

Synthèse d'analogues de nucléosides à 4 et 6 chaînons et incorporation d'analogues cyclobutyliques dans un motif oligonucléotidique antisens - Approche vers la synthèse de composés galactosyl-pyrrolo-pyridinones.

Sylvain Dalencon

▶ **To cite this version:**

Sylvain Dalencon. Synthèse d'analogues de nucléosides à 4 et 6 chaînons et incorporation d'analogues cyclobutyliques dans un motif oligonucléotidique antisens - Approche vers la synthèse de composés galactosyl-pyrrolo-pyridinones.. Chimie. Université du Maine, 2010. Français. NNT : . tel-00534705

HAL Id: tel-00534705
https://theses.hal.science/tel-00534705

Submitted on 10 Nov 2010

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

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

THÈSE

Présentée à

Université du Maine – U.F.R des Sciences et Techniques

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université du Maine

Spécialité : Chimie fine – Chimie organique

Par

Sylvain Dalençon

Synthèse d'analogues de nucléosides à quatre et six chaînons et incorporation d'analogues cyclobutyliques dans un motif oligonucléotidique antisens.

Approche vers la synthèse de composés galactosyl-pyrrolo-pyridinones.

Soutenue le 10 septembre 2010 devant la commission d'examen :

M. Robert Dodd	DR CNRS, ICSN, Gif-sur-Yvette	**Rapporteur**
M. Christophe Mathé	MCU, Université de Montpellier	**Rapporteur**
M. Gilles Dujardin	DR CNRS, Université du Maine	**Examinateur**
M. Christophe Len	Professeur, ESCOM, Compiègne	**Président**
M. François Huet	Professeur, Université du Maine	**Invité**
M. Didier Dubreuil	Professeur, Université de Nantes	**Co-dir. thèse**
M^{elle} Muriel Pipelier	MCU, Université de Nantes	**Co-dir. thèse**
M^{me} Stéphanie Legoupy	CR CNRS, Université du Maine	**Dir. thèse**

A mes parents

A ma famille

A Thanh

Cette thèse a été réalisée au Laboratoire de Synthèse Organique, dans l'Unité de Chimie Organique Moléculaire et Macromoléculaire de l'Université du Maine. Je remercie la région des Pays de la Loire pour la bourse qui m'a été octroyée et m'a permis de réaliser ce travail.

Je remercie M. Robert Dodd (DR CNRS, ICSN, Gif-sur-Yvette) et M. Christophe Mathé (MCU, IBMM, Université de Montpellier II) d'avoir accepté de juger mon travail en tant que rapporteurs. J'adresse aussi mes remerciements à M. Gilles Dujardin (DR CNRS, UCO2M, Université du Maine) et à M. Christophe Len (Professeur, ESCOM, Compiègne), de me faire l'honneur d'examiner ce travail et de participer à ce jury. Enfin, je tiens à remercier le Professeur François Huet d'avoir accepté d'être présent dans ce jury.

Je tiens particulièrement à exprimer toute ma reconnaissance envers ma directrice de thèse, le Docteur Stéphanie Legoupy, qui m'a accueilli dans son équipe. Je la remercie pour le soutien et la confiance qu'elle m'a accordés durant cette thèse. Sa grande disponibilité, son investissement, ses précieux conseils ainsi que son enthousiasme m'ont permis de mener à terme ce projet. Ayant également été encadré par le Professeur Didier Dubreuil et le Docteur Muriel Pipelier, de l'Université de Nantes, je les remercie pour le temps et l'intérêt qu'ils m'ont consacré. J'adresse également mes remerciements au Docteur Rachid Benhida, (LCMBA, Université de Nice Sophia-Antipolis), ainsi qu'à son équipe, pour le temps qu'ils ont consacré à la synthèse de nos oligonucléotides.

Je voudrais remercier chaleureusement toutes les personnes avec qui j'ai passé de bons moments au cours de cette thèse. Je pense particulièrement à Michael, à Tin Thanh, à Amélie et à Cécile qui m'ont supporté dans les bons commes dans les mauvais moments.

Bien entendu, j'adresse aussi ma reconnaissance à tous les membres de l'UCO2M (Frédéric Legros, Frédéric Gohier, Fabien Boeda, Arnaud Nourry, …) pour leur soutien constant tout au long de cette thèse.

