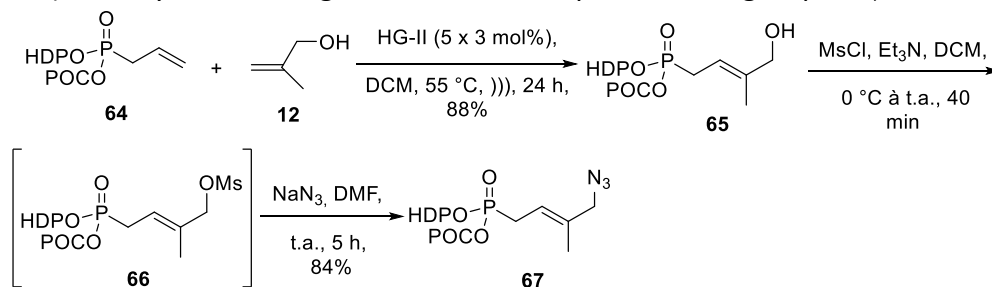


Schéma 13 : Préparation de l'azoture 67

La détermination de la structure et de la configuration du produit **67** a été réalisée par expérience RMN NOESY (Figure 10). L'azoture **67** *trans* a été identifié par observation d'un effet NOESY entre le proton vinylique et le méthylène portant la fonction azido. Un second effet NOESY existe également entre le méthylène en *alpha* du phosphore et le méthyle. Ces résultats confirment bien la configuration *trans* de notre produit. Cependant, aucun effet NOESY entre le proton vinylique et le méthyle n'est observé et aucun effet NOESY entre le méthylène en *alpha* du phosphore et le méthylène portant la fonction azido n'est également observé. Ces résultats confirment que seule le composé *trans* est formé dans cette réaction, aucune trace du composé *cis*.

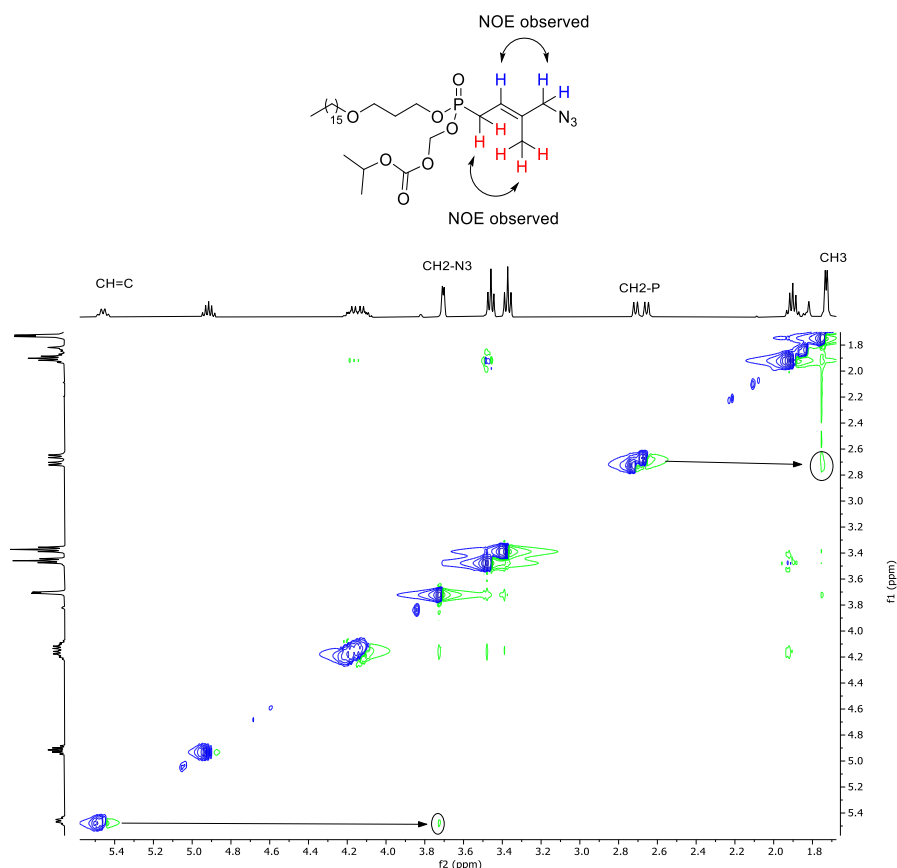
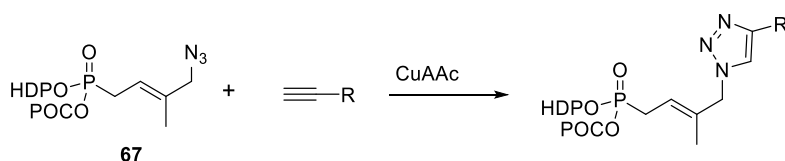


Figure 10 : Spectre NOESY du produit **67**

3.3.2 Application de la réaction CuAAC

L'azoture **67** a alors été engagée dans la réaction CuAAC avec divers alcynes, (Tableau 4). Nous avons appliqué les mêmes conditions que celles décrites précédemment et nous avons obtenus plusieurs analogues de 1,2,3-triazolonucléosides en série HDP/POC avec des bons rendements de 67% à 80%.

Tableau 4 : Réaction de CuAAC entre l'azoture **67** et une diversité d'alcynes



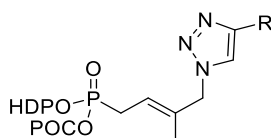
Entrée	R	Produit	Temps (h)	Rendement (%)
1		68	2	68
2		69	2	80
3		70	2	74
4		71	2	78
5		72	18	67
6		73	3	71

CuSO₄·5H₂O, Sodium ascorbate, tBuOH/H₂O (2:1), 40 °C.

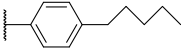
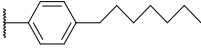
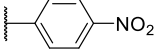
3.3.3 Evaluation biologique

L'activité antivirale des ANPs synthétisés a été mesurée sur divers virus à ADN/ARN en collaboration avec l'équipe du Prof. C Gaudy-Graffin, Prof. D. Brand et du Dr Julien Marlet (MAVIVH – INSERM U1259) de l'université de Tours, celle du Prof. RF Schinazi à Emory University (Atlanta, USA) pour le VIH-1 et du Prof. Bruno Coutard (Aix-Marseille Université) pour la COVID-19. Le résultat de l'évaluation antivirale contre le HBV, HIV et SARS-CoV-2 est présenté ci-dessous. Parmi ces molécules, le composé **72** présente une inhibition de 62 % de la réplication du virus HBV et 32.2 % de la réplication du virus HIV à une concentration de 10 μM (Tableau 5). Ce composé est le plus efficace sur le HBV dans cette série. Le changement du groupement bioliabile de *bis*(POC) à HDP/POC de ce produit induit une augmentation de 22% de l'activité antivirale mais hélas de la cytotoxicité aussi. Ces composés ont été testés sur le virus SARS-CoV-2, mais aucune activité significative n'a été observée.

Tableau 5 : Résultat de l'évaluation antivirale contre HBV, HIV et SARS-CoV-2



Composé	R	%inhibition à 10 μM			Cytotoxicité à 10 μM %cell viability
		HBV	HIV	SARS-CoV-2	
68		<1%	–	<1%	95%
69		<1%	–	<1%	100%

70		14%	28.2%	<1%	47%
71		8%	—	<1%	100%
72		62%	32.2%	<1%	74%
73		12%	—	<1%	100%
Entécavir		92%	—	—	96%
Remdesivir		—	—	100%	—

3.4 Analogues *trans*-2'-methyl-but-2'-ényle phosphononucleosides de type prodrogue phosphonoamidate portant une nucléobase 1,2,3-triazole modifiée

Afin d'évaluer l'influence thérapeutique du motif phosphonamidate sur cette famille de composés, nous avons développé une stratégie de synthèse de ces dérivés sous leur forme phosphonamidate.

3.4.1 Réalisation de la métathèse

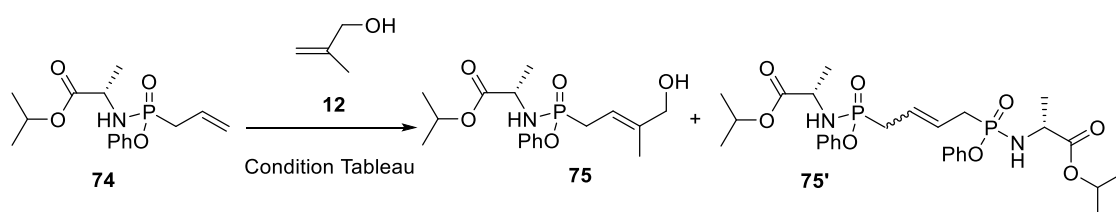
L'allyle phosphonoamidate **74** précédemment synthétisé (voir la partie A-1) est engagé dans une réaction de métathèse croisée avec le 2-méthyl-2-propén-1-ol (**12**), (Tableau 6).

- ✓ **Entrée 1** : En 2008, Gulaski *et al.*¹⁶² a montré l'intérêt d'utiliser l'eau dans la réaction de métathèse croisée. Notre équipe a aussi publié la synthèse d'ANPs phosphonoamidates obtenus avec 38-44% de rendements, en utilisant la métathèse croisée dans l'eau sous ultrasons. Ces mêmes conditions nous ont permis d'isoler le produit souhaité avec un rendement très faible de 8%.
- ✓ **Entrée 2** : L'utilisation de dichlorométhane à la place de l'eau ou l'addition de quantités catalytiques de 1,4-benzoquinone pour éviter l'isomérisation d'alcène¹⁶³ ont permis une amélioration du rendement à 24%, mais la conversion n'était pas totale.
- ✓ **Entrée 3** : Le changement du catalyseur de NG-II par celui plus réactif de HG-II améliore le rendement.
- ✓ **Entrée 4** : Enfin, pour compléter la réaction, la réaction est maintenue 4 h de plus sous ultrasons et la charge catalytique a été augmentée à 18 mol%. Le rendement passe alors de 44% à 59% de rendement et la conversion est totale, ce qui justifie l'utilisation de 18% de catalyseur.

¹⁶² Ł. Gułajski, P. Śledź, A. Lupa, K. Grela, Olefin metathesis in water using acoustic emulsification. *Green Chem.* **2008**, 10, 271.

¹⁶³ S. H. Hong, D. P. Sanders, C. W. Lee, R. H. Grubbs, Prevention of undesirable isomerization during olefin metathesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 49, 17160–17161.

Tableau 6 : Synthèse du composé **75 par métathèse croisée**



Entrée	Solvant	1,4-benzoquinone	Activation	Catalyseur	Rendement	Conversion
1	H ₂ O	non	)), 55 °C , 24 h	NG-II (18 mol%)	8%	/
2	CH ₂ Cl ₂	oui	)), 55 °C , 24 h	NG-II (15 mol%)	24%	72%
3	CH ₂ Cl ₂	oui	)), 55 °C , 24 h	HG-II (15 mol%)	44%	90%
4	CH ₂ Cl ₂	oui	)), 55 °C , 28 h	HG-II (18 mol%)	59%	100%

La détermination de la structure et de la configuration du produit hydrolysé **75** a été réalisée par expérience RMN NOESY (Figure 11). Le composé **75** *trans* a été identifié par observation d'un effet NOESY entre le proton vinylique et le méthylène portant la fonction hydroxyle. Un second effet NOESY existe également entre le méthylène en *alpha* du phosphore et le méthyle. Ces résultats confirment bien la configuration *trans* de notre produit. Cependant, aucun effet NOESY entre le proton vinylique et le méthyle est observé et aucun effet NOESY entre le méthylène en *alpha* du phosphore et le méthylène portant l'hydroxyle est observé. Ces résultats confirment bien que seul le composé *trans* est formé dans cette réaction.

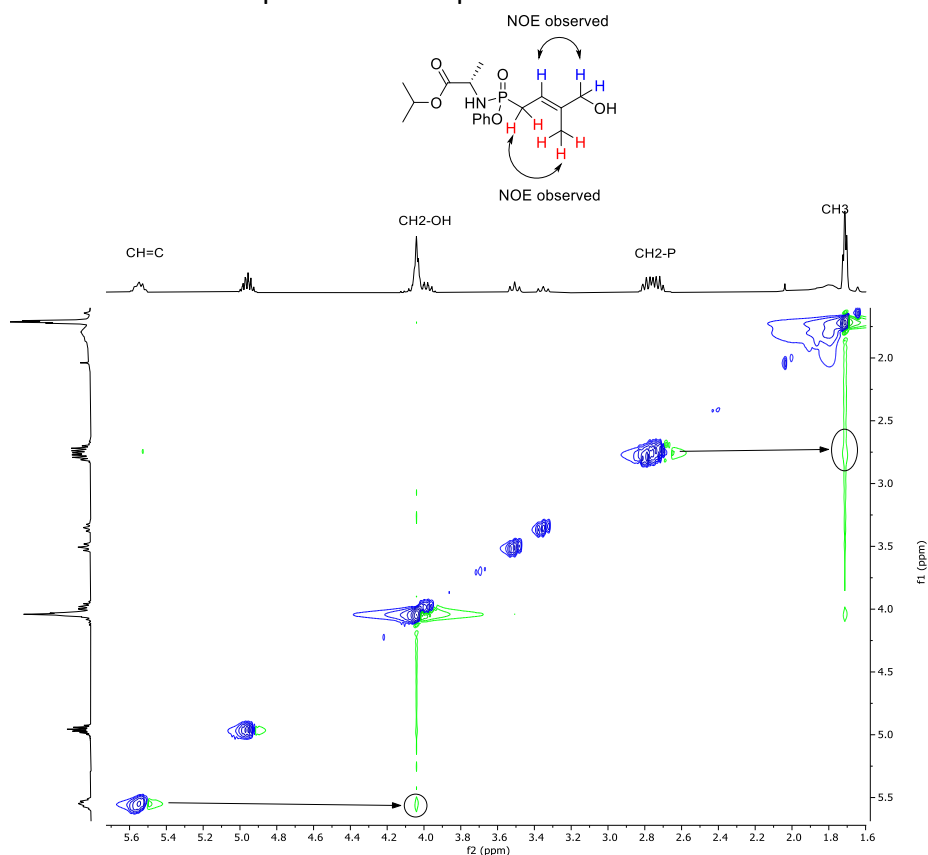


Figure 11 : Spectre NOESY du produit **75**

Par la suite, le composé **75** a été activé sous forme d'un mésylate qui a été déplacé par de l'azoture de sodium dans les conditions précédemment décrites. L'azoture **77** est formé avec un excellent rendement de 96% (Schéma 14). L'analyse infra-rouge confirme (signal à 2100 cm^{-1}) correspondant à la vibration N_3 .

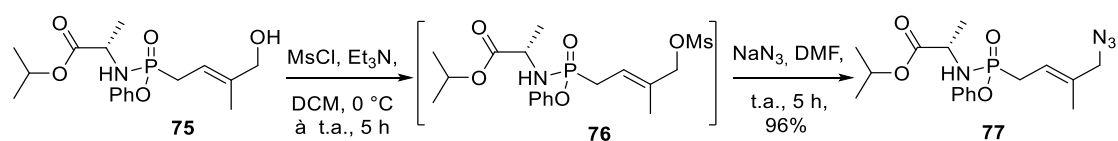
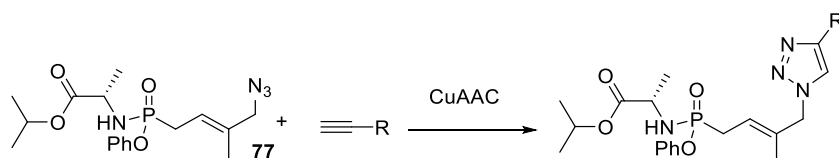


Schéma 14 : Préparation de l'azoture **77**

Enfin, nous avons réalisé la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen catalysée par le Cu(I) entre l'azoture **77** et divers alcynes dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment. Les analogues 1,2,3-triazolonucléosides phosphonamidates ont été obtenus avec de bons rendements variant de 74% à 93% (Tableau 7). Les alcynes ont été choisis par rapport aux résultats biologiques des analogues *bis*(POC) et HDP/POC.

Tableau 7 : Réaction de CuAAC entre l'azoture **77** et une diversité d'alcynes



Entrée	R	Produit	Temps (h)	Rendement (%)
1		78	14	92
2		79	12	74
3		80	14	93
4		81	13	78
5		82	3	87

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Sodium ascorbate, $t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$ (2:1), r.t. to 40 °C.

Les deux diastéréoisomères (chiralité au niveau du P) obtenus dans un mélange 6:4 ont été séparés après plusieurs purifications fastidieuses sur gel de silice avec différents systèmes d'élution. Cependant, l'identification n'a pas été possible car nous n'avons pas été en capacité d'obtenir des cristaux pour une identification aux rayons X.

Cette approche convergente dont les étapes clefs sont la métathèse croisée d'oléfines et la réaction CuAAC nous a permis d'obtenir une trentaine d'ANPs sous leur forme prodroge, après optimisation de ces différents systèmes (Figure 12).

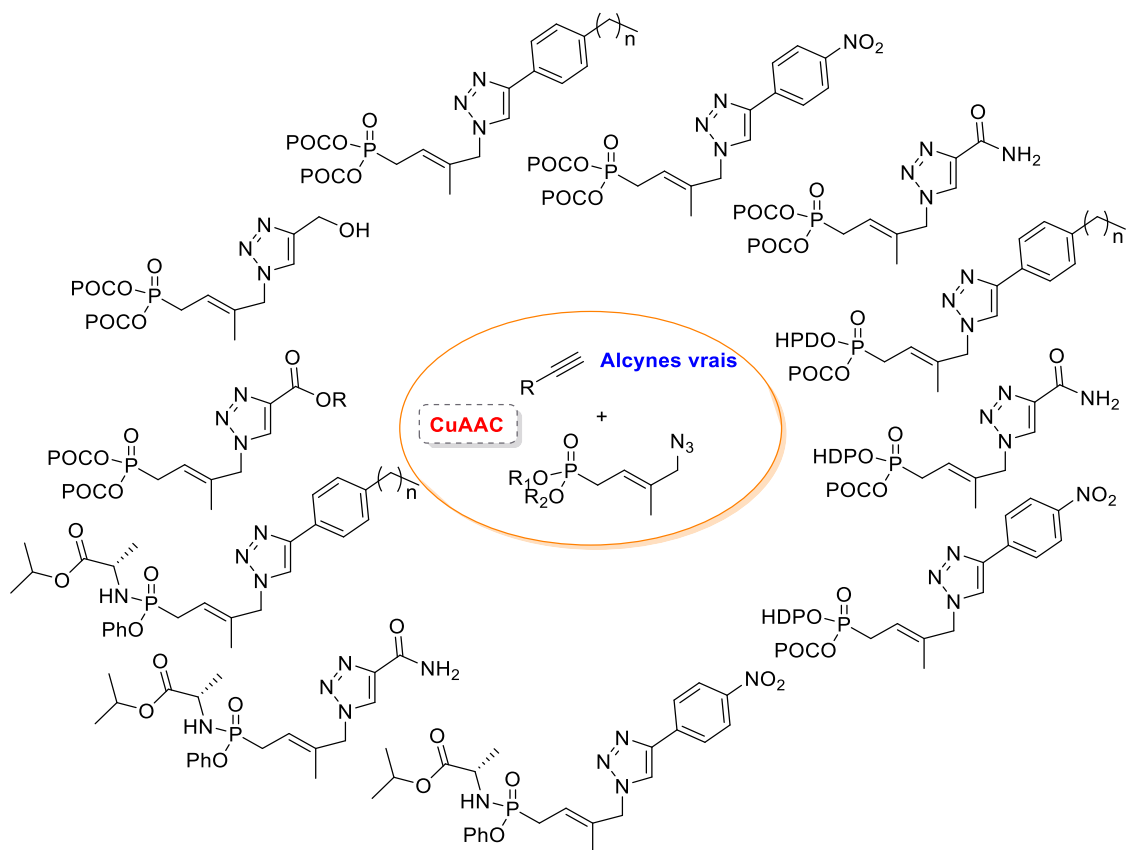


Figure 12 : Représentation des différentes molécules synthétisées

3.5 Analogues *trans*-2'-acétoxyméthyle-but-2'-ényl phosphono nucléosides de type prodrogue HDP/POC portant une nucléobase 1,2,3-triazole modifiée

Nous nous sommes enfin intéressés aux dérivés de type 2'-hydroxyméthyle-but-2'-énylphosphonates portant un hétérocycle 1,2,3-triazole. Le groupement 2'-acétoxyméthyle peut aussi être considérée comme une prodrogue de la fonction hydroxyméthyle.

3.5.1 Rétrosynthèse

La rétrosynthèse proposée diffère un peu de celle proposée précédemment, du fait de la présence d'un groupement chimique plus réactif en position 2'. Le 1,2,3-triazole provient d'une réaction de CuAAC sur l'azoture **84**, obtenu à partir de l'alcool **85**; ce dernier est obtenu à partir du diacétate **86** par une hydrolyse chemoenzymatique au moyen de la lipase CAL-B. Le dérivé **86** provient par une réaction de métathèse du HDP/POC allylphosphonate et de l'oléfine diacétate **87**, issue elle-même du propanediol **88** (Schéma 15).

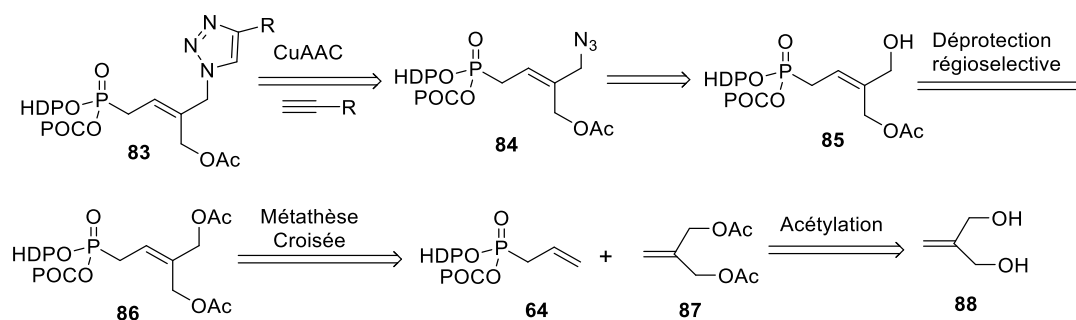


Schéma 15 : Rétrosynthèse des dérivés 2'-acétoxyméthyle-but-2-ényl phosphonates

3.5.2 Synthèse des ANPs

Le dérivé HDP/POC allylphosphonate **64** dont la synthèse a été décrite précédemment réagit dans des conditions de métathèse croisée avec **87**, dans le CH_2Cl_2 sous ultrasons pendant 24 h à 55°C avec 15 mol% de **NG-II** (ajouté en 5 fois). Le diacétate **86** est alors obtenu avec un rendement de 83% ; après une hydrolyse chémo-enzymatique au moyen de lipase B de *Candida Antarctica* (CAL-B), le produit **85** est isolé après 24 h de réaction avec un rendement de 59%. Il est important de garder ce composé à -20°C en absence de lumière, car il peut être sujet à une racémisation intramoléculaire par migration de l'acyle. Cette hydrolyse enzymatique est stéréosélective car seul le produit *cis* **85** est obtenu avec 59% de rendement.

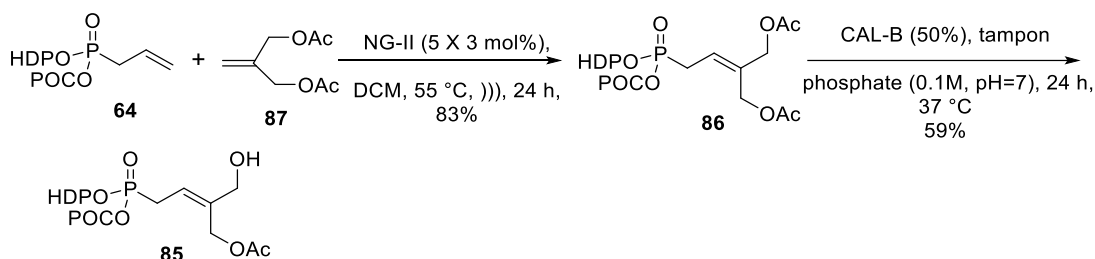
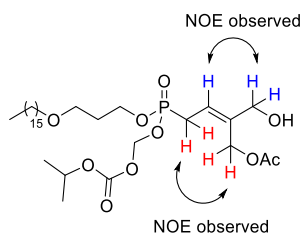


Schéma 17 : Synthèse de l'intermédiaire **85**

La détermination de la structure et de la configuration du produit hydrolysé **85** a été réalisée par expérience RMN NOESY (Figure 13).



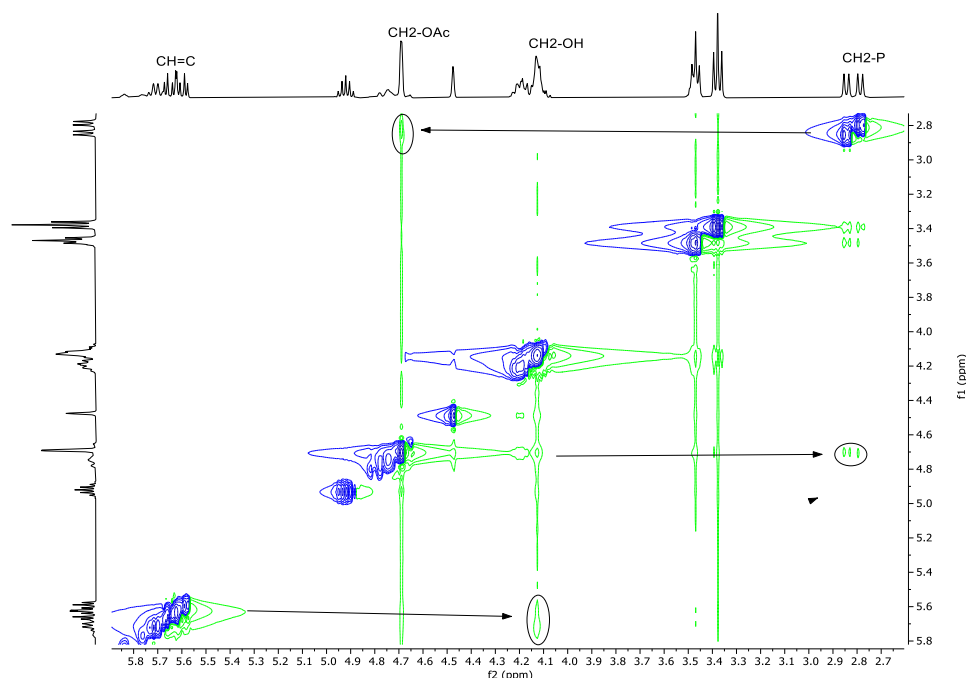


Figure 13 : Spectre NOESY du produit **85**

Un effet NOESY est observé entre le proton vinylique et le méthylène portant la fonction hydroxyle libre. Un second effet NOESY existe également entre le méthylène en *alpha* du phosphore et le méthylène portant l'acétate. Ces résultats confirment bien la configuration *cis* de notre produit. Le composé **85** est alors activé sous forme d'un mésylate, lequel est déplacé par l'azoture de sodium dans les mêmes conditions que présentées ci-dessus. Le composé **84** est obtenu avec un rendement de 58% (Schéma 18). L'analyse infra-rouge confirme bien la présence de la bande du N_3 vers 2100 cm^{-1} .

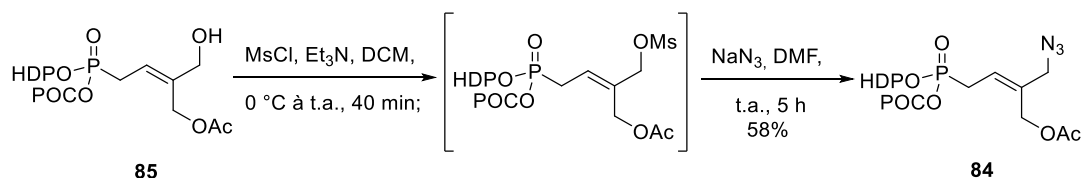


Schéma 18 : Synthèse de l'azoture **84**

Le composé **84** subit une réaction CuAAC dans les mêmes conditions décrites précédemment pour cette réaction et deux nouveaux analogues, **89** et **90**, ont été obtenus avec des rendements de 56% et 65%, respectivement, (Schéma 19).

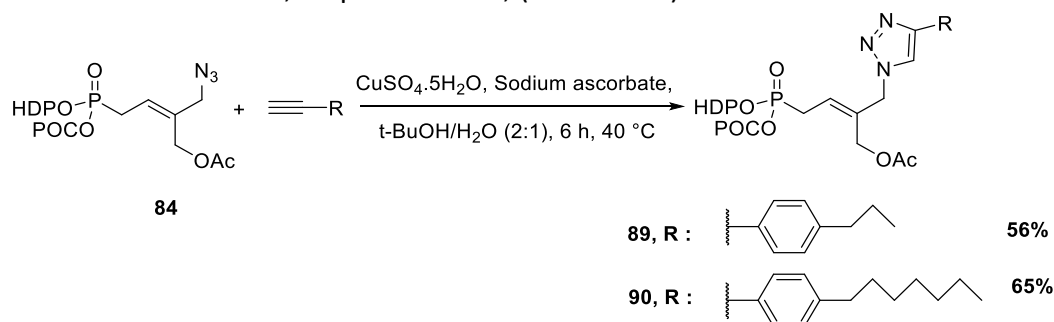


Schéma 19 : Préparation des ANPs **89** et **90** par une réaction CuAAC

L'évaluation biologique de ces composés (activité antivirale et toxicité) est en cours.

4. Conclusions et perspectives

Au cours de cette section, nous avons décrit la synthèse de nouveaux ANPs portant des nucléobases puriques et des 1,2,3-triazoles, avec la chaîne *trans* but-2'-ényle sous forme de prodrogues de type *bis*(POC), HDP/POC et phosphonamidates (Figure 14).

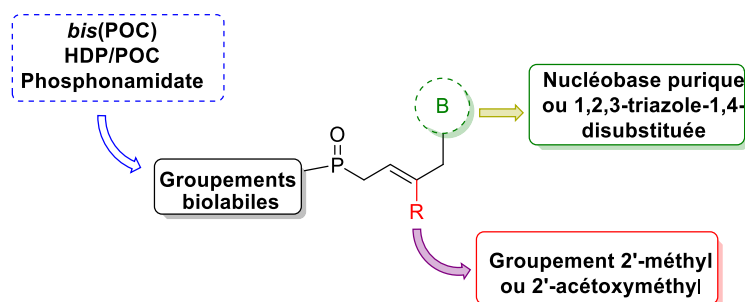


Figure 14 : Type d'ANPs synthétisés

Les réactions mises en jeu pour ces synthèses convergentes sont la métathèse croisée d'oléfines, l'introduction de nucléobases puriques dans des conditions de Mitsunobu ou la construction de 1,2,3-triazoles par la réaction CuAAC, (Schéma 20). Trente et une molécules ont ainsi été obtenues sous forme de prodrogues de type *bis*(POC), HDP/POC ou phosphonamidates.

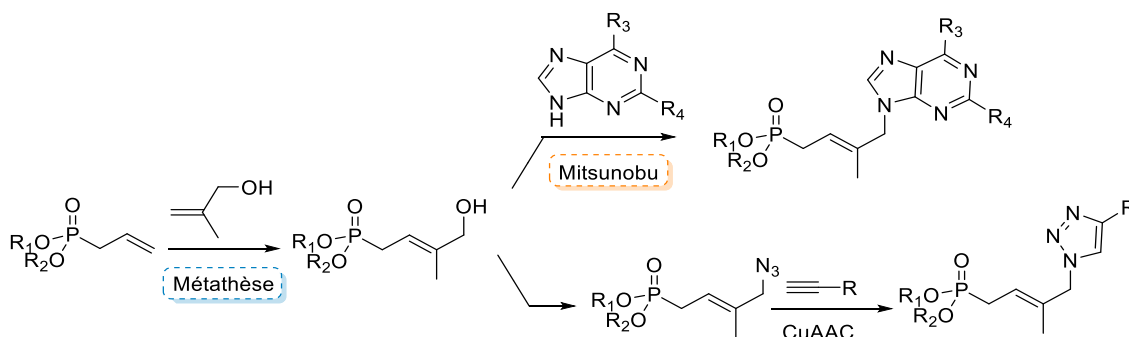
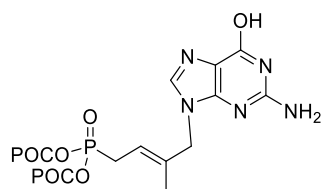


Schéma 20 : Schéma global d'obtention des ANPs en série 2'-méthyle

Les évaluations biologiques *in vitro* n'ont pas permis de mettre en évidence un gain d'activité antivirale en remplaçant une prodroge de type *bis*(POC) par l'analogue HDP/POC. Parmi les composés testés, le composé **16** présente une activité intéressante sur le HBV avec une EC_{50} de 8.5 μ M et $CC_{50} > 100$ à 10 μ M (Figure 15).



16

HBV, $EC_{50} = 8.5 \mu M$
 $CC_{50} > 100$

Figure 15 : ANP le plus actif contre HBV

Enfin, nous avons synthétisé deux ANPs en série 2'-acétoxyméthyle avec des bases 1,2,3-triazoles sous forme prodrogues HDP/POC pour juger de l'impact du groupement acétoxyméthyle en position 2' sur leur activité antivirale et cytotoxicité (Schéma 21).

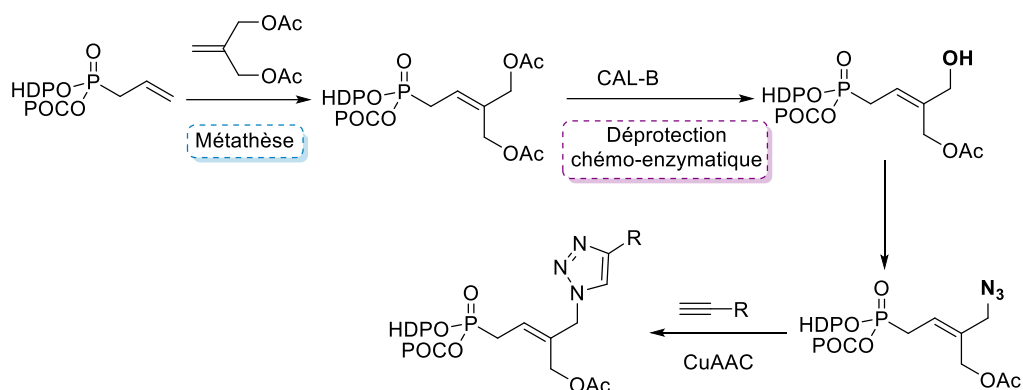


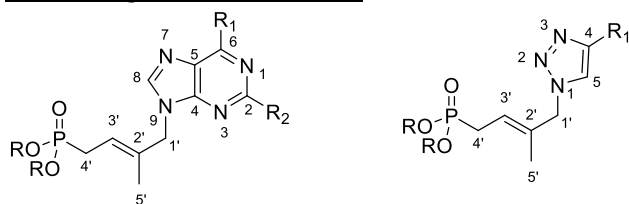
Schéma 21 : Schéma global d'obtention des ANPs en série 2'-acétoxyméthyle

5. Partie expérimentale

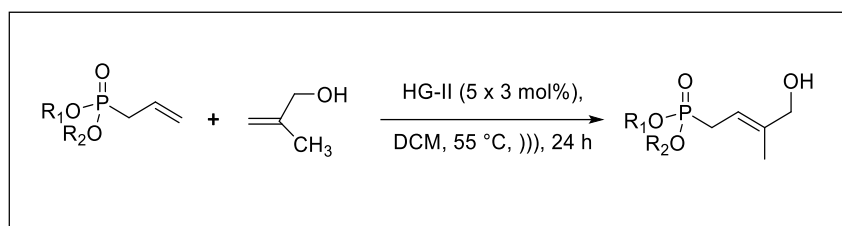
5-1) General

Unless otherwise stated, all reagents were purchased from commercial sources and used as received. THF (99.9% GC) with 2,6-di-*tert*butyl-4-methylphenol (250 mg/L) as stabilizer was purified by passage through a column containing activated alumina under nitrogen pressure (Dry Solvent Station GT S100, GlassTechnology, Geneva, CH). Dichloromethane (99.99% GC) was distilled from calcium hydride and used as solvent in reactions under anhydrous conditions. Four Å MS was activated by drying in an oven at 500 °C (48 h). It was then allowed to reach room temperature and kept over CaCl₂ in a desiccator prior to use. All reactions requiring anhydrous conditions were carried out using oven-dried glassware and under an atmosphere of dry Ar or N₂. Microwave reactions were carried out in a Biotage Initiator apparatus. The reactions under ultrasound were carried out with Elmasonic P30H apparatus with a frequency of 80 kHz and effective power of 100 W. NMR spectra were recorded at 298 K with a Bruker Avance III HD nanobay 400 MHz spectrometer equipped with a BBO probe. The nuclei-signal assignments were done with the aid of 1 D [¹H-NMR, ¹³C-NMR, Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT)] and 2 D Correlation Spectroscopy [(¹H–¹H COSY and ¹H–¹³C Heteronuclear Single Quantum Coherence (HSQC)] experiments. When appropriate or in case of ambiguous proton and carbon, assignments were established using ¹⁹F NMR, heteronuclear multiple-bond correlation (HMBC), and nuclear Overhauser effect spectroscopy (NOESY). ¹H-NMR (400 MHz) chemical shift values are listed in parts per million (ppm) downfield from TMS as the internal standard or relative to the corresponding non-deuterated solvent. Data are reported as follow: chemical shift (ppm on the δ scale), multiplicity (s = singlet, d = doublet, dd = doublet of doublet, ddd = doublet of doublet of doublet, t = triplet, q (quartet) and m = multiplet), coupling constant J (Hz), and integration. ¹³C-NMR (101 MHz) chemical shifts are given in ppm relative to the corresponding nondeuterated solvent or TMS as the internal standard. High Resolution Mass spectra (HRMS) were performed on a Bruker maXis mass spectrometer by the “Fédération de Recherche ICOA/CBM (FR 2708) platform. Infrared spectra were recorded with a Thermo Scientific Nicolet IS10 FTIR spectrometer using diamond ATR golden gate sampling and are reported in wave numbers (cm⁻¹). The reactions were monitored by thin layer chromatography (TLC) analysis using silica gel precoated plates (Kieselgel 60F254, E. Merck). Compounds were visualized by UV irradiation and/or spraying with phosphomolybdic acid (PMA) stain, potassium permanganate solution or ninhydrin stain, followed by charring at around 150 °C. Flash column chromatography on silica gel was performed on Silica Gel 60 M (0.040-0.063 mm, E. Merck). Melting points were determined with a Kofler Heizbank Reichert Type 7841 apparatus and are uncorrected. Organic solutions were concentrated under reduced pressure with a Buchi rotary evaporator.

Numbering of described ANPs

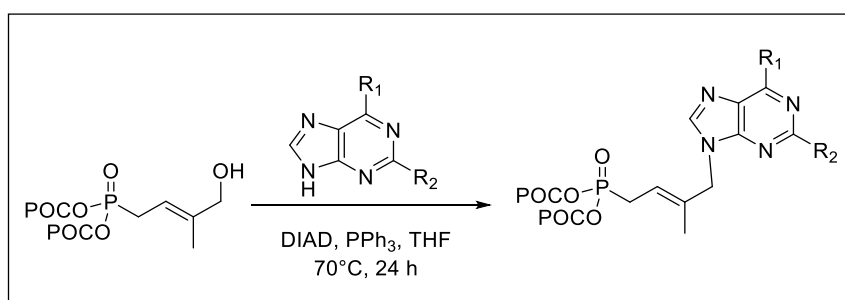


GENERAL PROCEDURE 1



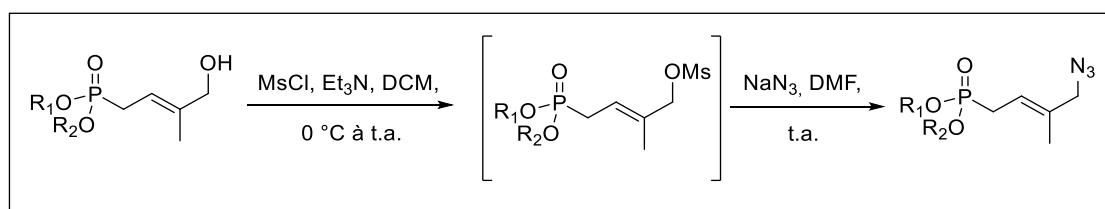
To a solution of allylphosphonate (2.0 eq.) and 2-methyl-2-propen-1-ol (1.0 eq.) in dry CH_2Cl_2 (5 mL, 0.1 M), Hoveyda-Grubbs Catalyst 2nd Generation (15 mol%) was added. The catalyst addition was performed in five equal portions of 3 mol% at $t = 0, 3, 6, 9$ and 21 h over the course of the reaction. The solution was sonicated at 55 °C (80 kHz, 100 W) under nitrogen atmosphere for 24 h. Volatiles were evaporated and the residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel to give the desired phosphonate derivative as brown oil.

GENERAL PROCEDURE 2



To a solution of the *bis*(POC) hydroxyl synthon (1 equiv.) in THF (0.1 M), the nucleic base (1 equiv.) and PPh_3 (2.1 equiv.) were sequentially added. Then DIAD (2.1 equiv.) was added dropwise at 0 °C. After 6 h at reflux, the second portion of *bis*(POC) hydroxylphosphonate (1 equiv.), PPh_3 (2.1 equiv.) and DIAD (2.1 equiv.) were added one after another. The mixture was then refluxed during 18 h. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) to give desired coupling product.

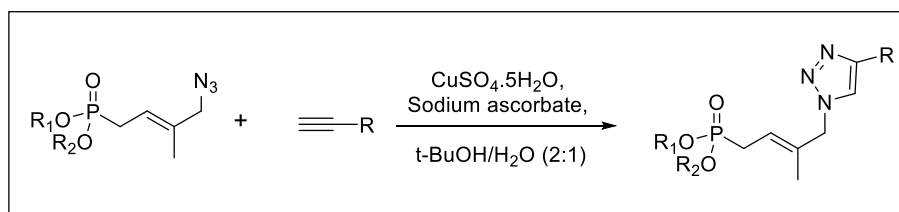
GENERAL PROCEDURE 3



To a solution of (*E*)-4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl-phosphonate (1.0 equiv.) in anhydrous CH_2Cl_2 (5 mL) were added dropwise methansulfonyl chloride (1.1 equiv.) and anhydrous triethylamine (1.1 equiv.) at 0 °C under argon. The resulting mixture was stirred at room temperature until completion and then was diluted with CH_2Cl_2 and washed with water (3×10 mL) and brine. The organic layer was dried over MgSO_4 , filtrated and concentrated *under reduced pressure*. The residue was directly used for the next step without further purification. To a solution of the above described product in anhydrous DMF (8 mL) was added sodium azide (5.0 equiv.) under argon atmosphere. After 5 h to 24

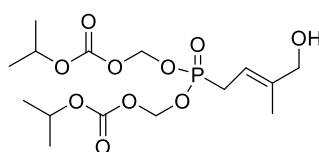
h stirring at room temperature, the mixture was diluted with EtOAc and water and then extracted with EtOAc (3 × 10 mL). The combined organic layer was washed with water (5 × 10 mL), brine, dried over MgSO₄, and concentrated *under reduced pressure*. The residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel to give desired compounds as a colorless oil.

GENERAL PROCEDURE 4



To a solution of alkyne (1.3 equiv.) and (*E*)-4-Azido-3-methyl-but-2-enyl-phosphonate (1.0 equiv.) in tBuOH/H₂O (2:1) were added sodium ascorbate (0.6 equiv.) and CuSO₄·5H₂O (0.1 equiv.). The resulting suspension was stirred at room temperature to 40 °C until completion, then, the crude mixture was co-evaporated five times with methanol. The residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel using elution gradient of petroleum ether/ethyl acetate to give the desired phosphonate derivatives.

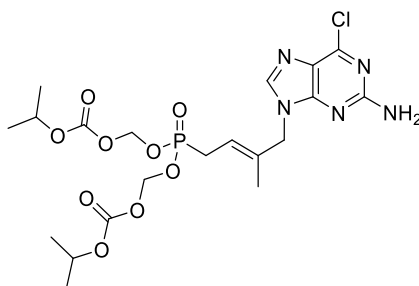
(*E*)-4-Hydroxy-3-methyl-but-2-enyl-*bis*(POC)phosphonate (**9**)



Chemical Formula: C₁₅H₂₇O₁₀P
Molecular Weight: 398,3448

To a solution of *bis*(POC) allylphosphonate (500 mg, 2.0 eq., 1.41 mmol) and 2-methyl-2-propen-1-ol (59 μL, 1.0 eq., 0.71 mmol) in dry CH₂Cl₂ (5 mL), Hoveyda-Grubbs Catalyst 2nd Generation (66 mg, 15 mol%, 0.11 mmol) was added. The catalyst addition was performed in five equal portions of 3 mol% (13.20 mg, 0.021 mmol) at t = 0, 3, 6, 9 and 21 h over the course of the reaction. The solution was sonicated at 55 °C under nitrogen atmosphere for 24 h. Volatiles were evaporated and the residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel (EtOAc/PE, 7:3) to give the desired phosphonate derivative **9** (264 mg, 94 %) as a brown oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.65–5.57 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.41–5.37 (m, 1H, CH=C), 4.87 (sept., J = 6.2 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 3.98 (d, J = 5.3 Hz, 2H, CH₂-OH), 2.69 (dd, J = 22.7, 7.6 Hz, 2H, CH₂-P), 2.34 (s, 1H, OH), 1.65 (d, J = 4.5 Hz, 3H, CH₃), 1.28 (d, J = 6.3 Hz, 12H, CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 153.17 (C=O), 141.61, 141.46 (CH=C), 111.64, 111.53 (CH=C), 84.13, 84.06 (O-CH₂-O), 73.34 (CH(CH₃)₂), 68.03, 68.00 (CH₂-OH), 27.25, 25.86 (CH₂-P), 21.62 (CH(CH₃)₂), 13.88, 13.85 (CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 28.80. HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₅H₂₈O₁₀P : 399.141460, found : 399.141510.