Je voudrais également remercier toutes les personnes extérieures qui m'ont soutenu (, M. et M^{me} Chau, M. et M^{me} Chime, Nhung, Francis, le petit Patrick, Trang, Joseph, …)

Pour terminer, je tiens plus que tout à adresser mon affection et ma gratitude à mes parents, à ma sœur et à mon frère, ainsi qu'à mon parrain et au reste de ma famille, sans qui je n'aurais jamais pu envisager une seule seconde d'entreprendre une telle aventure.

Une place à part pendant cette thèse, a été occupée par Nguyet Trang Thanh Chau. Elle m'a soutenu sans conditions et n'a pas hésité à faire des sacrifices pour m'aider dans mon travail. Je tiens donc à lui exprimer ici toute ma reconnaissance, mais aussi et surtout mon amour.

Sylvain Dalençon, le 22 juillet 2010

Liste des abréviations

0-9

9-BBN : 9-borabicyclo(3.3.1)nonane

18-C-6 : éther couronne 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadécane

A

A : adénine

Ac : acétyle

ADN : acide désoxyribonucléique

APTS : acide para-toluènesulfonique

aq. : aqueux

Ar : aryle

ARN : acide ribonucléique

ARN_m : acide ribonucléique messager

ARN_r : acide ribonucléique ribosomique

ARN_t : acide ribonucléique de transfert

Arom : aromatique

ASO : antisense oligonucleotide

B

B : base nucléique

Bn : benzyl

Boc : *tert*-butyloxycarbonyle

Bp : boiling point

Bu : butyl

Bz : benzoyl

C

C : cytosine

CB : catécholborane

CBS : catalyseur de Corey-Bakshi-Shibata

CC_{50} : concentration à 50 %, représente la concentration nécessaire pour amener une cytotoxicité de 50 %

CMV : cytomégalovirus

CPG : chromatographie en phase gazeuse

D

DBAD : dibenzylazodicarboxylate

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

DCE : dichloroéthane

DEAD : azodicarboxylate de diéthyle

DIAD : azodicarboxylate de diisopropyle

DIBAL-H : hydrure de diisobutylaluminium

DIPEA : diisopropylamine

DMAP : 4-diméthylaminopyridine

DME : 1,2-diméthoxyéthane

DMF : *N*,*N*-diméthylformamide

DMP : périodinane de Dess-Martin

DMSO : diméthylsulfoxyde

DMTr : 4,4'-diméthoxytrityl

dppe : 1,2-*bis*-diphénylphosphinoéthane

E

EC_{50} : concentration effective à 50 %, représente la concentration *in vivo* nécessaire d'un compposé pour observer 50% de la réponse maximale

ED_{50} : dose effective à 50 %, représente la dose nécessaire d'un médicament pour observer 50% de la réponse maximale

ee : excès énantiomérique

éq. : équivalent(s)

Et : éthyle

G

G : guanine

GI_{50} : « growth inhibition », représente la concentration nécessaire pour inhiber de 50% la croissance cellulaire

H

h : heure(s)

HCMV : cytomégalovirus humain

HRMS : spectroscopie de masse haute résolution

HSV : virus herpès simplex, il existe le HSV de type 1 (HSV-1) et le HSV de type 2 (HSV-2)

Hz : hertz

I

i-Bu : isobutyle

IC_{50} : concentration inhibitrice à 50%, représente la concentration *in vitro* d'un inhibiteur nécessaire pour observer l'inhibition de 50% d'un enzyme, d'une cellule,…

ID_{50} : dose infectieuse à 50%, représente la dose dont les microorganismes ont besoin pour induire une infection de 50% des sujets d'un groupe expérimental

i-Pr : isopropyl

L

LDA : diisopropylamidure de lithium

LNA : locked nucleic acid

LTMP : 2,2',6,6'-tétraméthylpipéridure de lithium

M

M : masse molaire

m-CPBA : acide *méta*-chloroperbenzoïque

Me : méthyl

min. : minute(s)