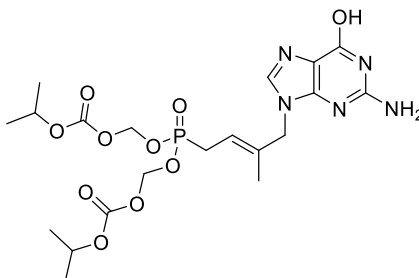
(E)-N⁹-(4'-bis(POC)-phosphinyl-2'-methyl-but-2-enyl)2-amino-6-chloropurine (14)



Chemical Formula: C₂₀H₂₉ClN₅O₉P
Molecular Weight: 549.9018

The title compound was prepared from **9** (290 mg, 1.5 equiv., 0.73 mmol) and 2-amino-6-chloropurine (82 mg, 1.0 equiv., 0.49 mmol), following [the general procedure 2](#). After purification on a silica gel column chromatography (CH₂Cl₂/MeOH, 98/2), the desired pure compound **14** (143 mg, 54%) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.74 (s, 1H, H⁸), 5.66–5.59 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.46–5.41 (m, 1H, CH=C), 5.28 (bs, 2H, NH₂), 4.90 (sept., *J* = 6.3 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 4.60 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H, CH₂-N), 2.73 (dd, *J* = 23.0, 7.8 Hz, 2H, CH₂-P), 1.62 (d, *J* = 4.6 Hz, 3H, CH₃), 1.29 (dd, *J* = 6.2, 2.4 Hz, 12H, CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 159.24 (C^q, Ar), 154.00 (C^q, Ar), 153.14 (C=O), 151.30 (C^q, Ar), 142.24 (C⁸), 135.66, 135.51 (CH=C), 125.14 (C^q, Ar), 116.98, 116.86 (CH=C), 84.17, 84.11 (O-CH₂-O), 73.38 (CH(CH₃)₂), 50.58, 50.55 (CH₂-N), 27.67, 26.27 (CH₂-P), 21.62, 21.61 (CH(CH₃)₂), 14.52, 14.50 (CH₃). ³¹P NMR (161 MHz, CDCl₃) δ 27.41. HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₀H₃₀ClN₅O₉P : 550.146418, found : 550.146256.

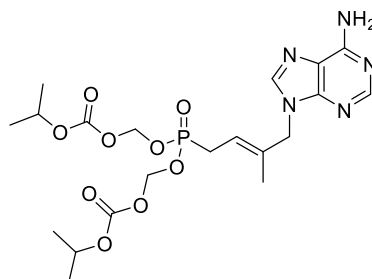
(E)-N⁹-(4'-bis(POC)-phosphinyl-2'-methyl-but-2-enyl)guanine (16)



Chemical Formula: C₂₀H₃₀N₅O₁₀P
Molecular Weight: 531.4588

A solution of compound **14** (72 mg, 0.13 mmol) in a 1:1 mixture of water (2 mL) and formic acid (2 mL) was stirred for 20 min at 80 °C under microwave irradiation. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5) to give compound **16** (52 mg, 74%) as a colorless oil. ¹H-NMR (250 MHz, MeOD) δ 7.69 (s, 1H, H⁸), 5.69-5.55 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.36-5.22 (m, 1H, CH=C), 4.90 (sept., *J* = 6.3 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 4.62 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H, CH₂-N), 2.83 (dd, *J* = 23.1, 7.9 Hz, 2H, CH₂-P), 1.67 (dd, *J* = 4.7, 1.3 Hz, 3H), 1.67 (dd, *J* = 4.7, 1.3 Hz, 3H, CH₃), 1.29 (dd, *J* = 6.2, 0.7 Hz, 12H, CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (101 MHz, MeOD) δ 159.24 (C^q, Ar), 154.00 (C^q, Ar), 153.14 (C=O), 151.30 (C^q, Ar), 142.24 (C⁸), 135.66, 135.51 (CH=C), 125.14 (C^q, Ar), 116.98, 116.86 (CH=C), 84.17, 84.11 (O-CH₂-O), 73.38 (CH(CH₃)₂), 50.58, 50.55 (CH₂-N), 27.67, 26.27 (CH₂-P), 21.62, 21.61 (CH(CH₃)₂), 14.52, 14.50 (CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, MeOD) δ 27.50. HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₀H₃₁N₅O₁₀P : 532.180305, found : 532.179983.

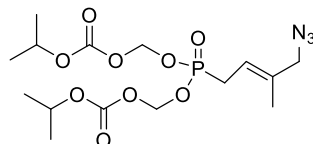
(E)-N⁹-(4'-bis(POC)-phosphinyl-2'-methyl-but-2-enyl)adenine (15)



Chemical Formula: C₂₀H₃₀N₅O₉P
Molecular Weight: 515,4598

The title compound was prepared from **9** (195 mg, 1.5 equiv., 0.49 mmol) and 2-amino-6-chloropurine (44 mg, 1.0 equiv., 0.33 mmol), following the general procedure 2. After purification on a silica gel column chromatography (CH₂Cl₂/MeOH, 98/2), the desired pure compound **15** (78 mg, 47%) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.35 (s, 1H, H²), 7.80 (s, 1H, H⁸), 5.87 (bs, 2H, NH₂), 5.69–5.61 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.42 (q, *J* = 7.9 Hz, 1H, CH=C), 4.92 (sept., *J* = 6.3 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 4.74 (d, *J* = 4.4 Hz, 2H, CH₂-N), 2.75 (dd, *J* = 23.1, 7.8 Hz, 2H, CH₂-P), 1.64 (d, *J* = 4.5 Hz, 3H, CH₃), 1.30 (dd, *J* = 6.3, 2.6 Hz, 12H, CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 155.51 (C^{9,Ar}), 153.15 (C²), 153.13 (C=O), 150.26 (C^{6,Ar}), 140.48 (C⁸), 136.40, 136.25 (CH=C), 119.40 (C^{9,Ar}), 116.52, 116.40 (CH=C), 84.15, 84.09 (O-CH₂-O), 73.36 (CH(CH₃)₂), 50.39, 50.36 (CH₂-N), 27.68, 26.28 (CH₂-P), 21.62 (CH(CH₃)₂), 14.55, 14.52 (CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.60. HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₀H₃₁N₅O₉P : 516.185391, found : 516.185156.

(E)-4-Azido-3-methyl-but-2-enyl-bis(POC)phosphonate (36)

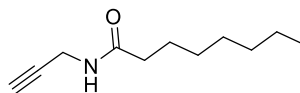


Chemical Formula: C₁₅H₂₆N₃O₉P
Molecular Weight: 423,3588

To a solution of (E)-4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl-bis(POC)phosphonate **9** (264 mg, 1.0 equiv., 0.66 mmol) in anhydrous CH₂Cl₂ (5 mL) were added dropwise methansulfonyl chloride (56 μL, 1.1 equiv., 0.73 mmol) and anhydrous triethylamine (102 μL, 1.1 equiv., 0.73 mmol) at 0 °C under argon. After 30 min stirring at room temperature, the mixture was diluted with CH₂Cl₂ and washed with water (3 ×10 mL) and brine. The organic layer was dried over MgSO₄, filtrated and concentrated *under reduced pressure*. The residue was directly used for next step without further purification. To a solution of the above described product in anhydrous DMF (8 mL) was added sodium azide (216 mg, 5.0 equiv., 3.32 mmol) under nitrogen atmosphere. After 5 h stirring at room temperature, the mixture was diluted with EtOAc and water and then extracted with EtOAc. The combined organic layer was washed with water (5 ×10 mL), brine, dried over MgSO₄, and concentrated *under reduced pressure*. The residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel (EtOAc/PE, 4/6) to give **36** (261 mg, 93%) as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.71–5.61 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.48–5.42 (m, 1H, CH=C), 4.92 (sept, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 3.71 (d, *J* = 4.0 Hz, 2H, CH₂-N₃), 2.75 (dd, *J* = 23.1, 7.9 Hz, 2H, CH₂-P), 1.73 (d, *J* = 4.5 Hz, 3H, CH₃), 1.32 (d, *J* = 6.2 Hz, 12H, CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 153.18 (C=O), 136.19, 136.04 (C=CH), 116.40, 116.28 (CH=C), 84.15, 84.09 (O-CH₂-O), 73.27 (CH(CH₃)₂), 58.59, 58.56 (CH₂-N₃), 27.60 (CH₂-P), 26.20 (CH₂-P), 21.63 (CH(CH₃)₂), 14.89, 14.87 (CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.85. IR ν_{max} 2985.61, 2937.37, 2100.12, 1755.01, 1255.06, 1031.52, 984.34, 949.97, 904.26,

832.67, 788.47 cm^{-1} . **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{NaO}_9\text{P}$: 446.129887, found : 446.129909.

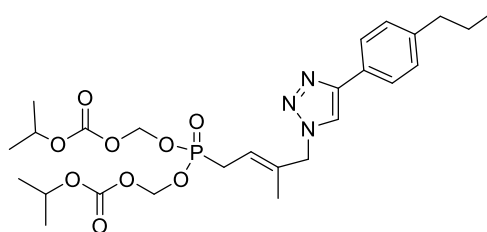
***N*-(Prop-2-yn-1-yl)octanamide (39)**



Chemical Formula: $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}$
Molecular Weight: 181,2790

Propargylamine (512 μL , 1.0 equiv., 7.99 mmol) was dissolved in anhydrous CH_2Cl_2 (20 mL). DIPEA (1.34 g, 1.3 equiv., 10.39 mmol) was added and the solution was cooled to 0 $^\circ\text{C}$. Octanoyl chloride (1.43 g, 1.1 equiv., 8.79 mmol) was added dropwise and the reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h. The reaction was quenched through dropwise addition of H_2O (1 mL), then diluted with CH_2Cl_2 (20 mL) and washed with saturated NaHCO_3 solution (40 mL) and brine (40 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered and evaporated. The obtained white solid was used for the next step without further purification. **CAS #** 422284-34-2; **$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3)** δ 5.56 (bs, 1H, H^4), 4.06 (dd, 2H, J = 5.2, 2.6 Hz, H^3), 2.25-2.15 (m, 3H, $\text{H}^{1,6}$), 1.69-1.56 (m, 2H, H^7), 1.38-1.20 (m, 8H, $\text{H}^{8,9,10,11}$), 0.92-0.81 (m, 3H, H^{12}). **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{O}_8\text{P}$: 395.1829, found : 395.1828.

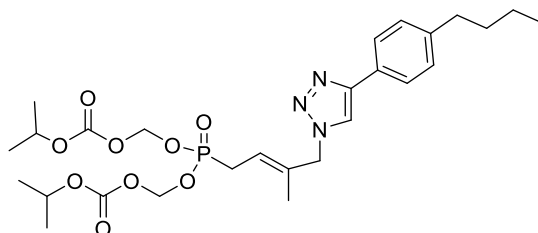
[[*(E)*-4-[4-(4-Propylphenyl)triazol-1-yl]-3-methyl-but-2-enyl]-(isopropoxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (43)



Chemical Formula: $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$
Molecular Weight: 567,5758

The title compound was prepared from **36** (101 mg, 1.0 equiv., 0.24 mmol) following [the general procedure 4](#), the resulting suspension was stirred for 2 h at 40 $^\circ\text{C}$. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 4/6), the desired pure compound **43** (112 mg, 83%) was obtained as a colorless oil. **$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3)** δ 7.76 (s, 1H, H^5), 7.74 (d, J = 5.7 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.25 – 7.17 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H^{Ar}), 5.77–5.51 (m, 4H, O- CH_2 -O; 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 4.98 – 4.80 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$; 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.78 (dd, J = 23.1, 7.8 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}$), 2.59 (t, J = 7.6 Hz, 2H, Ar- CH_2), 1.70 – 1.58 (m, 3H, CH_3 ; 2H, Ar- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 1.27 (d, J = 6.3 Hz, 12H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.93 (t, J = 7.3 Hz, 3H, Ar- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3)** δ 153.16 ($\text{C}=\text{O}$), 148.33 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 142.73 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 135.88, 135.73 ($\text{CH}=\text{C}$), 128.86 (CH^{Ar}), 128.05 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 125.64 (CH^{Ar}), 119.02 (CH^{Ar}), 118.14, 118.03 ($\text{CH}=\text{C}$), 84.14, 84.08 (O- CH_2 -O), 73.39 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.84, 57.81 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 37.80 (Ar- CH_2), 27.79, 26.39 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 24.46 (Ar- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 21.60, 21.57 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.19, 14.16 (CH_3), 13.75 (Ar- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$). **$^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl_3)** δ 27.47. **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$: 568.241843, found : 568.242174.

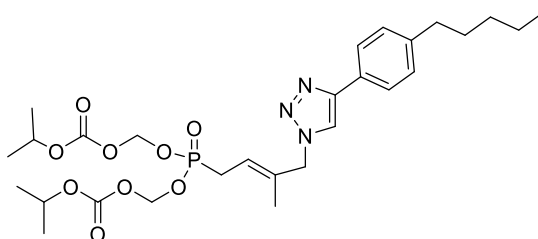
[[*(E)*-4-[4-(4-Butylphenyl)triazol-1-yl]-3-methyl-but-2-enyl] (isopropoxycarbonyloxymethoxy) phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (44)



Chemical Formula: C₂₇H₄₀N₃O₉P
Molecular Weight: 581,6028

The title compound was prepared from **36** (102 mg, 1.0 equiv., 0.24 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 2 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 4/6), the desired pure compound **44** (123 mg, 88%) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 7.76 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.75 (s, 1H, H⁵), 7.22 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 5.73 – 5.63 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.60 – 5.54 (m, 1H, CH=C), 4.94 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H, CH₂-N), 4.90 (sept., *J* = 6.3 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 2.80 (dd, *J* = 23.3, 7.9 Hz, 2H, CH₂-P), 2.62 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, Ar-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 1.64 – 1.58 (m, 3H, CH₃; 2H, Ar-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 1.40 – 1.34 (m, 2H, Ar-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 1.28 (d, *J* = 6.3 Hz, 12H, CH(CH₃)₂), 0.92 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, Ar-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 153.17 (C=O), 148.35 (C^q, Ar), 142.99 (C^q, Ar), 135.90, 135.75 (CH=C), 128.82 (CH_{Ar}), 127.99 (C^q, Ar), 125.67 (CH^{Ar}), 119.02 (CH^{Ar}), 118.14, 118.02 (CH=C), 84.16, 84.10 (O-CH₂-O), 73.41 (CH(CH₃)₂), 57.85, 57.82 (CH₂-N), 35.42 (Ar-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 33.54 (Ar-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 27.80 (CH₂-P), 26.40 (CH₂-P), 22.30 (Ar-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 21.60, 21.58 (CH(CH₃)₂), 14.20, 14.17 (CH₃), 13.93 (Ar-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.46. HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₇H₄₀N₃NaO₉P : 604.239437, found : 604.239357.

[[*(E)*-4-[4-(4-Pentylphenyl)triazol-1-yl]-3-methyl-but-2-enyl]-(isopropoxycarbonyloxymethoxy) phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate(45)

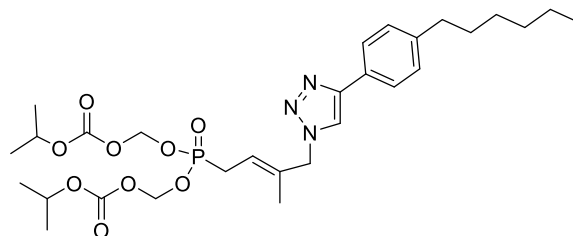


Chemical Formula: C₂₈H₄₂N₃O₉P
Molecular Weight: 595,6298

The title compound was prepared from **36** (96 mg, 1.0 equiv., 0.23 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 2 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 4/6), the desired pure compound **45** (115 mg, 85%) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.76 (s, 2H, H^{Ar}), 7.74 (s, 1H, H⁵), 7.22 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 5.72 – 5.64 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.61 – 5.56 (m, 1H, CH=C), 4.94 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H, CH₂-N), 4.90 (sept., *J* = 6.2 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 2.80 (dd, *J* = 23.1, 7.8 Hz, 2H, CH₂-P), 2.62 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, Ar-CH₂-(CH₂)₃-CH₃), 1.64 – 1.59 (m, 3H, CH₃; 2H, Ar-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 1.33 – 1.32 (m, 4H, Ar-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 1.28 (d, *J* = 6.3 Hz, 12H, CH(CH₃)₂), 0.89 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, Ar-(CH₂)₄-CH₃). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 153.17 (C=O), 148.36 (C^q, Ar), 143.02 (C^q, Ar), 135.89, 135.74 (CH=C), 128.81 (CH_{Ar}), 127.99 (C^q, Ar), 125.67 (CH^{Ar}), 119.01 (CH^{Ar}), 118.14, 118.02 (CH=C), 84.15, 84.09 (O-CH₂-O), 73.41 (CH(CH₃)₂), 57.85,

57.82 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 35.70 ($\text{Ar-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$), 31.44, 31.07 ($\text{Ar-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 27.79 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 26.39 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 23.85 ($\text{Ar-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 22.52 ($\text{Ar-(CH}_2\text{)}_3\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 21.60, 21.58 ($\text{CH(CH}_3\text{)}_2$), 14.19, 14.17 (CH_3), 14.01 ($\text{Ar-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH}_3$). ^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 27.51. HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{NaO}_9\text{P}$: 618.255087, found : 618.254736.

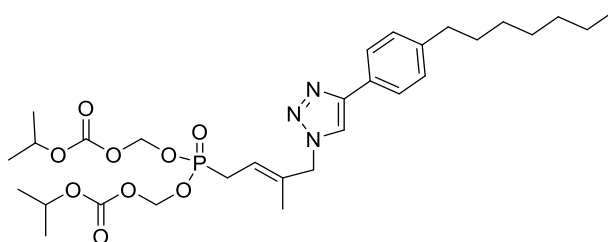
[[*(E)*-4-[4-(4-Hexylphenyl)triazol-1-yl]-3-methyl-but-2-enyl]-(*isopropoxycarbonyloxymethoxy*) phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (46)



Chemical Formula: $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$
Molecular Weight: 609.6568

The title compound was prepared from **36** (93 mg, 1.0 equiv., 0.22 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 2 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 35/65), the desired pure compound **46** (112 mg, 84%) was obtained as a yellow oil. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.75 (d, J = 5.4 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.72 (s, 1H, H^5), 7.20 (d, J = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 5.70 – 5.62 (m, 4H, O- $\text{CH}_2\text{-O}$), 5.59 – 5.53 (m, 1H, CH=C), 4.92 (d, J = 3.8 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 4.88 (sept., J = 6.2 Hz, 2H, $\text{CH(CH}_3\text{)}_2$), 2.78 (dd, J = 23.1, 7.8 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}$), 2.60 (t, J = 7.8 Hz, 2H, $\text{Ar-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH}_3$), 1.62 – 1.56 (m, 3H, CH_3 ; 2H, $\text{Ar-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{CH}_3$), 1.33 – 1.25 (m, 18H, $\text{Ar-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{CH}_3$, $\text{CH(CH}_3\text{)}_2$), 0.86 (t, J = 7.0 Hz, 3H, $\text{Ar-(CH}_2\text{)}_5\text{-CH}_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 153.15 (C=O), 148.31 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 143.01 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 135.91, 135.76 (CH=C), 128.80 (CH_{Ar}), 127.96 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 125.66 (CH^{Ar}), 119.10 (CH^{Ar}), 118.05, 117.94 (CH=C), 84.17, 84.10 (O- $\text{CH}_2\text{-O}$), 73.40 ($\text{CH(CH}_3\text{)}_2$), 57.80, 57.78 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 35.72 ($\text{Ar-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH}_3$), 31.69, 31.34 ($\text{Ar-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{CH}_3$), 28.91 ($\text{Ar-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 27.75 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 26.35 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 23.85 ($\text{Ar-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 22.58 ($\text{Ar-(CH}_2\text{)}_4\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 21.59, 21.56 ($\text{CH(CH}_3\text{)}_2$), 14.18, 14.16 (CH_3), 14.07 ($\text{Ar-(CH}_2\text{)}_5\text{-CH}_3$). ^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 27.50. HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{NaO}_9\text{P}$: 632.270737, found : 632.270745.

[[*(E)*-4-[4-(4-Heptylphenyl)triazol-1-yl]-3-methyl-but-2-enyl]-(*isopropoxycarbonyloxymethoxy*) phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (47)

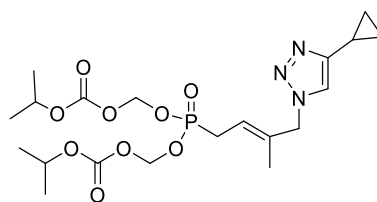


Chemical Formula: $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$
Molecular Weight: 623.6838

The title compound was prepared from **36** (113 mg, 1.0 equiv., 0.27 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 3 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 3/7), the desired pure compound **47** (151 mg, 91%) was obtained as a yellow oil. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.76 (d, J = 2.4 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.74 (s, 1H, H^5), 7.22 (d, J = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 5.72 – 5.64 (m, 4H, O- $\text{CH}_2\text{-O}$), 5.62 – 5.56 (m, 1H, CH=C), 4.94 (d, J = 3.8 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$),

4.89 (sept., $J = 6.3$ Hz, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.79 (dd, $J = 23.1, 7.8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}$), 2.61 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, $\text{Ar-CH}_2\text{-(CH}_2)_5\text{-CH}_3$), 1.64 – 1.58 (m, 3H, CH_3 ; 2H, $\text{Ar-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2)_4\text{CH}_3$), 1.33 – 1.25 (m, 20H, $\text{Ar-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2)_4\text{CH}_3$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.87 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{Ar-(CH}_2)_6\text{-CH}_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 153.17 (C=O), 148.36 (C^q, Ar), 143.03 (C^q, Ar), 135.89, 135.74 (CH=C), 128.81 (CH_{Ar}), 127.99 (C^q, Ar), 125.66 (CH^{Ar}), 119.00 (CH^{Ar}), 118.16, 118.04 (CH=C), 84.15, 84.08 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 73.40 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.86, 57.83 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 35.74 ($\text{Ar-CH}_2\text{-(CH}_2)_5\text{-CH}_3$), 31.81, 31.40 ($\text{Ar-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2)_4\text{CH}_3$), 29.70, 29.22, 29.17 ($\text{Ar-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 27.80 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 26.40 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 22.65 ($\text{Ar-(CH}_2)_5\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 21.61, 21.58 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.20, 14.17 (CH_3), 14.08 ($\text{Ar-(CH}_2)_6\text{-CH}_3$). $^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 27.46. HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$: 624.304443, found : 624.303736.

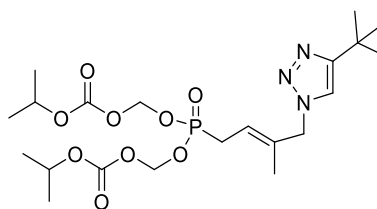
[[*(E)*-4-(4-Cyclopropyltriazol-1-yl)-3-methyl-but-2-enyl]-(*isopropoxycarbonyloxymethoxy*) phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (48)



Chemical Formula: $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$
Molecular Weight: 489,4618

The title compound was prepared from **36** (94 mg, 1.0 equiv., 0.22 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 2 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 4/6), the desired pure compound **48** (86 mg, 79%) was obtained as a colorless oil. $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) δ 7.23 (s, 1H, H^5), 5.72 – 5.62 (m, 4H, $\text{O-CH}_2\text{-O}$), 5.54 – 5.45 (m, 1H, CH=C), 4.92 (sept., $J = 6.2$ Hz, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.83 (d, $J = 4.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 2.76 (dd, $J = 23.1, 7.8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}$), 2.00 – 1.89 (m, 1H, CH_2CHCH_2), 1.59 (d, $J = 5.5$ Hz, 3H, CH_3), 1.31 (dd, $J = 6.3, 1.3$ Hz, 12H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.95 – 0.82 (m, 4H, CH_2CH_2). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 153.16 (C=O), 150.69 (C^q, Ar), 136.01, 135.86 (CH=C), 119.43 (CH^{Ar}), 117.77, 117.66 (CH=C), 84.14, 84.08 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 73.40 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.64, 57.61 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 27.72, 26.32 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 21.63, 21.61 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.19, 14.17 (CH_3), 7.76 (CH_2CH_2), 6.70 (CH_2CHCH_2). $^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 27.56. HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$: 490.194893, found : 490.194923.

[[*(E)*-4-(4-*tert*-Butyltriazol-1-yl)-3-methyl-but-2-enyl]-(*isopropoxycarbonyloxymethoxy*) phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (49)

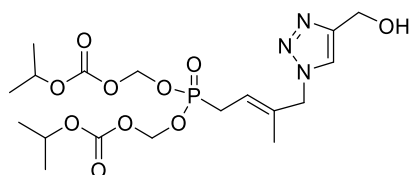


Chemical Formula: $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$
Molecular Weight: 505,5048

The title compound was prepared from **36** (98 mg, 1.0 equiv., 0.23 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 24 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 6/4), the desired pure compound **49** (56 mg, 48%) was obtained as a colorless oil. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.25 (s, 1H, H^5), 5.71 – 5.62 (m, 4H, $\text{O-CH}_2\text{-O}$), 5.51 – 5.45 (m, 1H, CH=C), 4.92 (sept., $J = 6.2$ Hz, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.85 (d, $J = 3.9$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 2.76 (dd, $J =$

23.1, 7.8 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}$), 1.60 (d, $J = 4.5$ Hz, 3H, CH_3), 1.33 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.31 (d, $J = 6.3$ Hz, 12H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 158.15 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 153.15 (C=O), 136.14, 135.99 (CH=C), 118.37 (CH^{Ar}), 117.61, 117.49 (CH=C), 84.15, 84.08 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 73.39 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.56, 57.53 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 30.76 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 30.33 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 27.72, 26.32 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 21.64, 21.62 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.29, 14.26 (CH_3). $^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 27.62. HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$: 506.226193, found : 506.226014.

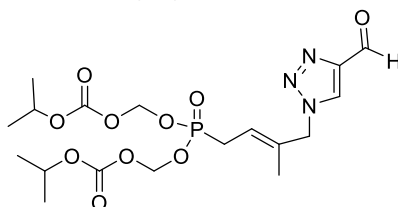
[[*(E)*-4-[4-(Hydroxymethyl)triazol-1-yl]-3-methyl-but-2-enyl]-(isopropoxycarbonyloxymethoxy) phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (50)



Chemical Formula: $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{P}$
Molecular Weight: 479,4228

The title compound was prepared from **36** (105 mg, 1.0 equiv., 0.25 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 24 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (MeOH/ CH_2Cl_2 , 5/95), the desired pure compound **50** (84 mg, 71%) was obtained as a yellow oil. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.55 (s, 1H, H^5), 5.67 – 5.59 (m, 4H, $\text{O-CH}_2\text{-O}$), 5.49 – 5.44 (m, 1H, CH=C), 4.92 – 4.86 (m, 4H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{CH}_2\text{-N}$), 4.75 (s, 2H, CH_2OH), 2.74 (dd, $J = 23.1$, 7.8 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}$), 1.57 (d, $J = 4.6$ Hz, 3H, CH_3), 1.28 (d, $J = 5.6$ Hz, 12H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 153.16 (C=O), 135.73, 135.58 (CH=C), 121.55 (CH^{Ar}), 118.13, 118.01 (CH=C), 84.13, 84.07 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 73.48 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 57.68, 57.65 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 56.49 (CH_2OH), 27.74, 26.34 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 21.60, 21.59 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.27, 14.24 (CH_3). $^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 27.40. HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{NaO}_{10}\text{P}$: 502.156102, found : 502.155885.

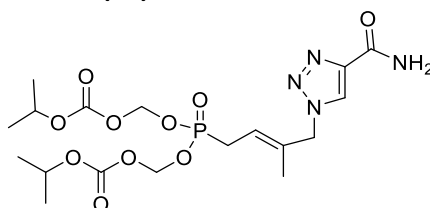
[[*(E)*-4-(4-Formyltriazol-1-yl)-3-methyl-but-2-enyl]-(isopropoxycarbonyloxymethoxy) phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (51)



Chemical Formula: $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{P}$
Molecular Weight: 477,4068

The title compound was prepared from **36** (82 mg, 1.0 equiv., 0.19 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 2 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 6/4), the desired pure compound **51** (19 mg, 21%) was obtained as a colorless oil. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 10.14 (s, 1H, CHO), 8.14 (s, 1H, H^5), 5.71 – 5.63 (m, 4H, $\text{O-CH}_2\text{-O}$), 5.60 – 5.57 (m, 1H, CH=C), 4.98 (d, $J = 3.9$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 4.92 (sept., $J = 6.2$ Hz, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.78 (dd, $J = 23.3$, 7.8 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}$), 1.63 (d, $J = 4.8$ Hz, 3H, CH_3), 1.31 (d, $J = 6.2$ Hz, 12H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 184.88 (CHO), 153.13 (C=O), 148.08 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 134.76, 134.61 (CH=C), 125.23 (CH^{Ar}), 119.54, 119.43 (CH=C), 84.19, 84.12 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 73.47 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 58.12, 58.09 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 27.84, 26.44 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 21.64, 21.62 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.31, 14.28 (CH_3). $^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 27.04. HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{P}$: 478.158507, found : 478.158468.

[[*(E)*-4-(4-Carbamoyltriazol-1-yl)-3-methyl-but-2-enyl]-(isopropoxycarbonyloxymethoxy) phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (52)

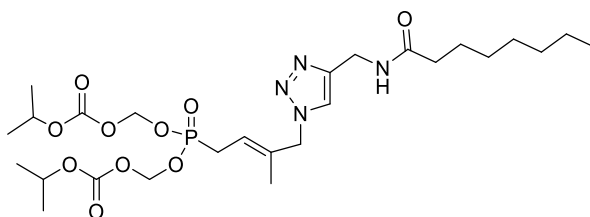


Chemical Formula: C₁₈H₂₉N₄O₁₀P

Molecular Weight: 492,4218

The title compound was prepared from **36** (106 mg, 1.0 equiv., 0.25 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 14 h at 60 °C. After purification on a silica gel column chromatography (MeOH/CH₂Cl₂, 3/97), the desired pure compound **52** (96 mg, 78%) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, Acetone-d₆) δ 8.31 (s, 1H, H⁵), 7.38 (s, 1H, NH), 6.78 (s, 1H, NH), 5.70 – 5.63 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.59 – 5.57 (m, 1H, CH=C), 5.08 (d, *J* = 4.0 Hz, 2H, CH₂-N), 4.91 (sept., *J* = 6.2 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 2.84 (dd, *J* = 22.4, 7.9 Hz, 2H, CH₂-P), 1.66 (d, *J* = 3.9 Hz, 3H, CH₃), 1.29 (d, *J* = 6.3 Hz, 12H, CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (101 MHz, Acetone-d₆) δ 161.57 (NH₂C=O), 153.13 (C=O), 143.44 (C^q, Ar), 135.42, 135.27 (CH=C), 125.95 (CH^{Ar}), 118.44, 118.33 (CH=C), 84.20, 84.14 (O-CH₂-O), 72.79 (CH(CH₃)₂), 57.22, 57.19 (CH₂-N), 27.34, 25.95 (CH₂-P), 20.91 (CH(CH₃)₂), 13.56, 13.53 (CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.05. HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺calcd for C₁₈H₃₀N₄O₁₀P: 493.169406, found : 493.169337.

[[*(E)*-4-(4-Octanoylaminoethylmethyltriazol-1-yl)-3-methyl-but-2-enyl]-(isopropoxycarbonyloxymethoxy) phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (53)

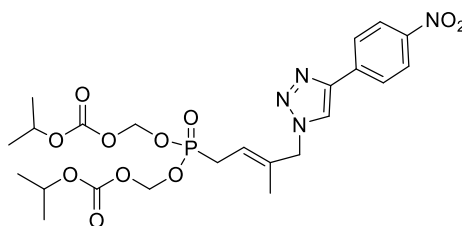


Chemical Formula: C₂₆H₄₅N₄O₁₀P

Molecular Weight: 604,6378

The title compound was prepared from **36** (109 mg, 1.0 equiv., 0.26 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 24 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (MeOH/CH₂Cl₂, 3/97), the desired pure compound **53** (147 mg, 94%) was obtained as a yellowish oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.51 (s, 1H, H⁵), 6.20 (s, 1H, NH), 5.70 – 5.62 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.52 – 5.47 (m, 1H, CH=C), 4.92 (sept., *J* = 6.3 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 4.87 (d, *J* = 4.0 Hz, 2H, CH₂-N), 4.50 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H, ArCH₂NH), 2.76 (dd, *J* = 23.3, 7.9 Hz, 2H, CH₂-P), 2.18 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, O=CCH₂(CH₂)₅CH₃), 1.65 – 1.59 (m, 5H, CH₃; O=CCH₂CH₂(CH₂)₄CH₃), 1.31 (d, *J* = 6.4 Hz, 12H, CH(CH₃)₂), 1.24 – 1.28 (m, 8H, O=CCH₂CH₂(CH₂)₄CH₃), 0.86 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, O=C(CH₂)₆CH₃). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 173.15 (NHC=O), 153.16 (C=O), 145.11 (C^q, Ar), 135.61, 135.46 (CH=C), 121.83 (CH^{Ar}), 118.23, 118.11 (CH=C), 84.15, 84.08 (O-CH₂-O), 73.44 (CH(CH₃)₂), 57.75, 57.72 (CH₂-N), 36.56 (ArCH₂NH), 35.00 (O=CCH₂(CH₂)₅CH₃), 31.66 (O=CCH₂CH₂(CH₂)₄CH₃), 29.24 (O=CCH₂CH₂CH₂(CH₂)₃CH₃), 28.97 (O=C(CH₂)₃CH₂CH₂CH₂CH₃), 27.80 (CH₂-P), 26.40 (CH₂-P), 25.60 (O=C(CH₂)₄CH₂CH₂CH₃), 22.58 (O=C(CH₂)₅CH₂CH₃), 21.64, 21.63 (CH(CH₃)₂), 14.26, 14.23 (CH₃), 14.05 (O=C(CH₂)₆CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.31. HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺calcd for C₂₆H₄₅N₄NaO₁₀P : 627.276551, found : 627.275980.

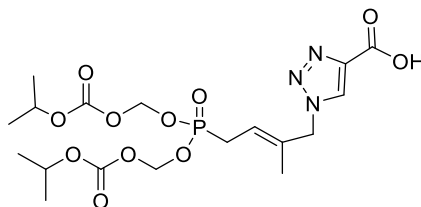
[[*(E)*-4-(4-Nitrosooxyphenyl)triazol-1-yl]-3-methyl-but-2-enyl]-(*isopropoxycarbonyloxymethoxy*) phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (54**)**



Chemical Formula: $C_{23}H_{31}N_4O_{11}P$
Molecular Weight: 570,4918

The title compound was prepared from **36** (100 mg, 1.0 equiv., 0.24 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 3 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 5/5), the desired pure compound **54** (93 mg, 69%) was obtained as a yellowish oil. 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.28 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H^{Ar}), 8.04 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H^{Ar}), 8.00 (s, 1H, H^5), 5.73 – 5.60 (m, 5H, O- CH_2 -O, $CH=C$), 4.98 (d, J = 3.7 Hz, 2H, CH_2 -N), 4.89 (sept., J = 6.4 Hz, 2H, $CH(CH_3)_2$), 2.81 (dd, J = 23.2, 7.9 Hz, 2H, CH_2 -P), 1.66 (d, J = 4.9 Hz, 3H, CH_3), 1.28 (d, J = 6.2 Hz, 12H, $CH(CH_3)_2$). ^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 153.17 (C=O), 147.31 ($C^{q, Ar}$), 146.09 ($C^{q, Ar}$), 136.92 ($C^{q, Ar}$), 135.35, 135.19 ($CH=C$), 126.22 (CH^{Ar}), 124.24 (CH^{Ar}), 120.99 (CH^{Ar}), 119.11, 118.99 ($CH=C$), 84.16, 84.09 (O- CH_2 -O), 73.49 ($CH(CH_3)_2$), 58.13, 58.10 (CH_2 -N), 27.83, (CH_2 -P), 26.43 (CH_2 -P), 21.61, 21.58 ($CH(CH_3)_2$), 14.31, 14.29 (CH_3). ^{31}P NMR (162 MHz, $CDCl_3$) δ 27.26. HRMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{23}H_{32}N_4O_{11}P$: 571.179971, found : 571.179797.

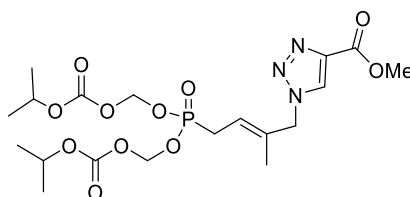
1-[(*E*)-4-[*bis*(*isopropoxycarbonyloxymethoxy*)phosphoryl]-2-methyl-but-2-enyl]triazole-4-carboxylic acid (63**)**



Chemical Formula: $C_{18}H_{28}N_3O_{11}P$
Molecular Weight: 493,4058

To a solution of propiolic acid (49 μ L, 1.1 equiv., 0.80 mmol) and (*E*)-4-Azido-3-methyl-but-2-enyl-*bis*(POC)phosphonate **36** (307 mg, 1.0 equiv., 0.73 mmol) in anhydrous CH_2Cl_2 (10 mL) was added 2-nitrophenylboronic acid (25 mg, 0.21 equiv., 0.15 mmol) at room temperature. The solution was stirred for 42 h at room temperature. After evaporation of solvent, the residue was purified by silica gel column chromatography (MeOH/EtOAc, 1/9) to give compound **63** (203 mg, 57%) as a colorless oil. 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.28 (s, 1H, H^5), 5.72 – 5.64 (m, 4H, O- CH_2 -O), 5.57 – 5.51 (m, 1H, $CH=C$), 5.06 (d, J = 4.4 Hz, 2H, CH_2 -N), 4.94 (sept., J = 6.4 Hz, 2H, $CH(CH_3)_2$), 2.91 (dd, J = 23.2, 7.9 Hz, 2H, CH_2 -P), 1.67 (d, J = 4.8 Hz, 3H, CH_3), 1.33 (d, J = 6.2 Hz, 12H, $CH(CH_3)_2$). ^{13}C -NMR (101 MHz, CD_3OD) δ 153.21 (C=O), 135.98, 135.83 ($CH=C$), 126.70 (CH^{Ar}), 117.46, 117.34 ($CH=C$), 84.36, 84.29 (O- CH_2 -O), 73.13 ($CH(CH_3)_2$), 57.16, 57.13 (CH_2 -N), 26.77, 25.38 (CH_2 -P), 20.47 ($CH(CH_3)_2$), 13.06, 13.03 (CH_3). ^{31}P NMR (162 MHz, CD_3OD) δ 27.94. HRMS (ESI): m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{18}H_{29}N_3O_{11}P$: 494.153422, found : 494.153404.

Methyl-1-[(*E*)-4-[bis(isopropoxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]-2-methyl-but-2-enyl]triazole-4-carboxylate (55**)**

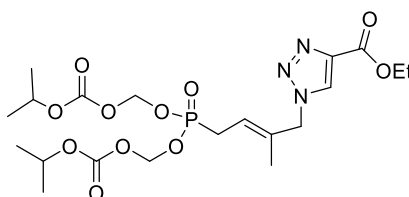


Chemical Formula: C₁₉H₃₀N₃O₁₁P

Molecular Weight: 507,4328

The title compound was prepared from **36** (124 mg, 1.0 equiv., 0.29 mmol) using the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 4 h at room temperature. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 6/4), the desired pure compound **55** (92 mg, 62%) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (250 MHz, CD₃OD) δ 8.57 (s, 1H, H⁵), 5.79 – 5.69 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.65 – 5.56 (m, 1H, CH=C), 5.14 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, CH₂-N), 4.99 (sept., *J* = 6.4 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 4.00 (s, 3H, OCH₃), 2.97 (dd, *J* = 23.2, 7.9 Hz, 2H, CH₂-P), 1.74 (d, *J* = 4.7 Hz, 3H, CH₃), 1.39 (d, *J* = 6.2 Hz, 12H, CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 161.04 (O=C-OMe), 153.10 (C=O), 140.29 (C^q, Ar), 135.04, 134.89 (CH=C), 127.36 (CH^{Ar}), 119.10, 118.98 (CH=C), 84.18, 84.11 (O-CH₂-O), 73.41 (CH(CH₃)₂), 58.01, 57.98 (CH₂-N), 52.14 (OCH₃), 27.77, 26.37 (CH₂-P), 21.60, 21.58 (CH(CH₃)₂), 14.23, 14.20 (CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.19. HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₁₉H₃₀N₃NaO₁₁P: 530.151016, found : 530.151002.

Ethyl-1-[(*E*)-4-[bis(isopropoxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]-2-methyl-but-2-enyl]triazole-4-carboxylate (56**)**

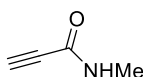


Chemical Formula: C₂₀H₃₂N₃O₁₁P

Molecular Weight: 521,4598

The title compound was prepared from **36** (120 mg, 1.0 equiv., 0.28 mmol) using the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 4 h at room temperature. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 5/5), the desired pure compound **56** (94 mg, 64%) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.53 (s, 1H, H⁵), 5.74 – 5.66 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.59 – 5.54 (m, 1H, CH=C), 5.10 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, CH₂-N), 4.95 (sept., *J* = 6.3 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 4.43 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 2.93 (dd, *J* = 23.2, 7.9 Hz, 2H, CH₂-P), 1.70 (d, *J* = 4.8 Hz, 3H, CH₃), 1.42 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.34 (d, *J* = 6.7 Hz, 12H, CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (101 MHz, CD₃OD) δ 161.52 (O=C-OEt), 153.20 (C=O), 139.69 (C^q, Ar), 135.76, 135.61 (CH=C), 128.21 (CH^{Ar}), 117.87, 117.75 (CH=C), 84.34, 84.27 (O-CH₂-O), 73.12 (CH(CH₃)₂), 60.84 (OCH₂CH₃), 57.22, 57.19 (CH₂-N), 26.79, 25.39 (CH₂-P), 20.46 (CH(CH₃)₂), 13.17 (OCH₂CH₃), 13.09, 13.06 (CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD) δ 27.92. HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₀H₃₂N₃NaO₁₁P: 544.166666, found : 544.166837.

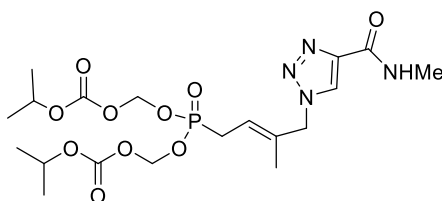
N-Methylprop-2-ynamide(41)



Chemical Formula: C₄H₅NO
Molecular Weight: 83,0900

To a solution of methylamine (1.0 g, 32.20 mmol) in water (2.5 ml), was added methyl propiolate (3.15 ml, 35.42 mmol, 1.1 equiv.) dropwise at 0 °C for 30 min. The mixture was stirred for 2 h at 0 °C, and then few drops of acetic acid were added. The mixture was stirred for another 10 min and saturated NaCl was added. The mixture was extracted with ethyl acetate (3 × 5 mL). The combined organic phase was washed with saturated aqueous solution of NaHCO₃, dried over Na₂SO₄, and solvent was removed by rotary evaporation. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 4/6), the desired pure compound **41** (943 mg, 35%) was obtained as a white solid. **CAS #** 2682-32-8. **¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO)** δ 8.62 (s, 1H, NH), 4.09 (s, 1H, CH), 2.60 (d, *J* = 4.8 Hz, 3H, CH₃). **HRMS (ESI):** *m/z* [M+H]⁺calcd for C₄H₆NO : 84.044390, found : 84.044299.

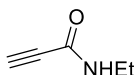
[[*(E)*-4-(4-Methylcarbamoyltriazol-1-yl)-3-methyl-but-2-enyl]-(isopropoxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (**57**)



Chemical Formula: C₁₉H₃₁N₄O₁₀P
Molecular Weight: 506,4488

The title compound was prepared from **36** (124 mg, 1.0 equiv., 0.29 mmol) using the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 4 h at room temperature. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 6/4), the desired pure compound **57** (92 mg, 62%) was obtained as a colorless oil. **¹H-NMR (250 MHz, CD₃OD)** δ 8.57 (s, 1H, H⁵), 5.79 – 5.69 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.65 – 5.56 (m, 1H, CH=C), 5.14 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, CH₂-N), 4.99 (sept., *J* = 6.4 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 4.00 (s, 3H, OCH₃), 2.97 (dd, *J* = 23.2, 7.9 Hz, 2H, CH₂-P), 1.74 (d, *J* = 4.7 Hz, 3H, CH₃), 1.39 (d, *J* = 6.2 Hz, 12H, CH(CH₃)₂). **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃)** δ 161.04 (O=C-OMe), 153.10 (C=O), 140.29 (C^q, Ar), 135.04, 134.89 (CH=C), 127.36 (CH^{Ar}), 119.10, 118.98 (CH=C), 84.18, 84.11 (O-CH₂-O), 73.41 (CH(CH₃)₂), 58.01, 57.98 (CH₂-N), 52.14 (OCH₃), 27.77, 26.37 (CH₂-P), 21.60, 21.58 (CH(CH₃)₂), 14.23, 14.20 (CH₃). **³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃)** δ 27.19. **HRMS (ESI):** *m/z* [M+Na]⁺calcd for C₁₉H₃₁N₄NaO₁₀P: 529.167001, found : 529.166551.

N-Ethylprop-2-ynamide (**42**)

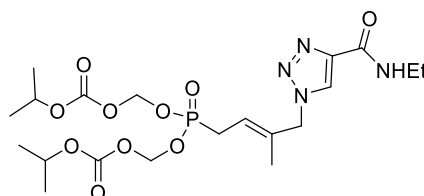


Chemical Formula: C₅H₇NO
Molecular Weight: 97,1170

To a solution of ethylamine (2.0 g, 44.36 mmol) in water (5 ml), was added methyl propiolate (4.34 ml, 48.80 mmol, 1.1 equiv.) dropwise at 0 °C for 30 min. The mixture was stirred for 2 h at 0 °C, and then few drops of acetic acid were added. The mixture was stirred for another 10 min and saturated

NaCl was added. The mixture was extracted with ethyl acetate (3 × 10 mL). The combined organic phase was washed with saturated aqueous solution of NaHCO₃, dried over Na₂SO₄, and solvent was removed by rotary evaporation. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 3/7), the desired pure compound **42** (1.97 g, 46%) was obtained as a white solid. **CAS #** 2682-33-9. **¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO)** δ 8.67 (s, 1H, NH), 4.05 (s, 1H, CH), 3.09 (m, 2H, CH₂) 1.01 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃). **HRMS (ESI):** *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₅H₈NO : 98.060040, found : 98.060046.

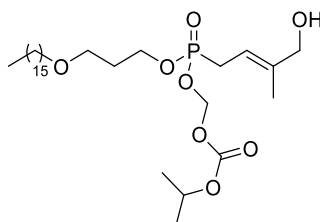
[[*(E)*-4-[4-(Ethylcarbamoyl)triazol-1-yl]-3-methyl-but-2-enyl]-(isopropoxycarbonyloxymethoxy) phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (58)



Chemical Formula: C₂₀H₃₃N₄O₁₀P
Molecular Weight: 520,4758

The title compound was prepared from **36** (120 mg, 1.0 equiv., 0.28 mmol) using [the general procedure 4](#), the resulting suspension was stirred for 4 h at room temperature. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 5/5), the desired pure compound **58** (94 mg, 64%) was obtained as a colorless oil. **¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD)** δ 8.53 (s, 1H, H⁵), 5.74 – 5.66 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.59 – 5.54 (m, 1H, CH=C), 5.10 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, CH₂-N), 4.95 (sept., *J* = 6.3 Hz, 2H, CH(CH₃)₂), 4.43 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 2.93 (dd, *J* = 23.2, 7.9 Hz, 2H, CH₂-P), 1.70 (d, *J* = 4.8 Hz, 3H, CH₃), 1.42 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃), 1.34 (d, *J* = 6.7 Hz, 12H, CH(CH₃)₂). **¹³C-NMR (101 MHz, CD₃OD)** δ 161.52 (O=C-OEt), 153.20 (C=O), 139.69 (C^q, Ar), 135.76, 135.61 (CH=C), 128.21 (CH^{Ar}), 117.87, 117.75 (CH=C), 84.34, 84.27 (O-CH₂-O), 73.12 (CH(CH₃)₂), 60.84 (OCH₂CH₃), 57.22, 57.19 (CH₂-N), 26.79, 25.39 (CH₂-P), 20.46 (CH(CH₃)₂), 13.17 (OCH₂CH₃), 13.09, 13.06 (CH₃). **³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD)** δ 27.92. **HRMS (ESI):** *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₀H₃₃N₄NaO₁₀P: 543.182651, found : 543.182603.

(*E*)-4-Hydroxy-3-methyl-but-2-enyl-(HDP/POC) phosphonate (65)

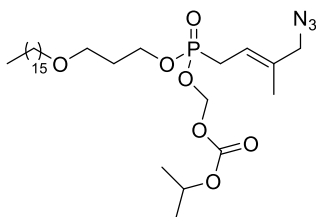


Chemical Formula: C₂₉H₅₇O₈P
Molecular Weight: 564,7408

To a solution of (HDP/POC) allylphosphonate **64** (1.00 g, 2.0 equiv., 1.94 mmol) and 2-methyl-2-propen-1-ol (81 μL, 1.0 equiv., 0.97 mmol) in dry CH₂Cl₂ (10 mL), Hoveyda-Grubbs Catalyst 2nd Generation (91 mg, 15 mol%, 0.15 mmol) was added. The catalyst addition was performed in five equal portions of 3 mol% (18.20 mg, 0.029 mmol) at *t* = 0, 3, 6, 9 and 21 h over the course of the reaction. The solution was sonicated at 55 °C under nitrogen atmosphere for 24 h. Volatiles were evaporated and the residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel (EtOAc/PE, 5/5) to give the desired phosphonate derivative **65** (480 mg, 88 %) as brown oil. **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 5.67–5.59 (m, 2H, O-CH₂-O), 5.47–5.41 (m, 1H, CH=C), 4.92 (sept., *J* = 6.3 Hz, 1H, CH(CH₃)₂), 4.21 – 4.08 (m, 2H, H^a), 4.02 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H, CH₂-OH), 3.47 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, H^c), 3.38 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₄CH₂-

O), 2.67 (dd, $J = 22.5, 7.8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}$), 1.90 (quint., $J = 6.3$ Hz, 2H, H^b), 1.69 (dd, $J = 4.3, 1.3$ Hz, 3H, CH_3), 1.54 (quint., $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-O}$), 1.32 – 1.24 (m, 32H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-O}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.87 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 153.26 (C=O), 140.84, 140.70 (CH=C), 112.65, 112.54 (CH=C), 84.42, 84.36 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 73.14 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 71.21 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2\text{-O}$), 68.09, 68.06 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 66.52, 66.49 (C^c), 63.33, 63.26 (C^a), 31.92, 30.73, 30.67 (C^b), 29.69, 29.51, 29.35, 27.06 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 26.15, 25.66 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 22.68, 21.64 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.10 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$), 13.87, 13.84 (CH_3). $^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 26.71. HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{58}\text{O}_8\text{P}$: 565.386382, found: 565.385868.

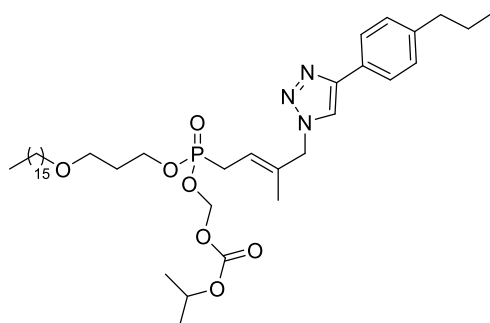
(E)-4-Azido-3-methyl-but-2-enyl-(HDP/POC) phosphonate (67)



Chemical Formula: $\text{C}_{29}\text{H}_{56}\text{N}_3\text{O}_7\text{P}$
Molecular Weight: 589,7548

To a solution of (E)-4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl-(HDP/POC)phosphonate **65** (277 mg, 1.0 equiv., 0.49 mmol) in anhydrous CH_2Cl_2 (5 mL) were added dropwise methansulfonyl chloride (42 μL , 1.1 equiv., 0.54 mmol) and anhydrous triethylamine (75 μL , 1.1 equiv., 0.54 mmol) at 0 °C under argon. After 40 min stirring at room temperature, the mixture was diluted with CH_2Cl_2 and washed with water (3 $\times$ 10 mL) and brine. The organic layer was dried over MgSO_4 , filtrated and concentrated *under reduced pressure*. The residue was directly used for next step without further purification. To a solution of the above product in anhydrous DMF (8 mL) was added sodium azide (159 mg, 5.0 equiv., 2.45 mmol) under nitrogen atmosphere. After 5 h stirring at room temperature, the mixture was diluted with EtOAc and water and then extracted with EtOAc. The combined organic layer was washed with water (5 $\times$ 10 mL), brine, dried over MgSO_4 , and concentrated *under reduced pressure*. The residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel (EtOAc/PE, 4/6) to give (E)-4-Azido-3-methyl-but-2-enyl-(HDP/POC) phosphonate **67** (242 mg, 84%) as a colorless oil. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5.69 – 5.58 (m, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-O}$), 5.51 – 5.41 (m, 1H, CH=C), 4.91 (sept., $J = 6.3$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.22 – 4.07 (m, 2H, H^a), 3.70 (d, $J = 3.9$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}_3$), 3.46 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, H^c), 3.37 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2\text{-O}$), 2.68 (dd, $J = 22.7, 7.7$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}$), 1.90 (quint., $J = 6.3$ Hz, 2H, H^b), 1.73 (d, $J = 4.3$ Hz, 3H, CH_3), 1.53 (quint., $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-O}$), 1.32 – 1.22 (m, 32H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-O}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.86 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 153.26 (C=O), 135.42, 135.28 (CH=C), 117.33, 117.22 (CH=C), 84.45, 84.39 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 73.08 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 71.23 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2\text{-O}$), 66.50 (C^c), 63.43, 63.36 (C^a), 58.67, 58.64 ($\text{CH}_2\text{-N}_3$), 31.91, 30.78, 30.72 (C^b), 29.71, 29.68, 29.67, 29.64, 29.63, 29.60, 29.51, 29.34, 27.38 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 26.16, 25.98 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 22.67, 21.64 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.85, 14.83 (CH=CCH_3), 14.10 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$). $^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 27.80. IR ν_{max} (neat, cm^{-1}): 2922.60, 2851.80, 2094.55, 1755.94, 1460.42, 1257.26, 1100.26, 1047.93, 992.52, 949.43 cm^{-1} . HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{57}\text{N}_3\text{O}_7\text{P}$: 590.392864, found: 590.393411.

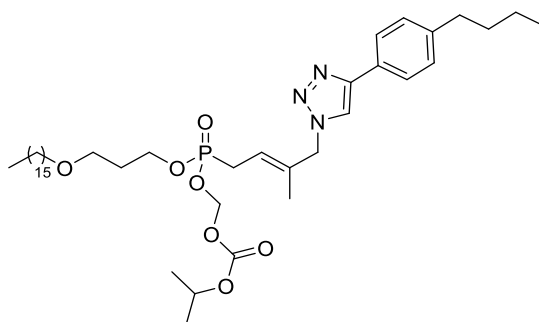
[3-Hexadecyloxypropoxy-[(*E*)-3-methyl-4-[4-[(*Z*)-1-methylenenon-2-enyl]triazol-1-yl]but-2-enyl]phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (68)



Chemical Formula: C₄₀H₆₈N₃O₇P
Molecular Weight: 733,9718

The title compound was prepared from **67** (123 mg, 1.0 equiv., 0.21 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 2 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 4/6), the desired pure compound **68** (104 mg, 68%) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.75 (s, 1H, H⁵), 7.73 (s, 2H, H^{Ar}), 7.22 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H^{Ar}), 5.70 – 5.56 (m, 3H, O-CH₂-O; 1H, CH=C), 4.94 (s, 2H, CH₂-N), 4.89 (sept., *J* = 6.3 Hz, 1H, CH(CH₃)₂), 4.22 – 4.11 (m, 2H, H^a), 3.44 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, H^c), 3.35 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₄CH₂-O), 2.73 (dd, *J* = 22.8, 7.8 Hz, 2H, CH₂-P), 2.60 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, Ar-CH₂CH₂CH₃), 1.90 (quint., *J* = 6.3 Hz, 2H, H^b), 1.68 – 1.63 (m, 3H, CH₃; 2H, CH₂CH₂CH₃), 1.52 (quint., *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂CH₂-O), 1.29 – 1.25 (m, 32H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂CH₂-O, CH(CH₃)₂), 0.95 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₂CH₂CH₃), 0.88 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₃(CH₂)₁₅O). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 153.26 (C=O), 148.31 (C^{q, Ar}), 142.81 (C^{q, Ar}), 128.91 (CH^{Ar}), 128.02 (CH=C), 125.62 (CH^{Ar}), 118.95 (CH=C), 118.87 (CH^{Ar}), 84.46 (O-CH₂-O), 73.23 (CH(CH₃)₂), 71.25 (CH₃(CH₂)₁₄CH₂-O), 66.40 (C^c), 63.55 (C^a), 57.87 (CH₂-N), 37.82 (ArCH₂CH₂CH₃), 31.92, 30.74 (C^b), 29.70, 29.68, 29.65, 29.62, 29.53, 29.36, 27.57, 26.16 (CH₂-P), 24.47 (ArCH₂CH₂CH₃), 22.69, 21.63, 21.61 (CH(CH₃)₂), 14.26 (C=CCH₃), 14.11 (CH₃(CH₂)₁₅O), 13.77 (ArCH₂CH₂CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.46. HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺calcd for C₄₀H₆₉N₃O₇P : 734.486765, found : 734.486600.

[3-Hexadecyloxypropoxy-[(*E*)-3-methyl-4-[4-[(*Z*)-1-methylenenon-2-enyl]triazol-1-yl]but-2-enyl]phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (69)

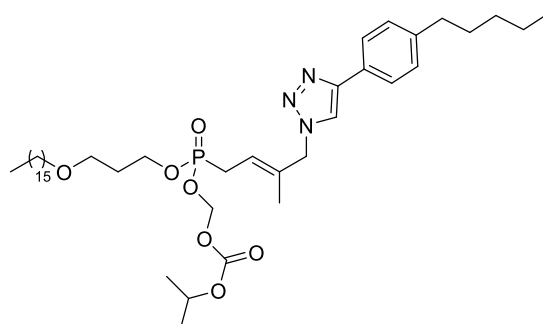


Chemical Formula: C₄₁H₇₀N₃O₇P
Molecular Weight: 747,9988

The title compound was prepared from **67** (112 mg, 1.0 equiv., 0.19 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 2 h at room temperature. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 5/5), the desired pure compound **69** (113 mg, 80%) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.74 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.72 (s, 1H, H⁵),

7.21 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, H^{Ar}), 5.70 – 5.56 (m, 3H, O- CH_2 -O; 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 4.94 (s, 2H, CH_2 -N), 4.88 (sept., $J = 6.3$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.23 – 4.13 (m, 2H, H^{a}), 3.43 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, H^{c}), 3.34 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2$ -O), 2.72 (dd, $J = 22.8, 7.8$ Hz, 2H, CH_2 -P), 2.61 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, Ar- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.89 (quint., $J = 6.3$ Hz, 2H, H^{b}), 1.65 – 1.60 (m, 3H, CH_3 ; 2H, Ar- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.53 (quint., $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2$ -O), 1.29 – 1.25 (m, 34H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2$ -O, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, Ar- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.87 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H, Ar- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$). ^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 153.25 (C=O), 148.30 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 143.10 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 135.20, 135.05 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 128.84 (CH^{Ar}), 127.92 (CH=C), 125.63 (CH^{Ar}), 118.99, 118.96 (CH=C), 118.85 (CH^{Ar}), 84.46, 84.40 (O- CH_2 -O), 73.22 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 71.24 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2$ -O), 66.53, 66.39 (C^{c}), 63.56, 63.48 (C^{a}), 57.86, 57.84 (CH_2 -N), 35.75 (Ar- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 31.92, 31.81, 31.43, 31.40, 30.80, 30.73 (C^{b}), 30.19, 29.70, 29.68, 29.65, 29.62, 29.52, 29.44, 29.35, 29.30, 29.24, 29.17, 27.56, 26.16 (CH_2 -P), 22.68, 22.65, 21.62, 21.60 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.26, 14.23 (C=CCH₃), 14.11 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$), 14.08 (Ar- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$). ^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 27.44. HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{71}\text{N}_3\text{O}_7\text{P}$: 748.502415, found: 748.502147.

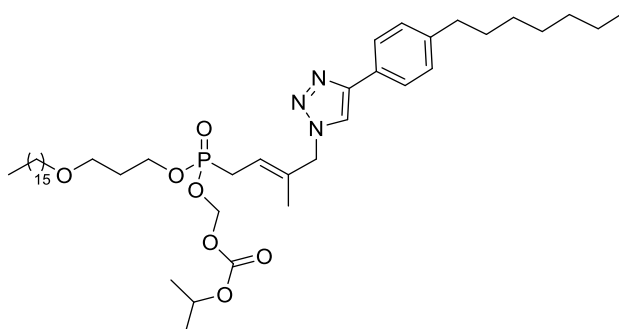
[3-Hexadecyloxypropoxy-[(*E*)-3-methyl-4-[4-[(*Z*)-1-methylenenon-2-enyl]triazol-1-yl]but-2-enyl]phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (70)



Chemical Formula: $\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{N}_3\text{O}_7\text{P}$
Molecular Weight: 762.0258

The title compound was prepared from **67** (93 mg, 1.0 equiv., 0.16 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 2 h at room temperature. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 4/6), the desired pure compound **70** (89 mg, 74%) was obtained as a colorless oil. ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.74 (d, $J = 3.8$ Hz, 2H, H^{Ar}), 7.73 (s, 1H, H^5), 7.22 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H^{Ar}), 5.70 – 5.56 (m, 3H, O- CH_2 -O; 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 4.94 (s, 2H, CH_2 -N), 4.90 (sept., $J = 6.2$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.22 – 4.11 (m, 2H, H^{a}), 3.44 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, H^{c}), 3.35 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2$ -O), 2.73 (dd, $J = 22.8, 7.8$ Hz, 2H, CH_2 -P), 2.62 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, Ar- $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$), 1.90 (quint., $J = 6.3$ Hz, 2H, H^{b}), 1.65 – 1.61 (m, 5H, CH_3 , Ar- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.52 (quint., $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2$ -O), 1.29 – 1.25 (m, 36H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2$ -O, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, Ar- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.88 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H, Ar- $(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$). ^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 153.24 (C=O), 148.36, 148.32 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 143.08 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 135.21, 135.06 ($\text{C}^{\text{q, Ar}}$), 128.84 (CH^{Ar}), 127.94 (CH=C), 125.63 (CH^{Ar}), 118.96 (CH=C), 118.83 (CH^{Ar}), 84.40 (O- CH_2 -O), 73.23 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 71.24 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2$ -O), 66.39 (C^{c}), 63.56 (C^{a}), 57.82 (CH_2 -N), 35.71 (Ar- $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$), 31.92, 31.46, 31.07, 30.79, 30.73 (C^{b}), 29.70, 29.65, 29.62, 29.53, 29.36, 26.16 (CH_2 -P), 22.69, 22.53, 21.63, 21.61 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.26, 14.23 (C=CCH₃), 14.11 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$), 14.02 (Ar- $(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$). ^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 27.56. HRMS (ESI): m/z [M+Na]⁺ calcd for $\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{N}_3\text{NaO}_7\text{P}$: 784.500009, found: 784.499917.

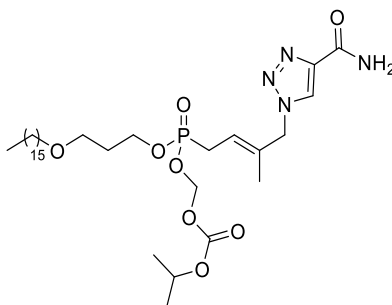
[3-Hexadecyloxypropoxy-[(*E*)-3-methyl-4-[4-[(*Z*)-1-methylenenon-2-enyl]triazol-1-yl]but-2-enyl]phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (71)



Chemical Formula: C₄₄H₇₆N₃O₇P
Molecular Weight: 790,0798

The title compound was prepared from **67** (113 mg, 1.0 equiv., 0.19 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 2 h at room temperature. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 4/6), the desired pure compound **71** (118 mg, 78%) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.73 (t, *J* = 3.9 Hz, 3H, H^{Ar}, H⁵), 7.22 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H^{Ar}), 5.70 – 5.60 (m, 3H, O-CH₂-O; 1H, CH=C), 4.94 (s, 2H, CH₂-N), 4.89 (sept., *J* = 6.3 Hz, 1H, CH(CH₃)₂), 4.20 – 4.11 (m, 2H, H^a), 3.43 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, H^c), 3.35 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₄CH₂-O), 2.73 (dd, *J* = 22.8, 7.8 Hz, 2H, CH₂-P), 2.63 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, Ar-CH₂(CH₂)₅CH₃), 1.90 (quint., *J* = 6.3 Hz, 2H, H^b), 1.65 (d, *J* = 4.1 Hz, 3H, C=CCH₃), 1.60 (quint., *J* = 7.2, Ar-CH₂CH₂(CH₂)₄CH₃), 1.52 (quint., *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂CH₂-O), 1.29 – 1.25 (m, 40H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂CH₂-O, CH(CH₃)₂, Ar-CH₂CH₂(CH₂)₄CH₃), 0.93 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, Ar-(CH₂)₆CH₃), 0.88 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃(CH₂)₁₅O). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 153.26 (C=O), 143.05 (C^{q,Ar}), 135.23 (C^{q,Ar}), 135.08 (C^{q,Ar}), 129.51, 129.29 ((CH^{Ar}), 128.86 (CH^{Ar}), 127.96 (CH=C), 125.64 (CH^{Ar}), 118.98 (CH=C), 84.47, 84.41 (O-CH₂-O), 73.24 (CH(CH₃)₂), 71.25 (CH₃(CH₂)₁₄CH₂-O), 66.40 (C^c), 63.57, 63.50 (C^a), 57.83 (CH₂-N), 35.44 (Ar-CH₂(CH₂)₅CH₃), 33.55, 31.93, 31.44, 30.80, 30.74 (C^b), 30.20, 29.70, 29.68, 29.66, 29.62, 29.53, 29.36, 27.56, 26.16 (CH₂-P), 22.69, 22.32, 21.63, 21.61 (CH(CH₃)₂), 14.26 (C=CCH₃), 14.11 (CH₃(CH₂)₁₅O), 13.94 (Ar-(CH₂)₆CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.49. HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺calcd for C₄₄H₇₇N₃O₇P : 790.549365, found : 790.549322.

[[*E*]-4-(4-Carbamoyltriazol-1-yl)-3-methyl-but-2-enyl]-(3-hexadecyloxypropoxy)phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate(72)

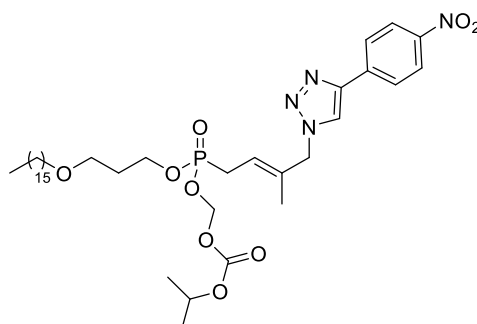


Chemical Formula: C₃₂H₅₉N₄O₈P
Molecular Weight: 658,8178

The title compound was prepared from **67** (96 mg, 1.0 equiv., 0.16 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 18 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (MeOH/CH₂Cl₂, 3/97), the desired pure compound **72** (72 mg, 67%) was

obtained as a colorless oil. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.07 (s, 1H, H^5), 7.05 (s, 1H, NH_2), 5.76 (s, 1H, NH_2), 5.69 – 5.58 (m, 2H, O- CH_2 -O; 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 4.94 – 4.91 (m, 2H, CH_2 -N; 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.22 – 4.12 (m, 2H, H^a), 3.46 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, H^c), 3.37 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2$ -O), 2.71 (dd, $J = 22.9, 7.8$ Hz, 2H, CH_2 -P), 1.90 (quint., $J = 6.3$ Hz, 2H, H^b), 1.62 (d, $J = 4.4$ Hz, 3H, $\text{C}=\text{CCH}_3$), 1.52 (quint., $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2$ -O), 1.31 – 1.24 (m, 32H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2$ -O, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.87 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 161.84 ($\text{NH}_2\text{C}=\text{O}$), 153.22 ($\text{C}=\text{O}$), 143.01 (C^q, Ar), 134.22, 134.07 ($\text{CH}=\text{C}$), 125.59 (CH^{Ar}), 120.11, 120.00 ($\text{CH}=\text{C}$), 84.51, 84.45 (O- CH_2 -O), 73.22 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 71.25 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2$ -O), 66.44 (C^c), 63.59, 63.52 (C^a), 58.16, 58.13 (CH_2 -N), 31.91, 30.78, 30.72 (C^b), 29.72, 29.69, 29.64, 29.61, 29.52, 29.35, 27.62, 26.22, 26.16 (CH_2 -P), 22.68, 21.65 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.27, 14.25 ($\text{C}=\text{CCH}_3$), 14.11 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$). $^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 27.11. HRMS (ESI) : m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_8\text{P}$: 659.414328, found : 659.414346.

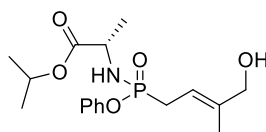
[3-Hexadecyloxypropoxy-[(*E*)-3-methyl-4-[4-[(*Z*)-1-methylenenon-2-enyl]triazol-1-yl]but-2-enyl]phosphoryl]oxymethyl isopropyl carbonate (73)



Chemical Formula: $\text{C}_{37}\text{H}_{61}\text{N}_4\text{O}_9\text{P}$
Molecular Weight: 736,8878

The title compound was prepared from **67** (115 mg, 1.0 equiv., 0.19 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 3 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 5/5), the desired pure compound **73** (102 mg, 71%) was obtained as a colorless oil. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.27 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, H^{Ar}), 8.01 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, H^{Ar}), 7.98 (s, 1H, H^5), 5.70 – 5.58 (m, 3H, O- CH_2 -O; 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 4.97 (s, 2H, CH_2 -N), 4.89 (sept., $J = 6.3$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.22 – 4.11 (m, 2H, H^a), 3.44 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, H^c), 3.35 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2$ -O), 2.73 (dd, $J = 22.8, 7.8$ Hz, 2H, CH_2 -P), 1.90 (quint., $J = 6.2$ Hz, 2H, H^b), 1.66 (d, $J = 4.4$ Hz, 3H, $\text{C}=\text{CCH}_3$), 1.52 (quint., $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2$ -O), 1.27 – 1.23 (m, 32H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2$ -O, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.86 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 153.23 ($\text{C}=\text{O}$), 147.32 (C^q, Ar), 146.00 (C^q, Ar), 136.89 (C^q, Ar), 134.70, 134.55 ($\text{CH}=\text{C}$), 126.16 (CH^{Ar}), 124.27 (CH^{Ar}), 120.97 (CH^{Ar}), 119.83, 119.72 ($\text{CH}=\text{C}$), 84.42, 84.36 (O- CH_2 -O), 73.29, 73.08 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 71.24 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2$ -O), 66.51, 66.36 (C^c), 63.61, 63.54 (C^a), 58.11, 58.09 (CH_2 -N), 31.91, 30.78, 30.72 (C^b), 29.68, 29.64, 29.62, 29.60, 29.53, 29.50, 29.34, 27.56, 26.16, 26.14 (CH_2 -P), 22.67, 21.65, 21.61, 21.59 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 14.35, 14.33 ($\text{C}=\text{CCH}_3$), 14.10 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$). $^{31}\text{P NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 27.31. HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{61}\text{N}_4\text{NaO}_9\text{P}$: 759.406837, found : 759.406817.

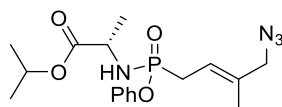
Isopropyl 2-[[[(*E*)-4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl]-phenoxy-phosphoryl]amino]propanoate (75)



Chemical Formula: $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{NO}_5\text{P}$
Molecular Weight: 355,3708

To a solution of allylphosphonoamidate **74** (1.06 g, 1.0 equiv., 3.40 mmol), 1,4-benzoquinone (37 mg, 10 mol%, 0.34 mmol) and 2-methyl-2-propen-1-ol **12** (571 μ L, 2.0 equiv., 6.79 mmol) in dry CH_2Cl_2 (40 mL), Hoveyda-Grubbs Catalyst 2nd Generation (383 mg, 18 mol%, 0.61 mmol) was added. The catalyst was added in five equal portions of 3.6 mol% (76.6 mg, 0.12 mmol) at $t = 0, 3, 6, 9$ and 21 h over the course of the reaction. The solution was sonicated at 55 $^\circ\text{C}$ under nitrogen atmosphere for 24 h. After cooling to room temperature, volatiles were evaporated and the residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel ($\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 2/98) to afford the mixture of the two diastereoisomers **75** (711 mg, 59 %, ratio diastereoisomer 1 : diastereoisomer 2 of 6:4) as a brown oil. **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)** δ 7.30 (m, 2H, H^{Ar}), 7.21 (m, 3H, H^{Ar}), 5.55 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.96 (sept., $J = 6.3$, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.02-3.76 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{-OH}$, CH-NH), 3.38 (2 x t, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH), 2.78 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}$), 1.71 (dd, $J = 4.3, 1.3$ Hz, 3H, CH_3), 1.21 (m, 9H, $\text{CH}_3\text{-CH-NH}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3)** δ 173.48, 173.42 (C=O), 150.70, 150.61 (C^{q}), 140.63, 140.49 ($\text{CH}=\text{C}$), 129.60 (CH^{Ar}), 124.56 (CH^{Ar}), 120.56, 120.52 (CH^{Ar}), 113.55, 113.44 ($\text{CH}=\text{C}$), 69.10 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 68.01, 67.99 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 49.69 (CH-NH), 29.28, 27.99 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 21.63 (CH_3), 21.60 (CH_3), 21.58 (CH_3), 21.40 (CH_3), 14.04, 14.01 (CH_3). **^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3)** δ 27.88. **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{NNaO}_5\text{P}$: 378.144080, found : 378.144033.

Isopropyl 2-[[[(*E*)-4-azido-3-methyl-but-2-enyl]-phenoxy-phosphoryl]amino]propanoate (**77**)

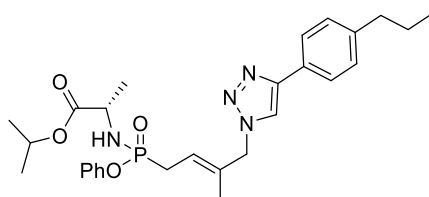


Chemical Formula: $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_4\text{P}$
Molecular Weight: 380,3848

To a solution of compound **75** (289 mg, 1.0 equiv., 0.81 mmol) in anhydrous CH_2Cl_2 (10 mL) were added dropwise methansulfonyl chloride (69 μ L, 1.1 equiv., 0.89 mmol) and anhydrous triethylamine (125 μ L, 1.1 equiv., 0.89 mmol) at 0 $^\circ\text{C}$ under the argon. After 5 h stirring at room temperature, the mixture was diluted with CH_2Cl_2 and washed with water (3 $\times$ 10 mL) and brine. The organic layer was dried over MgSO_4 , filtrated and concentrated *under reduced pressure*. The residue was directly used for next step without further purification.

To a solution of the above product in anhydrous DMF (10 mL) was added sodium azide (264 mg, 5.0 equiv., 4.07 mmol) under nitrogen atmosphere. After 18 h stirring at room temperature, the mixture was diluted with EtOAc and water and then extracted with EtOAc. The combined organic layer was washed with water (5 $\times$ 10 mL), brine, dried over MgSO_4 , and concentrated *under reduced pressure*. The residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel (EtOAc/PE, 4/6) to give the mixture of the two diastereoisomers **77** (298 mg, 96 %, ratio diastereoisomer 1 : diastereoisomer 2 of 6:4) as a colorless oil. **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)** δ 7.30 (m, 2H, H^{Ar}), 7.21 (m, 3H, H^{Ar}), 5.60 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.97 (sept., $J = 6.3$, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.13-4.02 (m, 1H, CH-NH), 3.75 (d, $J = 6.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-OH}$), 3.38 (2 x t, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH), 2.84-2.77 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}$), 1.77 (dd, $J = 4.3, 1.3$ Hz, 3H, CH_3), 1.21 (m, 9H, $\text{CH}_3\text{-CH-NH}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3)** δ 173.57, 173.51 (C=O), 150.46, 150.37 (C^{q}), 135.30, 135.16 ($\text{CH}=\text{C}$), 129.68, 129.63 (CH^{Ar}), 124.75, 124.70 (CH^{Ar}), 120.73, 120.69, 120.53, 120.48 (CH^{Ar}), 118.64, 118.53, 118.31, 118.20 ($\text{CH}=\text{C}$), 69.18, 69.12 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 49.81, 49.68 (CH-NH), 29.81, 29.73, 28.52, 28.43 ($\text{CH}_2\text{-P}$), 21.69 (CH_3), 21.66 (CH_3), 21.63 (CH_3), 21.59 (CH_3), 21.56 (CH_3), 15.05, 15.02 (CH_3). **^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3)** δ 27.80. **IR ν_{max} (neat, cm^{-1}):** 3205.80, 2978.01, 2931.84, 2094.55, 1731.31, 1488.13, 1198.77, 1146.44, 1103.34, 912.49, 894.02 cm^{-1} . **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{NaO}_4\text{P}$: 403.150563, found : 403.150441.

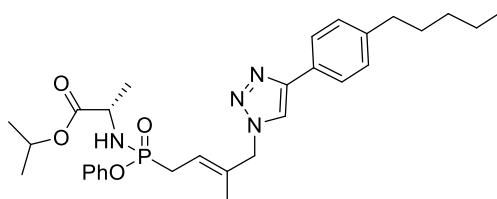
Isopropyl (2S)-2-[[[(*E*)-3-methyl-4-[4-(4-pentylphenyl)triazol-1-yl]but-2-enyl]-phenoxy-phosphoryl]amino]propanoate (78)



Chemical Formula: C₂₈H₃₇N₄O₄P
Molecular Weight: 524,6018

The title compound was prepared from **77** (61 mg, 1.0 equiv., 0.16 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 14 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 5/5), the desired pure compound **78** (78 mg, 92%, the mixture of the two diastereoisomers, ratio diastereoisomer 1 : diastereoisomer 2 of 6:4) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.77 (s, 1H, H⁵), 7.71 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.29 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.21 – 7.11 (m, 5H, H^{Ar}), 5.70 (q, *J* = 7.5 Hz, 1H, CH=C), 4.99 – 4.92 (m, 2H, CH₂-N; 1H, CH(CH₃)₂), 4.05 (dp, *J* = 9.4, 7.3 Hz, 1H, CH-NH), 3.37 (t, *J* = 10.1 Hz, 1H, NH), 2.83 (dd, *J* = 21.4, 7.9 Hz, 2H, CH₂-P), 2.60 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, Ar-CH₂), 1.68 – 1.60 (m, 3H, CH₃; 2H, Ar-CH₂-CH₂), 1.23 – 1.17 (m, 3H, CH₃-CH-NH, 6H, CH(CH₃)₂), 0.94 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, Ar-CH₂-CH₂-CH₃). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 173.60, 173.53 (C=O), 150.40, 150.31 (C^q, Ar), 148.27 (C^q, Ar), 142.79 (C^q, Ar), 134.86, 134.72 (CH=C), 129.71, 128.88, 128.01, 125.62, 124.82, 120.62, 120.57 (CH^{Ar}), 120.15, 120.04 (CH=C), 119.15 (C⁵), 69.24 (CH(CH₃)₂), 57.95, 57.92 (CH₂-N), 49.78 (CH-NH), 37.81 (Ar-CH₂), 29.99, 28.71 (CH₂-P), 24.48 (Ar-CH₂-CH₂), 21.68, 21.60 (CH(CH₃)₂), 21.50, 21.47 (NHCHCH₃), 14.47, 14.44 (CH₃), 13.76 (Ar-CH₂-CH₂-CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 26.53. HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺calcd for C₂₈H₃₇N₄NaO₄P : 547.244463, found : 547.244481.

Isopropyl (2S)-2-[[[(*E*)-3-methyl-4-[4-(4-pentylphenyl)triazol-1-yl]but-2-enyl]-phenoxy-phosphoryl]amino]propanoate (80)

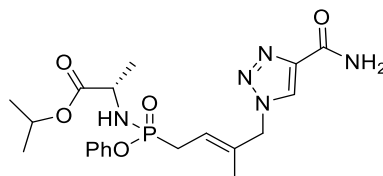


Chemical Formula: C₃₀H₄₁N₄O₄P
Molecular Weight: 552,6558

The title compound was prepared from **77** (54 mg, 1.0 equiv., 0.14 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 14 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 5/5), the desired pure compound **80** (73 mg, 93%, the mixture of the two diastereoisomers, ratio diastereoisomer 1 : diastereoisomer 2 of 6:4) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.77 (s, 1H, H⁵), 7.70 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.29 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.21 – 7.12 (m, 5H, H^{Ar}), 5.70 (q, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH=C), 5.01 – 4.88 (m, 2H, CH₂-N; 1H, CH(CH₃)₂), 4.05 (dp, *J* = 9.5, 7.2 Hz, 1H, CH-NH), 3.41 (t, *J* = 11.9 Hz, 1H, NH), 2.83 (dd, *J* = 21.3, 7.9 Hz, 2H, CH₂-P), 2.61 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, Ar-CH₂), 1.68 – 1.59 (m, 3H, CH₃; 2H, Ar-CH₂-CH₂), 1.31 – 1.17 (m, 3H, CH₃-CH-NH; 6H, CH(CH₃)₂; 4H, Ar-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 0.89 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, Ar-(CH₂)₄CH₃). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 173.59, 173.53 (C=O), 150.38, 150.28 (C^q, Ar), 148.27 (C^q, Ar), 143.09 (C^q, Ar),

134.89, 134.75 (CH=C), 128.72, 128.84, 127.92, 125.64, 124.85, 120.61, 120.57 (CH^{Ar}), 120.08, 119.97 (CH=C), 119.20 (C⁵), 69.26 (CH(CH₃)₂), 57.94, 57.92 (CH₂-N), 49.79 (CH-NH), 35.70 (Ar-CH₂), 31.45 (Ar-CH₂-CH₂), 31.08 (Ar-CH₂-CH₂-CH₂), 29.95, 28.67 (CH₂-P), 22.53 (Ar-(CH₂)₃CH₂), 21.67, 21.60 (CH(CH₃)₂), 21.48, 21.45 (NHCHCH₃), 14.47, 14.45 (CH₃), 14.02 (Ar-(CH₂)₄CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 26.68. HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺calcd for C₃₀H₄₁N₄NaO₄P : 575.275763, found : 575.275399.

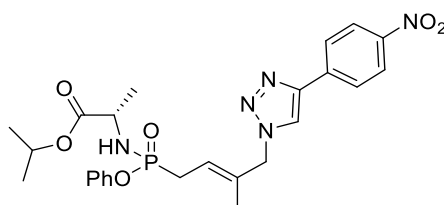
Isopropyl (2S)-2-[[[(E)-4-(3-carbamoylcyclopenta-2,4-dien-1-yl)-3-methyl-but-2-enyl]-phenoxy-phosphoryl]amino]propanoate (81)



Chemical Formula: C₂₀H₂₈N₅O₅P
Molecular Weight: 449,4478

The title compound was prepared from **77** (65 mg, 1.0 equiv., 0.17 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 13 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (MeOH/CH₂Cl₂, 5/95), the desired pure compound **81** (60 mg, 78%, the mixture of the two diastereoisomers, ratio diastereoisomer 1: diastereoisomer 2 of 6:4) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.14 (s, 1H, H⁵), 7.31 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.20 – 7.12 (m, 3H, H^{Ar}), 7.05 (s, 1H, NH), 5.68 (m, 2H, NH, CH=C), 5.00 – 4.95 (m, 2H, CH₂-N; 1H, CH(CH₃)₂), 4.02 – 3.94 (m, 1H, CH-NH), 3.58 (tt, *J* = 9.5, 3.6 Hz, 1H, NH), 2.79 (dd, *J* = 28.8, 6.4 Hz, 2H, CH₂-P), 1.65 (d, *J* = 4.2 Hz, 3H, CH₃), 1.29 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₃-CH-NH), 1.26 – 1.20 (m, 6H, CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 173.18, 173.13 (OC=O), 161.93 (NH₂C=O), 150.48, 150.42 (C^q, Ar), 134.03, 133.89 (CH=C), 129.78, 129.71 (CH^{Ar}), 125.83 (C⁵), 124.87 (CH^{Ar}), 120.77, 120.66 (CH=C), 120.41, 120.36 (CH^{Ar}), 69.32 (CH(CH₃)₂), 58.17, 58.15 (CH₂-N), 49.74 (CH-NH), 29.72, 28.42 (CH₂-P), 21.67, 21.59 (CH(CH₃)₂), 21.47, 21.43 (NHCHCH₃), 14.46, 14.43 (CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 26.11. HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺calcd for C₂₀H₂₈N₅NaO₅P : 472.172026, found : 472.171833.

Isopropyl (2S)-2-[[[(E)-3-methyl-4-[4-(4-nitrophenyl)triazol-1-yl]but-2-enyl]-phenoxy-phosphoryl]amino]propanoate (82)

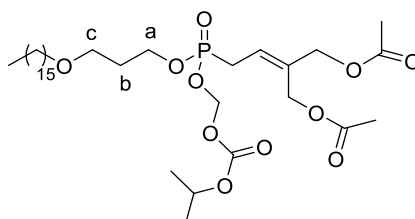


Chemical Formula: C₂₅H₃₀N₅O₆P
Molecular Weight: 527,5178

The title compound was prepared from **77** (68 mg, 1.0 equiv., 0.18 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 3 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (MeOH/CH₂Cl₂, 2/98), the desired pure compound **82** (82 mg, 87%, the mixture of the two diastereoisomers, ratio diastereoisomer 1: diastereoisomer 2 of 6:4) was obtained as a colorless oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.25 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 8.00 (s, 1H, H⁵), 7.96 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.29 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.20 – 7.12 (m, 3H, H^{Ar}), 5.74 (q, *J* = 7.3 Hz, 1H, CH=C), 5.00 (s, 2H, CH₂-N), 4.98 – 4.90 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.97 (dp, *J* = 9.1, 7.0 Hz, 1H, CH-NH), 3.49 (t, *J* = 10.1 Hz, 1H, NH), 2.81 (dd, *J* = 20.5, 7.2 Hz, 2H, CH₂-P), 1.71 (d, *J* = 4.2 Hz, 3H, CH₃), 1.29 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH₃-CH-

NH), 1.26 – 1.18 (m, 6H, CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 173.25, 173.19 (C=O), 150.53, 150.44 (C^q, Ar), 147.30, 146.02 (C^q, Ar), 136.87 (C^q, Ar), 134.41, 134.27 (CH=C), 129.84, 126.14, 124.92, 124.24, 120.99, 120.89, 120.78 (CH^{Ar}), 120.32, 120.28 (CH=C), 69.46 (CH(CH₃)₂), 58.22 (CH₂-N), 49.69 (CH-NH), 29.73, 28.44 (CH₂-P), 21.66, 21.59 (CH(CH₃)₂), 21.56, 21.52 (NHCHCH₃), 14.60, 14.54 (CH₃). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 26.12. HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺calcd for C₂₅H₃₁N₅O₆P : 528.200647, found : 528.200818.

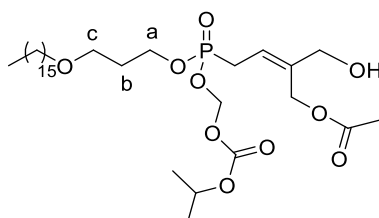
[2-(Acetoxymethyl)-4-[3-ethoxypropoxy(isopropoxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]but-2-enyl] acetate (86)



Chemical Formula: C₃₃H₆₁O₁₁P
Molecular Weight: 664,8138

To a solution of (HDP/POC) allylphosphonate **64** (1.44 g, 1.0 equiv., 2.76 mmol) and 1,3-diacetoxy-2-methylenepropane **87** (957 mg, 2.0 equiv., 5.53 mmol) in dry CH₂Cl₂ (50 mL), Nolan-Grubbs Catalyst 2nd Generation (352 mg, 15 mol%, 0.41 mmol) was added. The catalyst addition was performed in five equal portions of 3 mol% (71 mg, 0.083 mmol) at *t* = 0, 3, 6, 9 and 21 h over the course of the reaction. The solution was sonicated at 55 °C under nitrogen atmosphere for 24 h. Volatiles were evaporated and the residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 4/6) to give the desired phosphonate derivative **86** (1.53 g, 83 %) as a brown oil. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.76 (q, *J* = 8.0 Hz, 1H, CH=C), 5.62 (td, *J* = 13.2, 12.6, 5.3 Hz, 2H, O-CH₂-O), 4.92 (sept., *J* = 6.2 Hz, 1H, CH(CH₃)₂), 4.65 (d, *J* = 2.6 Hz, 2H, CH₂-OAc), 4.59 (d, *J* = 4.0 Hz, 2H, CH₂-OAc), 4.23 – 4.08 (m, 2H, H^a), 3.46 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, H^c), 3.37 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₄CH₂-O), 2.83 (dd, *J* = 23.1, 8.1 Hz, 2H, CH₂-P), 2.05 (d, *J* = 4.4 Hz, 6H, OCOCH₃), 1.90 (quint., *J* = 6.3 Hz, 2H, H^b), 1.53 (quint., *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂CH₂-O), 1.32 – 1.24 (m, 26H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂CH₂-O; 6H, CH(CH₃)₂), 0.86 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃(CH₂)₁₅O). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.61, 170.50 (OCOCH₃), 153.21 (OCOO), 134.42, 134.28 (CH=C), 122.71, 122.60 (CH=C), 84.50, 84.44 (O-CH₂-O), 73.16 (CH(CH₃)₂), 71.25 (CH₃(CH₂)₁₄CH₂-O), 66.45 (C^c), 65.81, 65.78 (CH₂-OAc), 63.62, 63.55 (C^a), 59.44, 59.42 (CH₂-OAc), 31.91 (CH₂), 30.78, 30.71 (C^b), 29.72, 29.68, 29.64, 29.61, 29.52, 29.34, 27.36 (CH₂-P), 26.16, 25.96 (CH₂-P), 22.67, 21.63 (CH(CH₃)₂), 20.85, 20.75 (OCOCH₃), 14.10 (CH₃(CH₂)₁₅O). ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 26.54. HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺calcd for C₃₃H₆₂O₁₁P : 665.402426, found : 665.402472.

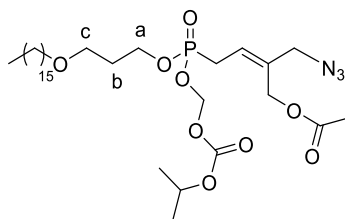
[(Z)-4-[3-Ethoxypropoxy(isopropoxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]-2-(hydroxymethyl)but-2-enyl] acetate (85)



Chemical Formula: C₃₁H₅₉O₁₀P
Molecular Weight: 622,7768

In a flask charged with compound **86** (1.15 g, 1 eq., 1.73 mmol) phosphate buffer (20 mL, 0.1 M, pH = 7.0) and *Candida antarctica* lipase B (CAL-B, 50% w/w, 575 mg) were added. The resulting mixture was stirred for 24h at 37 °C, then filtered and the recovered solids were washed with EtOAc (3 x 30 mL). The organic layers were afterwards collected, dried over magnesium sulfate and all the volatiles were removed by rotary evaporation. The residue was purified by silica gel column chromatography on silica gel (EtOAc/PE, 3/7) to give compound **85** (495 mg, 46%) as a colorless oil. This compound was stored at -20°C in the dark, in order to prevent any racemization. **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 5.75-5.59 (m, 1H, CH=C; 2H, O-CH₂-O), 4.93 (sept., *J* = 6.2 Hz, 1H, CH(CH₃)₂), 4.70 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, CH₂-OAc), 4.24 – 4.16 (m, 2H, H^a), 4.14 (d, *J* = 4.4 Hz, 2H, CH₂-OH), 3.48 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, H^c), 3.39 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₄CH₂-O), 2.83 (dd, *J* = 23.0, 8.1 Hz, 2H, CH₂-P), 2.07 (s, 3H, OCOCH₃), 1.93 (quint., *J* = 6.6 Hz, 2H, H^b), 1.55 (quint., *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂CH₂-O), 1.33 – 1.25 (m, 26H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂CH₂-O; 6H, CH(CH₃)₂), 0.88 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃(CH₂)₁₅O). **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃)** δ 171.00 (OCOCH₃), 153.17 (OCOO), 139.39, 139.24 (CH=C), 119.57, 119.46 (CH=C), 84.48, 84.42 (O-CH₂-O), 73.28 (CH(CH₃)₂), 71.22 (CH₃(CH₂)₁₄CH₂-O), 66.44, 66.41 (C^c), 65.09, 65.07 (CH₂-OH), 63.56, 63.49 (C^a), 59.62, 59.60 (CH₂-OAc), 31.92 (CH₂), 30.69, 30.63 (C^b), 29.69, 29.65, 29.61, 29.51, 29.35, 27.16 (CH₂-P), 26.14, 25.76 (CH₂-P), 22.68, 21.63, 21.62 (CH(CH₃)₂), 20.83 (OCOCH₃), 14.10 (CH₃(CH₂)₁₅O). **³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃)** δ 27.36. **HRMS (ESI):** *m/z* [M+H]⁺calcd for C₃₁H₆₀O₁₀P : 623.391861, found : 623.391496.