Mp melting point

Ms mésyle

N

NCS : *N*-chlorosuccinimide

NMON : méthylmorpholine-*N*-oxyde

O

ODN : oligodésoxyribonucléotide

Oligonucléotide OMe : oligonucléotide 2'-*O*-méthyl

Oligonucléotide OMOE : oligonucléotide 2'-*O*-éthoxyméthyl

Oligonucléotide MP : oligonucléotide à lien internucléosidique méthylphosphonate

Oligonucléotide PS : oligonucléotide à lien internucléosidique phosphorothioate

P

PFL : lipase de *Pseudomonas Fluorescens*

Ph : phényl

Piv : pivaloyl

PMO : oligonucléotide morpholino phosphorodiamidate

PNA : acide nucléique peptidique

pyr. : pyridine

R

Rdt : rendement

R_f : rapport frontal

RMN / NMR : résonance magnétique nucléaire

RNAse : ribonucléase

S

SIDA : syndrome de l'immunodéficience acquise

T

T : thymine

T°C : température

t. a. : température ambiante

TBAF : fluorure de tétrabutylammonium

TBDMS : *tert*-butyldiméthylsilyle

TBDPS : *tert*-butyldiphénylsilyle

t-Bu : *tert*-butyle

Tf : triflate

TFA : acide trifluoroacétique

THF : tétrahydrofurane

TM : tamis moléculaire

T_m : température de fusion, caractéristique physicochimique caractérisant les duplex ou les triplex d'oligonucléotides

TMS : triméthylsilyl

TMSOTf : trifluorométhane sulfonate de triméthylsilyle

Tos : tosyle

TosMic : isocyanate de *para*-toluènesulfonylméthyle

Tr : trityl

V

VHB : virus de l'hépatite B

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

VZV : virus zona-varicelle

W

W : watt

Table des matières

Introduction générale _____ *1*

CHAPITRE I : Les nucléosides, les oligonucléotides et leurs analogues _____ *4*

1- Introduction _____ **4**

2- L'ADN _____ **5**

2.1- Les nucléosides et oligonucléotides : définition et structure _____ 5

2.2- Structure et fonction de l'ADN et de l'ARN _____ 6

3- Les analogues de nucléosides _____ **9**

3.1- Mode d'action général des analogues de nucléosides _____ 9

3.2- Analogues de nucléosides à base modifiée _____ 10

3.2.1- Analogues à base pyrimidique modifiée _____ 10

3.2.2- Analogues à base purique modifiée _____ 11

3.2.3- Analogues à base triazolique _____ 12

3.2.4- Analogues à base benzimidazolique _____ 13

3.2.5- Analogues C-nucléosidiques _____ 14

3.3- Analogues de nucléosides à structure ribosyle modifiée _____ 17

3.3.1- Analogues 2',3'-didésoxynucléosidiques _____ 17

3.3.2- Remplacement des hydroxyles de la structure ribosyle _____ 18

3.3.3- Analogues cyclonucléosidiques _____ 20

3.4- Analogues de nucléosides à thio- et azasucre _____ 21

3.5- Analogues *L*-nucléosidiques _____ 22

3.6- Analogues de nucléosides acycliques _____ 24

3.7- Analogues de nucléosides carbocycliques à 3 et 5 chaînons _____ 25

3.8- Analogues de nucléosides carbocycliques à 4 chaînons _____ 26

3.9- Analogues de nucléosides carbocycliques à 6 chaînons _____ 29

3.9.1- Analogues cyclohexéniques _____ 29

3.9.1.a- Analogues cyclohexéniques monohydroxylés _____ 30

3.9.1.b- Analogues cyclohexéniques dihydroxylés _____ 31

3.9.1.c- Analogues trihydroxylés _____ 32

3.9.2- Analogues cyclohexaniques _____ 33

3.9.2.a- Analogues non hydroxylés _____ 33

3.9.2.b- Analogues monohydroxylés _____ 33

3.9.2.c- Analogues dihydroxylés _____ 34

3.9.2.d- Analogues trihydroxylés et tétrahydroxylés _____ 35

3.9.2.e- Analogues bicycliques _____ 36

4- Les analogues d'oligonucléotides _____ **38**

4.1- Applications thérapeutiques des analogues d'oligonucléotides : la thérapie génique _____ 38