[(Z)-2-(Azidomethyl)-4-[3-ethoxypropoxy(isopropoxycarbonyloxymethoxy) phosphoryl]but-2-enyl]acetate (84**)**

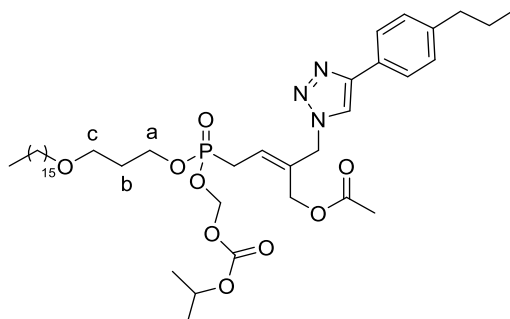


Chemical Formula: C₃₁H₅₈N₃O₉P
Molecular Weight: 647,7908

To a solution of compound **85** (558 mg, 1.0 equiv., 0.90 mmol) in anhydrous CH₂Cl₂ (15 mL) were added dropwise methansulfonyl chloride (76 μL, 1.1 equiv., 0.99 mmol) and anhydrous triethylamine (137 μL, 1.1 equiv., 0.99 mmol) at 0 °C under argon. After 40 min stirring at room temperature, the mixture was diluted with CH₂Cl₂ and washed with water (3 × 15 mL) and brine. The organic layer was dried over MgSO₄, filtrated and concentrated *under reduced pressure*. The residue was directly used for next step without further purification. To a solution of the above product in anhydrous DMF (15 mL) was added sodium azide (291 mg, 5.0 equiv., 4.48 mmol) under nitrogen atmosphere. After 5 h stirring at room temperature, the mixture was diluted with EtOAc and water and then extracted with EtOAc. The combined organic layer was washed with water (5 × 15 mL), brine, dried over MgSO₄, and concentrated *under reduced pressure*. The residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 4/6) to compound **84** (511 mg, 88%) as a colorless oil. **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 5.76-5.59 (m, 1H, CH=C; 2H, O-CH₂-O), 4.92 (sept., *J* = 6.3 Hz, 1H, CH(CH₃)₂), 4.67 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, CH₂-OAc), 4.22 – 4.10 (m, 2H, H^a), 3.85 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H, CH₂-N₃), 3.46 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, H^c), 3.38 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₄CH₂-O), 2.84 (dd, *J* = 23.0, 8.0 Hz, 2H, CH₂-P), 2.07 (s, 3H, OCOCH₃), 1.91 (quint., *J* = 6.3 Hz, 2H, H^b), 1.54 (quint., *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂CH₂-O), 1.33 – 1.24 (m, 26H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂CH₂-O; 6H, CH(CH₃)₂), 0.87 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃(CH₂)₁₅O). **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃)** δ 170.57 (OCOCH₃), 153.20 (OCOO), 134.17, 134.03 (CH=C), 123.15, 123.03 (CH=C), 84.51, 84.45 (O-CH₂-O), 73.18 (CH(CH₃)₂), 71.26 (CH₃(CH₂)₁₄CH₂-O), 66.46 (C^c), 63.69, 63.62 (C^a), 59.85, 59.83 (CH₂-OAc), 55.04, 55.02 (CH₂-N₃), 31.92 (CH₂), 30.77, 30.71 (C^b), 29.72, 29.69, 29.67, 29.64, 29.61, 29.52, 29.35, 27.43 (CH₂-P), 26.16, 26.03 (CH₂-P), 22.68, 21.63 (CH(CH₃)₂), 20.75 (OCOCH₃), 14.10 (CH₃(CH₂)₁₅O). **³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃)** δ

26.45. IR $\nu_{\max}$ (neat, cm^{-1}): 2922.60, 2851.80, 2094.55, 1755.94, 1463.42, 1257.26, 1103.34, 992.52, 903.25 cm^{-1} . HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{59}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$: 648.398344, found : 648.398202.

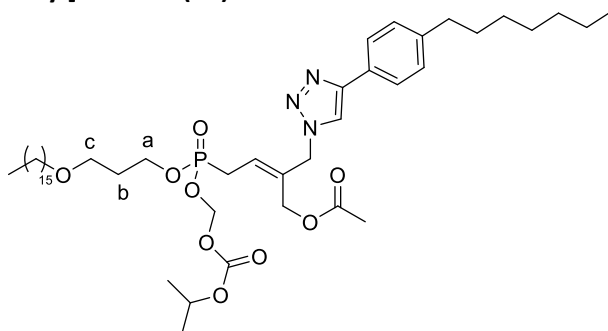
[(Z)-4-[3-Ethoxypropoxy(isopropoxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]-2-[[4-(4-propylphenyl) triazol-1-yl]methyl]but-2-enyl] acetate (89)



Chemical Formula: $\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$
Molecular Weight: 792.0078

The title compound was prepared from compound **84** (63 mg, 1.0 equiv., 0.10 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 2 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 4/6), the desired pure compound **89** (43 mg, 56%) was obtained as a colorless oil. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.75 (s, 1H, H^5), 7.72 (d, J = 8.0 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.21 (d, J = 8.0 Hz, 2H, H^{Ar}), 5.81 (q, J = 7.7 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 5.64 (m, 2H, O- CH_2 -O), 5.07 (t, J = 3.6 Hz, 2H, CH_2 -N), 4.89 (sept., J = 6.3 Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.59 (s, 2H, CH_2 -OAc), 4.20 – 4.11 (m, 2H, H^{a}), 3.42 (t, J = 6.1 Hz, 2H, H^{c}), 3.34 (t, J = 6.7 Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2$ -O), 2.89 (dd, J = 23.1, 8.1 Hz, 2H, CH_2 -P), 2.60 (t, J = 7.5 Hz, 2H, Ar- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.00 (s, 3H, OCOCH_3), 1.88 (quint., J = 6.2 Hz, 2H, H^{b}), 1.65 (quint., J = 7.5 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.51 (quint., J = 7.0 Hz, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2$ -O), 1.30 – 1.24 (m, 26H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2$ -O; 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.94 (t, J = 7.3 Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.87 (t, J = 6.7 Hz, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 170.53 (OCOCH_3), 153.17 (OCOO), 148.27 ($\text{C}^{\text{a,Ar}}$), 142.86 ($\text{C}^{\text{a,Ar}}$), 133.92, 133.78 ($\text{CH}=\text{C}$), 128.93 (CH^{Ar}), 128.52 (CH^{Ar}), 127.90 ($\text{C}^{\text{a,Ar}}$), 125.63 (CH^{Ar}), 125.00, 124.88 ($\text{CH}=\text{C}$), 119.26 (C^5), 84.53, 84.47 (O- CH_2 -O), 73.33 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 71.24 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2$ -O), 66.33 (C^{c}), 63.82, 63.75 (C^{a}), 59.40, 59.38 (CH_2 -OAc), 54.29, 54.26 (CH_2 -N), 37.82 (Ar $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 31.92 (CH_2), 30.75, 30.69 (C^{b}), 29.70, 29.68, 29.65, 29.62, 29.53, 29.35, 27.60 (CH_2 -P), 26.21, 26.15 (CH_2 -P), 24.47 (Ar $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 22.68, 21.61, 21.59 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 20.65 (OCOCH_3), 14.11 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{O}$), 13.77 (Ar $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$). $^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl_3) δ 26.15. HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{N}_3\text{NaO}_9\text{P}$: 814.474188, found : 814.474551.

[(Z)-4-[3-Ethoxypropoxy(isopropoxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]-2-[[4-(4-heptylphenyl) triazol-1-yl]methyl]but-2-enyl] acetate (90)



Chemical Formula: $\text{C}_{46}\text{H}_{78}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$
Molecular Weight: 848.1158

The title compound was prepared from compound **84** (46 mg, 1.0 equiv., 0.071 mmol) following the general procedure 4, the resulting suspension was stirred for 2 h at 40 °C. After purification on a silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 3/7), the desired pure compound **90** (39 mg, 65%) was obtained as a colorless oil. **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 7.78 (s, 1H, **H⁵**), 7.72 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, **H^{Ar}**), 7.21 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, **H^{Ar}**), 5.81 (q, *J* = 7.7 Hz, 1H, **CH=C**), 5.64 (m, 2H, O-**CH₂-O**), 5.06 (t, *J* = 3.6 Hz, 2H, **CH₂-N**), 4.89 (sept., *J* = 6.3 Hz, 1H, **CH(CH₃)₂**), 4.59 (s, 2H, **CH₂-OAc**), 4.23 – 4.08 (m, 2H, **H^a**), 3.41 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, **H^c**), 3.34 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₄**CH₂-O**), 2.89 (dd, *J* = 23.1, 8.1 Hz, 2H, **CH₂-P**), 2.61 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, Ar-**CH₂(CH₂)₅CH₃**), 1.99 (s, 3H, OCO**CH₃**), 1.87 (quint., *J* = 6.2 Hz, 2H, **H^b**), 1.61 (quint., *J* = 7.5 Hz, 2H, Ar-CH₂**CH₂(CH₂)₄CH₃**), 1.51 (quint., *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₃**CH₂CH₂-O**), 1.30 – 1.24 (m, 26H, CH₃(**CH₂**)₁₃CH₂CH₂-O; **6H**, CH(**CH₃**)₂; 8H, Ar-CH₂CH₂(**CH₂**)₄CH₃), 0.87 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, **CH₃(CH₂)₁₅O**; 3H, Ar(CH₂)₆**CH₃**). **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃)** δ 170.53 (OCO**CH₃**), 153.16 (OCOO), 148.28 (**C^{q, Ar}**), 143.15 (**C^{q, Ar}**), 133.93, 133.79 (**CH=C**), 128.86 (**CH^{Ar}**), 127.81 (**C^{q, Ar}**), 125.66 (**CH^{Ar}**), 124.97, 124.86 (**CH=C**), 119.31 (**C⁵**), 84.53, 84.47 (O-**CH₂-O**), 73.33 (**CH(CH₃)₂**), 71.23 (CH₃(CH₂)₁₄**CH₂-O**), 66.32 (**C^c**), 63.86, 63.79 (**C^a**), 59.40, 59.38 (**CH₂-OAc**), 54.29, 54.27 (**CH₂-N**), 35.75 (Ar**CH₂(CH₂)₅CH₃**), 31.92, 31.81, 31.39 (CH₂), 30.74, 30.68 (**C^b**), 29.70, 29.65, 29.62, 29.53, 29.35, 29.25, 29.17, 27.58 (**CH₂-P**), 26.15 (**CH₂-P**), 22.68, 22.65, 21.60, 21.59 (CH(**CH₃**)₂), 20.64 (OCO**CH₃**), 14.11, (**CH₃(CH₂)₁₅O**), 14.08 (Ar(CH₂)₆**CH₃**). **³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃)** δ 26.18. **HRMS (ESI):** *m/z* [M+H]⁺calcd for C₄₆H₇₉N₃O₉P : 848.554844, found : 848.554920.

Chapitre V. « PARTIE B : SYNTHÈSE DE 1-C-ARYLGLYCOSIDES PAR LE COUPLAGE CROISÉ DE MIGITA-KOSUGI-STILLE »

1. Introduction

1.1 Intérêt des iminosures en chimie thérapeutique

Les glycomimétiques sont des analogues de glucides conçus pour interférer avec les voies biochimiques dans lesquelles les glucides jouent un rôle clé et sont associés à des troubles pathologiques.^{164,165,166} Parmi les glycomimétiques rapportés à ce jour, les iminosucres sont les plus importants en raison de leurs activités puissantes et leur potentiel comme inhibiteurs d'une grande variété de glycosidases et de glycosyltransférases, ainsi que pour leur utilisation comme chaperons pharmacologiques.¹⁶⁷ Les iminosucres sont des mimes de sucres dans lesquels l'atome d'oxygène endocyclique a été remplacé par un atome d'azote et de ce fait, ils ont très vite émergé comme médicaments potentiels.

✓ 1-Désoxyiminosucres

Les 1-désoxyiminosucres présentent des activités remarquables en tant qu'inhibiteurs des glycosidases et des glycosyltransférases. Plusieurs 1-désoxyiminosucres sont commercialisés à ce jour ou sont en essai clinique. Un exemple typique est la 1-désoxygalactonojirimycine (Galafold®) **1**, utilisée pour traiter la maladie de Fabry.¹⁶⁸ La 1-désoxynojirimycine (DNJ) **2** est un puissant inhibiteur de α -glucosidases, elle est actuellement en essai clinique pour le traitement de la maladie de Pompe (Duvoglustat). Cependant, contrairement à ces quelques exemples notables, l'absence d'informations structurales et configurationnelles en position pseudo anomérique est souvent une forte limitation à leur développement comme candidat médicament. Dans une certaine mesure, cette problématique peut être évitée en déplaçant l'information structurale sur l'atome d'azote. Par exemple, c'est le cas de la *N*-[2-hydroxyéthyl]-1-désoxynojirimycine (Miglitol®) (**3**) qui est utilisée pour contrôler l'absorption du glucose chez les patients atteints de diabète de type 2¹⁶⁹ et la *N*-butyl-1-désoxynojirimycine (Zavesca®) (**4**) qui est utilisée pour le traitement des maladies de Gaucher de type I et de Niemann-Pick^{170,171} (Figure 1).

¹⁶⁴ A. Tamburrini, C. Colombo, A. Bernardi, Design and synthesis of glycomimetics: Recent advances. *Med. Res. Rev.* **2020**, 40, 495-531.

¹⁶⁵ S. Sattin, A. Bernardi, Design and synthesis of glycomimetics. *Carbohydr. Chem.* **2016**, 41, 1-25.

¹⁶⁶ B. Ernst, J. L. Magnani, From carbohydrate leads to glycomimetic drugs. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2009**, 8, 661-677.

¹⁶⁷ C. Nicolas, O. R. Martin, Glycoside Mimics from Glycosylamines: Recent Progress. *Molecules* **2018**, 23, 1612.

¹⁶⁸ E. H. McCafferty, L. J. Scott, Miglustat: A Review in Fabry Disease. *Drugs* **2019**, 79, 543-554.

¹⁶⁹ L. J. Scott, C. M. Spencer, Miglitol. *Drugs* **2000**, 59, 521-549.

¹⁷⁰ C. Ficicioglu, Review of miglustat for clinical management in Gaucher disease type 1. *Ther. Clin. Risk Manage* **2008**, 4, 425-431.

¹⁷¹ K. A. Lyseng-Williamson, Miglustat: A Review of Its Use in Niemann-Pick Disease Type C. *Drugs* **2014**, 74, 61-74.

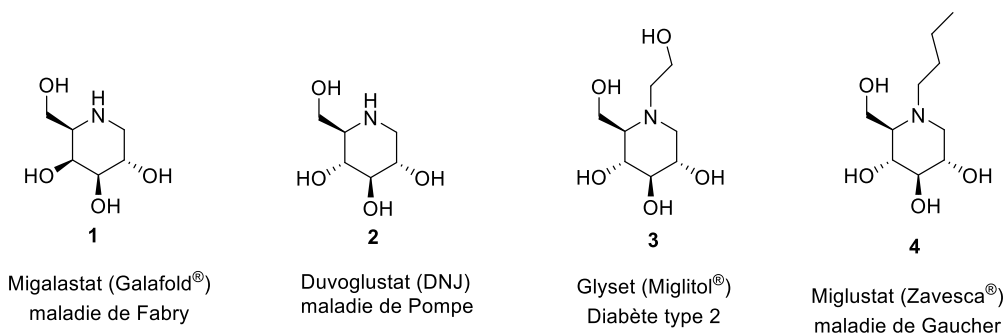


Figure 1 : 1-Désoxyiminosucres commercialisés ou en essai clinique

✓ Iminosucre-C-glycosides

Les iminosucre-C-glycosides (les iminosucres substitués en position C-1) constituent des mimétiques de glycosides ou de glycoconjugués et portent un substituant en position C-1 pseudo anomère dans une configuration bien définie. Ils sont stables grâce à une liaison C–C forte et non hydrolysable. L'introduction d'un substituant en position pseudo-anomère par une liaison C–C augmente la sélectivité et le potentiel thérapeutique des iminosucres.^{172,173}

D'ailleurs, certains imino-C-nucléosides sont de puissants inhibiteurs d'une grande variété de glycosidases, et glycosyltransférases. Ils ont été identifiés comme leads anticancéreux, antiviraux et antibactériens mais aussi pour le traitement de maladies métaboliques et génétiques.^{174,175} Le BCX4430 (Immucillin-A) **5**, par exemple, a été initialement utilisé contre le virus de l'hépatite C mais développé par la suite contre les filovirus plus dangereux, tels que le virus Ebola et le virus de Marburg (Figure 2).^{176, 177} Doté d'un IC₅₀ de 11.8 µM sans cytotoxicité apparente, il représente l'une des molécules les plus prometteuses dans la lutte contre les filovirus.¹⁷⁸ Il est triphosphorylé et inhibe l'ARN polymérase viral.¹⁷⁹ Ce composé également montre une activité antivirale contre le virus Zika¹⁸⁰ chez les souris et contre la fièvre jaune chez les hamsters.¹⁸¹

¹⁷² D. S. Alonzi, K. A. Scott, R. A. Dwek, N. Zitzmann, Iminosugar antivirals: the therapeutic sweet spot. *Biochem. Soc. Trans.* **2017**, 45, 571-582.

¹⁷³ P. Compain, V. Chagnault, O. R. Martin, Tactics and strategies for the synthesis of iminosugar C-glycosides: a review. *Tetrahedron Asymmetry* **2009**, 20, 672-711.

¹⁷⁴ G. B. Evans, P. C. Tyler, V. L. Schramm, Immucillins in Infectious Diseases. *ACS Infect. Dis.* **2018**, 4, 107-117.

¹⁷⁵ D. Hernández, A. Boto, Nucleoside Analogues: Synthesis and Biological Properties of Azanucleoside Derivatives. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 2201-2220.

¹⁷⁶ R. Taylor, P. Kotian, T. Warren, R. Panchal, S. Bavari *et al.* BCX4430 - A broad-spectrum antiviral adenosine nucleoside analog under development for the treatment of Ebola virus disease. *J. Infect. Public Health* **2016**, 9, 220-226.

¹⁷⁷ K. Izawa, L. Aceña, J. Wang, V. A. Soloshonok, Small-Molecule Therapeutics for Ebola Virus (EBOV). *Disease Treatment* **2016**, 8-16.

¹⁷⁸ T. K. Warren, J. Wells, R. G. Panchal, K. S. Stuthman, N. L. Garza *et al.* Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. *Nature* **2014**, 508, 402-5.

¹⁷⁹ E. De Clercq, C-Nucleosides to be revisited. *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 6, 2301-11.

¹⁸⁰ J. G. Julander, V. Siddharthan, J. Evans, R. Taylor, K. Tolbert, C. Apuli *et al.* Efficacy of the broad-spectrum antiviral compound BCX4430 against Zika virus in cell culture and in a mouse model. *Antiviral Res.* **2017**, 137, 14-22.

¹⁸¹ J. G. Julander, S. Bantia, B. R. Taubenheim, D. M. Minning, P. Kotian, J. D. Morrey *et al.* BCX4430, a novel nucleoside analog, effectively treats yellow fever in a Hamster model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2014**, 58, 6607-6614.

La Mundesine® (Immucillin-H) **6** a été approuvée au Japon pour le traitement de la leucémie lymphoblastique des cellules T. C'est un puissant inhibiteur de la purine nucléoside phosphorylase ($K_i = 56$ pM), enzyme qui joue un rôle essentiel dans la prolifération des lymphocytes T.¹⁸² Elle est aussi un agent puissant pour le traitement de lymphomes et d'autres maladies caractérisées par des réponses des lymphocytes T activés, telles que l'auto-immunité, la transplantation d'organes et la maladie du greffon contre l'hôte.¹⁸³

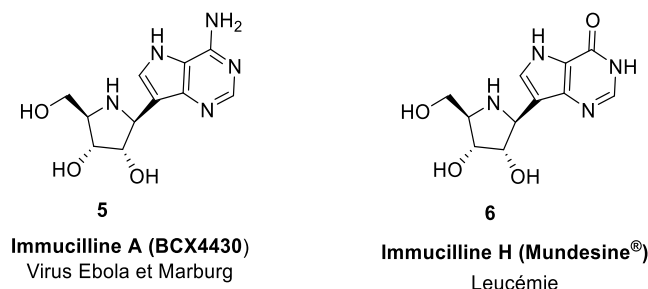


Figure 2 : Iminosucre-C-glycosides d'intérêt thérapeutique

1.2 N-Acétylglucosamine

La *N*-acétylglucosamine (GlcNAc) (**7**) est un monosaccharide ou ose modifié qui partage le même squelette que le glucose. Comparativement au glucose, la *N*-acétylglucosamine est modifiée sur le carbone C-2 où la fonction alcool a été remplacée par un groupement *N*-acétyl constitué d'une fonction amide et du squelette de l'acide acétique (Figure 3). C'est donc le résultat de la condensation entre la glucosamine et l'acide acétique.

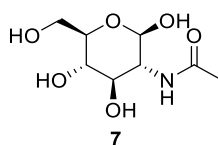


Figure 3 : Structure de la *N*-acétylglucosamine

Ce sucre se polymérise linéairement en de longues chaînes, par une liaison osidique de type β -1,4, formant ainsi la chitine, un polysaccharide azoté qui se trouve dans l'exosquelette des insectes. Il se trouve aussi dans la couche de peptidoglycanes qui protège les cellules du monde bactérien et dans la paroi cellulaire de certaines algues marines. On retrouve aussi la *N*-acétylglucosamine dans l'acide hyaluronique, un polysaccharide présent dans la matrice extracellulaire des tissus conjonctifs et dans les tissus neuronaux des mammifères.

¹⁸² S. Makita, A. M. Maeshima, Forodesine in the treatment of relapsed/refractory peripheral T-cell lymphoma: an evidence-based review. *Onco. Targets Ther.* **2018**, 11, 2287-2293.

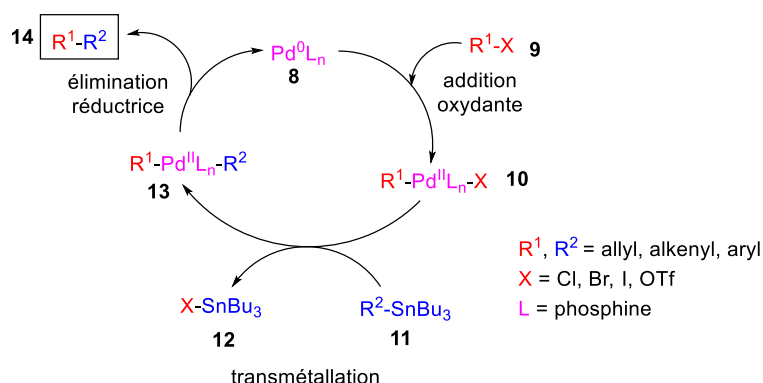
¹⁸³ G. A. Kicska, L. Long, H. Hörig, C. Fairchild, P. C Tyler, R. H. Furneaux, V. L. Schramm, H. L. Kaufman, Immucillin H, a powerful transition-state analog inhibitor of purine nucleoside phosphorylase, selectively inhibits human T lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, 98, 4593-8.

Les mimétiques du motif *N*-acétylglucosamine ont par conséquent un fort potentiel thérapeutique.¹⁸⁴

1.3 Couplage croisé de Migita-Kosugi-Stille

Le développement des réactions de couplage croisé catalytiques est un chapitre majeur de la chimie de la fin du 20^{ème} siècle, culminant avec le prix Nobel de chimie 2010 obtenu par Richard Heck, Ei-ichi Negishi et Akira Suzuki. À l'été 1977, John Kenneth Stille et David Milstein avaient découvert la réaction de Stille, qui est une réaction chimique entre un composé organostannique et un dérivé halogéné hybridé sp^2 avec un catalyseur au palladium.¹⁸⁵ Quelques mois plus tôt, Toshihiko Migita et Masanori Kosugi¹⁸⁶ de l'Université de Gunma, au Japon, avaient décrit le même cycle catalytique lors d'une synthèse d'une cétone à faible rendement. Pour cette raison, cette réaction est parfois appelée couplage de Migita–Kosugi–Stille.

Cette réaction est très utilisée en synthèse organique et en industrie notamment l'industrie pharmaceutique. Elle est donc progressivement devenue l'une des pierres angulaires de la formation de liaisons C–C catalysées par le Pd. C'est un processus doux qui tolère une grande variété de groupes fonctionnels, et qui est fréquemment utilisé dans la synthèse de molécules de haute complexité. De plus, les organostannanes sont relativement insensibles à l'humidité et à l'oxygène, permettant des conditions de réaction plus dures. Le mécanisme de la réaction de Stille¹⁸⁷ suit un cycle catalytique. Au départ, le palladium au degré zéro possède en général deux ligands L et a 14 électrons de valence. Le catalyseur va ensuite réagir avec l'halogénure d'alkyle par une addition oxydante qui va aboutir à la formation d'un complexe de palladium de type ML_2X_2 possédant 16 électrons. S'ensuit une transmétaallation par un alkyl ou un aryl-étain. Enfin, il y a une élimination réductrice qui forme la nouvelle liaison C–C et régénère le catalyseur ($Pd(0)$) qui peut participer à une autre étape d'addition oxydante (Schéma 1).



¹⁸⁴ A. Grigorian, L. Araujo, N. Naidu, D. J. Place, B. Choudhury, M. Demetriou, *N*-acetylglucosamine inhibits T-helper 1 (Th1)/T-helper 17 (Th17) cell responses and treats experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Biol. Chem.* **2011**, 286, 40133-40141.

¹⁸⁵ D. Milstein, J. K. Stille, A general, selective, and facile method for ketone synthesis from acid chlorides and organotin compounds catalyzed by palladium. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 3636-3638.

¹⁸⁶ M. Kosugi, K. Sasazawa, Reactions of allyltin compounds. III. Allylation of aromatic halides with allyltributyltin in the presence of tetrakis(triphenylphosphine) palladium (0). *Chem. Lett.* **1977**, 6, 301-302.

¹⁸⁷ J. K. Stille, The palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organotin reagents with organic electrophiles ». *Angew. Chem.* **1986**, 98, 504-519.

Schéma 1 : Mécanisme de la réaction de Stille

L'élimination réductrice étant irréversible, même un équilibre thermodynamiquement défavorable à la transméallation est drainé vers le produit organique R^1-R^2 . En adaptant les électronégativités relatives des métaux à l'aide de ligands ou d'additifs, toutes sortes de métaux de transition et de composés organométalliques du groupe principal peuvent être utilisés.

Dans la série des sucres, les glycosylstannanes ont été décrits par Sinaÿ,¹⁸⁸ Kessler,¹⁸⁹ et Vasella,¹⁹⁰ et leurs premières réactions de couplage croisé avec du chlorure de benzoyle et une gamme des chloro (thio) carbonates ont été étudiées par Falck.¹⁹¹ Les D-glucopyranosyl C-glycosides d'intérêts sont obtenus avec des rendements faibles à modérés, en utilisant un excès d'électrophile, et avec rétention complète de la configuration en position C-1. Walczak *et al.*^{192, 193, 194} ont récemment démontré la portée et l'utilité synthétique des glycosyl stannanes par couplage avec des iodures aromatiques, des triflates, des diaryl d'iodoniums et divers thio- et sélénioesters. Une gamme impressionnante de mono- et oligo-saccharide-1-C-glycosides contenant un hydroxyle libre ou diversement protégés ont été générés. Cependant, aucun exemple d'une telle réaction n'avait été signalé jusqu'à présent pour les iminosucres.

2. Nos objectifs

Tout récemment, l'équipe du Pr. Olivier Martin a développé une nouvelle méthode de synthèse de composés imino-C-glycosylés par l'addition hautement stéréosélective et stéréodivergente de Bu_3SnLi sur des (S_R)- ou (S_S)-N-*tert*-butanesulfinyl glycosylamines, suivie d'une stratégie d'oxydation et/ou de mésylation-cyclisation ce qui donne des iminoglycosyl tributylstannanes. Ceux-ci ont ensuite été insérés dans des couplages croisés stéréospécifiques de type Migita–Kosugi–Stille avec une gamme de chlorures d'aroyles et d'alcanoyles, donnant ainsi accès dans un processus totalement stéréocontrôlé et stéréoretentif à des iminosucre-C-glycosides de configuration «alpha» ou «bêta»¹⁹⁵ (Schéma 2).

¹⁸⁸ J.-M. Lancelin, L. Morin-Allory, P. Sinaÿ, Simple generation of a reactive glycosyl-lithium derivative. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 355-356.

¹⁸⁹ F. Burkhart, M. Hoffmann, H. Kessler, C-glycosides: A stereoselective synthesis of α - and β -C-galactosides with glycosyl dianions. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 7699-7702.

¹⁹⁰ P. Uhlmann, D. Nanz, E. Bozó, A. Vasella, Insertion of glycosylidene carbenes into the Sn-H bond of tributyl- and triphenylstannane: A synthesis of stannoglycosides. *Helv. Chim. Acta.* **1994**, 77, 1430-1440.

¹⁹¹ J. Ye, R. K. Bhatt, J. R. Falck, Stereospecific cross-coupling of α -(thiocarbamoyl)organostannanes with alkenyl, aryl, and heteroaryl iodides. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 1-5.

¹⁹² F. Zhu, S. O'Neill, J. Rodriguez, M. A. Walczak, Rethinking carbohydrate synthesis: stereoretentive reactions of anomeric atannane. *Chem. Eur. J.* **2019**, 25, 3147-3155.

¹⁹³ F. Zhu, J. Rodriguez, S. O'Neill, M. A. Walczak, Acyl glycosides through stereospecific glycosyl cross-coupling: rapid access to C(sp³)-linked glycomimetics. *ACS Cent. Sci.* **2018**, 4, 1652-1662.

¹⁹⁴ D. Yi, F. Zhu, M. A. Walczak, Stereoretentive intramolecular glycosyl cross-coupling : development, scope, and kinetic isotope effect study. *Org. Lett.* **2018**, 20, 4627-4631.

¹⁹⁵ S. Li, J. Jaszczuk, X. Pannecoucke, T. Poisson, O. R. Martin, C. Nicolas, Stereospecific synthesis of glycoside mimics through Migita–Kosugi–Stille cross-coupling reactions of chemically and configurationally stable 1-C-tributylstannyl iminosugars. *Adv. Synth. Catal.* **2020**.

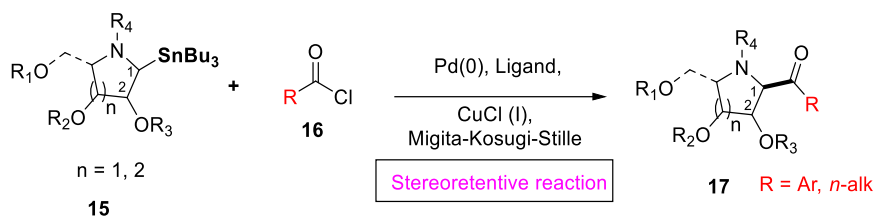


Schéma 2 : Travaux antérieurs du laboratoire (*équipe Pr O. Martin*)

Pour le couplage croisé de Migita-Kosugi-Stille, les meilleures conditions réactionnelles optimisées étaient les suivantes: *N-tert*-butanesulfinyl glycosylamines (1 ou 2 équiv.), chlorures d'aroyle ou d'alcanoyle (1,5 ou 1 équiv.), MS (4Å), Pd₂(dba)₃ (2,5 mol%), ligand (10 mol%), chlorure de cuivre (I) (10 mol%), chauffage à 110 ° C pendant 6 h dans du 1,4-dioxane anhydre. Au cours de nos travaux de recherche sur la réactivité des *N-tert*-butanesulfinyl glycosylamines précurseurs utiles d'imino-C-glycosides par une stratégie d'addition-cyclisation, nous nous sommes demandés s'il serait possible d'utiliser les intermédiaires organométalliques stannylés provenant d'iminoalditols (e.g, **18**).

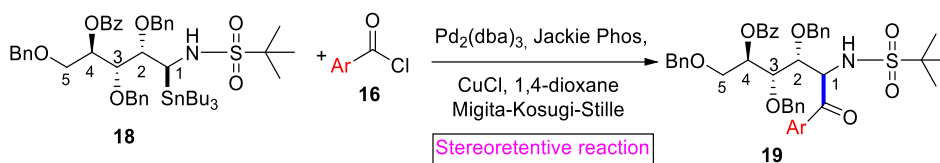


Schéma 3 : Notre premier objectif

Ainsi, notre deuxième but est de préparer des glycomimétiques en série iminosucres et sucre –C–glycosidiques dérivés de glycosamines. Pour ce faire, après couplage de Migita–Kosugi–Stille des iminoalditols stannylés avec des chlorures d'aroyles ou d'alcanoyles, une stratégie de réduction de la cétone générée suivie une mésylation et cyclisation ou alkylation par une amine mènerait respectivement aux cibles **21** et **22**.

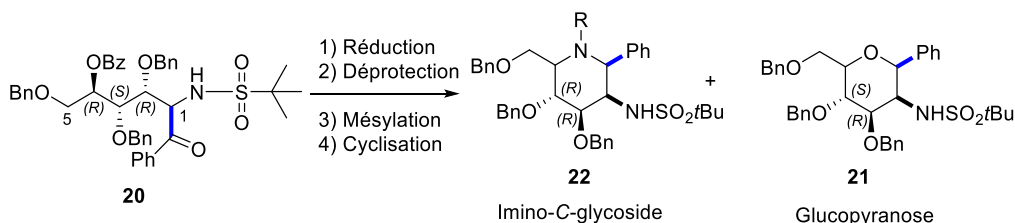


Schéma 4 : Notre deuxième objectif

3. Résultats et discussion

3.1 Préparation de *N-tert*-butanesulfinyl *arabino*furanosylamines

Pour notre étude, le 2,3,5-tri-*O*-benzyl-D-*arabino*furanose **23** commercial a été sélectionné comme substrat modèle et la formation des *N-tert*-butanesulfinyl *arabino* furanosylamines (**26** et **27**) a été réalisée dans des conditions améliorées par rapport à celles précédemment

décrites. En utilisant du $\text{Ti}(\text{OEt})_4$ (1,5 équiv.) comme promoteur et la (*R*)-(+)- ou (*S*)-(-)- 2-méthyl-2-propanesulfonamide (2 équiv.) dans du toluène anhydre, en présence de tamis moléculaire 4 Å, les glycosylamines **26** et **27** ont été isolées avec d'excellents rendements (90% et 84%) par la simple chauffe pendant 1,5 h à 110 °C sous irradiation microondes (Schéma 5), le ratio des deux anomères était d'environ 6:4.¹⁹⁶

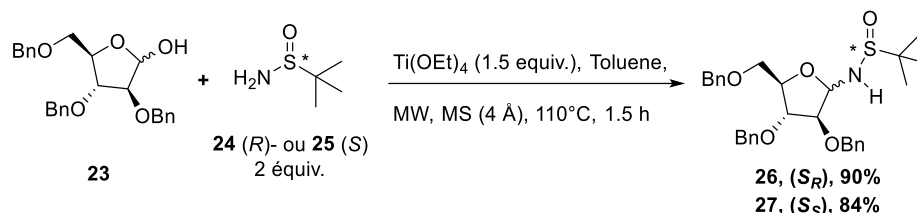


Schéma 5 : Formation de la (*S_R*)- ou (*S_S*)- *tert*-butanesulfinyl arabinofuranosylamine

3.2 Addition diastéréosélective de Bu_3SnLi sur les *N-tert*-butane sulfinyl arabinofuranosyl-amines

Une fois les glycosylamines synthétisées, nous avons souhaité étudier leur réactivité vis-à-vis de l'addition d'organométalliques de Bu_3SnLi . Pour ce faire, tout d'abord nous avons prégénéré le diisopropylamidure de lithium (LDA) par ajout du *n*-butyllithium (3.5 équiv.) sur la diisopropylamine (3.5 équiv.) dans le THF anhydre à -78 °C pendant 30 min. Le tributylstannylolithium (Bu_3SnLi , 3.5 équiv.) a ensuite été ajouté aux glycosylamines **26** ou **27** à -78 °C.¹⁹⁷ Nous avons noté par analyse CCM que les intermédiaires lithiés *N*-sulfinylés (Schéma 7, **A** et **B**) peuvent nécessiter d'augmenter la température pour une réaction complète. Les réactions ont donc été suivies par une analyse CCM et ont été laissées remonter à -20 °C pendant 2 h. Les aminoalдитols stannylés correspondants **28** et **29** ont été obtenus avec d'excellents rendements respectifs de 85% et 87% (Schéma 6).

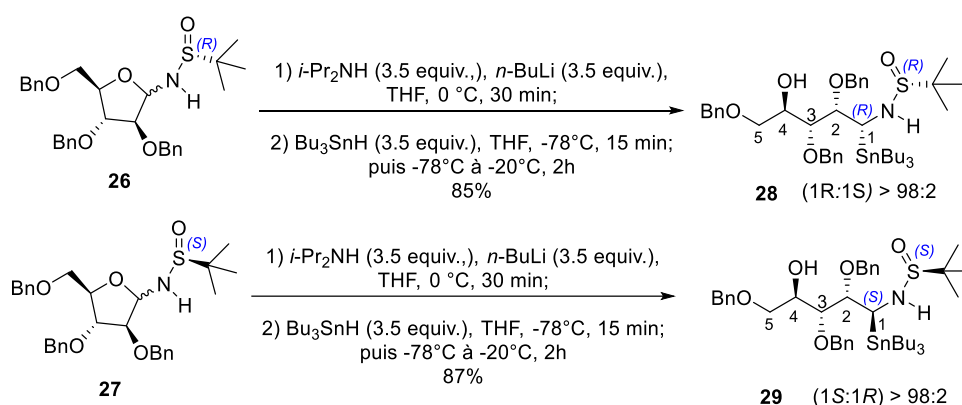


Schéma 6 : Addition de Bu_3SnLi sur les *N-tert*-butanesulfinyl glycosylamines **26** et **27**

¹⁹⁶ C. Ccaud, C. Nicolas, T. Poisson, X. Pannecoucke, O. R. Martin, Tunable approach for the stereoselective synthesis of 1-C-diethylphosphono(difluoromethyl) iminosugars as glycosyl phosphate mimics. *J. Org. Chem.* **2017**, 82, 5, 2753–2763.

¹⁹⁷ C. Ccaud, C. Nicolas, A. Bayle, T. Poisson, X. Pannecoucke, O. R. Martin, Synthesis and reactivity of *N-tert*-butanesulfinyl glycosylamines. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 4330-4334.

De manière remarquable, les deux *N*-sulfinyl glycosylamines ont donné lors de l'addition un seul diastéréoisomère (dr > 98: 2) comme indiqué par l'analyse RMN du brut réactionnel. De plus, aucun cas « mismatch » n'a pu être observé, mettant en évidence le fait que la stéréochimie de la réaction semble être uniquement contrôlée par l'auxiliaire sulfinyl chiral. Plus intéressant encore, la configuration du centre stéréogène nouvellement formé est *R* lorsque le groupe chiral *S_R* est utilisé, tandis que la sélectivité diastérofaciale est inversée lorsque le groupe chiral *S_S* est utilisé. Ces résultats ont été décrits dans un travail préliminaire par Olivier Martin et al.¹⁸⁵ et ne seront donc pas détaillés. La stéréochimie, lors de l'ajout de Bu₃SnLi, est cohérente avec un état de transition ouvert, sans chélation, tel que celui suggéré par N. Plobeck et al.,¹⁹⁸ pour l'ajout de réactifs lithiés conventionnels sur les *tert*butanesulfinylimines dans le THF.

Dans ce modèle, il est probable que, les espèces lithiées produites par un excès de tributylstannylithium utilisé pour générer l'imine réactive par ouverture de cycle, se coordonne à l'alcoolate libéré **C**. Le réactif d'étain se coordonne alors à la paire d'électrons non liante du groupement sulfoxyde et l'addition se déroule selon un état de transition acyclique de type Felkin-Ahn^{199,200} (voir **D**) (Schéma 7).

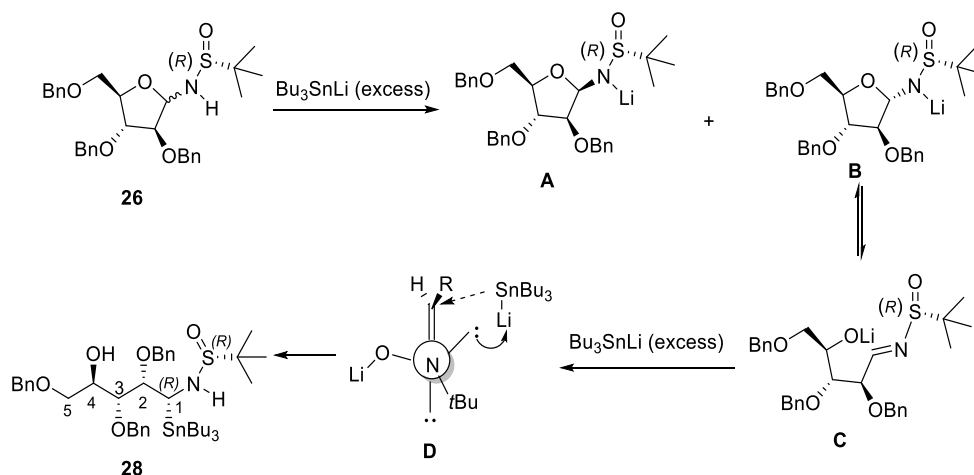


Schéma 7 : Modèle stéréochimique pour l'ajout de Bu₃SnLi aux composés **28** et **29**

La stéréosélectivité élevée de l'addition est tout à fait remarquable et il est important de noter que l'effet chélatant potentiel des fonctions du sucre ne détournent pas le mécanisme et la stéréospécificité par le groupement sulfinyle.

¹⁹⁸ N. Plobeck, D. Powell, Asymmetric synthesis of diarylmethylamines by diastereoselective addition of organometallic reagents to chiral *N*-*tert*-butanesulfinimines: switchover of diastereofacial selectivity. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, 13, 303–310.

¹⁹⁹ N. T. Anh, O. Eisenstein, Perspective on “theoretical interpretation of 1-2 asymmetric induction. The importance of antiperiplanarity. *Nouv. J. Chim.* **1977**, 1, 61-70.

²⁰⁰ N. T. Anh, O. Eisenstein, J. M. Lefour, M. E. Dau, Orbital factors and asymmetric induction. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 6146–6147.

3.3 Oxydation des dérivés d'aminoditols avec le *m*CPBA

Le groupement *tert*-butanesulfonyl (Bus) est un groupement protecteur utile, qui peut être utilisé dans des couplages de Stille sans dégradation notable.²⁰¹ De plus, il peut être éliminé dans des conditions acides (HCl, MeOH)²⁰² pour donner des amines libres. Il peut être préparé à partir du groupement *tert*-butanesulfinyle *via* une oxydation simple avec du *m*CPBA.²⁰³ Il a donc été sélectionné comme groupement protecteur clé pour la suite de l'étude. Comme décrit dans le Schéma 8, l'oxydation des aminoditols **28** et **29** a ainsi été réalisée avec du *m*CPBA (1.3 équiv.) pour donner les sulfonamides **31** et **32** avec des excellents rendements (93% et 92% respectivement pour **31** et **32**). Fait notable, aucune érosion de la stéréosélectivité en position C-1 n'a été observée.

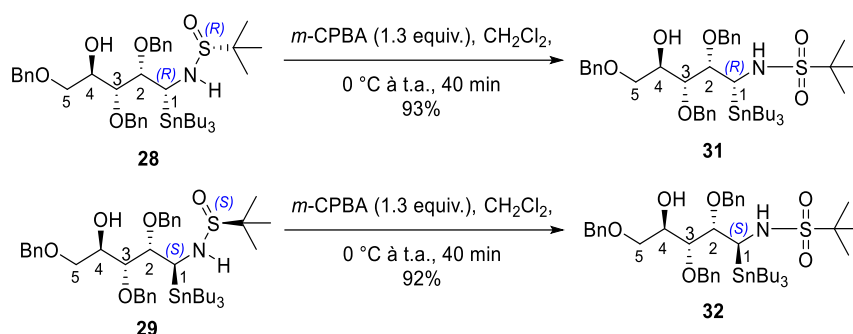
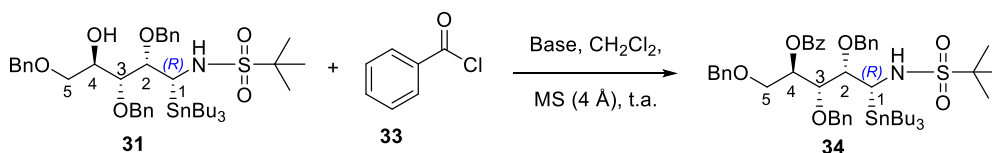


Schéma 8 : Oxydation avec le *m*CPBA

3.4 Protection de l'hydroxyle libre avec le chlorure de benzoyle

Nous avons alors protégé le groupement hydroxyle libre par utilisation de chlorure de benzoyle dans des conditions basiques (Tableau 1).

Tableau 1 : Optimisation de la benzylation du groupement hydroxyle



Entrée	Base	Temps	Rendement
1	Et ₃ N	18 h	73%
2	Pyridine	12 h	86%
3	TMEDA	2 h	93%

²⁰¹ K. W. Kells, J. M. Chong, Stille coupling of stereochemically defined α -sulfonamidoorganostannanes. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 15666-15667.

²⁰² P. Sun, S. M. Weinreb, *tert*-Butylsulfonyl (Bus), a new protecting group for amines. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 8604-8608.

²⁰³ M. T. Robak, M. A. Herbage, J. A. Ellman, Synthesis and applications of *tert*-butanesulfinamide. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 3600-3740.

- ✓ **Entrée 1** : Dans un premier temps, la benzylation du groupement hydroxyle s'est déroulée en utilisant de la triéthylamine dans le dichlorométhane. Après une nuit de réaction à température ambiante, le produit désiré **34** a été obtenu avec un rendement de 73 %.
- ✓ **Entrée 2** : Dans un deuxième temps, la triéthylamine a été remplacée par la pyridine, ce qui a abouti à une légère augmentation du rendement (86%).
- ✓ **Entrée 3** : Enfin, la benzylation a été effectuée en utilisant du tétraméthyléthylénediamine (TMEDA, 1.2 équiv.). Après 2 h, le produit désiré **34** a été obtenu avec un excellent rendement de 93 %.

Ces conditions ont également été utilisées pour former le produit **35** à partir de **32** (Schéma 9).

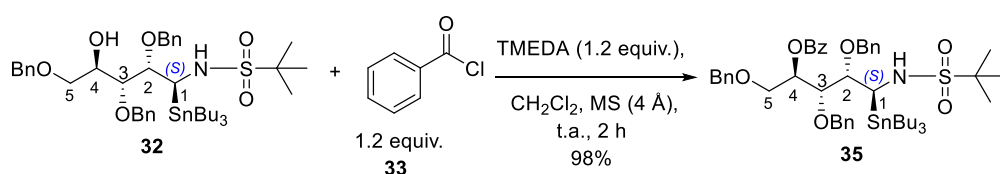


Schéma 9 : Protection du groupement hydroxyle

3.5 Scope de la réaction de Migita-Kosugi-Stille

Nous avons ensuite décidé d'étudier les réactions de couplages croisés de Migita-Kosugi-Stille catalysées par le Pd des iminoalditols stannylés. Sur la base des conditions optimisées précédemment, des couplages croisés de Migita-Kosugi-Stille avec des iminosucres stannylés cycliques, le « scope » de la réaction a été exploré en utilisant le (1*R*)-iminoglycosylstannane **34** et une petite diversité de chlorure d'aryles diversement substitués (Schéma 10).

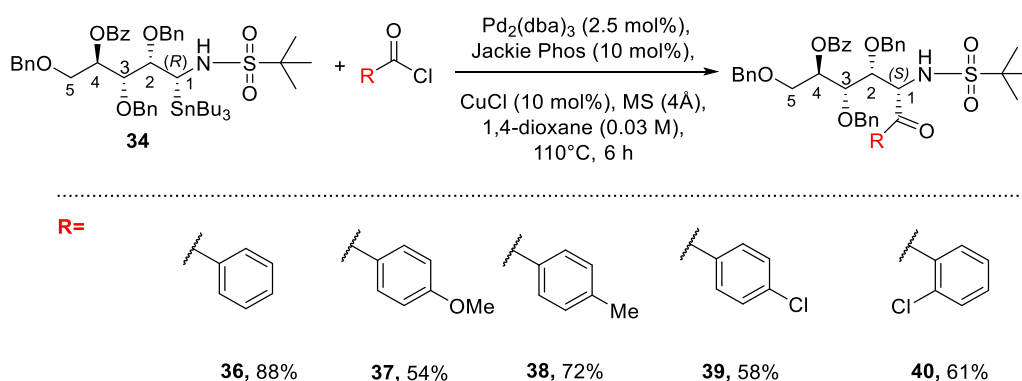


Schéma 10 : Scope de la C-glycosylation avec les chlorures d'aryle

Comme espéré, les C-glycosides **36-40** ont été obtenus avec de bons rendements (54-88%) et sans érosion de la stéréosélectivité du carbone en position C-1. Sur la base des données RMN

des produits cycliques et des données de la littérature²⁰⁴ sur le couplage de Migita-Kosugi-Stille d'iminosucres stannylés, nous pensons que la transformation est stéréorétentive. La stéréochimie relative en C-1 est ainsi conservée lors du couplage.

Ces conditions ont ensuite été testées sur le produit **35** pour donner les composés **41** et **42** avec de bons rendements (Schéma 11).

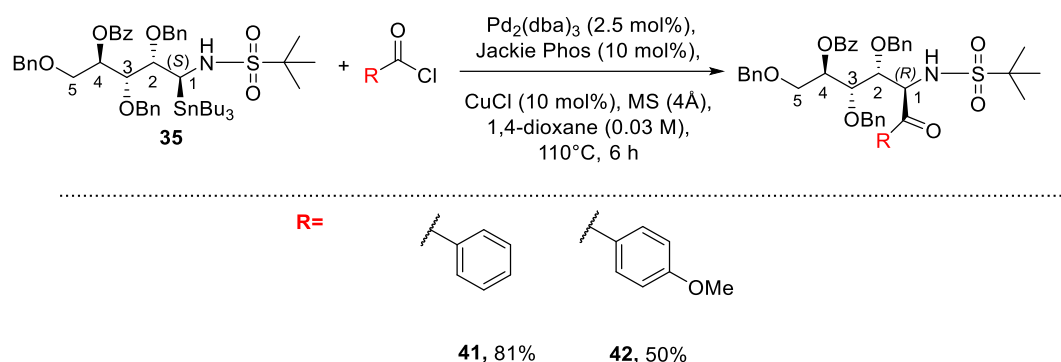


Schéma 11 : C-glycosylation de l'imino-glycosyl stannane **15** avec les chlorures d'aroyles

3.6 Réduction

Après le couplage de Migita–Kosugi–Stille, deux molécules ont été sélectionnées (**36** et **41**) ; nous avons réduit la cétone du produit **36** avec le borohydrure de sodium (NaBH_4 , 3 équiv.) dans le méthanol. Après une nuit à température ambiante, le produit **43** a été obtenu avec un rendement de 74% et seul diastéroisomère a été formé (Schéma 12).

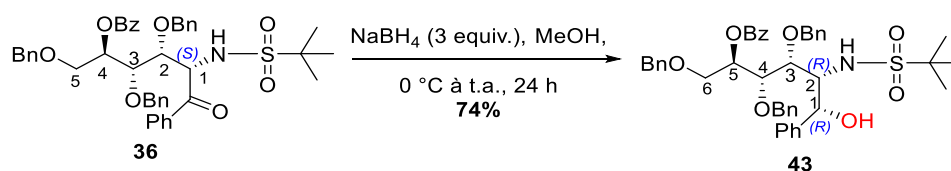


Schéma 12 : Réduction du produit **36** avec NaBH_4

Contrairement à la réduction du produit **36**, un effet mismatch est observé lors de la réduction du produit **41**, ce qui a donné un mélange de deux diastéroisomère dans un ratio de 6 :4 et un rendement de 76% (Schéma 13).

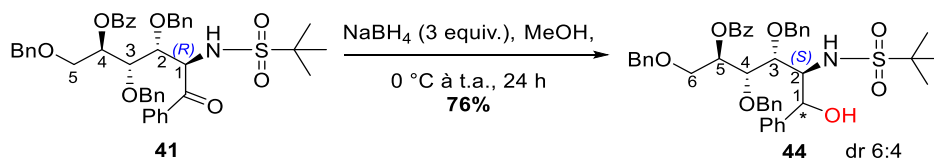


Schéma 13 : Réduction du produit **41**

²⁰⁴ F. Zhu, J. Rodriguez, T. Yang, I. Kevlishvili, E. Miller, D. Yi, S. O'Neill, M. J. Rourke, P. Liu, M. A. Walczak, Glycosyl Cross-Coupling of Anomeric Nucleophiles: Scope, Mechanism, and Applications in the Synthesis of Aryl C-Glycosides. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 17908-17922.

Nous n'avons pas séparé ces deux isomères qui ont été engagés directement dans l'étape suivante.

3.7 Déprotection

La déprotection des groupements benzoyles de nos composés **43** et **44** a ensuite été réalisée par traitement avec le carbonate de potassium (2.2 équiv.) dans le méthanol à température ambiante pendant 5 h. Ces conditions basiques nous ont permis de cliver le groupement benzoyle et donner les produits débenzoylés **45** et **46** avec des excellents rendements (91% et 94% respectivement, voir Schéma 14).

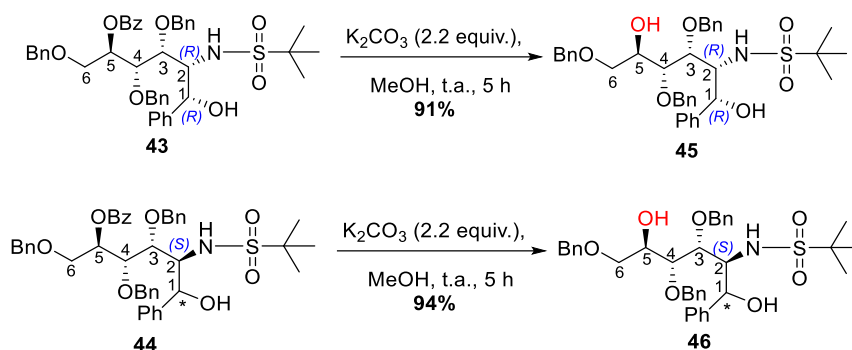


Schéma 14 : Débenzoylation du produit **43** et **44**

3.8 Cyclisation et détermination des configurations

Par la suite, dans un premier temps, nous avons essayé d'activer tous les hydroxyles libres du produit **45** sous forme de mésylates, par utilisation de chlorure de mésyle (MsCl, 2.1 équiv.) en présence de DMAP (0.35 équiv.) dans la pyridine. Après 3 h à 0 °C et 3 h à température ambiante, cependant, nous avons obtenu le produit monomésylé **49** avec un rendement de 75%. Aucune trace du produit dimésylé **47** n'ayant été observé. Dans un deuxième temps, nous avons tenté cette réaction avec 4.2 équivalents de chlorure de mésyle, mais ceci n'a pas conduit au produit dimésylé **47**. Il est étonnant que seul l'hydroxyle libre en position C-5 soit mésylé, alors que celui en position C-1 ne l'est pas. Ceci peut être expliqué par l'encombrement stérique de l'hydroxyle en C-1. Ce groupement est en relation 1,2-*syn* avec le groupement *tert*-butanesulfonyl ce qui pourrait empêcher la mésylation.

Parce que la dimésylation du produit **45** n'est pas favorable dans ces conditions, nous avons choisi de cycliser **49** par chauffage dans la pyridine à 90 °C pendant une nuit. Le composé **49** de configuration ¹C₄-gulo a ainsi été obtenu par une réaction de *O*-alkylation cyclisante de type S_N2 avec un rendement de 77% (Schéma 15).

A ce stade, la préparation de l'iminosucre **48** de configuration L-gulo n'a pu être effectuée, mais on pourrait aisément imaginer substituer le mesylate de **51** par une amine qui effectuerait ensuite une amination réductrice de la cétone du produit **52**.

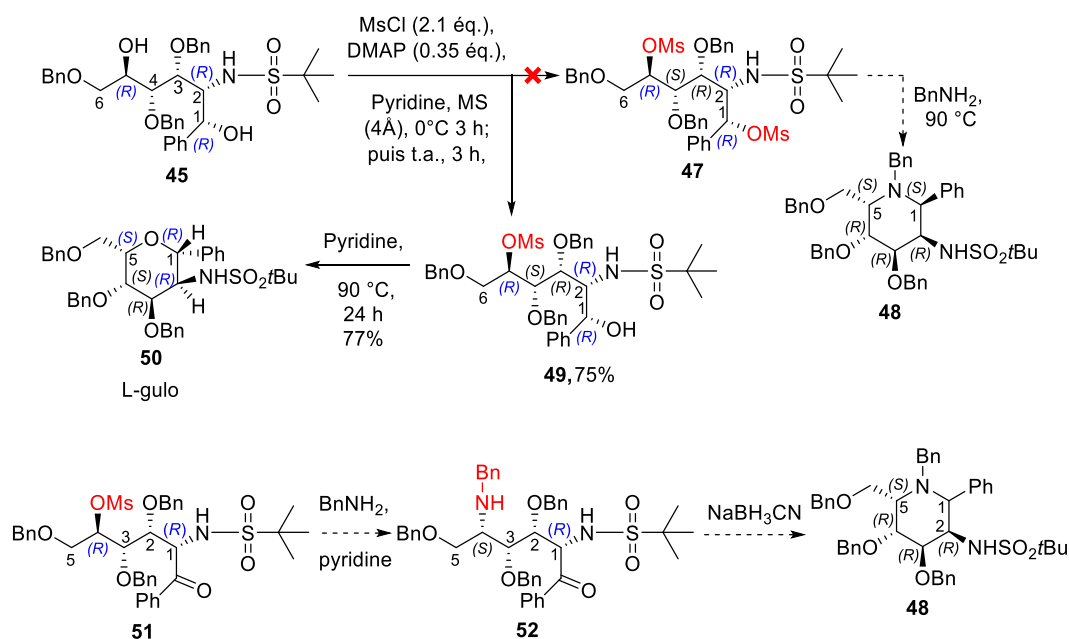
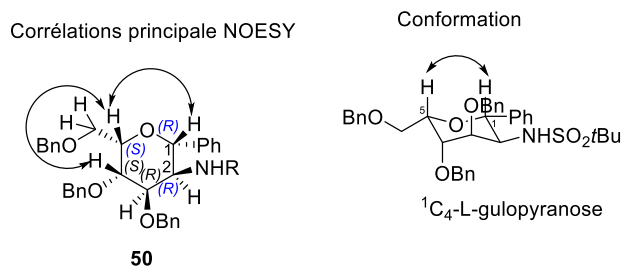


Schéma 15 : Cyclisation du composé **45** en deux étapes

Les configurations des carbones et l'arrangement conformationnel du produit **50** ont été déterminés en fonction de la valeur des constantes de couplage entre les protons du cycle et sur la base de l'analyse RMN par des spectres NOESY (Figure 5). L'analyse des spectres NOESY du produit **50** nous révèle une corrélation NOESY entre les protons H-1 et H-5, attestant de leur relation 1,5-*cis*. De plus, la constante du couplage $J(1,2)$ entre les protons H-1 et H-2 est de 11.6 Hz, ce qui atteste d'une relation 1,2-*trans*.

Ces résultats confirment les configurations 1*R*, 2*R* et 5*S*, soit la configuration ¹C₄-L-gulopyranose.



Constantes du couplage : H-1 : $J_{1,2}$ = 11.6 Hz, H-3 : $J_{3,2}$ = 3.3 Hz

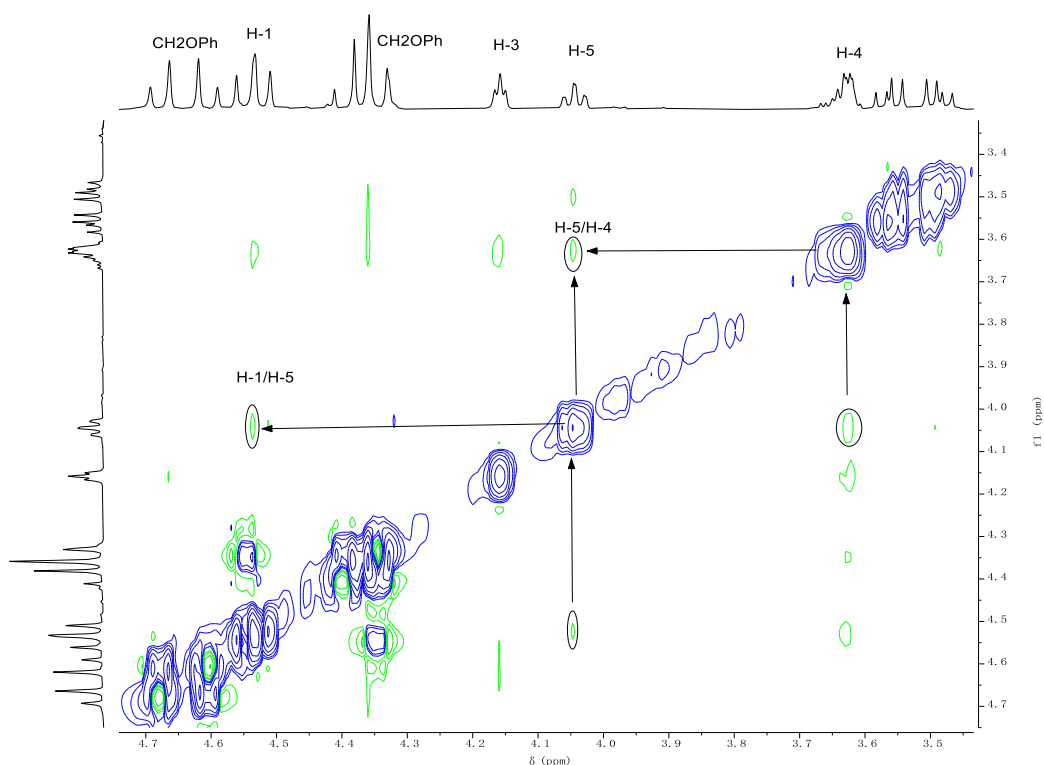


Figure 5 : Détermination de la configuration du composé 50

La méthylation du composé **46** s'est déroulée dans les mêmes conditions, i.e. avec le chlorure de méthyle (MsCl, 2.1 équiv.) en présence de DMAP (0.35 équiv.) dans la pyridine pendant 3 h à 0 °C et 3 h à température ambiante. Cependant, cette fois nous avons observé que l'hydroxyle libre en position C-1 a été méthylé, alors que celui en position C-5 ne l'est pas. Ceci est contraire aux résultats précédemment observés. Le composé méthylé **53** a ensuite été cyclisé dans les mêmes conditions que celles utilisées précédemment. Fait notable, cette fois il n'y a pas d'inversion de la configuration en position C-5. Le mélange de deux produits **54** et **55** (**54/55** 6:4) a été obtenu avec un rendement de 74% (Schéma 16). Ces deux composés sont séparés par simple chromatographie sur gel de silice.

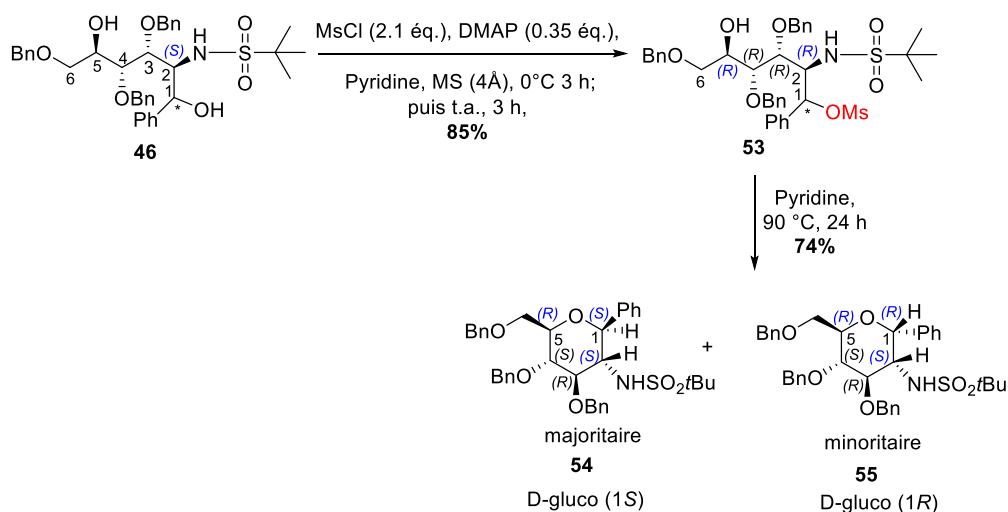
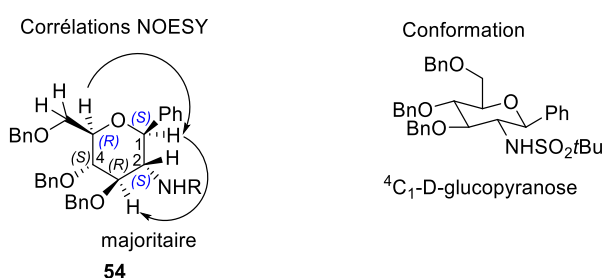


Schéma 16 : Cyclisation du produit **46** en deux étapes

Une fois encore, des configurations des carbones et l'arrangement conformationnel des produits **54** et **55** ont été déduits en fonction de la valeur des constantes de couplage entre les protons du cycle et sur la base de l'analyse RMN par des spectres NOESY (Figure 6) et (Figure 7). L'analyse des spectres NOESY de produit **54** met en évidence un couplage entre les protons H-1 et H-5, attestant de leur relation 1,5-*cis*. Un second effet NOE existe entre les protons H-1 et H-3, attestant également de leur relation 1,3-*cis*. De plus, la constante du couplage $J(1,2)$ entre les protons H-1 et H-2 est de 11.4 Hz, attestant également de leur relation 1,2-*trans*.

Ces résultats confirment la structure 4C_1 -D-glucopyranose et C-1 *sinister* (*S*).



Constantes du couplage : H-1 : $J_{1,2} = 11.4$ Hz

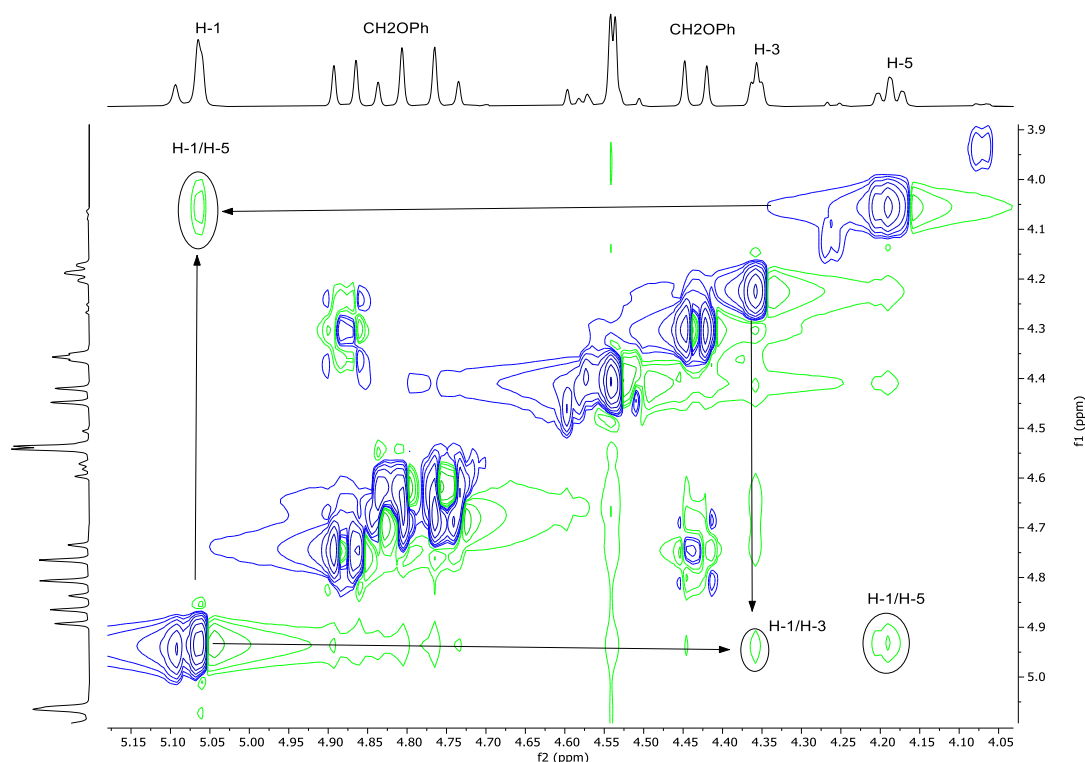
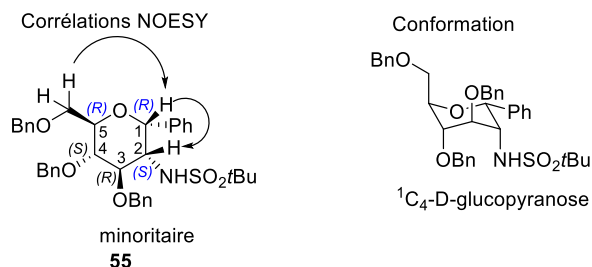


Figure 6 : Détermination de la configuration du composé **54**

En suivant le même raisonnement, la valeur des constantes du couplage entre les protons du cycle et l'analyse des spectres NOESY du produit **55** ont permis de déterminer sa configuration 1C_4 -D-glucopyranose (Figure 7). En effet, les spectres NOESY du produit **55** ont montré un effet NOE

entre les protons H-1 et H-6. De plus, sur le spectre ^1H -RMN, la constante de couplage $J(1,2)$ entre les protons H-1 et H-2 est de 4.2 Hz, attestant de leur relation 1,2-*cis*.

Ces résultats confirment la configuration 1*R*, 5*R* et 2*S*, soit la configuration $^1\text{C}_4$ -D-glucopyranose.



Constantes du couplage : H-1 : $J_{1,2} = 4.2$ Hz

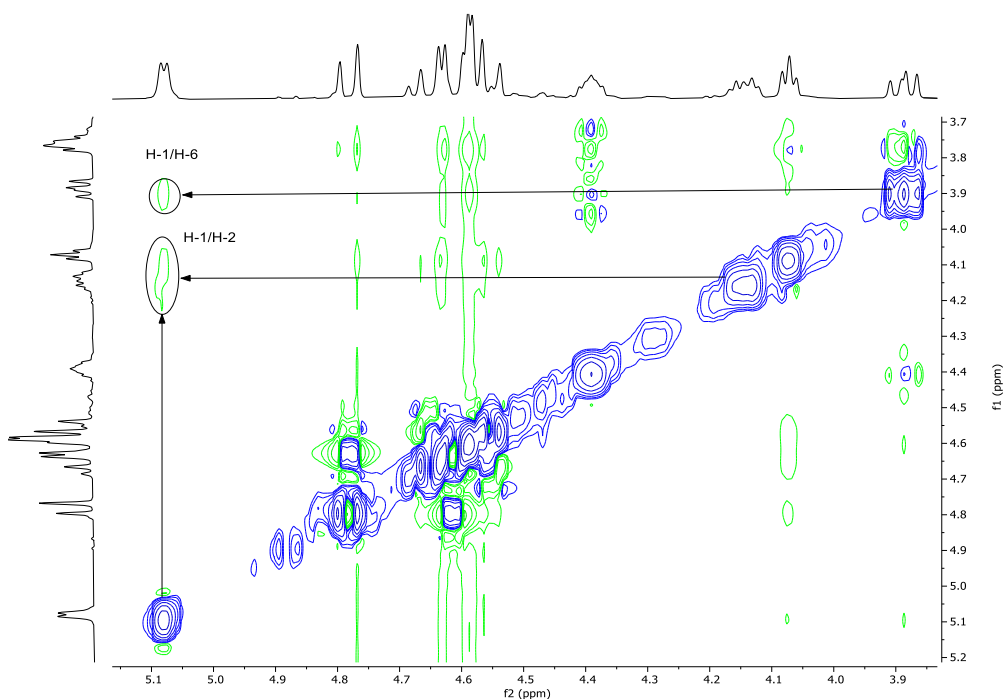


Figure 7 : Détermination de la configuration du composé **55**

4. Conclusion et perspective

Dans ce chapitre, nous avons d'abord préparé deux iminoglycosylstannanes **34** et **35** par l'addition stéréospécifique du tributylstannyllithium sur des (*S_R*)- ou (*S_S*)-*N*-*tert*-butanesulfinyl glycosyl amines de configuration *D*-*arabino*, suivies d'une stratégie d'oxydation et protection. A noter, la *D*-*arabinofuranosylamine* avec l'auxiliaire *S_R* a donné l'iminoalditol stannylé **1R** tandis qu'à l'inverse la *D*-*arabinofuranosylamine* où l'auxiliaire sulfinyl est de configuration *S_S* a mené à l'iminoalditol stannylé **1S**. La méthode est donc stéréodivergente. Ces deux iminoglycosyl stannanes ont ensuite été couplés avec une petite librairie de chlorure d'aroyles diversement substitués selon la réaction de Migita–Kosugi–Stille (Schéma 17).

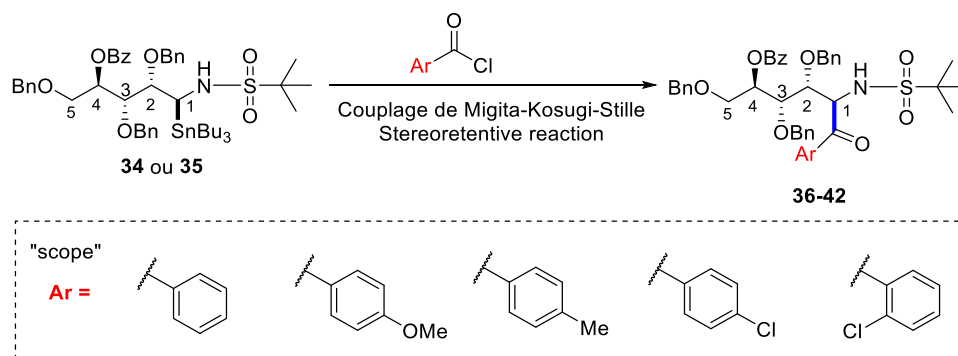


Schéma 17 : Préparation des imino-C-glycosides *via* réaction de Migita–Kosugi–Stille

Sept exemples de produits de couplage (**36 – 42**) ont été obtenus avec des rendements modérés à excellents et une haute stéréosélectivité. Des preuves expérimentales soutiennent que les iminoglycosyl stannanes subissent un processus stéréorétentif. Plus intéressant encore, la méthodologie est stéréodivergente, c'est à dire que la configuration de l'adduit d'étain est contrôlée exclusivement par l'auxiliaire *tert*-butanesulfinyle. Le processus de formation de la liaison C–C est stéréorétentif, la synthèse de dérivés imino-C-glycosylés est stéréocontrôlée.

Ces méthodologies représentent des stratégies puissantes capable de fournir des glycosamine-C-glycosides de manière efficace, ainsi que potentiellement des analogues d'iminosucres. Une extension supplémentaire de la réaction de couplage avec d'autres électrophiles tels que les halogénures d'aryle ou des halogénures hétérocycliques devrait considérablement élargir le scope du procédé et est actuellement l'objet d'études.

En résumé, nous avons synthétisé trois nouveaux analogues de la *N*-acétylglucosamine C-glycosylée par 4 étapes supplémentaires de réduction, déprotection, méthylation et cyclisation (Schéma 18).

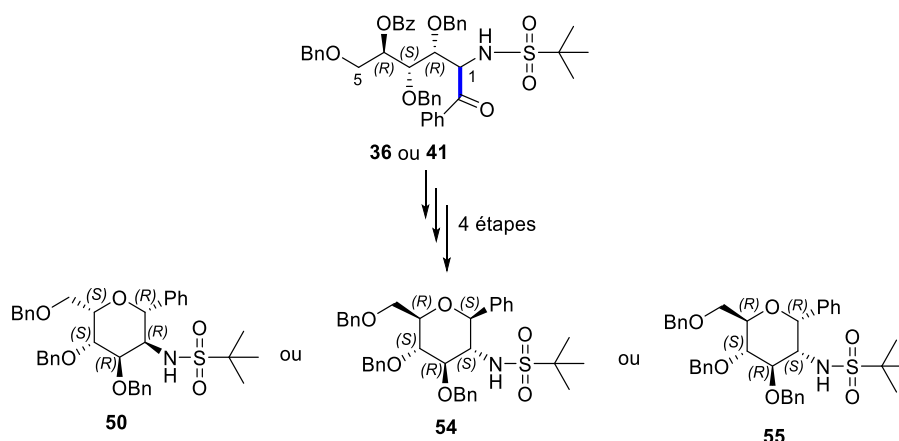


Schéma 18 : Cyclisation du composé **36** et **41**

Les configurations des carbones et l'arrangement conformationnel 1C_4 ou 4C_1 des oses ont été déterminées en fonction de la valeur des constantes de couplage entre les protons des cycles et sur la base de l'analyse RMN par des spectres NOESY.

5. Partie expérimentale

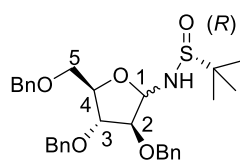
5-1) GENERAL

Unless otherwise stated, all reagents were purchased from commercial sources and used as received. Diisopropylamine was distilled over KOH prior to use. *n*-BuLi was titrated using salicylaldehyde phenylhydrazone as indicator. Toluene (puriss. p.a., ACS reagent, $\geq 99.7\%$ (GC)) and THF (99.9% GC) with 2,6-di-*tert*butyl-4-methylphenol (250 mg/L) as stabilizer were purified by passage through a column containing activated alumina under nitrogen pressure (Dry Solvent Station GT S100, GlassTechnology, Geneva, CH). Dichloromethane (99.99% GC) was distilled from calcium hydride and used as solvent in reactions under anhydrous conditions. 4 Å MS was activated by drying in an oven at 500 °C (48 h). It was then allowed to reach room temperature and kept over CaCl₂ in a desiccator prior to use. NMR spectra were recorded at 298 K with a Bruker Avance III HD nanobay 400 MHz spectrometer equipped with a BBO probe. The nuclei-signal assignments were done with the aid of 1 D [¹H-NMR, ¹³C-NMR, Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT)] and 2 D Correlation Spectroscopy [(¹H-¹H COSY and ¹H-¹³C Heteronuclear Single Quantum Coherence (HSQC)) experiments. When appropriate or in case of ambiguous protons and carbons, assignments were established using heteronuclear multiple-bond correlation (HMBC), and nuclear Overhauser effect spectroscopy (NOESY). ¹H-NMR (400 MHz) chemical shift values are listed in parts per million (ppm) downfield from TMS as the internal standard or relative to the corresponding non-deuterated solvent. Data are reported as follows: chemical shift (ppm on the δ scale), multiplicity (s = singlet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet and po = partially overlapped), coupling constant *J* (Hz), and integration. ¹³C-NMR (101 MHz) chemical shifts are given in ppm relative to the corresponding nondeuterated solvent. High-resolution mass spectra (HRMS) were recorded with a Bruker MaXis ESI qTOF ultrahigh-resolution mass spectrometer (FR2708, Orléans) coupled to a Dionex Ultimate 3000 RSLC system. Infrared spectra were recorded with a Thermo Scientific Nicolet IS10 FTIR spectrometer using diamond ATR golden gate sampling and are reported in wave numbers (cm⁻¹). Specific optical rotations were measured with a Perkin-Elmer 341 polarimeter in a thermostated (20 °C) 1 dm long cell with highpressure sodium lamp and are reported as follow: $[\alpha]_D^{25}$ [solvent, c (g/ 100 mL)]. Analytical thin-layer chromatography (TLC) was performed with Merck Silica Gel 60 F254 precoated plates. Visualization of the developed chromatogram was performed under ultraviolet light (254 nm) and on staining by immersion in aqueous, acidic ceric ammonium molybdate (CAM) followed by heating on a hot plate. Flash chromatography was performed in air on silica gel 60 (230–400 mesh) with petroleum ether (PE, bp 40–65 °C) and ethyl acetate as eluents, unless otherwise stated. Organic solutions were concentrated under reduced pressure with a Buchi rotary evaporator. The diastereomeric ratio (dr) was determined by ¹H-NMR analysis.

GENERAL PROCEDURE A for the Stille Cross-Coupling Reaction of Stannylated Iminosugars

An oven dried 2–5 mL microwave reaction vial was charged with corresponding stannylated iminoalditol derivative **34** et **35** (2.0 equiv.), Pd₂(dba)₃ (2.5 mol%), JackiePhos (10 mol%), CuCl (10 mol%), 4 Å activated molecular sieves and a microwave magnetic stir bar. The reaction content was degassed under reduced pressure, and the flask was filled back with argon (Ar-filled balloon) three times. Dry 1,4-dioxane and the aroyl chloride (1.0 equiv.) were then added via syringe, the vial was sealed and the reaction mixture was heated (regular heating) during 6 h, at 100 °C under argon atmosphere. After cooling to room temperature, the cap was removed, the brown solution was diluted (CH₂Cl₂) and the mixture was filtered through celite®. Next, the cake was rinsed (CH₂Cl₂) and the filtrate solution was concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by column chromatography on silica gel (SiO₂) to give the cross-coupled product in good yield (50–88%).

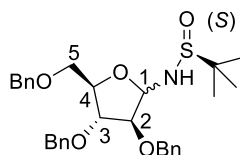
2,3,5-Tri-*O*-benzyl-(*S_R*)-*N*-*tert*-butanesulfinyl- α/β -D-arabinofuranosylamine (**26**)



Chemical Formula: C₃₀H₃₇NO₅S
Molecular Weight: 523,6880

To a 20 mL of microwave reaction vial under argon atmosphere, was added commercial 2,3,5-tri-*O*-benzyl- α/β -D-arabinofuranose (1.0 g, 1.0 equiv., 2.38 mmol), dry toluene (5 mL), 4 Å activated molecular sieves (0.95 g) and (*R*)-(+)-2-methyl-2-propanesulfinamide (0.57 g, 2 equiv., 4.75 mmol) and magnetic stirring bar under argon atmosphere. After 10 min of stirring at room temperature (ca. 20 °C), Titanium (IV) ethoxide ((Ti(OEt)₄, 0.75 mL, 1.5, equiv., 3.57 mmol) was then inserted, the vial was sealed and reaction mixture was stirred at 110 °C for 1.5 h under microwave irradiation. After cooling to room temperature, the cap was removed, the slightly brown solution was diluted (CH₂Cl₂:brine 15 mL:5 mL) and the mixture was vigorously stirred for 10 min at 20 °C. Next, the molecular sieves and precipitate were filtered over Celite® and the cake was rinsed with CH₂Cl₂. The phases were separated and the aqueous phase was extracted twice with CH₂Cl₂ (2 × 15 mL). Combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered through a cotton plug and the solvents were evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (SiO₂, petroleum ether/EtOAc 7:3 to 5:5, v/v) to provide compound **26** as a yellow syrup (1.12 g, 90%). Mixture of anomers which was not assigned (α/β 6:4). *R_f* = 0.3 and 0.2 (SiO₂, petroleum ether/EtOAc 6:4, v/v). **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃/TMS)**: δ = 7.35 – 7.09 (po, 15 H, H_{Ar} maj + H_{Ar} min), 5.26 (dd, *J* = 8.9, 4.5 Hz, 0.6 H, H-1 maj), 5.16 (br d, *J* = 10.8 Hz, 0.4 H, H-1 min), 4.72 (d, *J* = 8.9 Hz, 0.6 H, NH maj), 4.56 – 4.33 (po, 6.8 H, 3 × OCH₂Ph maj + 3 × OCH₂Ph min + H-4 min + NH min), 4.01 – 3.89 (po, 1.6 H, H-4 maj + H-2 maj + H-3 min), 3.89 – 3.81 (po, 1 H, H-2 min + H-3 maj), 3.55 (dd, *J* = 9.8, 4.9 Hz, 0.4 H, H-5 min), 3.51 – 3.36 (po, 1.6 H, H-5' min + H-5 maj + H-5' maj), 1.13 (s, 5.4 H, 3 × CH₃ maj), 1.06 (s, 3.6 H, 3 × CH₃ min) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃/TMS)**: δ = 138.2 (C, C_{Ar} min), 138.1 (C, C_{Ar} maj), 137.7 (C, C_{Ar} maj), 137.4 (C, C_{Ar} min), 137.3 (C, C_{Ar} min), 137.1 (C, C_{Ar} maj), 128.6 – 127.7 (CH, CH_{Ar} maj + CH_{Ar} min), 91.8 (CH, C-1 min), 87.5 (CH, C-1 maj), 86.6 (CH, C-2 min), 82.9 (CH, C-3 min), 82.7 (CH, C-2 maj + C-3 maj), 81.9 (CH, C-4 min), 80.0 (CH, C-4 maj), 73.4 (CH₂, OCH₂Ph maj), 73.4 (CH₂, OCH₂Ph min), 72.5 (CH₂, OCH₂Ph min), 71.9 (CH₂, OCH₂Ph maj), 71.9 (CH₂, OCH₂Ph maj), 71.9 (CH₂, OCH₂Ph min), 70.5 (CH₂, C-5 maj), 70.1 (CH₂, C-5 min), 56.1 (C, S(O)C(CH₃)₃ maj + S(O)C(CH₃)₃ min), 22.6 (CH₃, C(CH₃)₃ maj), 22.5 (CH₃, C(CH₃)₃ min) ppm. **IR (neat)**: $\tilde{\nu}$ = 3030, 2865, 1454, 1363, 1207, 1075, 1027, 750 cm⁻¹. **HRMS (ESI)**: *m/z* calcd. for C₃₀H₃₈NO₅S [M + H]⁺ 524.246521; found: 524.246530.

2,3,5-Tri-*O*-benzyl-(*S_S*)-*N*-*tert*-butanesulfinyl- α/β -D-arabinofuranosylamine (**27**)

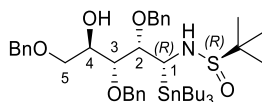


Chemical Formula: C₃₀H₃₇NO₅S
Molecular Weight: 523,6880

To a 20 mL of microwave reaction vial under argon atmosphere was added 2,3,5-tri-*O*-benzyl- α/β -D-arabinofuranose (2.0 g, 1.0 equiv., 4.75 mmol), dry toluene (10 mL), 4 Å activated molecular sieves (1.90 g) and (*S*)-(+)-2-methyl-2-propanesulfinamide (1.15 mg, 2 equiv., 9.51 mmol). After 10 min of stirring at room temperature (ca. 20 °C), Titanium (IV) ethoxide (1.50 mL, 1.5, equiv., 7.13 mmol) was

then inserted, the vial was sealed and the reaction mixture was stirred at 110 °C for 1.5 h under microwave irradiation. After cooling to room temperature, the cap was removed, the slightly brown solution was diluted in (CH₂Cl₂/brine 30 ml/10 mL) and the mixture was vigorously stirred for 10 min at 20 °C. Next, the molecular sieves and precipitate were filtered over Celite® and the cake was rinsed with CH₂Cl₂. The phases were separated and the aqueous phase was extracted twice with CH₂Cl₂ (2 × 30 mL). Combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered through a cotton plug and the solvents were evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (SiO₂, petroleum ether/EtOAc 5:5, v/v) to afford compound **27** as a yellow syrup (2.09 g, 84%). Mixture of anomers which was not assigned (α/β 6:4). R_f = 0.3 (SiO₂, petroleum ether/EtOAc 5:5, v/v). **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃/TMS):** δ = 7.38 – 7.20 (po, 15 H, H_{Ar} maj + H_{Ar} min), 5.33 (br d, J = 9.9 Hz, 0.6 H, H-1 maj), 5.26 (dd, J = 11.0, 4.2 Hz, 0.4 H, H-1 min), 4.81 (d, J = 9.9 Hz, 0.6 H, NH maj), 4.63 – 4.46 (po, 6 H, 3 × OCH₂Ph maj + 2.5 × OCH₂Ph min + NH min), 4.42 (d, J = 11.9 Hz, 0.4 H, 0.5 × OCH₂Ph min), 4.35 – 4.30 (m, 0.6 H, H-4 maj), 4.14 – 4.11 (m, 0.6 H, H-2 maj), 4.11 – 4.06 (m, 0.4 H, H-4 min), 4.06 – 4.02 (m, 0.4 H, H-3 min), 3.98 – 3.95 (m, 0.6 H, H-3 maj), 3.89 (dd, J = 4.2, 2.4, Hz, 0.4 H, H-2 min), 3.64 – 3.47 (po, 2 H, H-5 min + H-5' min + H-5 maj + H-5' maj), 1.15 (s, 3.9 H, 3 × CH₃ min), 1.14 (s, 5.1 H, 3 × CH₃ maj) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃/TMS):** δ = 138.2 (C, C_{Ar} min), 138.1 (C, C_{Ar} maj), 137.7 (C, C_{Ar} maj), 137.3 (C, C_{Ar} min), 137.2 (C, C_{Ar} min), 137.1 (C, C_{Ar} maj), 128.6 – 127.7 (CH, CH_{Ar} maj + CH_{Ar} min), 91.2 (CH, C-1 min), 87.6 (CH, C-1 maj), 85.8 (CH, C-2 min), 82.9 (CH, C-3 min), 82.7 (CH, C-2 maj + C-3 maj), 82.6 (CH, C-4 min), 80.8 (CH, C-4 maj), 73.4 (CH₂, OCH₂Ph maj), 73.4 (CH₂, OCH₂Ph min), 72.0 (CH₂, OCH₂Ph min), 71.9 (CH₂, OCH₂Ph maj), 71.9 (CH₂, OCH₂Ph maj), 71.7 (CH₂, OCH₂Ph min), 70.3 (CH₂, C-5 maj), 70.1 (CH₂, C-5 min), 56.2 (C, S(O)C(CH₃)₃ maj + S(O)C(CH₃)₃ min), 22.6 (CH₃, C(CH₃)₃ maj), 22.4 (CH₃, C(CH₃)₃ min) ppm. **IR (neat):** $\tilde{\nu}$ = 3245, 3031, 2866, 1454, 1364, 1266, 1206, 1072, 1027, 733 cm⁻¹. **HRMS (ESI):** m/z calcd. for C₃₀H₃₈NO₅S [M + H]⁺ 524.246521; found: 524.246347.

(1*R*)-2,3,5-Tri-*O*-benzyl-1-(*S_R*)-*N*-tert-butanefulfinylamino-1-tributylstannyl-1-deoxy-D-arabinitol (28)

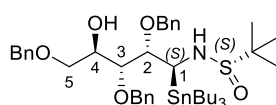


Chemical Formula: C₄₂H₆₅NO₅SSn
Molecular Weight: 814,75

A single-necked round-bottomed flask under argon atmosphere was charged with diisopropylamine (1.82 mL, 3.5 equiv., 12.96 mmol) and dry THF (25 mL). The solution was cooled to 0 °C (ice–water bath) and *n*-BuLi (1.68 M in hexanes, 7.70 mL, 3.5 equiv., 12.96 mmol) was added dropwise. The resulting light yellow cloudy solution was stirred for 30 min at 0 °C, after which time it was cooled to –78 °C (dry ice–acetone) and tributyltin hydride (Bu₃SnH, 3.49 mL, 3.5 equiv., 12.96 mmol) was added (dropwise addition) (flask A). The mixture was stirred for 15 min at –78 °C. In parallel, another single-necked round-bottomed flask under argon atmosphere was charged with compound **26** (1.94 g, 1.0 equiv., 3.70 mmol) and dry THF (15 mL) was added (solution B). Solution B was added to flask A (dropwise addition with a syringe) at –78 °C and the reaction mixture was allowed to reach –20 °C over 2 h. Saturated aqueous NH₄Cl (30 mL) was then added, the organic layer was diluted (EtOAc) and the aqueous phase was extracted twice with EtOAc (2 × 100mL). Combined organic layers were washed with brine (30 mL), dried over MgSO₄, filtered through a cotton plug, and the solvents were removed *under reduced pressure*. The crude product (dr > 98:2) was purified by SiO₂–column chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/acetone 40:1, v/v) to provide the tributylstannyl aminoalditol compound **28** as a single diastereomer in good yield (2.56 g, 85%, colorless oil). R_f = 0.3 (SiO₂, CH₂Cl₂/acetone 20:1, v/v). $[\alpha]_D^{20}$ +2.5 (c 1.05, CHCl₃). **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃/TMS):** δ 7.38 – 7.21 (po, 15 H, H_{Ar}), 4.85 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.77 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.71 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, 0.5 ×

OCH₂Ph), 4.66 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.60 (d, J = 11.8 Hz, 1 H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.54 (d, J = 11.8 Hz, 1 H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.40 – 4.20 (m, 1 H, H-2), 3.97 – 3.90 (m, 1 H, H-4), 3.78 – 3.59 (po, 4 H, H-1, H-5, H-5', NH), 3.51 (dd, J = 7.8, 5.7 Hz, 1 H, H-3), 2.88 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, OH), 1.50 – 1.36 (m, 6 H, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃), 1.30 – 1.20 (m, 6 H, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃), 1.12 (s, 9 H, S(O)C(CH₃)₃), 0.95 – 0.80 (po, 15 H, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃/TMS):** δ 139.0 (C, C_{Ar}), 138.6 (C, C_{Ar}), 138.2 (C, C_{Ar}), 128.5 – 127.6 (CH, CH_{Ar}), 86.5 (CH, C-2), 82.7 (CH, C-3), 74.9 (CH₂, OCH₂Ph), 74.5 (CH₂, OCH₂Ph), 73.6 (CH₂, OCH₂Ph), 71.7 (CH, C-4), 71.1 (CH₂, C-5), 55.9 (C, S(O)C(CH₃)₃), 52.7 (CH, C-1, $J(^{119}\text{Sn}-\text{C})$ = 337.3 Hz, $J(^{117}\text{Sn}-\text{C})$ = 322.6 Hz), 29.3 (CH₂, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃, satellites: 29.4, 29.2), 27.6 (CH₂, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃, $J(^{119}\text{Sn}-\text{C})$ = 61.0 Hz, $J(^{117}\text{Sn}-\text{C})$ = 58.7 Hz), 22.7 (CH₃, S(O)C(CH₃)₃), 13.8 (CH₃, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃), 10.7 (CH₂, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃, $J(^{119}\text{Sn}-\text{C})$ = 321.2 Hz, $J(^{117}\text{Sn}-\text{C})$ = 307.0 Hz) ppm. **IR (neat):** $\tilde{\nu}$ = 3398, 3088, 3066, 3030, 2955, 2922, 2869, 1454, 1042, 732, 696 cm⁻¹. **HRMS (ESI):** m/z calcd. for C₄₂H₆₅NNaO₅SSn [M + Na]⁺ 838.3497, found 838.3502.