4.1.1- Principales stratégies thérapeutiques _____ 38

4.1.1.a- Ciblage de l'ARN _____ 38

4.1.1.b- Ciblage de l'ADN _____ 40

4.1.2- Transport des oligonucléotides jusqu'à leur cible : les vecteurs _____ 41

4.2- Oligonucléotides modifiés _____ 42

4.2.1- Principales propriétés recherchées sur un oligonucléotide _____ 42

4.2.2- Mesure de la température de fusion de l'ADN _____ 43

4.2.3- Modification du lien phosphodiester _____ 44

4.2.4- Modification de la structure furanosyle _____ 45

4.2.4.a- Oligonucléotides 2'-substitués 45
4.2.4.b- Oligonucléotides verrouillés ou « Locked Nucleic Acids » (LNA) 46
4.2.5- Oligonucléotides morpholino phosphorodiamidates ou « Phosphorodiamidate Morpholino Oligonucleotides » (PMO) 48
4.2.6- Oligonucléotides peptidiques ou « Peptide Nucleic Acids » (PNA) 49
4.2.7- Oligonucléotides cyclobutaniques 50
4.3- Méthodes de synthèse d'oligonucléotides 52
4.3.1- Synthèse en solution 52
4.3.1.a- Méthode phosphodiester 52
4.3.1.b- Méthode phosphotriester 52
4.3.1.c- Méthode phosphite triester 53
4.3.2- Synthèse automatisée sur support solide 53
4.3.2.a- Méthode aux phosphoramidite 54
i) Nature du support 54
ii) Nature des synthons 54
iii) Cycle de synthèse 54
4.3.2.b- Méthode aux H-phosphonates 57

5- Conclusion 59

CHAPITRE II : Synthèse d'analogues de nucléosides et d'oligonucléotides cyclobutaniques 60

1- Introduction 60

2- Méthodes énantiosélectives de synthèse d'analogues de nucléosides cyclobutaniques 61
2.1- Par cycloaddition [2+2] asymétrique 61
2.2- Par acétylation énantiosélective enzymatique 63

3- Préparation des analogues d'oligonucléotides cyclobutaniques 66
3.1- Stratégie envisagée 66
3.2- Préparation du cyclobutène II.67 67
3.3- Préparation des nucléosides cyclobuténiques II.72 et II.73a 68
3.3.1- Choix de la réaction de Mitsunobu 68
3.3.2- Accès à l'analogue de la thymine II.72 69
3.3.3- Accès à l'analogue de l'adénine II.73a 70
3.4- Tentative de préparation des nucléosides cyclobutaniques protégés par une fonction DMTr 72
3.4.1- Hydroboration de l'analogue thymine II.72 72
3.4.2- Hydroboration de l'analogue adénine II.73a 73
3.5- Nouvelle stratégie de synthèse : passage par une protection TBDPS 74
3.6- Synthèse des nucléosides cyclobuténiques sylilés II.47 et II.48 75
3.6.1- Préparation du composé II.46 75
3.6.2- Introduction des bases nucléiques par réaction de Mitsunobu 75
3.6.2.a- Accès à l'analogue de la thymine II.47 75
3.6.2.b- Accès à l'analogue l'adénine II.48 75
3.7- Préparation des nucléosides cyclobutaniques protégés par une fonction DMTr 76
3.7.1- Accès aux analogues de la thymine 76
3.7.1.a- Hydroboration du composé II.47 76
3.7.1.b- Acétylation et désilylation des composés II.49a et II.51a 76
3.7.1.c- Préparation des nucléosides cyclobutaniques cibles II.81a et II.82a 77
3.7.2- Accès aux analogues de l'adénine 78
3.7.2.a- Hydroboration du composé II.48 78
3.7.2.b- Benzoylation et désilylation des composés II.50a et II.52a 78

3.7.2.c- Préparation des nucléosides cibles II.93 et II.94 79
3.8- Préparation des nucléotides phosphoramidites et incorporation dans les enchaînements oligonucléotides 79
3.8.1- Préparation du phosphoramidites II.95 80
3.8.2- Préparation des oligonucléotides 80

4- Conclusion 83

CHAPITRE III : Synthèse d'analogues de nucléosides cyclohexéniques 84

1- Introduction 84

2- Méthodes énantiosélectives de synthèse d'analogues de nucléosides cyclohexéniques et cyclohexaniques 85
2.1- A partir d'un pool chiral 85
2.1.1- Via des structures cyclohexéniques et cyclohexaniques énantiomériquement pures 85
2.1.2- Via un réarrangement de Ferrier 88
2.2- Par acétylation énantiosélective enzymatique 88