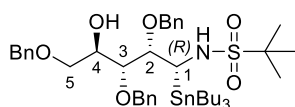
(1S)-2,3,5-Tri-O-benzyl-1-(S_S)-N-tert-butanefulfinylamino-1-tributylstannyl-1-deoxy-D-arabinitol (29)



Chemical Formula: C₄₂H₆₅NNaO₅SSn
Molecular Weight: 814,75

A single-necked round-bottomed flask under argon atmosphere was charged with diisopropylamine (2.70 mL, 3.5 equiv., 19.25 mmol) and dry THF (30 mL). The solution was cooled to 0 °C (ice–water bath) and n-BuLi (1.90 M in hexanes, 10.10 mL, 3.5 equiv., 19.25 mmol) was added dropwise. The resulting light yellow cloudy solution was stirred for 30 min at 0 °C, after which time it was cooled to –78 °C (dry ice–acetone) and tributyltin hydride (Bu₃SnH, 5.20 mL, 3.5 equiv., 19.25 mmol) was added (dropwise addition) (flask A). The mixture was stirred for 15 min at –78 °C. In parallel, another single-necked round-bottomed flask under argon atmosphere was charged with compound **27** (2.90 g, 1.0 equiv., 5.50 mmol) and dry THF (15 mL) was added (solution B). Solution B was added to flask A (dropwise addition with a syringe) at –78 °C and the reaction mixture was allowed to reach –20 °C over 2 h. Saturated aqueous NH₄Cl (30 mL) was then added, the organic layer was diluted (EtOAc) and the aqueous phase was extracted twice with EtOAc (2 × 100mL). Combined organic layers were washed with brine (30 mL), dried over MgSO₄, filtered through a cotton plug, and the solvents were removed *under reduced pressure*. The crude product (dr > 98:2) was purified by SiO₂–column chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/acetone 40:1 to 10:1, v/v) to provide the tributylstannyl aminoalditol compound **29** as a single diastereomer in good yield (3.90 g, 87%, colorless oil). R_f = 0.1 (SiO₂, CH₂Cl₂/acetone 40:1, v/v). $[\alpha]_D^{20}$ –19.0 (c 1.06, CHCl₃). **¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃/TMS):** δ 7.40 – 7.19 (po, 15 H, H_{Ar}), 4.77 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.75 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.62 (d, J = 11.1 Hz, 1 H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.58 – 4.48 (po, 3 H, 1.5 × OCH₂Ph), 4.27 – 4.18 (m, 1 H, H-4), 4.07 – 3.89 (po, 3 H, H-2, H-3, NH), 3.78 – 3.59 (po, 3 H, H-1, H-5, H-5'), 3.49 (d, J = 5.7 Hz, 1 H, OH), 1.49 – 1.11 (po, 21 H, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃, S(O)C(CH₃)₃), 0.95 – 0.65 (po, 15 H, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃/TMS):** δ 138.4 (C, C_{Ar}), 138.4 (C, C_{Ar}), 138.3 (C, C_{Ar}), 128.5 – 127.7 (CH, CH_{Ar}), 83.7 (CH, C-2 or C-3), 81.7 (CH, C-3 or C-2, satellites: 81.8, 81.5), 74.0 (CH₂, OCH₂Ph), 73.8 (CH₂, OCH₂Ph), 73.6 (CH₂, OCH₂Ph), 71.4 (CH₂, C-5), 71.3 (CH, C-4), 56.2 (C, S(O)C(CH₃)₃), 50.2 (CH, C-1, $J(^{119}\text{Sn}-\text{C})$ = 353.2 Hz, $J(^{117}\text{Sn}-\text{C})$ = 337.7 Hz), 29.3 (CH₂, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃, satellites: 29.4, 29.2), 27.6 (CH₂, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃, $J(^{119}\text{Sn}-\text{C})$ = 60.8 Hz, $J(^{117}\text{Sn}-\text{C})$ = 58.0 Hz), 23.0 (CH₃, S(O)C(CH₃)₃), 13.8 (CH₃, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃), 10.7 (CH₂, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃, $J(^{119}\text{Sn}-\text{C})$ = 320.5 Hz, $J(^{117}\text{Sn}-\text{C})$ = 306.1 Hz) ppm. **IR (neat):** $\tilde{\nu}$ = 3333, 3088, 3063, 3030, 2953, 2921, 2869, 1454, 1059, 1027, 731, 695 cm⁻¹. **HRMS (ESI):** m/z calcd. for C₄₂H₆₅NNaO₅SSn [M + Na]⁺ 838.3497, found 838.3499.

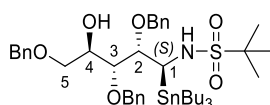
(1R)-2,3,5-Tri-O-benzyl-1-N-tert-butanesulfonylamino-1-tributylstannyl-1-deoxy-D-arabinitol (31)



Chemical Formula: $C_{42}H_{65}NO_6SSn$
Molecular Weight: 831,36

A single-necked round-bottomed flask under argon atmosphere was charged with open-chain stannane **28** (1.95 g, 1.0 equiv., 2.39 mmol), a magnetic stir bar and anhydrous CH_2Cl_2 (35 mL). The reaction vessel was cooled-down to 0 °C (ice–water bath) and *meta*-chloroperoxy benzoic acid (*m*-CPBA $\leq$ 77 wt%, 536 mg, 1.3 equiv., 3.10 mmol) was added. The reaction mixture was stirred at 0 °C (ice–water bath) and it was allowed to reach room temperature over 40 min. The progress of the reaction was monitored by TLC analysis of the crude mixture. When the reaction was complete, a sat. aq. solution of $Na_2S_2O_3$ (35 mL) was added, followed by CH_2Cl_2 (50 mL) and the aqueous phase was extracted thrice with CH_2Cl_2 (3 $\times$ 50 mL). The combined organic phase was washed sequentially with sat. aq. $Na_2S_2O_3$ solution (35 mL), sat. aq. $NaHCO_3$ solution (35 mL), brine and then dried over $MgSO_4$. After filtration of the organic phase through a cotton plug and solvent evaporation under reduced pressure, the residue was purified by silica gel column chromatography (SiO_2 , petroleum ether/EtOAc 10:1, v/v) to afford the oxidized product **31** in excellent yield (1.84 g, 93%) as a colorless oil. R_f = 0.24 (SiO_2 , petroleum ether/EtOAc 9:1, v/v). $[\alpha]_D^{20}$ +9.7 (c 1.3, $CHCl_3$). **1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$ /TMS):** δ 7.39 – 7.15 (po, 15 H, H_{Ar}), 4.86 (d, J = 11.2 Hz, 1 H, $0.5 \times OCH_2Ph$), 4.76 – 4.65 (po, 3 H, $1.5 \times OCH_2Ph$), 4.57 (d, J = 11.9 Hz, 1 H, $0.5 \times OCH_2Ph$), 4.52 (d, J = 11.9 Hz, 1 H, $0.5 \times OCH_2Ph$), 4.23 – 4.08 (po, 2 H, H-2, NH), 4.04 – 3.96 (m, 1 H, H-4), 3.88 – 3.64 (po, 3 H, H-1, H-5, H-5'), 3.53 (dd, J = 7.9, 5.5 Hz, 1 H, H-3), 2.96 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, OH), 1.57 – 1.37 (m, 6 H, $Sn(CH_2CH_2CH_2CH_3)_3$), 1.32 (s, 9 H, $SO_2C(CH_3)_3$), 1.38 – 1.19 (m, 6 H, $Sn(CH_2CH_2CH_2CH_3)_3$), 1.05 – 0.89 (m, 6 H, $Sn(CH_2CH_2CH_2CH_3)_3$), 0.86 (t, 9 H, J = 7.3 Hz, $Sn(CH_2CH_2CH_2CH_3)_3$) ppm. **^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$ /TMS):** δ 138.7 (C, C_{Ar}), 138.3 (C, C_{Ar}), 138.0 (C, C_{Ar}), 128.4 – 127.6 (CH, CH_{Ar}), 87.7 (CH, C-2), 82.6 (CH, C-3), 75.1 (CH_2 , OCH_2Ph), 74.6 (CH_2 , OCH_2Ph), 73.4 (CH_2 , OCH_2Ph), 71.5 (CH, C-4), 70.9 (CH_2 , C-5), 59.8 (C, $SO_2C(CH_3)_3$), 49.9 (CH, C-1, $J(^{119}Sn-C)$ = 310.4 Hz, $J(^{117}Sn-C)$ = 297.0 Hz), 29.1 (CH_2 , $SnCH_2CH_2CH_2CH_3$, satellites: 29.1, 29.0), 27.5 (CH_2 , $SnCH_2CH_2CH_2CH_3$, $J(^{119}Sn-C)$ = 62.8 Hz, $J(^{117}Sn-C)$ = 60.3 Hz), 24.1 (CH_3 , $SO_2C(CH_3)_3$), 13.6 (CH_3 , $Sn(CH_2CH_2CH_2CH_3)_3$), 10.7 (CH_2 , $SnCH_2CH_2CH_2CH_3$, $J(^{119}Sn-C)$ = 323.5 Hz, $J(^{117}Sn-C)$ = 309.1 Hz) ppm. **IR (neat):** $\tilde{\nu}$ = 3493, 3294, 3088, 3069, 3034, 2955, 2926, 2866, 1457, 1321, 1128, 1087, 1071, 1023, 868, 735, 697 cm^{-1} . **HRMS (ESI):** m/z calcd. for $C_{42}H_{65}NNaO_6SSn$ [$M + Na$] $^+$ 854.344675, found 854.344667.

(1S)-2,3,5-Tri-O-benzyl-1-N-tert-butanesulfonylamino-1-tributylstannyl-1-deoxy-D-arabinitol (32)

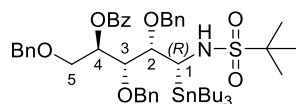


Chemical Formula: $C_{42}H_{65}NO_6SSn$
Molecular Weight: 830,75

A single-necked round-bottomed flask under argon atmosphere was charged with open-chain stannane **29** (2.90 g, 1.0 equiv., 3.57 mmol), a magnetic stir bar and anhydrous CH_2Cl_2 (50 mL). The reaction vessel was cooled-down to 0 °C (ice–water bath) and *meta*-chloroperoxy benzoic acid (*m*-CPBA $\leq$ 77 wt%, 801 mg, 1.3 equiv., 4.64 mmol) was added. The reaction mixture was stirred at 0 °C (ice–water bath) and it was allowed to reach room temperature over 40 min. The progress of the reaction was monitored by TLC analysis of the crude mixture. When the reaction was complete, a sat. aq. solution of $Na_2S_2O_3$ (50 mL) was added, followed by CH_2Cl_2 (70 mL) and the aqueous phase was extracted thrice with CH_2Cl_2 (3 $\times$ 70 mL). The combined organic phase was washed sequentially with

sat. aq. Na₂S₂O₃ solution (50 mL), sat. aq. NaHCO₃ solution (50 mL), brine and then dried over MgSO₄. After filtration of the organic phase through a cotton plug and solvent evaporation under reduced pressure, the residue was purified by silica gel column chromatography (SiO₂, petroleum ether/EtOAc 9:1, v/v) to give the oxidized product **32** in excellent yield (2.70 g, 92%) as a colorless oil. *R*_f = 0.3 (SiO₂, petroleum ether/EtOAc 9:1, v/v). [α]_D²⁰ −12.1 (c 1.0, CHCl₃). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃/TMS): δ 7.39 – 7.20 (po, 15 H, H_{Ar}), 4.65 (br s, 2 H, OCH₂Ph), 4.62 – 4.56 (po, 3 H, OCH₂Ph, NH), 4.52 (br s, 2 H, OCH₂Ph), 4.38 – 4.15 (m, 1 H, H-2), 4.21 – 4.13 (m, 1 H, H-4), 3.80 (t, *J* = 6.1 Hz, 1 H, H-3), 3.77 – 3.64 (po, 2 H, H-1, H-5), 3.59 (dd, *J* = 9.5, 6.4 Hz, 1 H, H-5'), 3.13 (d, *J* = 6.1 Hz, 1 H, OH), 1.47 – 1.30 (po, 15 H, SO₂C(CH₃)₃, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃), 1.30 – 1.18 (m, 6 H, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃), 0.93 – 0.72 (po, 15 H, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃) ppm. ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃/TMS): δ 138.1 (C, C_{Ar}), 138.0 (C, C_{Ar}), 138.0 (C, C_{Ar}), 128.6 (CH, 2 × CH_{Ar}), 128.6 (CH, 2 × CH_{Ar}), 128.5 (CH, 2 × CH_{Ar}), 128.4 (CH, 2 × CH_{Ar}), 128.0 (CH, 2 × CH_{Ar}), 128.0 (CH, 2 × CH_{Ar}), 128.0 (CH, CH_{Ar}), 127.9 (CH, CH_{Ar}), 127.8 (CH, CH_{Ar}), 84.9 (CH, C-2), 80.1 (CH, C-3, satellites: 80.1, 80.0), 73.8 (CH₂, OCH₂Ph), 73.7 (CH₂, OCH₂Ph), 73.5 (CH₂, OCH₂Ph), 71.4 (CH₂, C-5), 70.8 (CH, C-4), 59.8 (C, SO₂C(CH₃)₃), 46.0 (CH, C-1, *J*(¹¹⁹Sn–C) = 337.1 Hz, *J*(¹¹⁷Sn–C) = 322.2 Hz), 29.2 (CH₂, SnCH₂CH₂CH₂CH₃, satellites: 29.3, 29.1), 27.6 (CH₂, SnCH₂CH₂CH₂CH₃, *J*(¹¹⁹Sn–C) = 62.0 Hz, *J*(¹¹⁷Sn–C) = 60.8 Hz), 24.4 (CH₃, SO₂C(CH₃)₃), 13.7 (CH₃, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃), 11.1 (CH₂, SnCH₂CH₂CH₂CH₃, *J*(¹¹⁹Sn–C) = 323.8 Hz, *J*(¹¹⁷Sn–C) = 309.5 Hz) ppm. IR (neat): $\tilde{\nu}$ = 3483, 3363, 3300, 3087, 3066, 3028, 2955, 2917, 2869, 2847, 1454, 1312, 1125, 1084, 1055, 1023, 735, 694 cm^{−1}. HRMS (ESI): *m/z* calcd. for C₄₂H₆₅NNaO₆SSn [M + Na]⁺ 854.3446, found 854.3449.

(1*R*)-4-*O*-Benzoyl-2,3,5-tri-*O*-benzyl-1-*N*-tert-butanesulfonylamino-1-deoxy-1-tributylstannyl-D-arabinitol (34**)**

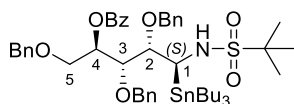


Chemical Formula: C₄₉H₆₉NO₇SSn
Molecular Weight: 934.86

The aminoalditol **31** (1.48 g, 1.0 equiv., 1.78 mmol) was dissolved in anhydrous CH₂Cl₂ (25 mL) under argon atmosphere, and 4 Å activated molecular sieves and TMEDA (0.32 mL, 1.2 equiv., 2.14 mmol) were added. After 10 min of stirring, benzoyl chloride (0.25 mL, 1.2 equiv., 2.14 mmol) was added, and the mixture was then stirred further at the same temperature (ca. 20 °C) for 2 h. Once completion, the crude mixture was quenched by addition of a phosphate buffer solution (pH=7) and it was diluted with CH₂Cl₂ (25 mL). The phases were separated and the aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ three times (3 × 25 mL). Next, the combined organic extracts were washed with water (25 mL), brine (25 mL), dried over MgSO₄, filtered through a cotton plug and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel column chromatography (SiO₂, Pentane:EtOAc 95:5, v/v) to afford compound **34** (1.57g, 94%) as a colorless oil. *R*_f = 0.63 (SiO₂, petroleum ether/EtOAc 9:1, v/v). [α]_D²⁰ +48.1 (c 1.0, CHCl₃). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃/TMS): δ 8.03 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.56 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H_{Ar}), 7.43 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.36 – 7.31 (m, 2H, H_{Ar}), 7.30 – 7.23 (po, 13H, H_{Ar}), 5.58 – 5.55 (m, 1H, H-4), 4.88 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.77 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.66 (t, *J* = 11.0 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4.58 (dd, *J* = 22.4, 11.6 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4.20 (dd, *J* = 9.1, 1.3 Hz, 1H, H-2), 4.11 – 4.01 (po, 3H, H-5, H-5', NH), 3.78 (dd, *J* = 11.0, 1.3 Hz, 1H, H-1), 3.68 (dd, *J* = 9.1, 2.2 Hz, 1H, H-3), 1.52 – 1.38 (m, 6H, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃), 1.35 (s, 9H, SO₂C(CH₃)₃), 1.23 (h, *J* = 7.3 Hz, 6H, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃), 1.01 – 0.86 (m, 6H, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃), 0.81 (t, *J* = 7.3 Hz, 9H, Sn(CH₂CH₂CH₂CH₃)₃) ppm. ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃/TMS): δ 165.9 (C, C=O), 138.7 (C, C_{Ar}), 138.5 (C, C_{Ar}), 138.2 (C, C_{Ar}), 133.0 (CH_{Ph}), 130.3 (C, C_{Ar}), 129.8 (CH, CH_{Ar}), 128.3 – 127.4 (CH, CH_{Ar}), 86.5 (CH, C-2), 83.2 (CH, C-3), 75.5 (CH₂, OCH₂Ph), 75.1 (CH₂, OCH₂Ph), 74.8 (CH, C-4), 72.9 (CH₂, OCH₂Ph), 68.0 (CH₂, C-5), 60.0 (C, SO₂C(CH₃)₃), 50.6 (CH, C-1), 29.0 (CH₂, SnCH₂CH₂CH₂CH₃, satellites: 29.1, 28.9), 27.5 (CH₂, SnCH₂CH₂CH₂CH₃, satellites: 27.8, 27.1), 24.2 (CH₃, C(CH₃)₃), 13.6 (CH₃, SnCH₂CH₂CH₂CH₃), 10.7 (CH₂, SnCH₂CH₂CH₂CH₃, satellites: 12.3, 12.2, 9.1,

9.0) ppm. **IR (neat):** $\tilde{\nu}$ = 3277, 3088, 3063, 3031, 2954, 2923, 2870, 2854, 1713, 1453, 1316, 1270, 1124, 1093, 1068, 1046, 1026, 874, 734, 710, 696 cm^{-1} . **HRMS (ESI):** m/z calc. for $\text{C}_{49}\text{H}_{69}\text{NNaO}_7\text{SSn}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 958.370890, found 958.371788.

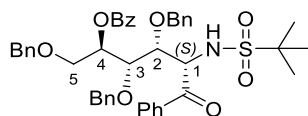
(1S)-4-O-Benzoyl-2,3,5-tri-O-benzyl-1-N-tert-butanesulfonylamino-1-deoxy-1-tributylstannyl-D-arabinitol (35)



Chemical Formula: $\text{C}_{49}\text{H}_{69}\text{NO}_7\text{SSn}$
Molecular Weight: 934,86

The aminoalditol compound **32** (943 mg, 1.0 equiv., 1.14 mmol) was dissolved in anhydrous CH_2Cl_2 (20 mL) under argon atmosphere, and 4 Å activated molecular sieves and TMEDA (0.21 mL, 1.2 equiv., 1.36 mmol) were added. After 10 min of stirring, benzoyl chloride (0.16 mL, 1.2 equiv., 1.36 mmol) was added, and the mixture was stirred further at the same temperature (ca. 20 °C) for 2 h. Once completion, the crude mixture was quenched by addition of a phosphate buffer solution (pH=7) and it was diluted with CH_2Cl_2 (20 mL). The phases were separated and the aqueous phase was extracted with CH_2Cl_2 (3 × 20 mL). Next, the combined organic extracts were washed with water (20 mL), brine (20 mL), dried over MgSO_4 , filtered through a cotton plug and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel column chromatography (SiO_2 , Pentane:EtOAc 95:5 to 9:1) to afford compound **35** (1.05 g, 98%) as a colorless oil. R_f = 0.52 (SiO_2 , petroleum ether/EtOAc 9:1, v/v). **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3/TMS):** δ 8.07 (dd, J = 8.4, 1.4 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.59 (t, J = 7.4 Hz, 1H, H_{Ar}), 7.45 (t, J = 7.7 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.33 – 7.25 (po, 15H, H_{Ar}), 5.73 – 5.70 (m, 1H, H-4), 4.90 (d, J = 11.2 Hz, 1H, 0.5 × OCH_2Ph), 4.73 (d, J = 10.9 Hz, 1H, 0.5 × OCH_2Ph), 4.62 (dd, J = 11.7, 10.0 Hz, 2H, OCH_2Ph), 4.56 (d, J = 10.9 Hz, 1H, 0.5 × OCH_2Ph), 4.48 (d, J = 12.1 Hz, 1H, 0.5 × OCH_2Ph), 4.33 – 4.27 (po, 2H, H-2, H-3), 4.14 (d, J = 10.4 Hz, 1H, NH), 4.10 (dd, J = 10.9, 3.3 Hz, 1H, H-5), 3.95 (dd, J = 10.9, 7.0 Hz, 1H, H-5), 3.71 (dd, J = 10.4, 4.3 Hz, 1H, H-1), 1.37 (s, 9H, $\text{SO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.35 – 1.25 (m, 6H, $\text{Sn}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1.20 (h, J = 13.7, 7.1 Hz, 6H, $\text{Sn}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 0.83 (t, J = 7.2 Hz, 9H, $\text{Sn}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 0.81 – 0.62 (m, 6H, $\text{Sn}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$) ppm. **$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3/TMS):** δ 166.0 (C, C=O), 138.2 (C, C_{Ar}), 137.9 (C, C_{Ar}), 137.8 (C, C_{Ar}), 133.0 (CH_{Ph}), 130.2 (C, C_{Ar}), 129.9 (CH, CH_{Ar}), 128.6 – 127.5 (CH, CH_{Ar}), 81.9 (CH, C-2), 80.2 (CH, C-3), 74.9 (CH_2 , OCH_2Ph), 74.6 (CH_2 , OCH_2Ph), 74.5 (CH, C-4), 73.0 (CH_2 , OCH_2Ph), 68.8 (CH_2 , C-5), 59.8 (C, $\text{SO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 46.8 (CH, C-1), 29.0 (CH_2 , $\text{SnCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, satellites: 29.1, 28.9), 27.5 (CH_2 , $\text{SnCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, satellites: 27.8, 27.1), 24.3 (CH_3 , $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 13.6 (CH_3 , $\text{SnCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 10.8 (CH_2 , $\text{SnCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, satellites: 12.4, 12.3, 9.3, 9.2) ppm. **IR (neat):** $\tilde{\nu}$ = 3088, 3059, 3028, 2955, 2923, 2870, 2851, 1717, 1454, 1312, 1271, 1125, 1093, 1065, 1024, 869, 736, 710, 698 cm^{-1} . **HRMS (ESI):** m/z calc. for $\text{C}_{49}\text{H}_{69}\text{NNaO}_7\text{SSn}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 958.370890, found 958.370813.

1-C-(1S)-1-Benzoyl-4-O-benzoyl-2,3,5-tri-O-benzyl-1-N-tert-butanesulfonylamino-1-deoxy-D-arabinitol (36)

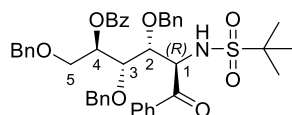


Chemical Formula: $\text{C}_{44}\text{H}_{47}\text{NO}_8\text{S}$
Molecular Weight: 749,92

The title compound was synthesized according to general procedure **A**, using stannane **34** (210 mg, 2.0 equiv., 0.22 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (2.57 mg, 2.5 mol%, 2.81 μmol), JackiePhos (8.95 mg, 10 mol%, 0.011 mmol), CuCl (1.11 mg, 10 mol%, 0.011 mmol), dry 1,4-dioxane (4.0 mL), benzoyl chloride (13 μL , 1.0

equiv., 0.11 mmol) and 400 mg 4 Å activated molecular sieves. The crude product was obtained as a single diastereomer. It was successively purified through regular silica gel column chromatography (CH₂Cl₂/MeOH 500:1, v/v) and preparative TLC (SiO₂, petroleum ether/Et₂O 2:1, v/v) to give desired compound **36** as a colorless oil (74 mg, 88%). *R*_f = 0.29 (SiO₂, petroleum ether/ EtOAc 9:1, v/v). $[\alpha]_D^{20} +20.31$ (c 0.86, CH₂Cl₂). **¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 8.04 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H, H_{Ar}), 8.00 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.63 (dd, *J* = 12.9, 6.8 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.52 – 7.48 (po, 4H, H_{Ar}), 7.42 – 7.23 (po, 10H, H_{Ar}), 7.09 (po, 3H, H_{Ar}), 6.87 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H, H_{Ar}), 6.57 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H, NH), 5.79 (dd, *J* = 9.4, 7.6 Hz, 1H, H-1), 5.53 – 5.49 (m, 1H, H-4), 4.97 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.90 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.55 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4.42 – 4.35 (po, 2H, 0.5 × OCH₂Ph, H-5), 4.28 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.13 (dd, *J* = 7.6, 2.1 Hz, 1H, H-3), 4.01 (dd, *J* = 3.8, 2.6 Hz, 2H, H-2, H-5'), 1.28 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 199.5 (C, C=O), 165.4 (C, C=O), 138.4 (C, C_{Ar}), 138.3 (C, C_{Ar}), 137.0 (C, C_{Ar}), 136.6 (CH_{Ph}), 133.7 (C, C_{Ar}), 133.3 (CH, CH_{Ar}), 132.8 (CH, CH_{Ar}), 130.15 (CH, CH_{Ar}), 129.6 (CH, CH_{Ar}), 129.5 (CH, CH_{Ar}), 128.9 – 127.4 (CH, CH_{Ar}), 80.5 (CH, C-2), 77.6 (CH, C-3), 74.3 (CH₂, OCH₂Ph), 73.8 (CH₂, OCH₂Ph), 73.0 (CH, C-4), 72.7 (CH₂, OCH₂Ph), 68.3 (CH₂, C-5), 59.2 (C, SO₂C(CH₃)₃), 57.4 (CH, C-1), 23.6 (C(CH₃)₃) ppm. **IR (neat):** $\tilde{\nu}$ = 3281, 3063, 3028, 2927, 2870, 1714, 1448, 1312, 1268, 1112, 1090, 1068, 1027, 979, 739, 701, 672 cm⁻¹. **HRMS (ESI):** *m/z* calc. for C₄₄H₄₇NNaO₈S [M + Na]⁺ 772.291459, found 772.290965.

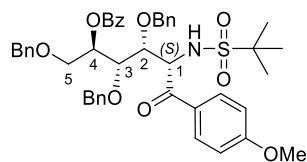
(1*R*)-1-*C*-Benzoyl-4-*O*-benzoyl-2,3,5-tri-*O*-benzyl-1-*N*-*tert*-butanesulfonylamino-1-deoxy-*D*-arabinitol (41**)**



Chemical Formula: C₄₄H₄₇NO₈S
Molecular Weight: 749.92

The title compound was synthesized according to general procedure **A**, using stannane **35** (810 mg, 2.0 equiv., 0.87 mmol), Pd₂(dba)₃ (9.92 mg, 2.5 mol%, 0.011 mmol), JackiePhos (34.51 mg, 10 mol%, 0.043 mmol), CuCl (4.29 mg, 10 mol%, 0.043 mmol), dry 1,4-dioxane (16.0 mL), benzoyl chloride (50.33 μL, 1.0 equiv., 0.43 mmol) and 1.60 g 4 Å activated molecular sieves. The crude product was obtained as a single diastereomer. It was successively purified through regular silica gel column chromatography (CH₂Cl₂/MeOH 400:1, v/v) and preparative TLC (SiO₂, petroleum ether/Et₂O 2:1, v/v) to give compound **41** as a colorless oil (262 mg, 81%). *R*_f = 0.38 (SiO₂, petroleum ether/ EtOAc 8:2, v/v). $[\alpha]_D^{20} +4.5$ (c 1.0, CHCl₃). **¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 8.09 (dd, *J* = 8.3, 1.4 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.85 (dd, *J* = 8.4, 1.4 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.66 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H_{Ar}), 7.57 – 7.50 (po, 3H, H_{Ar}), 7.36 – 7.21 (po, 15H, H_{Ar}), 7.18 (dd, *J* = 6.8, 3.0 Hz, 2H, H_{Ar}), 6.38 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H, NH), 5.64 (q, *J* = 4.9 Hz, 1H, H-4), 5.45 (dd, *J* = 9.7, 3.0 Hz, 1H, H-1), 4.75 (s, 2H, OCH₂Ph), 4.66 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.57 (s, 2H, OCH₂Ph), 4.44 (dd, *J* = 6.7, 4.9 Hz, 1H, H-3), 4.32 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.29 (dd, *J* = 6.7, 3.0 Hz, 1H, H-2), 4.02 (dd, *J* = 10.3, 4.8 Hz, 1H, H-5'), 3.86 (dd, *J* = 10.3, 4.9 Hz, 1H, H-5), 1.35 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 197.0 (C, C=O), 165.2 (C, C=O), 138.6 (C, C_{Ar}), 138.3 (C, C_{Ar}), 137.8 (C, C_{Ar}), 135.5 (CH, CH_{Ph}), 133.4 (C, C_{Ar}), 133.3 (CH, CH_{Ar}), 132.9 (CH, CH_{Ar}), 130.3 – 127.4 (CH, CH_{Ar}), 80.3 (CH, C-2), 78.3 (CH, C-3), 74.8 (CH₂, OCH₂Ph), 74.2 (CH₂, OCH₂Ph), 73.8 (CH, C-4), 72.8 (CH₂, OCH₂Ph), 67.9 (CH₂, C-5), 60.8 (C, SO₂C(CH₃)₃), 59.8 (CH, C-1), 23.7 (C(CH₃)₃) ppm. **IR (neat):** $\tilde{\nu}$ = 3088, 3062, 3031, 2955, 2923, 2870, 1717, 1689, 1603, 1581, 1451, 1321, 1290, 1268, 1128, 1100, 1071, 1027, 929, 729, 704 cm⁻¹. **HRMS (ESI):** *m/z* calc. for C₄₄H₄₇NNaO₈S [M + Na]⁺ 772.291459, found 772.291293.

(1S)-1-C-(4-Methoxybenzoyl)-4-O-benzoyl-2,3,5-tri-O-benzyl-1-N-tert-butanesulfonylamino-1-deoxy-D-arabinitol (37)

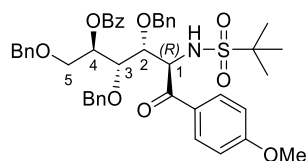


Chemical Formula: C₄₅H₄₉NO₉S

Molecular Weight: 779,95

The title compound was synthesized according to general procedure **A**, using stannane **34** (102 mg, 2.0 equiv., 0.109 mmol), Pd₂(dba)₃ (1.25 mg, 2.5 mol%, 1.36 μmol), JackiePhos (4.35 mg, 10 mol%, 5.46 μmol), CuCl (0.54 mg, 10 mol%, 5.46 μmol), dry 1,4-dioxane (2.0 mL), 4-methoxybenzoyl chloride (9.31 mg, 1.0 equiv., 54.55 μmol) and 200 mg 4 Å activated molecular sieves. The crude product was obtained as a single diastereomer. It was successively purified through regular silica gel column chromatography (CH₂Cl₂/MeOH 400:1, v/v) and preparative TLC (SiO₂, petroleum ether/Et₂O 2:1, v/v) to give compound **37** as a colorless oil (23 mg, 54%). *R*_f = 0.30 (SiO₂, petroleum ether/ EtOAc 9:1, v/v). **¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 8.06 – 7.96 (po, 4H, H_{Ar}), 7.66 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H_{Ar}), 7.51 (d, *J* = 7.4 Hz, 4H), 7.42 – 7.22 (po, 9H, H_{Ar}), 7.10 (q, *J* = 9.0, 7.9 Hz, 3H, H_{Ar}), 6.92 – 6.87 (m, 3H, H_{Ar}), 6.48 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H, NH), 5.73 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H, H-1), 5.57 – 5.44 (m, 1H, H-4), 4.98 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.90 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.56 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4.38 (t, *J* = 9.5 Hz, 2H, H-3, 0.5 × OCH₂Ph), 4.27 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.08 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-2), 4.05 – 3.96 (po, 2H, H-5, H-5'), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 1.27 (m, 9H, C(CH₃)₃) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 197.4 (C, C=O), 165.3 (C, C=O), 164.2 (C, C_{Ar}), 138.4 (C, C_{Ar}), 138.4 (C, C_{Ar}), 137.1 (C, C_{Ar}), 133.2 (C, C_{Ar}), 131.3 (CH, CH_{Ar}), 130.2 (CH, CH_{Ar}), 129.6 (CH, CH_{Ar}), 129.5 (CH, CH_{Ar}), 128.6 (CH, CH_{Ar}), 128.5 (CH, CH_{Ar}), 128.4 (CH, CH_{Ar}), 128.3 (CH, CH_{Ar}), 128.3 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 127.9 (CH, CH_{Ar}), 127.7 (CH, CH_{Ar}), 127.6 (CH, CH_{Ar}), 127.5 (CH, CH_{Ar}), 127.4 (C, C_{Ar}), 113.8 (CH, CH_{Ar}), 80.5 (CH, C-2), 77.6 (CH, C-3), 74.3 (CH₂, OCH₂Ph), 73.7 (CH₂, OCH₂Ph), 73.1 (CH, C-4), 72.7 (CH₂, OCH₂Ph), 68.3 (CH₂, C-5), 59.1 (C, SO₂C(CH₃)₃), 57.2 (CH, C-1), 55.1 (CH₃, OCH₃), 23.6 (C, C(CH₃)₃) ppm. **HRMS (ESI):** *m/z* calc. for C₄₅H₄₉NNaO₉S [M + Na]⁺ 802.302024, found 802.301553.

(1R)-1-C-(4-Methoxybenzoyl)-4-O-benzoyl-2,3,5-tri-O-benzyl-1-N-tert-butanesulfonylamino-1-deoxy-D-arabinitol (42)



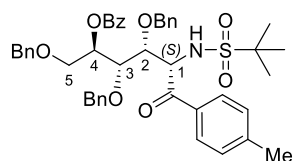
Chemical Formula: C₄₅H₄₉NO₉S

Molecular Weight: 779,95

The title compound was synthesized according to general procedure **A**, using stannane **35** (100 mg, 2.0 equiv., 0.107 mmol), Pd₂(dba)₃ (1.22 mg, 2.5 mol%, 1.34 μmol), JackiePhos (4.26 mg, 10 mol%, 5.35 μmol), CuCl (0.53 mg, 10 mol%, 5.35 μmol), dry 1,4-dioxane (2.0 mL), 4-methoxybenzoyl chloride (9.12 mg, 1.0 equiv., 53.48 μmol) and 200 mg 4 Å activated molecular sieves. The crude product was obtained as a single diastereomer. It was successively purified through regular silica gel column chromatography (CH₂Cl₂/MeOH 300:1, v/v) and preparative TLC (SiO₂, petroleum ether/Et₂O 2:1, v/v) to give compound **42** as a colorless oil (21 mg, 50%). *R*_f = 0.36 (SiO₂, petroleum ether/ EtOAc 8:2, v/v). **[α]_D²⁰ +13.5** (c 1.0, CHCl₃). **¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃/TMS):** δ 7.98 (d, *J* = 7.65 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.67 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H_{PhOMe}), 7.43 (dd, *J* = 7.4 Hz, 1H, H_{Ar}), 7.35 (dd, *J* = 7.5 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.19 – 7.13 (po, 15H, H_{Ar}),

6.52 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, H_{PhOMe}), 5.60 – 5.56 (m, 1H, H-4), 5.45 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, NH), 5.19 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, H-1), 4.72 (d, $J = 11.3$ Hz, 2H, OCH_2Ph), 4.56 – 4.46 (po, 3H, OCH_2Ph , $0.5 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.28 (dd, $J = 4.5, 7.4$ Hz, 1H, H-3), 4.15 – 4.05 (po, 2H, H-2, $0.5 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$), 3.95 (dd, $J = 10.2, 5.0$ Hz, 1H, H-5'), 3.73 (dd, $J = 10.2, 4.8$ Hz, 1H, H-5), 3.68 (s, 3H, OCH_3), 1.25 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm. **^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3/TMS):** δ 194.8 (C, C=O), 165.7 (C, C=O), 164.1 (C, C_{Ar}), 138.6 (C, C_{Ar}), 139.0 (C, C_{Ar}), 137.5 (C, C_{Ar}), 133.3 – 127.9 (C, C_{Ar}), 127.2 (C, C_{Ar}), 114.1 (CH, CH_{Ar}), 80.2 (CH, C-2), 79.3 (CH, C-3), 75.4 (CH_2 , OCH_2Ph), 75.2 (CH_2 , OCH_2Ph), 73.8 (CH, C-4), 73.4 (CH_2 , OCH_2Ph), 68.2 (CH_2 , C-5), 60.7 (C, $\text{SO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 60.6 (CH, C-1), 55.6 (CH_3 , OCH_3), 24.4 (C, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm. **IR (neat):** $\tilde{\nu} = 3293, 3062, 3024, 2958, 2926, 2875, 2856, 1723, 1600, 1448, 1258, 691\text{ cm}^{-1}$. **HRMS (ESI):** m/z calcd. for $\text{C}_{45}\text{H}_{49}\text{NNaO}_9\text{S}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 802.302024, found 802.300839.

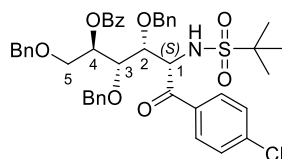
(1S)-1-C-(4-Methylbenzoyl)-4-O-benzoyl-2,3,5-tri-O-benzyl-1-N-tert-butanesulfonylamino-1-deoxy-D-arabinitol (38)



Chemical Formula: $\text{C}_{45}\text{H}_{49}\text{NO}_8\text{S}$
Molecular Weight: 763.95

The title compound was synthesized according to general procedure **A**, using stannane **34** (210 mg, 2.0 equiv., 0.22 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (2.57 mg, 2.5 mol%, 2.81 μmol), JackiePhos (8.95 mg, 10 mol%, 0.011 mmol), CuCl (1.11 mg, 10 mol%, 0.011 mmol), dry 1,4-dioxane (4.0 mL), *p*-toluoyl chloride (14.85 μL , 1.0 equiv., 0.11 mmol) and 400 mg 4 Å activated molecular sieves. The crude product was obtained as a single diastereomer. It was successively purified through regular silica gel column chromatography ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 500:1, v/v) and preparative TLC (SiO_2 , petroleum ether/EtOAc 95:5, v/v) to give compound **38** as a colorless oil (62 mg, 72%). $R_f = 0.32$ (SiO_2 , petroleum ether/ EtOAc 9:1, v/v). **^1H -NMR (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$):** δ 8.00 (dd, $J = 8.3, 1.4$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7.94 – 7.92 (po, 2H, H_{Ar}), 7.65 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H_{Ar}), 7.49 (dd, $J = 6.2, 1.6$ Hz, 3H, H_{Ar}), 7.34 – 7.29 (po, 6H, H_{Ar}), 7.27 – 7.20 (po, 6H, H_{Ar}), 7.12 – 7.09 (po, 2H, H_{Ar}), 6.91 – 6.87 (po, 2H, H_{Ar}), 6.49 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, NH), 5.81 – 5.73 (m, 1H, H-1), 5.51 (ddd, $J = 7.2, 4.6, 2.9$ Hz, 1H, H-4), 4.97 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, $0.5 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.89 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H, $0.5 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.55 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, OCH_2Ph), 4.40 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, H-3), 4.35 (dd, $J = 6.8, 2.2$ Hz, 1H, $0.5 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.28 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, $0.5 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.10 (dd, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H, H-2), 4.00 (t, $J = 3.8$ Hz, 2H, H-5), 2.39 (d, $J = 5.6$ Hz, 3H, CH_3), 1.27 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm. **^{13}C -NMR (101 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$):** δ 198.8 (C, C=O), 165.3 (C, C=O), 164.4 (C, C_{Ar}), 144.7 (C, C_{Ar}), 138.4 (C, C_{Ar}), 137.1 (C, C_{Ar}), 134.1 (C, C_{Ar}), 133.3 (C, C_{Ar}), 129.6 (CH, CH_{Ar}), 129.3 (CH, CH_{Ar}), 129.1 (CH, CH_{Ar}), 128.6 (CH, CH_{Ar}), 128.4 (CH, CH_{Ar}), 128.3 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 128.1 (CH, CH_{Ar}), 127.9 (CH, CH_{Ar}), 127.7 (CH, CH_{Ar}), 127.6 (CH, CH_{Ar}), 127.5 (CH, CH_{Ar}), 127.4 (CH, CH_{Ar}), 80.4 (CH, C-2), 77.7 (CH, C-3), 74.2 (CH_2 , OCH_2Ph), 73.7 (CH_2 , OCH_2Ph), 73.1 (CH, C-4), 72.7 (CH_2 , OCH_2Ph), 68.3 (CH_2 , C-5), 59.1 (C, $\text{SO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 57.4 (CH, C-1), 23.6 (C, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 20.7 (CH_3 , $\Phi\text{-CH}_3$) ppm. **HRMS (ESI):** m/z calcd. for $\text{C}_{45}\text{H}_{49}\text{NNaO}_8\text{S}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 786.307109, found 786.306394.

(1S)-1-C-(4-Chlorobenzoyl)-4-O-benzoyl-2,3,5-tri-O-benzyl-1-N-tert-butanesulfonylamino-1-deoxy-D-arabinitol (39)

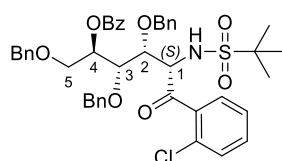


Chemical Formula: $C_{44}H_{46}ClNO_8S$

Molecular Weight: 784,36

The title compound was synthesized according to general procedure **A**, using stannane **34** (104 mg, 2.0 equiv., 0.111 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (1.27 mg, 2.5 mol%, 1.39 μ mol), JackiePhos (4.43 mg, 10 mol%, 5.46 μ mol), CuCl (0.55 mg, 10 mol%, 5.46 μ mol), dry 1,4-dioxane (2.0 mL), 4-chlorobenzoyl chloride (7.07 μ L, 1.0 equiv., 55.62 μ mol) and 200 mg 4 Å activated molecular sieves. The crude product was obtained as a single diastereomer. It was successively purified through regular silica gel column chromatography (CH_2Cl_2 /MeOH 400:1, v/v) and preparative TLC (SiO_2 , petroleum ether/EtOAc 9:1, v/v) to give compound **39** as a colorless oil (25 mg, 58%). R_f = 0.26 (SiO_2 , petroleum ether/ EtOAc 9:1, v/v). **1H -NMR (250 MHz, $(CD_3)_2CO$):** δ 8.07 – 7.95 (po, 4H, H_{Ar}), 7.68 – 7.62 (m, 1H, H_{Ar}), 7.55 – 7.47 (m, 4H, H_{Ar}), 7.43 – 7.23 (m, 10H, H_{Ar}), 7.16 – 7.04 (m, 3H, H_{Ar}), 6.86 (dd, J = 7.9, 1.6 Hz, 2H, H_{Ar}), 6.64 (d, J = 9.5 Hz, 1H, NH), 5.71 (dd, J = 9.5, 7.8 Hz, 1H, H-1), 5.60 – 5.46 (m, 1H, H-4), 4.95 (d, J = 2.8 Hz, 2H, OCH_2Ph), 4.57 (d, J = 2.6 Hz, 2H, OCH_2Ph), 4.40 (dd, J = 7.0, 2.1 Hz, 1H, H-3), 4.30 (s, 2H, OCH_2Ph), 4.12 (dd, J = 7.8, 2.1 Hz, 1H, H-2), 4.06 – 4.00 (po, 2H, H-5, H-5'), 1.28 (s, 9H, $C(CH_3)_3$) ppm. **^{13}C -NMR (101 MHz, $(CD_3)_2CO$):** δ 198.5 (C, C=O), 165.4 (C, C=O), 139.4 (C, C_{Ar}), 138.4 (C, C_{Ar}), 138.3 (C, C_{Ar}), 137.0 (C, C_{Ar}), 135.3 (C, C_{Ar}), 133.3 (C, C_{Ar}), 130.6 (CH, CH_{Ar}), 130.2 (CH, CH_{Ar}), 129.6 (CH, CH_{Ar}), 129.5 (CH, CH_{Ar}), 128.7 (CH, CH_{Ar}), 128.6 (CH, CH_{Ar}), 128.5 (CH, CH_{Ar}), 128.4 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 128.1 (CH, CH_{Ar}), 127.9 (CH, CH_{Ar}), 127.8 (CH, CH_{Ar}), 127.6 (CH, CH_{Ar}), 127.4 (CH, CH_{Ar}), 80.9 (CH, C-2), 77.6 (CH, C-3), 74.4 (CH_2 , OCH_2Ph), 74.0 (CH_2 , OCH_2Ph), 72.9 (CH, C-4), 72.7 (CH_2 , OCH_2Ph), 68.3 (CH_2 , C-5), 59.2 (C, $SO_2C(CH_3)_3$), 57.4 (CH, C-1), 23.6 (C, $C(CH_3)_3$) ppm. **HRMS (ESI):** m/z calcd. for $C_{44}H_{46}NNaO_8S$ [M + Na] $^+$ 806.252487 found 806.251874.

(1S)-1-C-(2-Chlorobenzoyl)-4-O-benzoyl-2,3,5-tri-O-benzyl-1-N-tert-butanesulfonylamino-1-deoxy-D-arabinitol (40)



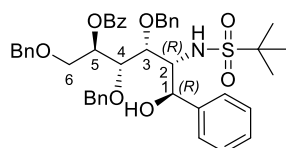
Chemical Formula: $C_{44}H_{46}ClNO_8S$

Molecular Weight: 784,36

The title compound was synthesized according to general procedure **A**, using stannane **34** (154 mg, 2.0 equiv., 0.165 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (1.89 mg, 2.5 mol%, 2.06 μ mol), JackiePhos (6.56 mg, 10 mol%, 8.24 μ mol), CuCl (0.82 mg, 10 mol%, 8.24 μ mol), dry 1,4-dioxane (3.0 mL), 2-chlorobenzoyl chloride (10.43 μ L, 1.0 equiv., 82.37 μ mol) and 300 mg 4 Å activated molecular sieves. The crude product was obtained as a single diastereomer. It was successively purified through regular silica gel column chromatography (CH_2Cl_2 /MeOH 400:1, v/v) and preparative TLC (SiO_2 , petroleum ether/EtOAc 9:1, v/v) to give compound **40** as a colorless oil (39 mg, 61%). R_f = 0.25 (SiO_2 , petroleum ether/ EtOAc 9:1, v/v). **1H -NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$):** δ 7.90 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H_{Ar}), 7.86 (dd, J = 8.3, 1.4 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.67 – 7.59 (po, 3H, H_{Ar}), 7.50 – 7.40 (po, 5H, H_{Ar}), 7.36 – 7.24 (po, 8H, H_{Ar}), 7.23 – 7.14 (po, 5H, H_{Ar}), 6.16 (d, J = 8.6 Hz, 1H, NH), 5.79 (dd, J = 8.6, 5.7 Hz, 1H, H-1), 5.46 – 5.41 (m, 1H, H-5), 4.85 (d, J = 10.5 Hz, 1H, 0.5 ×

OCH₂Ph), 4.80 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.74 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H, H-4), 4.54 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4.37 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H, H-3), 4.24 (dd, *J* = 6.3, 2.8 Hz, 1H, H-2), 4.09 (dd, *J* = 5.6, 2.8 Hz, 1H, H-5'), 3.98 (dd, *J* = 6.8, 3.9 Hz, 2H, OCH₂Ph), 1.30 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm. ¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂CO): δ 199.8 (C, C=O), 166.1 (C, C=O), 139.4 (C, C_{Ar}), 138.9 (C, C_{Ar}), 138.1 (C, C_{Ar}), 137.3 (C, C_{Ar}), 134.3 (C, C_{Ar}), 134.2 (CH, CH_{Ar}), 132.6 (CH, CH_{Ar}), 132.4 (CH, CH_{Ar}), 131.7 (CH, CH_{Ar}), 131.1 (CH, CH_{Ar}), 130.6 (CH, CH_{Ar}), 130.5 (CH, CH_{Ar}), 129.7 (CH, CH_{Ar}), 129.6 (CH, CH_{Ar}), 129.5 (CH, CH_{Ar}), 129.4 (CH, CH_{Ar}), 129.3 (CH, CH_{Ar}), 129.2 (CH, CH_{Ar}), 129.1 (CH, CH_{Ar}), 128.9 (CH, CH_{Ar}), 128.7 (CH, CH_{Ar}), 128.5 (CH, CH_{Ar}), 128.4 (CH, CH_{Ar}), 80.0 (CH, C-2), 78.2 (CH, C-3), 75.1 (CH₂, OCH₂Ph), 74.0 (CH₂, OCH₂Ph), 73.7 (CH, C-4), 73.6 (CH₂, OCH₂Ph), 69.0 (CH₂, C-5), 62.7 (C, SO₂C(CH₃)₃), 60.3 (CH, C-1), 24.5 (C, C(CH₃)₃) ppm. HRMS (ESI): *m/z* calcd. for C₄₄H₄₆NNaO₈SCl [M + Na]⁺ 806.252487 found 806.251653.

1-C-(1*R*)-5-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-*N*-tert-butesulfonylamino-2-deoxy-1-phenyl-*D*-mannitol (43)

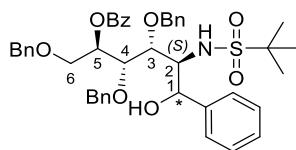


Chemical Formula: C₄₄H₄₉NO₈S

Molecular Weight: 751.94

To a solution of compound **36** (248 mg, 1 equiv., 0.33 mmol) in MeOH (10 mL) was added NaBH₄ (38 mg, 3 equiv., 0.99 mmol) at 0 °C. The mixture was allowed to reach room temperature and it was stirred further at the same temperature for 24 h. Once completed, the solvent was then evaporated under reduced pressure. The crude residue was diluted with EtOAc (20 mL) and the organic phase was washed with water (10 mL). Next, the aqueous phase was extracted with EtOAc (3 × 20 mL). The combined organic phases were dried over MgSO₄, filtered through a cotton plug and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (SiO₂, petroleum ether/ EtOAc 9:1, v/v) to provide compound **43** (184 mg, 74%) as a colorless oil. *R_f* = 0.54 (SiO₂, petroleum ether/ EtOAc 8:2, v/v). [α]_D²⁰ +32.45 (*c* 1.5, CH₂Cl₂). ¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO): δ 8.08 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.69 – 7.64 (po, 3H, H_{Ar}), 7.57 – 7.52 (m, 2H, H_{Ar}), 7.42 – 7.24 (po, 18H, H_{Ar}), 5.77 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, NH), 5.68 – 5.64 (m, 1H, H-5), 5.47 – 5.42 (m, 1H, H-3), 4.94 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.91 – 4.86 (po, 2H, OCH₂Ph), 4.80 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.66 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.59 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.39 – 4.32 (po, 3H, H-4, H-1, OH), 4.13 – 4.11 (po, 2H, H-6, H-6'), 3.94 – 3.90 (m, 1H, H-2), 0.98 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm. ¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂CO): δ 165.9 (C, C=O), 142.2 (C, C_{Ar}), 138.6 (C, C_{Ar}), 138.5 (C, C_{Ar}), 138.2 (C, C_{Ar}), 133.3 (C, C_{Ar}), 130.2 (CH, CH_{Ar}), 129.6 (CH, CH_{Ar}), 128.6 (CH, CH_{Ar}), 128.4 (CH, CH_{Ar}), 128.3 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 128.0 (CH, CH_{Ar}), 127.9 (CH, CH_{Ar}), 127.8 (CH, CH_{Ar}), 127.7 (CH, CH_{Ar}), 127.5 (CH, CH_{Ar}), 127.4 (CH, CH_{Ar}), 127.3 (CH, CH_{Ar}), 126.6 (CH, CH_{Ar}), 85.1 (CH, C-1 or C-4), 81.2 (CH, C-1 or C-4), 76.4 (CH₂, OCH₂Ph), 74.9 (CH₂, OCH₂Ph), 74.4 (CH, C-5), 72.7 (CH₂, OCH₂Ph), 71.7 (CH, C-3), 67.9 (CH₂, C-6), 60.9 (C, SO₂C(CH₃)₃), 59.6 (CH, C-2), 23.1 (CH₃, C(CH₃)₃) ppm. IR (neat): $\tilde{\nu}$ = 3487, 3468, 3060, 3028, 2927, 2870, 1711, 1600, 1451, 1311, 1271, 1090, 1068, 1024, 732, 717, 694 cm⁻¹. HRMS (ESI): *m/z* calcd. for C₄₄H₄₉NNaO₈S [M + Na]⁺ 774.307109, found 774.307080.

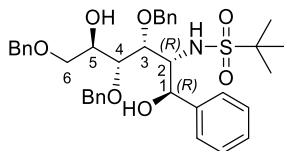
1-C-(1R)- and 1-C-(1S)-5-O-benzoyl-3,4,6-tri-O-benzyl-2-N-tert-butanesulfonylamino-2-deoxy-1-phenyl-D-glucitol (44)



Chemical Formula: $C_{44}H_{49}NO_8S$
Molecular Weight: 751,94

To a solution of compound **41** (313 mg, 1 equiv., 0.42 mmol) in MeOH (12 mL) was added $NaBH_4$ (47 mg, 3 equiv., 0.125 mmol) at 0 °C. The mixture was allowed to reach room temperature and it was stirred further at the same temperature for 24 h. Once the reaction completed, the solvent was evaporated under reduced pressure. The crude residue was diluted with EtOAc (25 mL) and the organic phase was washed with water (12 mL). Next, the aqueous phase was extracted with EtOAc (3 × 25 mL). The combined organic phases were dried over $MgSO_4$, filtered through a cotton plug and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (SiO_2 , petroleum ether/ EtOAc 9:1, v/v) to provide compound **44** (237 mg, 76%) a 6:4 mixture of diastereoisomers (colorless oil). R_f = 0.47 (SiO_2 , petroleum ether/ EtOAc 8:2, v/v). **1H -NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$):** δ 8.07 – 8.03 (po, 1.6H, H_{Ar} maj), 7.68 – 7.62 (po, 1.4H, H_{Ar} min), 7.51 (t, J = 7.7 Hz, 2.4H, H_{Ar} maj), 7.44 – 7.21 (po, 19.6H, H_{Ar} H_{Ar} maj + H_{Ar} min), 5.64 – 5.61 (po, 0.4H, H-5 min), 5.56 (d, J = 9.8 Hz, 0.6H, NH maj), 5.50 – 5.46 (po, 0.6H, H-5 maj), 5.42 (d, J = 9.5 Hz, 0.4H, NH min), 5.11 (t, J = 4.6 Hz, 0.4H H-3 min), 5.05 (t, J = 4.0 Hz, 0.6H H-3 maj), 4.91 – 4.79 (po, 3.6H OCH_2Ph maj + OCH_2Ph min), 4.76 (d, J = 3.8 Hz, 0.4H OCH_2Ph min), 4.74 (d, J = 3.9 Hz, 0.6H OCH_2Ph maj), 4.59 – 4.52 (po, 0.6H OCH_2Ph maj), 4.50 – 4.40 (po, 2.4H, OCH_2Ph , H-4, H-1, OH maj + min), 4.31 – 4.22 (po, 1.4H, H-6, H-6' min), 4.03 – 3.82 (po, 2.4H, H-4, H-1, OH, H-6, H-6' maj, H-2 min), 3.75 (dd, J = 10.8, 3.6 Hz, 0.6H, H-2 maj), 1.24 (s, 3.6H, $C(CH_3)_3$ min), 1.08 (s, 5.4H, $C(CH_3)_3$ maj) ppm. **^{13}C -NMR (101 MHz, $(CD_3)_2CO$):** δ 165.1 (C, C=O min), 165.0 (C, C=O maj), 142.9 (C, C_{Ar} maj), 142.6 (C, C_{Ar} min), 138.9 (C, C_{Ar} maj), 138.8 (C, C_{Ar} min), 138.8 (C, C_{Ar} maj), 138.7 (C, C_{Ar} min), 138.6 (C, C_{Ar} maj), 138.6 (C, C_{Ar} min), 133.6 – 126.9 (CH, CH_{Ar} maj + CH_{Ar} min), 79.7 (CH, C-1 or C-4 min), 79.4 (CH, C-1 or C-4 maj), 78.5 (CH, C-1 or C-4 min), 77.6 (CH, C-1 or C-4 maj), 74.9 (CH, C-5 maj), 74.8 (CH, C-5 min), 74.7 (CH_2 , OCH_2Ph min), 74.5 (CH_2 , OCH_2Ph maj), 74.3 (CH_2 , OCH_2Ph maj), 73.6 (CH_2 , OCH_2Ph min), 73.4 (CH, C-3 maj), 72.9 (CH, C-3 min), 72.5 (CH_2 , OCH_2Ph min), 72.5 (CH_2 , OCH_2Ph maj), 68.3 (CH_2 , C-6 maj), 68.3 (CH_2 , C-6 min), 61.3 (CH, C-2 min), 60.4 (CH, C-2 maj), 59.7 (C, $SO_2C(CH_3)_3$ min), 59.2 (C, $SO_2C(CH_3)_3$ maj), 23.6 (CH_3 , $C(CH_3)_3$ min), 23.3 (CH_3 , $C(CH_3)_3$ maj) ppm. **HRMS (ESI):** m/z calcd. for $C_{44}H_{49}NNaO_8S$ $[M + Na]^+$ 774.307109, found 774.306483.

1-C-(1R)-3,4,6-tri-O-benzyl-2-N-tert-butanesulfonylamino-2-deoxy-1-phenyl-D-mannitol (45)

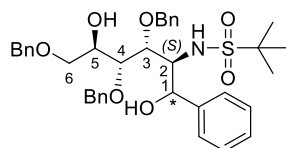


Chemical Formula: $C_{37}H_{45}NO_7S$
Molecular Weight: 647,83

To a solution of compound **43** (101 mg, 1 equiv., 0.134 mmol) in MeOH (10 mL) was added K_2CO_3 (41 mg, 2.2 equiv., 0.296 mmol) at room temperature (20 °C) and the mixture was stirred for 5 h. Once the reaction completed, the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was diluted with EtOAc (10 mL) and the organic phase was filtered through a cotton plug and concentrated under reduced pressure. Then, the crude product was purified by column chromatography on silica gel (SiO_2 ,

petroleum ether/ EtOAc 8:2, v/v) to provide compound **45** (82 mg, 94%) as a colorless oil. $R_f = 0.32$ (SiO₂, petroleum ether/ EtOAc 8:2, v/v). $[\alpha]_D^{20} +37.52$ (c 1.4, CH₂Cl₂). **¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 7.52 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7.40 (d, $J = 7.8$ Hz, 4H, H_{Ar}), 7.37 – 7.23 (po, 14H, H_{Ar}), 5.55 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, NH), 5.41 (s, 1H, H-3), 4.92 (s, 2H, OCH₂Ph), 4.83 (s, 2H, OCH₂Ph), 4.59 (d, $J = 3.0$ Hz, 2H, OCH₂Ph), 4.39 – 4.31 (po, 3H, H-4, 2OH), 4.10 – 4.06 (po, 2H, H-1, H-2), 4.03 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-5), 3.84 (dd, $J = 9.8, 3.3$ Hz, 1H, H-6), 3.79 (dd, $J = 9.8, 5.8$ Hz, 1H, H-6'), 0.94 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 142.5 (C, C_{Ar}), 138.8 (C, C_{Ar}), 138.8 (C, C_{Ar}), 138.5 (C, C_{Ar}), 128.3 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 127.9 (CH, CH_{Ar}), 127.8 (CH, CH_{Ar}), 127.7 (CH, CH_{Ar}), 127.6 (CH, CH_{Ar}), 127.4 (CH, CH_{Ar}), 127.0 (CH, CH_{Ar}), 126.5 (CH, CH_{Ar}), 86.9 (CH, C-4), 81.5 (CH, C-5), 76.2 (CH₂, OCH₂Ph), 74.3 (CH₂, OCH₂Ph), 73.0 (CH₂, OCH₂Ph), 71.9 (CH, C-3), 71.6 (CH₂, C-6), 71.3 (CH, C-2 or C-1), 60.8 (C-2 or C-1), 59.4 (C, SO₂C(CH₃)₃), 23.1 (CH₃, C(CH₃)₃) ppm. **IR (neat):** $\tilde{\nu} = 3479, 3468, 3384, 3060, 3031, 2924, 2854, 1725, 1454, 1306, 1225, 1090, 1068, 1027, 732, 717, 700$ cm⁻¹. **HRMS (ESI):** m/z calcd. for C₃₇H₄₅NNaO₇S [M + Na]⁺ 670.280894, found 670.280776.

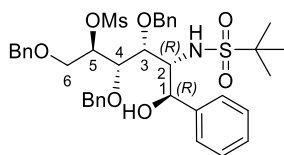
1-C-(1R)- and 1-C-(1S)-3,4,6-tri-O-benzyl-2-N-tert-butanesulfonylamino-2-deoxy-1-phenyl-D-glucitol (46)



Chemical Formula: C₃₇H₄₅NNaO₇S
Molecular Weight: 647.83

To a solution of compound **44** (227 mg, 1 equiv., 0.302 mmol) in MeOH (20 mL) was added K₂CO₃ (92 mg, 2.2 equiv., 0.664 mmol) at room temperature (20 °C) and the mixture was stirred for 5 h. Once the reaction completed, the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was diluted with EtOAc (20 mL) and the organic phase was filtered through a cotton plug and concentrated under reduced pressure. Then, the crude product was purified by column chromatography on silica gel (SiO₂, petroleum ether/EtOAc 8:2, v/v) to provide compound **46** (177 mg, 91%) as a colorless oil. 6:4 Mixture of diastereoisomers which was not assigned. $R_f = 0.28$ (SiO₂, petroleum ether/ EtOAc 8:2, v/v). **¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 7.51 (d, $J = 7.0$ Hz, 1.4 H, H_{Ar} min), 7.43 – 7.18 (po, 18.6 H, H_{Ar} maj), 5.58 (d, $J = 9.6$ Hz, 0.6H, NH maj), 5.43 (d, $J = 9.7$ Hz, 0.4H, NH min), 5.13 – 5.08 (po, 1H, H-5 maj + H-3 min), 4.87 – 4.79 (po, 2 H, H-5 min, OCH₂Ph maj), 4.78 (d, $J = 4.0$ Hz, 0.6H, H-3 maj), 4.73 (d, $J = 4.2$ Hz, 0.6H, OCH₂Ph maj), 4.68 (s, 1H, OCH₂Ph maj + OCH₂Ph min), 4.57 (d, $J = 11.6$ Hz, 0.4H, OCH₂Ph min), 4.49 (dd, $J = 12.0, 5.1$ Hz, 1.6H, OCH₂Ph min), 4.21 – 4.14 (po, 1H, H-4 maj + H-1 min), 4.12 – 3.94 (po, 3.4H, H-4 min + H-1 maj, H-6, H-6' min, OH), 3.81 (d, $J = 5.1$ Hz, 0.6 H, H-6 H-6' maj), 3.66 – 3.57 (po, 1.4 H, H-6, H-6' maj, H-2 min), 3.51 (dd, $J = 9.8, 3.2$ Hz, 0.6H, H-2 maj), 1.19 (s, 3.4H, C(CH₃)₃ min) 1.15 (s, 5.6H, C(CH₃)₃ maj) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 142.9 (C, C_{Ar} maj), 142.9 (C, C_{Ar} min), 139.2 (C, C_{Ar} maj), 139.1 (C, C_{Ar} min), 139.0 (C, C_{Ar} min), 139.0 (C, C_{Ar} maj), 138.9 (C, C_{Ar} maj), 138.8 (C, C_{Ar} min), 128.2 – 126.9 (CH, CH_{Ar} maj + CH_{Ar} min), 80.7 (CH, C-1 maj), 80.3 (CH, C-1 min), 80.1 (CH, C-5 min), 78.3 (CH, C-5 maj), 75.2 (CH, C-4 maj), 74.3 (CH₂, OCH₂Ph maj), 74.3 (CH₂, OCH₂Ph maj), 74.2 (CH₂, OCH₂Ph min), 73.8 (CH₂, OCH₂Ph min), 72.9 (CH, C-4 min), 72.8 (CH₂, OCH₂Ph min), 72.7 (CH₂, OCH₂Ph maj), 71.7 (CH₂, C-6 min), 71.4 (CH, C-3 min), 71.4 (CH₂, C-6 maj), 71.3 (CH, C-3 maj), 61.4 (CH, C-2 min), 60.1 (CH, C-2 maj), 59.5 (C, SO₂C(CH₃)₃ min), 59.2 (C, SO₂C(CH₃)₃ maj), 23.6 (CH₃, C(CH₃)₃ min), 23.4 (CH₃, C(CH₃)₃ maj) ppm. **IR (neat):** $\tilde{\nu} = 3497, 3475, 3384, 3058, 3028, 2929, 2867, 1496, 1453, 1302, 1229, 1123, 1089, 1064, 1027, 910, 732, 728, 717, 694$ cm⁻¹. **HRMS (ESI):** m/z calcd. for C₃₇H₄₅NNaO₇S [M + Na]⁺ 670.280894, found 670.280827.

1-C-(1*R*)-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-*N*-*tert*-butanesulfonylamino-2-deoxy-5-*O*-methanesulfonyl-1-phenyl-D-mannitol (49)

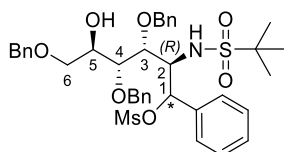


Chemical Formula: C₃₈H₄₇NO₉S₂

Molecular Weight: 725,91

To a solution of compound **45** (25 mg, 1 equiv., 0.039 mmol) in anhydrous pyridine (2 mL), under argon atmosphere, were added 4 Å activated molecular sieves and DMAP (1.66 mg, 0.35 equiv., 0.014 mmol) at room temperature (20 °C). The mixture was cooled down to 0 °C and MsCl (6.27 µL, 2.1 equiv., 0.081 mmol) was added dropwise. The reaction mixture was stirred at 0 °C for 3 h and then stirred at room temperature (20 °C) for 3 h. The mixture was diluted CH₂Cl₂ (5 mL) and the organic phase was washed with saturated aq. NH₄Cl (5 mL). The aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3 × 5 mL) and the combined organic phases were dried over MgSO₄, filtered through a cotton plug and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography (SiO₂, Pentane/EtOAc 9:1, v/v) to give compound **49** (21 mg, 75%) as a colorless oil. *R*_f = 0.51 (SiO₂, pentane/EtOAc 8:2, v/v). **¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 7.55 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.41 – 7.26 (po, 18H, H_{Ar}), 5.79 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, NH), 5.30 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H, H-2), 5.10 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-5), 4.93 – 4.82 (po, 3H, OCH₂Ph, 0.5 × OCH₂Ph), 4.79 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.63 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4.41 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, OH), 4.33 (dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 1H, H-4), 4.23 (dd, *J* = 7.8, 2.2 Hz, 1H, H-3), 4.06 (dd, *J* = 11.4, 3.0 Hz, 1H, H-1), 3.97 (dd, *J* = 11.5, 8.3 Hz, 1H, H-6'), 3.75 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, H-6), 3.16 (s, 3H, Ms), 0.96 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 142.0 (C, C_{Ar}), 138.2 (C, C_{Ar}), 138.2 (C, C_{Ar}), 138.1 (C, C_{Ar}), 128.8 (CH, CH_{Ar}), 128.3 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 128.0 (CH, CH_{Ar}), 127.9 (CH, CH_{Ar}), 127.7 (CH, CH_{Ar}), 127.6 (CH, CH_{Ar}), 127.5 (CH, CH_{Ar}), 127.3 (CH, CH_{Ar}), 126.6 (CH, CH_{Ar}), 84.3 (CH, C-3), 82.6 (CH, C-5), 82.0 (CH, C-4), 76.0 (CH₂, OCH₂Ph), 74.9 (CH₂, OCH₂Ph), 73.0 (CH₂, OCH₂Ph), 71.5 (CH, C-1), 68.2 (CH₂, C-6), 60.9 (CH, C-2), 59.6 (C, SO₂C(CH₃)₃), 37.8 (CH₃, Ms), 23.1 (CH₃, C(CH₃)₃) ppm. **HRMS (ESI):** *m/z* calcd. for C₃₈H₄₇NNaO₉S₂ [M + Na]⁺ 748.258445, found 748.258906.

1-C-(1*R*)- and 1-C-(1*S*)-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-*N*-*tert*-butanesulfonylamino-2-deoxy-5-*O*-methanesulfonyl-1-phenyl-D-glucitol (53)



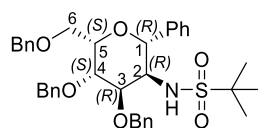
Chemical Formula: C₃₈H₄₇NO₉S₂

Molecular Weight: 725,91

To a solution of compound **46** (103 mg, 1 equiv., 0.159 mmol) in anhydrous pyridine (4 mL), under argon atmosphere, were added 4 Å activated molecular sieves and DMAP (6.83 mg, 0.35 equiv., 0.056 mmol) at room temperature (20 °C). The mixture was cooled down to 0 °C and MsCl (25.84 µL, 2.1 equiv., 0.334 mmol) was added dropwise. The reaction mixture was stirred at 0 °C for 3 h and then stirred at room temperature (20 °C) for 3 h. The mixture was diluted CH₂Cl₂ (20 mL) and the organic phase was washed with saturated aq. NH₄Cl (20 mL). The aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3 × 20 mL) and the combined organic phases were dried over MgSO₄, filtered through a cotton plug and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography (SiO₂, Pentane/EtOAc 9:1, v/v) to give compound **53** (98 mg, 85%) as a colorless oil. *R*_f = 0.67 (SiO₂, petroleum

ether/EtOAc 8:2, v/v). **¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 7.51 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.46 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.42 – 7.36 (po, 4H, H_{Ar}), 7.35 – 7.25 (po, 12H, H_{Ar}), 5.62 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, NH), 5.17 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H-1), 5.08 – 5.04 (po, 2H, H-4, H-5), 4.96 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.76 (d, *J* = 2.6 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4.72 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.62 (s, 2H, OCH₂Ph), 4.50 (dd, *J* = 9.1, 1.3 Hz, 1H, H-4), 4.32 (dd, *J* = 9.0, 2.7 Hz, 1H, H-3), 4.20 (dd, *J* = 9.5, 8.1 Hz, 1H, H-2), 3.94 (dd, *J* = 10.5, 5.3 Hz, 1H, H-6'), 3.82 (dd, *J* = 10.5, 6.4 Hz, 1H, H-6), 3.12 (s, 3H, CH₃, Ms), 0.99 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 139.3 (C, C_{Ar}), 138.6 (C, C_{Ar}), 138.3 (C, C_{Ar}), 138.1 (C, C_{Ar}), 128.7 (CH, CH_{Ar}), 128.6 (CH, CH_{Ar}), 128.5 (CH, CH_{Ar}), 128.3 (CH, CH_{Ar}), 128.3 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 128.1 (CH, CH_{Ar}), 128.0 (CH, CH_{Ar}), 127.8 (CH, CH_{Ar}), 127.7 (CH, CH_{Ar}), 127.6 (CH, CH_{Ar}), 127.4 (CH, CH_{Ar}), 81.0 (CH, C-3), 80.9 (CH, C-5), 76.9 (CH, C-4), 75.4 (CH₂, OCH₂Ph), 75.0 (CH₂, OCH₂Ph), 72.9 (CH₂, OCH₂Ph), 68.3 (CH, C-6), 63.7 (CH₂, C-1), 60.2 (CH, C-2), 59.6 (C, SO₂C(CH₃)₃), 38.2 (CH₃, Ms), 23.1 (CH₃, C(CH₃)₃) ppm. **HRMS (ESI):** *m/z* calcd. for C₃₈H₄₈NO₉S₂ [M + H]⁺ 730.247880, found 748.248124.

1-C-(1R)-1-[2-(*N*-*tert*-butanesulfonylamino)-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-β-L-gulopyranosyl] benzene (50)



Chemical Formula: C₃₇H₄₃NO₆S
Molecular Weight: 629.81

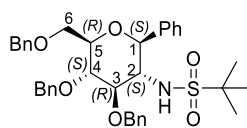
Compound **49** (50 mg, 1 equiv., 0.069 mmol) was dissolved in pyridine (4 mL) and heated at 90 °C until no more starting material was observed by TLC analysis (22 h). The mixture was diluted CH₂Cl₂ (10 mL) and the organic phase was washed with a saturated aqueous CuSO₄ solution (10 mL). The aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3 × 10 mL) and the combined organic phases were dried over MgSO₄, filtered through a cotton plug and concentrated under reduced pressure to give compound **50** (33 mg, 77%) as a colorless oil. *R_f* = 0.72 (SiO₂, petroleum ether/EtOAc 8:2, v/v). **¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 7.51 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.44 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H, H_{Ar}), 7.38 – 7.24 (po, 16H, H_{Ar}), 5.64 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H, NH), 4.81 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.74 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H, 0.5 × OCH₂Ph), 4.67 (dd, *J* = 11.0, 9.5 Hz, 2H, 0.5 × OCH₂Ph, H-1), 4.55 – 4.45 (po, 3H, OCH₂Ph, 0.5 × OCH₂Ph), 4.29 (t, *J* = 3.4 Hz, 1H, H-3), 4.18 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H-5), 3.81 – 3.73 (po, 2H, H-2, H-4), 3.69 (dd, *J* = 9.5, 6.6 Hz, 1H, H-6'), 3.62 (dd, *J* = 9.5, 6.2 Hz, 1H, H-6), 0.87 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 140.9 (C, C_{Ar}), 138.8 (C, C_{Ar}), 138.6 (C, C_{Ar}), 138.5 (C, C_{Ar}), 128.3 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 128.0 (CH, CH_{Ar}), 128.0 (CH, CH_{Ar}), 127.9 (CH, CH_{Ar}), 127.7 (CH, CH_{Ar}), 127.6 (CH, CH_{Ar}), 127.6 (CH, CH_{Ar}), 127.5 (CH, CH_{Ar}), 127.3 (CH, CH_{Ar}), 76.7 (CH, C-1), 76.4 (CH, C-3), 73.8 (CH, C-5), 73.5 (CH₂, OCH₂Ph), 72.8 (CH₂, OCH₂Ph), 72.0 (CH₂, OCH₂Ph), 69.2 (CH₂, C-6), 58.9 (C, SO₂C(CH₃)₃), 57.2 (CH, C-2 or C-4), 56.6 (CH, C-2 or C-4), 22.9 (CH₃, C(CH₃)₃) ppm. **HRMS (ESI):** *m/z* calcd. for C₃₇H₄₃NNaO₆S [M + Na]⁺ 652.270330, found 652.269804.

Synthesis of compound (54) and (55)

Compound **53** (64 mg, 1 equiv., 0.099 mmol) was dissolved in pyridine (5 mL) and heated at 90 °C until no more starting material was observed by TLC analysis (22 h). The mixture was diluted CH₂Cl₂ (12 mL) and the organic phase was washed with a saturated aqueous CuSO₄ solution (12 mL). The aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3 × 12 mL) and the combined organic phases were dried over MgSO₄, filtered through a cotton plug and concentrated under reduced pressure to give a mixture of compounds **54** and **55** (46 mg, 74%, **54/55** 6:4) (colorless oil).

These two compounds were separated by flash chromatography (SiO₂, Pentane/EtOAc 95:5, v/v).

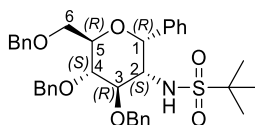
1-C-(1S)-1-[2-(*N*-tert-butanesulfonylamino)-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl] benzene (54)



Chemical Formula: C₃₇H₄₃NO₆S
Molecular Weight: 629,81

$m = 28$ mg. $R_f = 0.85$ (SiO₂, petroleum ether/EtOAc 8:2, v/v). **¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 7.48 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7.44 – 7.21 (po, 18H, H_{Ar}), 5.08 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H, NH), 5.07 (s, 1H, H-1), 4.88 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H, 0.5 $\times$ OCH₂Ph), 4.82 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H, 0.5 $\times$ OCH₂Ph), 4.75 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H, 0.5 $\times$ OCH₂Ph), 4.54 (d, $J = 2.5$ Hz, 2H, OCH₂Ph), 4.43 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H, 0.5 $\times$ OCH₂Ph), 4.36 (t, $J = 2.9$ Hz, 1H, H-3), 4.19 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H, H-5), 3.74 – 3.70 (po, 3H, H-6, H-6', H-2), 3.69 (s, 1H, H-4), 0.82 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 139.7 (C, C_{Ar}), 138.7 (C, C_{Ar}), 138.6 (C, C_{Ar}), 137.8 (C, C_{Ar}), 128.8 (CH, CH_{Ar}), 128.4 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 127.9 (CH, CH_{Ar}), 127.8 (CH, CH_{Ar}), 127.8 (CH, CH_{Ar}), 127.7 (CH, CH_{Ar}), 127.6 (CH, CH_{Ar}), 127.3 (CH, CH_{Ar}), 127.2 (CH, CH_{Ar}), 126.6 (CH, CH_{Ar}), 76.5 (CH, C-1), 75.8 (CH, C-5), 74.2 (CH, C-4), 74.0 (CH, C-3), 72.9 (CH₂, OCH₂Ph), 72.2 (CH₂, OCH₂Ph), 72.0 (CH₂, OCH₂Ph), 69.4 (CH₂, C-6), 59.1 (C, SO₂C(CH₃)₃), 55.8 (CH, C-2), 22.8 (CH₃, C(CH₃)₃) ppm. **HRMS (ESI):** m/z calcd. for C₃₇H₄₃NNaO₆S [M + Na]⁺ 652.270330, found 652.269466.

1-C-(1R)-1-[2-(*N*-tert-butanesulfonylamino)-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy- α -D-glucopyranosyl] benzene (55)



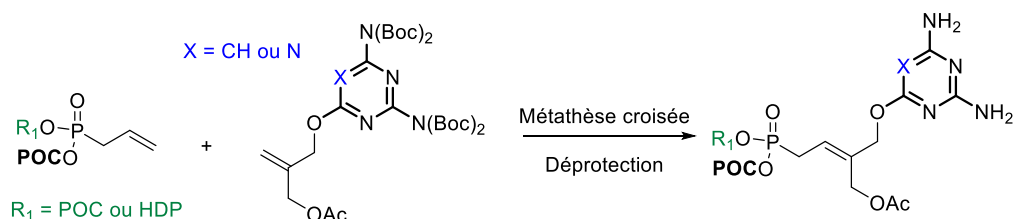
Chemical Formula: C₃₇H₄₃NO₆S
Molecular Weight: 629,81

$m = 18$ mg. $R_f = 0.68$ (SiO₂, petroleum ether/EtOAc 8:2, v/v). **¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 7.52 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H, H_{Ar}), 7.39 – 7.20 (po, 16H, H_{Ar}), 7.11 – 7.05 (m, 2H, H_{Ar}), 5.69 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, NH), 5.08 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H, H-1), 4.78 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H, 0.5 $\times$ OCH₂Ph), 4.69 – 4.62 (po, 2H, OCH₂Ph), 4.61 – 4.53 (po, 3H, OCH₂Ph, 0.5 $\times$ OCH₂Ph), 4.39 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, H-5), 4.16 – 4.11 (m, 1H, H-2), 4.07 (t, $J = 4.6$ Hz, 1H, H-3), 3.89 (dd, $J = 10.1, 7.1$ Hz, 1H, H-6), 3.80 – 3.75 (po, 2H, H-6', H-4), 1.20 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm. **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂CO):** δ 139.7 (C, C_{Ar}), 138.8 (C, C_{Ar}), 138.3 (C, C_{Ar}), 138.0 (C, C_{Ar}), 128.3 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 128.2 (CH, CH_{Ar}), 128.1 (CH, CH_{Ar}), 127.9 (CH, CH_{Ar}), 127.8 (CH, CH_{Ar}), 127.5 (CH, CH_{Ar}), 127.5 (CH, CH_{Ar}), 127.3 (CH, CH_{Ar}), 127.2 (CH, CH_{Ar}), 127.0 (CH, CH_{Ar}), 126.3 (CH, CH_{Ar}), 77.8 (CH, C-1), 76.0 (CH, C-4), 75.6 (CH, C-3), 72.9 (CH₂, OCH₂Ph), 72.7 (CH₂, OCH₂Ph), 72.0 (CH₂, OCH₂Ph), 69.5 (CH, C-5), 68.7 (CH₂, C-6), 59.0 (C, SO₂C(CH₃)₃), 55.2 (CH, C-2), 23.3 (CH₃, C(CH₃)₃) ppm. **HRMS (ESI):** m/z calcd. for C₃₇H₄₃NNaO₆S [M + Na]⁺ 652.270330, found 652.269817.

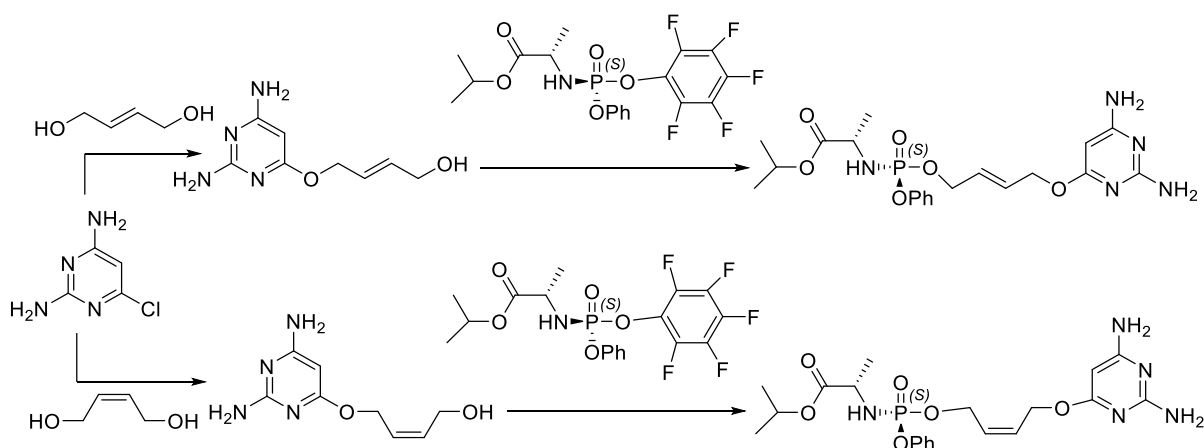
Conclusion générale et perspectives

Les analogues des nucléosides représentent une classe importante de molécules dans la chimiothérapie antivirale en utilisant contre les différents virus tels que le HBV, le HIV, le HCV, le CMV, le VZV et le HSV. Parmi les 90 médicaments antiviraux qui ont été approuvés par la FDA entre juin 1963 et avril 2016, environ une quarantaine de composés sont des analogues de nucléosides, ce qui montre clairement l'importance des analogues nucléosidiques dans la thérapie antivirale. De plus, l'émergence de nouveaux virus (SARS-CoV-2, H1N1) et l'apparition de résistances aux antiviraux actuels soulignent l'importance de la conception et de la synthèse de nouveaux antiviraux. Ce travail de thèse s'inscrit dans ce contexte et nous avons conçu et synthétisé une nouvelle famille d'acyclonucléosides phosphonates oléfiniques sous leurs formes prodrogues.

- **Dans la première partie**, nous nous sommes d'abord intéressés à la synthèse à l'échelle du gramme d'un composé à large spectre possédant des activités antivirales remarquables, le **LAVR-289**. Dans ce but, nous avons surmonté plusieurs challenges, par exemple, nous avons amélioré le rendement de l'acétylation de l'alcool et de la réaction de métathèse croisée. Plusieurs grammes du composé **LAVR-289** ont été synthétisés avec un rendement global autour de 13%. Suite au succès rencontré par le **LAVR-289**, nous avons ensuite synthétisé des nouveaux analogues de ce produit en modifiant les groupements biolables portés par le phosphonate et la nucléobase.

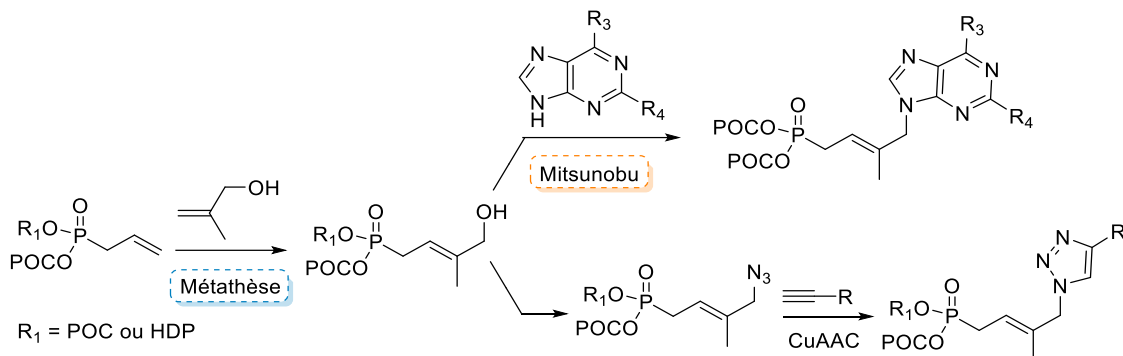


Après la synthèse des prodrogues *bis*(POC) et HDP/POC, nous avons réalisé avec succès la synthèse de deux phosphoramidates acycliques portant le motif 1,4-diamino pyrimidine.



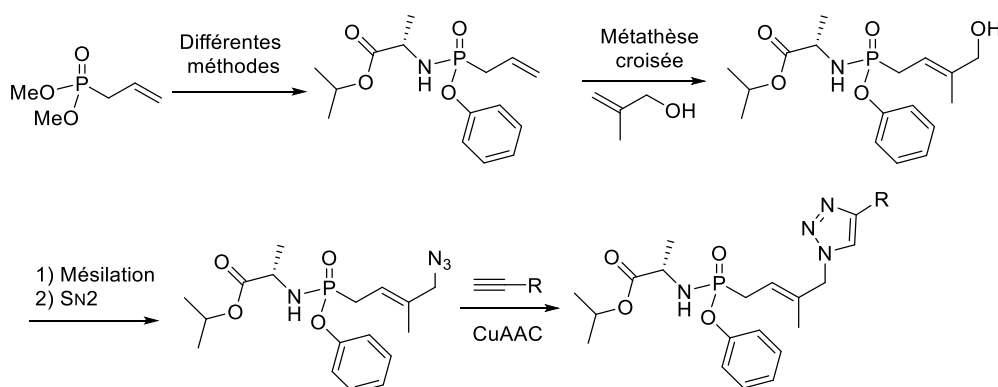
- **Dans la seconde partie**, nous avons d'abord synthétisé des phosphonates *trans* 2'-méthyle-but-2'-ényle possédant une base purique ou 1,2,3-triazole sous forme *bis*(POC)

ou HDP/POC. Ces composés présentent un groupement méthyle en position 2'. Ils ont été formés à l'aide d'une réaction de métathèse croisée avec un synthon phosphonate portant des groupements biolabiles. Il est à noter que deux réactions clés (métathèse croisée, Mitsunobu ou CuAAC) nous ont permis un accès rapide et convergent aux ANPs désirés.

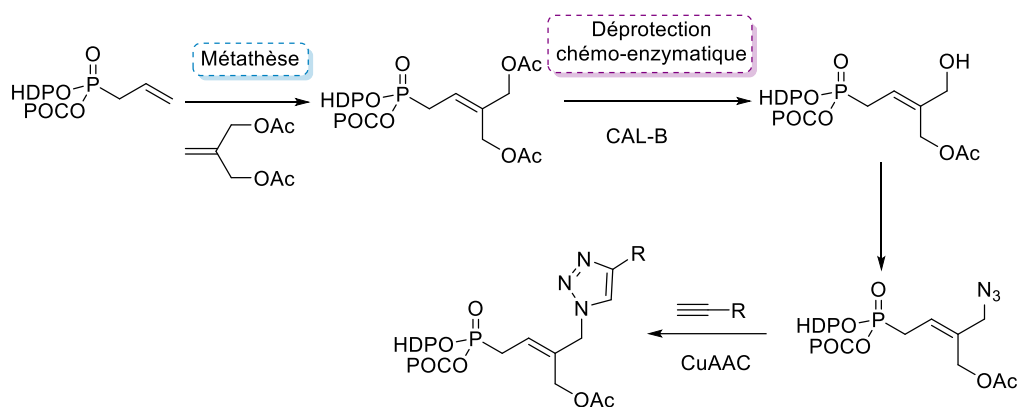


Nous avons évalué le potentiel antiviral de ces différents composés. Parmi des ANPs purifiés, un composé a présenté une activité intéressante sur le HBV avec un $EC_{50} = 8.5 \mu\text{M}$ et $CC_{50} > 100$ à une concentration de $10 \mu\text{M}$. Parmi des 1,2,3-triazolynucleosides, certains composés ont présenté des activités intéressantes sur le HBV, jusqu'à une inhibition de 62% de la réplication du virus HBV à une concentration de $10 \mu\text{M}$. A la suite de ces bons résultats, la modulation des groupements biolabiles sera intéressante et dévoilera peut-être des activités significatives sur ce virus à herpès.

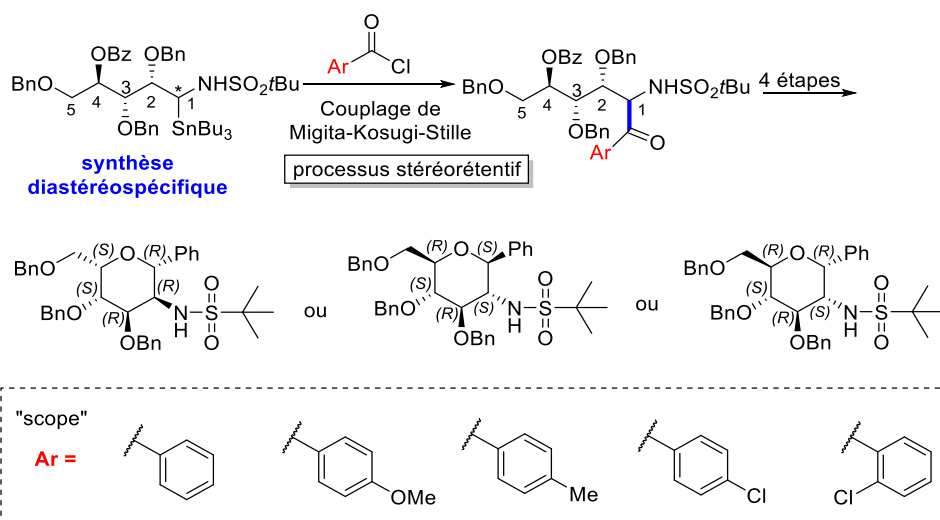
Par la suite, nous avons cherché à développer nos ANPs sous forme phosphonoamidate. En effet, les pronucléotides décrits dans la littérature ont montré des résultats antiviraux très encourageants, comme pour le Tenofovir alafenamide. Dans le but d'augmenter l'activité antivirale, nous avons décidé de synthétiser le phosphonoamidate prodrogue de 1,2,3-triazolynucleosides par la métathèse croisée suivie de la réaction CuAAC. L'évaluation antivirale de tous ces ANPs sous forme phosphonoamidate est en cours.



Enfin, nous avons réalisé la synthèse d'une série de 1,2,3-triazolynucleosides de type *trans* 2'-acétoxyméthyle-but-2'-énylphosphonates. Ces composés présentent un groupement acétoxyméthyle en position 2'.



- Dans la dernière partie** de ce travail de thèse, nous avons présenté la synthèse de 1-C-arylglycosides. Pour ce faire, deux iminoglycosylstannanes ont tout d'abord été synthétisés par l'addition stéréospécifique du tributylstannyllithium sur des (*S_R*)- ou (*S_S*)-*N-tert*-butanesulfinyl glycosylamines de configuration D-arabino, suivie d'une stratégie d'oxydation et protection. Par la suite, le « scope » de la réaction de Migita–Kosugi–Stille a été exploité en utilisant ces iminoglycosylstannanes avec une petite diversité de chlorures d'aroyles diversement substitués. Plus intéressant, des preuves expérimentales soutiennent que les iminoglycosyl stannanes subissent un processus stéréorétentif. Enfin, après couplage de Migita–Kosugi–Stille, une stratégie de réduction de la cétone générée suivie d'une méssylation et cyclisation a conduit respectivement à trois nouveaux analogues de la *N*-acétylglucosamine C-glycosylée.



La découverte en 1954 de la structure de l'ADN, la compréhension de son mécanisme d'élongation et son rôle important dans la répllication cellulaire ont été à l'origine de la conception d'analogues de nucléosides comme inhibiteurs de polymérases avec de nombreux « blockbusters » mis sur le marché (quasiment un tous les deux ans). Les analogues de nucléosides sont actuellement utilisés non seulement comme éléments constitutifs du code génétique, mais aussi comme intermédiaires biosynthétiques, donneurs d'énergie, régulateurs métaboliques et cofacteurs dans les processus enzymatiques. Les virus émergents, la pandémie actuelle liée au SARS-Cov-19, pointe l'urgence de la découverte de

nouvelles molécules et/ou nouvelles cibles. Les polymérases virales restent toujours la cible (potentiellement fortement sélective) privilégiée des antiviraux.

Grâce à leur large spectre d'activités biologiques, les nucléosides sont les principaux composés pharmaceutiques anticancéreux, antiviraux ou antibactériens mais aussi dans le traitement des maladies métaboliques et génétiques. Plusieurs analogues de nucléotides et nucléosides méthylés interviennent aussi dans les modifications épigénétiques.

- ✓ Les imino-C-nucléosides sont une source d'attraction croissante tant pour l'aspect synthétique que pour les applications biologiques (e.g., Immucillin-H qui est approuvé au Japon). Notre méthodologie fournit un outil puissant pour l'exploration/diversité et la synthèse de nouveaux analogues d'imino-C-nucléosides.
- ✓ Le **LAVR-289** est un « lead », avec le potentiel d'être un first-in-class ou best-in-class contre diverses pathologies virales. Ce composé est maintenant en développement préclinique. Ceci inclue diverses branches, dont la capacité de transposer (ou de réadapter) cette synthèse à l'échelle de plusieurs dizaines/centaines de grammes, aux normes BPL, mais aussi d'étudier l'aspect pharmacologique de ce composé, son mécanisme d'action, Il s'agira aussi de synthétiser les divers anabolites (analogues du diphosphate et triphosphate) de ce composé, déterminer les catabolites, et explorer d'autres prodrogues bioloabiles de type phosphonoamidate.

Dans tous les cas, les analogues nucléosides constituent encore et toujours une famille prometteuse de nouveaux agents thérapeutiques.

Références bibliographiques

1. H. R. Gelderblom, Structure and classification of viruses. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; **1996**, chapter 41.
2. M. Woolhouse, F. Scott, Z. Hudson, R. Howey, M. Chase-Topping, Human viruses: discovery and emergence. *Philos Trans R Soc. Lond. BBiol. Sci.* **2012**, 367, 2864–2871.
3. E. De Clercq, G. Li, Approved antiviral drugs over the past 50 years. *Clin. Microbiol. Rev.* **2016**, 29, 695-747.
4. <https://bio.libretexts.org>
5. J. E. Carette, M. Raaben, A. Raaben, A. C. Kuehne, P. J. Kranzusch, A. M. Griffin, G. Ruthel, P. D. Cin, J. M. Dye, S. P. Whelan, K. Chandra, T. R. Brummelkamp, Ebola virus entry requires the cholesterol transporter Niemann-Pick C1. *Nature* **2011**, 24, 340-43.
6. E. De Clercq, Vaccinia virus inhibitors as a paradigm for the chemotherapy of poxvirus infections. *Clin. Microbiol. Rev.* **2001**, 14, 2, 382-97.
7. B. A. Moffatt, H. Ashihara, Purine and pyrimidine nucleotide synthesis and metabolism. *Arabidopsis Book*. **2002**, 1, 0018.
8. R. I. Christopherson, S. D. Lyons, P. K. Wilson, Inhibitors of de novo nucleotide biosynthesis as drugs. *Acc. Chem. Res.* **2002**, 35, 961-71.
9. Q. Shu, V. Nair, Inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) as a target in drug discovery. *Med. Res. Rev.* **2008**, 28, 219-232.
10. P. Franchetti, L. Cappellacci, M. Grifantini, IMP dehydrogenase as a target of antitumor and antiviral chemotherapy. *Farmaco*. **1996**, 51, 457–469.
11. A. J. Ratcliffe, Inosine 5'-monophosphate dehydrogenase inhibitors for the treatment of autoimmune diseases. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* **2006**, 9, 595-605.
12. V. Nair, Q. Shu, Inosine monophosphate dehydrogenase as a probe in antiviral drug discovery. *Antivir. Chem. Chemother.* **2007**, 18, 245-58.
13. L. Chen, K. W. Pankiewicz, Recent development of IMP dehydrogenase inhibitors for the treatment of cancer. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* **2007**, 10, 403-12.
14. L. Hedstrom L. IMP dehydrogenase: structure, mechanism, and inhibition. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 2903-2928.
15. K. R. Kearney, J. J. Thornton, V. J. Navarro, Taribavirin for the treatment of chronic hepatitis C. *Expert Opin Pharmacother.* **2008**, 9, 18, 3243-9.
16. M. Popsavin, L. Torović, M. Svircev, V. Kojic *et al.* Synthesis and antiproliferative activity of two new tiazofurin analogues with 2'-amido functionalities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16,10, 2773–6.
17. E. De Clercq, M. Cools, J. Balzarini, R. Snoeck, G. Andrei, M. Hosoya, S. Shigeta *et al.* Antiviral activities of 5-ethynyl-1-beta-D-ribofuranosylimidazole-4- carboxamide and related compounds. *Antimicrob Agents Chemother.* **1991**, 35, 679-84.
18. M. Jashés, M. González, M. López-Lastra, E. De Clercq, A. Sandino, Inhibitors of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) replication. *Antiviral Res.* **1996**, 29, 309-12.
19. E. De Clercq, Vaccinia virus inhibitors as a paradigm for the chemotherapy of poxvirus infections. *Clin. Microbiol. Rev.* **2001**, 14, 382-97.
20. H. Ishikawa, Mizoribine and mycophenolate mofetil. *Curr. Med. Chem.* **1999**, 6, 575-97.
21. L. Hedstrom, IMP dehydrogenase: structure, mechanism, and inhibition. *Chemical reviews.* **2009**, 8, 109, 2903-28.
22. A. C. Verschuur, A. H. Van Gennip, R. Leen, E. J. Muller, L. Elzinga, P. A. Voûte, A. B. Van Kuilenburg, Cyclopentenyl cytosine inhibits cytidine triphosphate synthetase in paediatric acute non-lymphocytic leukaemia: a promising target for chemotherapy. *Eur J Cancer.* **2000**, 36, 627-35.
23. E. De Clercq, J. Murase, V. E. Marquez, Broad spectrum antiviral and cytotoxic activity of cyclopentenylcytosine, a carbocyclic nucleoside targeted at CTP synthase. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, 41, 1821-1829.
24. V. E. Marquez, M. I. Lim, S. P. Treanor, J. Plowman, A. Priest, A. Markovac, M. S. Khan *et al.* Cyclopentenylcytosine. A carbocyclic nucleoside with antitumor and antiviral properties. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 1687-1694.
25. K. R. Wilhelmus, Antiviral treatment and other therapeutic interventions for herpes simplex virus epithelial keratitis. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2015**, 1, CD002898.
26. T. K. Warren, J. Wells, R. G. Panchal, K. S. Stuthman, N. L. Garza *et al.* Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. *Nature.* **2014**, 508, 402-5.
27. J. Zhang, F. Visser, K. M. King, S. A. Baldwin, J. D. Young, C. E. Cass, The role of nucleoside transporters in cancer chemotherapy with nucleoside drugs. *Cancer Metastasis Rev.* **2007**, 26, 85–110.
28. D. Deville-Bonne, C. El Amri, P. Meyer, Y. Chen, L. A. Agrofoglio, J. Janin, Human and viral nucleoside/nucleotide kinases involved in antiviral drug activation: structural and catalytic properties. *Antiviral Res.* **2010**, 86, 101-20.
29. L. P. Jordheim, D. Durantel, F. Zoulim, C. Dumontet, Advances in the development of nucleoside and nucleotide analogues for cancer and viral diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, 12, 447–464.
30. A. Varga, C. Lionne, B. Roy, Intracellular metabolism of nucleoside/nucleotide analogues: a bottleneck to reach active drugs on HIV reverse transcriptase. *Curr. Drug Metab.* **2016**, 17, 237-252.

31. C. R. Wagner, V. V. Iyer, E. J. McIntee, Pronucleotides: Toward the in vivo delivery of antiviral and anticancer nucleotides. *Med. Res. Rev.* **2000**, 20, 417–451.
32. D. P. Drontle, C. R. Wagner, Designing a pronucleotide stratagem: Lessons from amino acid phosphoramidates of anticancer and antiviral pyrimidines. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, 4, 409–419.
33. P. J. Thornton, H. Kadri, A. Miccoli, Y. Mehellou, Nucleoside phosphate and phosphonate prodrug clinical candidates. *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 10400–10410.
34. S. J. Hecker, M. D. Erion, Prodrugs of phosphates and phosphonates. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 2328–2345.
35. C. Schultz, Prodrugs of biologically active phosphate esters. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 885–898.
36. J. E. J. Starrett John, D. R. Tortolani, J. Russell, M. J. M. Hitchcock, V. Whiterock *et al.* Synthesis, oral bioavailability determination, and in vitro evaluation of prodrugs of the antiviral agent 9-[2-(phosphonomethoxy)ethyl] adenine (PMEA). *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 1857–1864.
37. R. V. Srinivas, B. L. Robbins, M. C. Connelly, Y. F. Gong, N. Bischofberger, A. Fridland, Metabolism and in vitro antiretroviral activities of bis(pivaloyloxymethyl) prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, 37, 2247–50.
38. P. J. Thornton, H. Kadri, A. Miccoli, Y. Mehellou, Nucleoside phosphate and phosphonate prodrug clinical candidates. *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 10400–10410.
39. K. Y. Hostetler, Alkoxyalkyl prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates enhance oral antiviral activity and reduce toxicity: current state of the art. *Antiviral Res.* **2009**, 82, 84–98.
40. S. L. Ciesla, J. Trahan, W. B. Wan, Esterification of cidofovir with alkoxyalkanols increases oral bioavailability and diminishes drug accumulation in kidney. *Antiviral Res.* **2003**, 59, 163–171.
41. G. R. Painter, M. R. Almond, L. C. Trost, B. M. Lampert, J. Neyts, E. De Clercq *et al.* Evaluation of hexadecyloxypropyl-9-R-[2-(phosphonomethoxy)propyl]-adenine, CMX157, as a potential treatment for human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis B virus infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, 51, 3505–3509.
42. D. F. Florescu, M. A. Keck, Development of CMX001 (Brincidofovir) for the treatment of serious diseases or conditions caused by DsDNA viruses expert. *Rev. Anti-Infect. Ther.* **2014**, 12, 1171–1178.
43. D. J. Bidanset, J. R. Beadle, W. B. Wan, K. Y. Hostetler, E. R. Kern, Oral activity of ether lipid ester prodrugs of cidofovir against experimental human cytomegalovirus infection. *J. Inf. Dis.* **2004**, 190, 499–503.
44. E. R. Lanier, R. G. Ptak, B. M. Lampert, L. Keilholz, T. Hartman *et al.* Development of hexadecyloxypropyl tenofovir (CMX157) for treatment of infection caused by wild-type and nucleoside/nucleotide-resistant HIV. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, 54, 2901–2909.
45. F. Pertusati, M. Serpi, C. McGuigan, Medicinal chemistry of nucleoside phosphonate prodrugs for antiviral therapy. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy.* **2012**, 22, 181–203.
46. C. McGuigan, R. N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq, Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 1048–1052.
47. C. McGuigan, P. W. Sutton, D. Cahard *et al.* Synthesis, anti-human immunodeficiency virus activity and esterase lability of some novel carboxylic ester-modified phosphoramidate derivatives of stavudine (d4T). *Antiviral Chem. Chemother.* **1998**, 9, 473–479.
48. F. Pertusati, K. Hinsinger, Á. S. Flynn *et al.* PMPA and PMEA prodrugs for the treatment of HIV infections and human papillomavirus (HPV) associated neoplasia and cancer. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 78, 259–268.
49. C. McGuigan, R. N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq, Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 1048–1052.
50. C. McGuigan, R. N. Pathirana, N. Mahmood, K. G. Devine, A. J. Hay, Aryl phosphate derivatives of AZT retain activity against HIV1 in cell lines which are resistant to the action of AZT. *Antiviral Res.* **1992**, 17, 311–321.
51. M. J. Sofia, B. Donghui, C. Wonsuk, D. Jinfa, N. Dhanapalan *et al.* Discovery of a β -D-2'-Deoxy-2'-r-fluoro-2'- β -C-methyluridine nucleotide prodrug (PSI-7977) for the treatment of hepatitis C virus. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 19, 7202–7218.
52. W. A. Lee, G. X. He, E. Eisenberg, T. Cihlar, S. Swaminathan, A. Mulato, K. C. Cundy, Selective intracellular activation of a novel prodrug of the human immunodeficiency virus reverse transcriptase inhibitor tenofovir leads to preferential distribution and accumulation in lymphatic tissue. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, 49, 1898–906.
53. E. J. Eisenberg, G. X. He, W. A. Lee, Metabolism of GS-7340, a novel phenyl monophosphoramidate intracellular prodrug of PMPA, in blood. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, **2001**, 20, 1091–1098.
54. D. Siegel, H. C. Hui, E. Doerffler *et al.* Discovery and synthesis of a phosphoramidate prodrug of a pyrrolo[2,1-f][triazin-4-amino] adenine C-nucleoside (GS-5734) for the treatment of ebola and emerging viruses. *J. Med. Chem.* **2017**, 60, 1648–1661.
55. R. T. Eastman, J. S. Roth, K. R. Brimacombe, A. Simeonov, M. Shen *et al.* Remdesivir: A review of its discovery and development leading to emergency use authorization for treatment of COVID-19. *ACS Central Science*, **2020**.
56. P. J. Thornton, H. Kadri, A. Miccoli, Y. Mehellou, Nucleoside phosphate and phosphonate prodrug clinical candidates. *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 10400–10410.

57. Y. Mehellou, H. S. Rattan, J. Balzarini, The ProTide prodrug technology: from the concept to the clinic. *J. Med. Chem.* **2018**, 61, 2211–2226.
58. C. Brenner, C. Hint, F. Galt, Function, structure, evolution and mechanism of three branches of the histidine triad superfamily of nucleotide hydrolases and transferases. *Biochemistry*, **2002**, 41, 9003–9014.
59. D. Saboulard, L. Naesens, D. Cahard, A. Salgado, R. Pathirana, S. Velazquez, C. McGuigan, E. De Clercq *et al.* Characterization of the activation pathway of phosphoramidate triester prodrugs of stavudine and zidovudine. *Mol. Pharmacol.* **1999**, 56, 693–704.
60. E. De Clercq, A. Holý, I. Rosenberg, T. Sakuma, J. Balzarini, P. C. Maudgal, A novel selective broad-spectrum anti-DNA virus agent. *Nature*, **1986**, 323, 464–467.
61. E. De Clercq, The discovery of antiviral agents: Ten different compounds, ten different stories. *Med. Res. Rev.* **2008**, 28, 929–953.
62. E. De Clercq, Yet another ten stories on antiviral drug discovery (part D): Paradigms, paradoxes, and paradržions. *Med. Res. Rev.* **2009**, 30.
63. E. De Clercq, The acyclic nucleoside phosphonates from inception to clinical use: Historical perspective. *Antiviral Research*, **2007**, 75, 1–13.
64. S. J. Hadziyannis, N. C. Tassopoulos, E. J. Heathcote, C. L. Brosgart *et al.* Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B antigen-negative chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* **2003**, 348, 800–807.
65. J. Balzarini, A. Holý, J. Jindrich, L. Naesens, R. Snoeck, D. Schols, E. De Clercq, Differential antiherpesvirus and antiretrovirus effects of the (S) and (R) enantiomers of acyclic nucleoside phosphonates: potent and selective *in vitro* and *in vivo* antiretrovirus activities of (R)-9-(2-phosphonomethoxypropyl)-2, 6-diaminopurine. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, 37, 332–338.
66. A. Holý, I. Votruba, A. G. Masojídková, R. Snoeck, L. Neasens *et al.* 6-[2-(Phosphonomethoxy)alkoxy]pyrimidines with antiviral activity. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 1918–1929.
67. E. De Clercq, The clinical potential of the acyclic (and cyclic) nucleoside phosphonates: the magic of the phosphonate bond. *Biochem. Pharmacol.* **2011**, 82, 99–109.
68. J. Balzarini, C. Pannecouque, E. De Clercq, S. Aquaro, C. F. Perno, A. Holy, Antiretrovirus activity of a novel class of acyclic pyrimidine nucleoside phosphonates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, 46, 2185–2193.
69. E. De Clercq, G. Andrei, J. Balzarini, P. Leyssen, L. Naesens *et al.* Antiviral potential of a new generation of acyclic nucleoside phosphonates, the 6-[2-(phosphonomethoxy)alkoxy]-2,4- diaminopyrimidines. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids*, **2005**, 24, 331–341.
70. D. Hockova, A. Holy, M. Masojídkova, G. Andrei, R. Snoeck, E. De Clercq, J. Balzarini, 5-Substituted-2,4-diamino-6-[2-(phosphonomethoxy)ethoxy]pyrimidines-Acyclic nucleoside phosphonate analogues with antiviral activity. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 5064–5073.
71. S. Megati, S. Phadtare, J. Zemlicka, Unsaturated phosphonates as acyclic nucleotide analogues. Anomalous Michaelis-Arbuzov and Michaelis-Becker reactions with multiple bond systems. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 2320–2327.
72. M.R. Harden, A. PArkin, M.J. Parratt, R.M. Perkins. Novel acyclonucleotides: synthesis and antiviral activity of alkenyl phosphonic acid derivatives of purines and a pyrimidine. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 1343–1355.
73. H.B. Lazrek, A. Rochdi, H. Khaider, J.-L. Barascut, J.-L. Imbach, J. Balzarini, M. Witvrouw, C. Pannecouque, E. De Clercq, Synthesis of (Z) and (E) a-alkenylphosphonic acid derivatives of purines and pyrimidines. *Tetrahedron* **1998**, 54, 3807–3816.
74. D. Topalis, U. Pradère, V. Roy, C. Caillat, A. Azzouzi, J. Broggi *et al.* Novel antiviral C5-substituted pyrimidine acyclic nucleoside phosphonates selected as human thymidylate kinase substrates. *J. Med. Chem.* **2010**, 54, 222–232.
75. R. Barrett, C. W. Kuzawa, T. McDade, G. J. Armelagos, Emerging and re-emerging infectious diseases: the third epidemiologic transition. *Annual review of anthropology*, **1998**, 27, 247–271.
76. O. L. Bryan-Marrugoa, J. Ramos-Jiménez, H. Barrera-Saldaña, A. Rojas-Martínez, R. Vidaltamayoc, A. M. Rivas-Estilla, History and progress of antiviral drugs: from acyclovir to direct-acting antiviral agents (DAAs) for Hepatitis C. *Medicina Universitaria*, **2015**, 17, 165–174.
77. K. E. Jones, N. G. Patel, M. A. Levy, A. Storeygard, D. Balk, J. L. Gittleman, P. Daszak, Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, **2008**, 451, 990–3.
78. M. García-Serradilla, C. Risco, B. Pacheco, Drug repurposing for new, efficient, broad spectrum antivirals. *Virus Res.* **2019**, 15, 264, 22–31.
79. S. Mason, J. P. Devincenzo, S. Toovey, J. Z. Wu, R. J. Whitley, Comparison of antiviral resistance across acute and chronic viral infections. *Antiviral Res.* **2018**, 158, 103–112.
80. H. Lodish, A. Berk, S. L. Zipursky *et al.* Viruses: Structure, function, and uses. *Molecular Cell Biology*. 4th edition, **2000**, Section 6.3.
81. A. Moscona, Global transmission of oseltamivir-resistant influenza. *N. Engl. J. Med.* **2009**, 5, 360, 953–956.
82. K. Y. Hostetler, Alkoxyalkyl prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates enhance oral antiviral activity and reduce toxicity: current state of the art. *Antiviral Res.* **2009**, 82, 84–98.

83. U. Pradère, H. Clavier, V. Roy, S. P. Nolan, L. A. Agrofoglio, The shortest strategy for generating phosphonate prodrugs by olefin cross-metathesis – application to acyclonucleoside phosphonates. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 7324–7330.
84. L. A. Agrofoglio, V. Roy, C. De Schutter, M. Bessieres, F. Gallardo, New antiviral acyclonucleosides analogues. WO, **2019**, 206907.
85. G. D. Kini, J. R. Beadle, H. Xie, K. A. Aldern, D. D. Richman, K. Y. Hostetler, Alkoxy propane prodrugs of foscarnet: effect of alkyl chain length on *in vitro* antiviral activity in cells infected with HIV-1, HSV-1 and HCMV. *Antiviral Res.* **1997**, 36, 43–53.
86. S. H. Krawczyk, Nucleobase phosphonate analogs for antiviral treatment, WO20050123245 (A2) **2005**-02-1.
87. K. Żukowska, K. Grela, In *Comprehensive Organic Synthesis II*, Elsevier, **2014**, 1257–1301.
88. A. H. Hoveyda, A. R. Zhugralin, The remarkable metal-catalysed olefin metathesis reaction. *Nature* **2007**, 450, 243–251.
89. F. Amblard, S. P. Nolan, L. A. Agrofoglio, Metathesis strategy in nucleoside chemistry. *Tetrahedron* **2005**, 61, 7067–7080.
90. L. A. Agrofoglio, S. P. Nolan, Olefin metathesis route to antiviral nucleosides. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, 5, 1541–1558.
91. J. L. Hérisson, Y. Chauvin, Catalyse de transformation des oléfines par les complexes du tungstène. II. Télomérisation des oléfines cycliques en présence d'oléfinacycliques. *Makromol. Chem.* **1971**, 141, 161–176.
92. S. J. Connon, S. Blechert, Recent developments in olefin cross-metathesis. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2003**, 42, 1900–1923.
93. A. K. Chatterjee, T. L. Choi, D. P. Sanders, R. H. Grubbs, A General model for selectivity in olefin cross metathesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11360–11370.
94. A. K. Chatterjee, R. H. Grubbs, Synthesis of trisubstituted alkenes via olefin cross-metathesis. *Org. Lett.* **1999**, 1, 1751–1753.
95. S. H. Krawczyk, Nucleobase phosphonate analogs for antiviral treatment, WO20050123245, **2005**, 02-10.
96. O. Sari, M. Hamada, V. Roy, S. P. Nolan, L. A. Agrofoglio, The preparation of tisubstituted alkenyl nucleoside phosphonates under ultrasound-assisted olefin cross-metathesis. *Org. Lett.* **2013**, 15, 4390–4393.
97. C. D. Magnusson, G. G. Haraldsson, Chemoenzymatic synthesis of symmetrically structured triacylglycerols possessing short-chain fatty acids. *Tetrahedron* **2010**, 66, 2728–2731.
98. E. M. Anderson, K. M. Larsson, O. Kirk, One biocatalyst—many applications: the use of *Candida Antarctica B*-Lipase in organic synthesis. *Biocatal. Biotransform.* **1998**, 16, 181–204.
99. M. Krečmerová, M. Masojdková, A. Holý, Acyclic nucleoside phosphonates with 5-azacytosine base moiety substituted in C-6 position. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2010**, 18, 387–395.
100. M. Krečmerová, A. Holý, A. Pískala, M. Masojdková, G. Andrei, E. De Clercq *et al.* Antiviral activity of triazine analogues of 1-(S)-[3-hydroxy-2-(phosphonomethoxy)propyl]cytosine (cidofovir) and related compounds. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 1069–77.
101. S. De Castro, G. Fernández-Cureses, G. Andrei, R. Snoeck, P. A. Sánchez-Murcia *et al.* Conservation of antiviral activity and improved selectivity in PMEO-DAPym upon pyrimidine to triazine scaffold hopping. *Antiviral Res.* **2015**, 122, 64–8.
102. C. Aesop, Discovery of the first C-nucleoside HCV polymerase inhibitor (GS-6620) with demonstrated antiviral response in HCV infected patients. *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 1812–1825.
103. U. Pradere, C. Ethel, G. A. Steven, J. Coats, F. Amblard, R. F. Schinazi, Synthesis of nucleoside phosphate and phosphonate prodrugs. *Chem. Rev.* **2014**, 114, 18, 9154–9218.
104. B. S. Ross, P. G. Reddy, H. R. Zhang, S. Rachakonda, M. J. Sofia, Synthesis of diastereomerically pure nucleotide phosphoramidates. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 20, 8311–8319.
105. C. McGuigan, R. N. Pathirana, N. Mahmood, K. G. Devine, A. J. Hay, Aryl phosphate derivatives of AZT retain activity against HIV-1 in cell lines which are resistant to the action of AZT. *Antiviral Res.* **1992**, 17, 311.
106. C. McGuigan, R. N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq, Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 1048.
107. M. Uchiyama, Y. Aso, R. Noyori, Y. Hayakawa, O-selective phosphorylation of nucleosides without N-protection. *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 373.
108. B. Simmons, Z. Liu, A. Klapars, A. Bellomo, S. M. Silverman, Mechanism-based solution to the ProTide synthesis problem: selective access to Sofosbuvir, Acelarin, and INX-08189. *Org. Lett.* **2017**, 19, 2218–2221.
109. M. Slusarczyk, M. Serpi, F. Pertusati, Phosphoramidates and phosphonamidates (ProTides) with antiviral activity. *Antivir. Chem. Chemother.* **2018**, 26, 2040206618775243.
110. N. Bischofberger, PMPA preparation, US-5733788-A, **1996**-07-26.
111. C. Ballatore, C. McGuigan, E. De Clercq, J. Balzarini, Synthesis and evaluation of novel amidate prodrugs of PMEA and PMPA. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 1053–1056.
112. N. A. Lentini, C. H. C. Hsiao, G. B. Crull, A. J. Wiemer, D. F. Wiemer, Synthesis and bioactivity of the alanyl phosphoramidate stereoisomers derived from a butyrophilin ligand. *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, 10, 9, 1284–1289.
113. S. Thatipally, V. Dammalapati, V. Kallam *et al.* An improved process for the preparation of tenofovir alafenamide or pharmaceutically acceptable salts thereof. WO2015040640 A3, PCT/IN2014/000614, **2015**.
114. P. Jansa, O. Baszczyński, M. Dračinský, I. Votruba, Z. Zidek, G. Bahador, Z. Janeba, A novel and efficient one-pot synthesis of symmetrical diamide (bis-amidate) prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates and evaluation of their biological activities. *Euro. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 3748–3754.

115. F. Pertusati, S. Serafini, N. Albadry, R. Snoeck, G. Andrei, Phosphonoamidate prodrugs of C5-substituted pyrimidine acyclic nucleosides for antiviral therapy. *Antiviral Research* **2017**, *143*, 262–268.
116. M. Bessières, V. Hervin, V. Roy, A. Chartier, R. Snoeck, G. Andrei, J. F. Lohier, L. A. Agrofoglio, Highly convergent synthesis and antiviral activity of (E)-but-2-enyl nucleoside phosphonoamidates. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *146*, 678–686.
117. E. Pileggia, M. Serpia, G. Andreib, D. Scholsb, R. Snoeckb, F. Pertusatia, Expedient synthesis and biological evaluation of alkenyl acyclic nucleoside phosphonate prodrugs. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 3596–3609.
118. I. J. Colton, D. T. Yin, P. Grochulski, R. J. Kazlauskas, Molecular Basis of Chiral Acid Recognition by *Candida rugosa* Lipase: X-Ray Structure of Transition State Analog and Modeling of the Hydrolysis of Methyl 2-Methoxy-2-phenylacetate. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 2529–2544.
119. X. Li, D. Zhang, H. Pang, F. Shen, H. Fu, Y. Jiang, Y. Zhao, Synthesis of a Diverse Series of Phosphacoumarins with Biological Activity. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4919–4922.
120. H. Huang, J. Denne, C. H. Yang, H. Wang, J. Y. Kang, Direct Aryloxylation/Alkyloxylation of Dialkyl Phosphonates for the Synthesis of Mixed Phosphonates. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2018**, *57*, 6624–6628.
121. D. Sikora, T. Nonas, T. Gajda, O-Ethyl 1-azidoalkylphosphonic acids versatile reagents for the synthesis of protected phosphonamidate peptides. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1619–1625.
122. C. E. McKenna, M. T. Higa, N. H. Cheung, M. C. McKenna, The facile dealkylation of phosphonic acid dialkyl esters by bromotrimethylsilane. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 155–158.
123. N. A. Lentini, C. H. C. Hsiao, G. B. Crull, A. J. Wiemer, D. F. Wiemer, Synthesis and bioactivity of the alanyl phosphonamidate stereoisomers derived from a butyrophilin ligand. *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, *10*, 9, 1284–1289.
124. T. Mukaiyama and M. Hashimoto, Phosphorylation of alcohols and phosphates by oxidation-reduction condensation. *Bull. Chem. Soc. Japan* **1971**, *44*, 196–199.
125. M. Frieden, M. Giraud, B. C. Reese, Q. Song, Synthesis of 1-[*cis*-3-(hydroxymethyl)cyclobutyl]-uracil, -thymine and -cytosine. *J. Chem. Soc.* **1998**, *1*, 2827–2832.
126. M. Bessières, V. Roy, L. A. Agrofoglio, A convenient, highly selective and eco-friendly N-Boc protection of pyrimidines under microwave irradiation. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 59747–59749.
127. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>
128. M. K. White, J. S. Pagano, K. Khalili, Viruses and human cancers: along road of discovery of molecular paradigms. *Clin. Microbiol. Rev.* **2014**, *27*, 463–481.
129. D. Maucourt-Boulch, C. De Martel, S. Franceschi, M. Plummer, Fraction and incidence of liver cancer attributable to hepatitis B and C viruses worldwide. *Int. J. Cancer.* **2018**, *142*, 2471–2477.
130. A. Sells, M. L. Chen, G. Acs, Production of hepatitis B virus particles in Hep G2 cells transfected with cloned hepatitis B virus DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1987**, *84*, 1005–1009.
131. N. Lydie, M. K. Sakina, Le récepteur neural des  strog nes b ta : Un nouvel acteur dans la maturation pubertaire femelle. *Médecine/sciences*, **2016**, *32*, 433–460.
132. Y. Pei, C. Wang, S. F. Yan, G. Liu, Past, current, and future developments of therapeutic agents for treatment of chronic hepatitis B virus infection. *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 15, 6461–6479.
133. P. A. Revill, F. V. Chisari, J. M. Block, M. Dandri, A. J. Gehring, H. Guo, J. Hu, A. Kramvis *et al.* A global scientific strategy to cure hepatitis B. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* **2019**, *4*, 545–558.
134. K. Onitsuka, R. Tokuda, N. Kuwata-Higashi, H. Kumamoto, M. Aoki, S. Imoto *et al.* Synthesis and evaluation of the anti-hepatitis B virus activity of 4'-Azido-thymidine analogs and 4'-Azido-2'-deoxy-5-methylcytidine analogs: structural insights for the development of a novel anti-HBV agent. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, **2020**, *39*, 4, 518–529.
135. J. Marlet, C. Lier, E. Roch, M. Maugey, A. Moreau, B. Combe, S. Lefevre, L. d'Alteroche, D. Barbereau, X. Causse, F. Bastides, M. N. Bachelier, D. Brand, C. Gaudy-Graffin, Revisiting HBV resistance to entecavir with a phenotypic approach. *Antiviral Res.* **2020**, *181*, 104869.
136. K. Agarwal, T. Berg, M. Buti, H. L. A. Janssen, G. Papatheodoridis, F. Zoulim, F. Tacke, EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.*, **2017**, *67*, 2, 370–398.
137. C. L. Lai, J. Dienstag, E. Schiff, N. W. Leung, M. Atkin, C. Hunt, N. Brown *et al.* Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B. *Clin. Infect. Dis.* **2003**, *36*, 687–696.
138. J. Hou, Y. K. Yin, D. Xu, D. Tan, J. Niu, X. Zhou, Y. Wang *et al.* Telbivudine versus lamivudine in chinese patients with chronic hepatitis B: Results at 1 year of a randomized, double-blind trial. *Hepatology.* **2008**, *47*, 447–454.
139. Y. F. Liaw, E. Gane, N. Leung, S. Zeuzem, Y. Wang, C. L. Lai, E. J. Heathcote *et al.* 2-year globe trial results: Telbivudine is superior to lamivudine in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* **2009**, *136*, 486–495.
140. R. Samunuri, M. Toyama, R. S. Pallaka, S. Neeladri, A. K. Jha, M. Baba, C. Bal, Synthesis and anti-HBV activity of carbocyclic nucleoside hybrids with salient features of entecavir and aristeromycin. *RSC Med. Chem.* **2020**, *11*, 597–601.
141. L. Kang, J. Pan, J. Wu, J. Hu, Q. Sun, J. Tang, Anti-HBV drugs: progress, unmet needs, and new hope. *Viruses* **2015**, *7*, 4960–77.
142. F. Zoulim, S. Locarnini, Hepatitis B virus resistance to nucleos(t)ide analogues. *Gastroenterol.* **2009**, *137*, 1593–1608.

143. Y. F. Liaw, N. W. Leung, T. T. Chang, R. Guan, D. I. Tai, K. Y. Ng, R. N. Chien, J. Dent, L. Roman, S. Edmundson, C. L. Lai, Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group, *Gastroenterology* **2000**, 119, 172-180.
144. W. E. Delaney, S. Locarnini, T. Shaw, Resistance of hepatitis B virus to antiviral drugs: current aspects and directions for future investigation. *Antivir. Chem. Chemoth.* **2001**, 12, 41-75.
145. F. Amblard, J. H. Cho, R. F. Schinazi, Cu(I)-catalyzed Huisgen azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition reaction in nucleoside, nucleotide, and oligonucleotide chemistry. *Chem Rev.* **2009**, 109, 4207-20.
146. S. Raic-Malic, A. Mescic, Recent trends in 1,2,3-Triazolo-nucleosides as promising anti-infective and anticancer agents. *Curr. Med. Chem.* **2015**, 22, 1462-99.
147. G. C. Tron, T. Pirali, R. A. Billington, P. L. Canonico, G. Sorba, A. A. Genazzani, Click chemistry reactions in medicinal chemistry: applications of the 1,3-dipolar cycloaddition between azides and alkynes. *Med. Res. Rev.* **2008**, 28, 278-308.
148. S. Brillanti, G. Mazzella, E. Roda, Ribavirin for chronic hepatitis C : and the mystery goes on. *Digestive and Liver Disease*, **2011**, 43, 425-430.
149. Y. Xia, F. Qu, L. Peng, Triazole nucleoside derivatives bearing aryl functionalities on the nucleobases show antiviral and anticancer activity. *Mini reviews in medicinal chemistry*, **2010**, 10, 806-821.
150. A. Krajczyk, K. Kulinska, T. Kulinski, B. L. Hurst, C. W. Day, D. F. Smeets, T. Ostrowski *et al.* Antivirally active ribavirin analogues--4,5-disubstituted 1,2,3-triazole nucleosides : biological evaluation against certain respiratory viruses and computational modelling. *Antivir. Chem. Chemother.* **2014**, 29, 23, 161-71.
151. O. Makabe, S. Fukatsu, S. Umezawa, Synthesis of some nucleoside analogs of substituted 1,2,3-triazole. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1972**, 45, 2577-2579.
152. Y. Saito, V. Escuret, D. Durantel, F. Zoulim, R. F. Schinazi, L. A. Agrofoglio, Synthesis of 1,2,3-triazolocarbanucleoside analogues of ribavirin targeting an HCV in replicon. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 3633-3639.
153. N. Joubert, R. F. Schinazi, L. A. Agrofoglio, Efficient Pd(0)-catalyzed synthesis of 1,2,3-triazolo-3'-deoxycarbanucleosides and their analogues. *Tetrahedron* **2005**, 61, 11744-11750.
154. J. H. Cho, D. L. Bernard, R. W. Sidwell, E. R. Kern, C. K. Chu, Synthesis of cyclopentenyl carbocyclic nucleosides as potential antiviral agents against orthopoxviruses and SARS. *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 1140-1148.
155. I. Perez-Castro, O. Caamano, F. Fernandez, M. D. Garcia, C. Lopez, E. De Clercq, Synthesis of 4-substituted-1,2,3-triazole carbanucleoside analogues of ribavirin via click chemistry. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 3805-3813.
156. R. Huisgen, 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, 2, 565-598.
157. V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes. *Angew. Chem. Int., Ed. Engl.* **2002**, 41, 2596-2599.
158. V. O. Rodionov, V. V. Fokin, M. G. Finn, Mechanism of the ligand-free CuI-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, 44, 2210-2215.
159. M. Hamada, V. Roy, T. R. McBrayer, T. Whitaker, C. Urbina-Blanco, S. P. Nolan, J. Balzarini, R. Snoeck, G. Andrei, R. F. Schinazi, L. A. Agrofoglio, Synthesis and broad spectrum antiviral evaluation of bis(POM) prodrugs of novel acyclic nucleosides. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 67, 398-408.
160. S. Kotha, G. Sreevani, [2 + 2 + 2] Cyclotrimerization with propargyl halides as copartners: formal total synthesis of the antitumor Hsp90 inhibitor AT13387. *ACS Omega*. **2018**, 3, 1850-1855.
161. H. Zheng, R. McDonald, D. G. Hall, Boronic acid catalysis for mild and selective [3+2] dipolar cycloadditions to unsaturated carboxylic acids. *Chem. Eur. J.* **2010**, 16, 5454-5460.
162. Ł. Gułajski, P. Śledź, A. Lupa, K. Grela, Olefin metathesis in water using acoustic emulsification. *Green Chem.* **2008**, 10, 271.
163. S. H. Hong, D. P. Sanders, C. W. Lee, R. H. Grubbs, Prevention of undesirable isomerization during olefin metathesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 49, 17160-17161.
164. A. Tamburrini, C. Colombo, A. Bernardi, Design and synthesis of glycomimetics: Recent advances. *Med. Res. Rev.* **2020**, 40, 495-531.
165. S. Sattin, A. Bernardi, Design and synthesis of glycomimetics. *Carbohydr. Chem.* **2016**, 41, 1-25.
166. B. Ernst, J. L. Magnani, From carbohydrate leads to glycomimetic drugs. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2009**, 8, 661-677.
167. C. Nicolas, O. R. Martin, Glycoside Mimics from Glycosylamines: Recent Progress. *Molecules* **2018**, 23, 1612.
168. E. H. McCafferty, L. J. Scott, Miglustat: A Review in Fabry Disease. *Drugs* **2019**, 79, 543-554.
169. L. J. Scott, C. M. Spencer, Miglitol. *Drugs* **2000**, 59, 521-549.
170. C. Ficicioglu, Review of miglustat for clinical management in Gaucher disease type 1. *Ther. Clin. Risk Manage* **2008**, 4, 425-431.
171. K. A. Lyseng-Williamson, Miglustat: A Review of Its Use in Niemann-Pick Disease Type C. *Drugs* **2014**, 74, 61-74.
172. D. S. Alonzi, K. A. Scott, R. A. Dwek, N. Zitzmann, Iminosugar antivirals: the therapeutic sweet spot. *Biochem. Soc. Trans.* **2017**, 45, 571-582.
173. P. Compain, V. Chagnault, O. R. Martin, Tactics and strategies for the synthesis of iminosugar C-glycosides: a review. *Tetrahedron Asymmetry* **2009**, 20, 672-711.
174. G. B. Evans, P. C. Tyler, V. L. Schramm, Immucillins in Infectious Diseases. *ACS Infect. Dis.* **2018**, 4, 107-117.

175. D. Hernández, A. Boto, Nucleoside Analogues: Synthesis and Biological Properties of Azanucleoside Derivatives. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 2201-2220.
176. R. Taylor, P. Kotian, T. Warren, R. Panchal, S. Bavari *et al.* BCX4430 - A broad-spectrum antiviral adenosine nucleoside analog under development for the treatment of Ebola virus disease. *J. Infect. Public Health* **2016**, 9, 220-226.
177. K. Izawa, L. Aceña, J. Wang, V. A. Soloshonok, Small-Molecule Therapeutics for Ebola Virus (EBOV). *Disease Treatment* **2016**, 8-16.
178. T. K. Warren, J. Wells, R. G. Panchal, K. S. Stuthman, N. L. Garza *et al.* Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. *Nature* **2014**, 508, 402-5.
179. E. De Clercq, C-Nucleosides to be revisited. *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 6, 2301-11.
180. J. G. Julander, V. Siddharthan, J. Evans, R. Taylor, K. Tolbert, C. Apuli *et al.* Efficacy of the broad-spectrum antiviral compound BCX4430 against Zika virus in cell culture and in a mouse model. *Antiviral Res.* **2017**, 137, 14-22.
181. J. G. Julander, S. Bantia, B. R. Taubenheim, D. M. Minning, P. Kotian, J. D. Morrey *et al.* BCX4430, a novel nucleoside analog, effectively treats yellow fever in a Hamster model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2014**, 58, 6607-6614.
182. S. Makita, A. M. Maeshima, Forodesine in the treatment of relapsed/refractory peripheral T-cell lymphoma: an evidence-based review. *Onco. Targets Ther.* **2018**, 11, 2287-2293.
183. G. A. Kicska, L. Long, H. Hörig, C. Fairchild, P. C. Tyler, R. H. Furneaux, V. L. Schramm, H. L. Kaufman, Immucillin H, a powerful transition-state analog inhibitor of purine nucleoside phosphorylase, selectively inhibits human T lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, 98, 4593-8.
184. A. Grigorian, L. Araujo, N. Naidu, D. J. Place, B. Choudhury, M. Demetriou, N-acetylglucosamine inhibits T-helper 1 (Th1)/T-helper 17 (Th17) cell responses and treats experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Biol. Chem.* **2011**, 286, 40133-40141.
185. D. Milstein, J. K. Stille, A general, selective, and facile method for ketone synthesis from acid chlorides and organotin compounds catalyzed by palladium. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 3636-3638.
186. M. Kosugi, K. Sasazawa, Reactions of allyltin compounds. III. Allylation of aromatic halides with allyltributyltin in the presence of tetrakis(triphenylphosphine) palladium (0). *Chem. Lett.*, **1977**, 6, 301-302.
187. J. K. Stille, The palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organotin reagents with organic electrophiles ». *Angew. Chem.* **1986**, 98, 504-519.
188. J.-M. Lancelin, L. Morin-Allory, P. Sinaÿ, Simple generation of a reactive glycosyl-lithium derivative. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 355-356.
189. F. Burkhart, M. Hoffmann, H. Kessler, C-glycosides: A stereoselective synthesis of α - and β -C-galactosides with glycosyl dianions. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 7699-7702.
190. P. Uhlmann, D. Nanz, E. Bozó, A. Vasella, Insertion of glycosylidene carbenes into the Sn-H bond of tributyl- and triphenylstannane: A synthesis of stannoglycosides. *Helv. Chim. Acta.* **1994**, 77, 1430-1440.
191. J. Ye, R. K. Bhatt, J. R. Falck, Stereospecific cross-coupling of α -(thiocarbamoyl)organostannanes with alkenyl, aryl, and heteroaryl iodides. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 1-5.
192. F. Zhu, S. O'Neill, J. Rodriguez, M. A. Walczak, Rethinking carbohydrate synthesis: stereoretentive reactions of anomeric atannane. *Chem. Eur. J.* **2019**, 25, 3147-3155.
193. F. Zhu, J. Rodriguez, S. O'Neill, M. A. Walczak, Acyl glycosides through stereospecific glycosyl cross-coupling: rapid access to C(sp³)-linked glycomimetics. *ACS Cent. Sci.* **2018**, 4, 1652-1662.
194. D. Yi, F. Zhu, M. A. Walczak, Stereoretentive intramolecular glycosyl cross-coupling: development, scope, and kinetic isotope effect study. *Org. Lett.* **2018**, 20, 4627-4631.
195. S. Li, J. Jaszczczyk, X. Pannecoucke, T. Poisson, O. R. Martin, C. Nicolas, Stereospecific synthesis of glycoside mimics through Migita-Kosugi-Stille cross-coupling reactions of chemically and configurationally stable 1-C-tributylstannyl iminosugars. *Adv. Synth. Catal.* **2020**.
196. C. Cocaud, C. Nicolas, T. Poisson, X. Pannecoucke, O. R. Martin, Tunable approach for the stereoselective synthesis of 1-C-diethylphosphono(difluoromethyl) iminosugars as glycosyl phosphate mimics. *J. Org. Chem.* **2017**, 82, 5, 2753-2763.
197. C. Cocaud, C. Nicolas, A. Bayle, T. Poisson, X. Pannecoucke, O. R. Martin, Synthesis and reactivity of N-tert-butanesulfinyl glycosylamines. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 4330-4334.
198. N. Plobeck, D. Powell, Asymmetric synthesis of diarylmethylamines by diastereoselective addition of organometallic reagents to chiral N-tert-butanesulfinimines: switchover of diastereofacial selectivity. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, 13, 303-310.
199. N. T. Anh, O. Eisenstein, Perspective on "theoretical interpretation of 1-2 asymmetric induction. The importance of antiperiplanarity. *Nouv. J. Chim.* **1977**, 1, 61-70.
200. N. T. Anh, O. Eisenstein, J. M. Lefour, M. E. Dau, Orbital factors and asymmetric induction. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 6146-6147.
201. K. W. Kells, J. M. Chong, Stille coupling of stereochemically defined α -sulfonamidoorganostannanes. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 15666-15667.
202. P. Sun, S. M. Weinreb, tert-Butylsulfonyl (Bus), a new protecting group for amines. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 8604-8608.

- 203.** M. T. Robak, M. A. Herbage, J. A. Ellman, Synthesis and applications of *tert*-butanesulfinamide. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 3600-3740.
- 204.** F. Zhu, J. Rodriguez, T. Yang, I. Kevlishvili, E. Miller, D. Yi, S. O'Neill, M. J. Rourke, P. Liu, M. A. Walczak, Glycosyl Cross-Coupling of Anomeric Nucleophiles: Scope, Mechanism, and Applications in the Synthesis of Aryl C-Glycosides. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 17908-17922.

.....

.....

Tuniyazi ABUDUAINI

Génération de Nouveaux Acyclonucléosides Phosphonates Oléfiniques et 1-C-Arylglycosides

Résumé :

Les nucléosides et leurs analogues constituent la principale famille d'antiviraux et anticancéreux. Ils sont un outil extrêmement puissant dans la lutte efficace contre les infections virales liées à de nombreux virus tels que le HIV, le HBV, le HCV, le CMV, le VZV ainsi que le HSV; ils sont depuis plus d'un demi-siècle au centre des thérapies antivirales avec une quarantaine de composés approuvés par la FDA. Les infections virales représentent toujours un large problème de santé publique en raison de l'émergence de nouveaux virus, l'apparition de résistances aux antiviraux actuels et des phénomènes de mutations virales. Ainsi, la conception et la synthèse de nouveaux antiviraux restent toujours d'actualité. Dans la première partie ce manuscrit, dans le but de développer des nouveaux antiviraux plus actifs et sûrs, nous avons conçu et synthétisé deux nouvelles familles d'acyclonucléosides phosphonates oléfiniques sous forme prodrogues en modifiant la nucléobase, la chaîne acyclique et le groupement biolabiles. Pour ce faire, nous avons utilisé la réaction de métathèse croisée comme étape clé. Dans la deuxième partie, le champ d'application du couplage croisé de Migita-Kosugi-Stille a été exploré en utilisant des iminoalditols stannylés et une petite librairie de chlorure d'aroyles diversement substitués. De manière intéressante, le processus de formation de la liaison C–C est stéréorétentif. Des nouveaux analogues de la *N*-acétylglucosamine C-glycosylée ont ensuite été préparés par une séquence réactionnelle de réduction, déprotection, méthylation et cyclisation.

Mots clés : acyclonucléosides phosphonates oléfiniques, prodrogues, antiviraux, métathèse croisée, CuAAC, Migita–Kosugi–Stille, iminoalditols stannylés, *N*-acétylglucosamine C-glycosylée.

Generation of New Olefinic Acyclonucleosides Phosphonates and 1-C-Arylglycosides

Summary :

Nucleosides and their analogues constitute the main family of antivirals and anticancer drugs. They provide an extremely powerful tool in effectively combating viral infections associated with many viruses such as HIV, HBV, HCV, CMV, VZV and HSV; they have been at the center of antiviral therapy for more than half a century with around 40 compounds approved by the FDA. Viral infections still represent a large public health problem due to the emergence of new viruses, the appearance of resistance to current antivirals and phenomena of viral mutations. This is why the design and synthesis of new antivirals are still relevant today. In the first part of this manuscript, in order to develop new, more active and safe antivirals, we firstly designed and synthesized two new families of olefinic acyclonucleosides phosphonates under prodrug form by modifying the nucleobase, the acyclic chain and the biolabile group. To do this, we used the cross-metathesis reaction as the key step. In the second part, the "scope" of Migita-Kosugi-Stille cross couplings was explored using stannylated iminoalditols and a small library of variously substituted aroyl chloride. More interestingly, the process of formation of the C–C bond is stereoretentive. New analogs of C-glycosylated *N*-acetylglucosamine were then prepared by a reaction sequence of reduction, deprotection, mesylation and cyclization.

Keywords : olefinic acyclonucleosides phosphonates, prodrugs, antivirals, cross metathesis, CuAAC, Migita–Kosugi–Stille, stannylated iminoalditols, C-glycosylated *N*-acetylglucosamine.



**ICOA, Institut de Chimie Organique et Analytique
UMR 7311 - UFR Sciences - BP 6759 - rue de Chartres
45067 Orléans cedex 2**