3- Préparation des analogues de nucléosides cyclohexéniques 90
3.1- Stratégie de synthèse 90
3.2- Préparation de l'adduit III.56 91
3.2.1- Préparation du diène III.51 91
3.2.2- Préparation du diénophile III.54 91
3.2.3- Préparation de l'adduit III.56 93
3.3- Préparations des nucléosides cyclohexéniques III.80 et III.86 95
3.3.1- Préparation puis protection du triol cyclohexénique III.58 95
3.3.2- Elaboration des bases nucléiques 97
3.3.2.a- Méthodes de construction des bases pyrimidiques et puriques autour d'une amine primaire 97
i) Construction des bases pyrimidiques 97
ii) Construction des bases puriques 98
3.3.2.b- Préparation de l'analogue purique III.80 99
3.3.2.c- Préparation de l'analogue pyrimidique III.86 100
3.4- Approche vers la synthèse d'analogues cyclohexaniques contraints 101

4- Conclusion 103

CHAPITRE IV : Approche vers la synthèse de galactosyl pyrrolo-pyridinones 104

1- Introduction 104

2- Les dérivés pyrrolo-pyridinones 108
2.1- Intérêt biologique du motif pyrrolo-pyridinone 108
2.2- Méthodes de synthèse des dérivés pyrrolo-pyridinones 109
2.2.1- A partir d'un pyrrole déjà construit 109
2.2.2- Par construction du pyrrole 111

3- Méthodes de synthèse de glycosides α-*C*-acétyléniques 113
3.1- Méthodes de synthèse de 2-azido ou 2-nitroglycosides α-*C*-acétyléniques 113
3.1.1- 2-azidoglycosides α-C-acétyléniques 113
3.1.2- 2-nitroglycosides α-C-acétyléniques 114
3.2- Méthodes de synthèse de 2-hydroxy ou 2-désoxyglycosides α-*C*-acétyléniques 115
3.2.1- A partir de composés glycosidiques 115

3.2.2- A partir de glycal, de composés 1,2-anhydro ou 1,6-anhydro _____ 117

4- Synthèse des glycosides α-acétyléniques azotés en position 2 _____ 118

4.1- Stratégie de synthèse envisagée _____ 118

4.2- Préparation du *D*-galactal IV.62 _____ 118

4.3- Préparation des précurseurs azidos et nitros nécessaires à l'introduction des acétyléniques _ 120

4.3.1- Préparation des précurseurs azides IV.68 et IV.69αβ[238] _____ 120

4.3.2- Préparation du précurseur nitré IV.72 _____ 121

4.4- Préparation des glycosides α-*C*-acétyléniques _____ 121

4.4.1- Tentative d'accès aux 2-azidogalactosides α-C-acétyléniques _____ 121

4.4.2- Tentative d'accès aux 2-nitrogalactosides α-C-acétyléniques _____ 122

4.5- Tentative de préparation des intermédiaires pyridaziniques _____ 124

4.5.1- Préparation de la 1,2,4,5-tétrazine dicarboxylate de méthyl IV.81 _____ 124

4.5.2- Tentatives de cycloaddition [4+2] entre les précurseurs acétyléniques et la tétrazine _____ 125

5- Conclusion _____ 127

Conclusion générale _____ 128

Partie expérimentale _____ 134

Références bibliographiques _____ 188

Introduction générale

Depuis la compréhension des mécanismes biologiques régissant le métabolisme cellulaire, l'intérêt pour des substances capables de le bloquer ou de le modifier n'a cessé de croître. De nombreuses familles de molécules ont ainsi été étudiées dans le but de trouver des traitements efficaces contre diverses pathologies. Aujourd'hui, malgré les progrès de la médecine, il existe encore de nombreuses maladies incurables chez l'homme. L'augmentation incessante des cas de cancer et l'émergence de nouvelles maladies d'origine virale, tel que le virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH), sont devenues des préoccupations importantes de santé publique et ont stimulé la recherche scientifique.

Malgré un large arsenal thérapeutique et l'amélioration des conditions de vie des malades, la chimiothérapie possède deux inconvénients majeurs : la chimiorésistance des tumeurs cancéreuses et des virus, et la toxicité des substances actives vis-à-vis des cellules saines. C'est pourquoi, de nos jours, développer de nouvelles substances bioactives reste une nécessité.

Parmi les nombreuses molécules biologiquement actives, les analogues de nucléosides se sont avérés particulièrement intéressants dans la lutte face aux infections virales tels que le SIDA (Syndrome d'Immunodéficience Acquise), le virus de l'Hépatite B (VHB) ou encore le virus Herpès Simplex (HSV). Ils se sont également révélés attrayant dans le cadre des chimiothérapies anticancéreuses.

Les analogues d'oligonucléotides, agissant plus en amont, c'est à dire au niveau du matériel génétique tel que l'ADN ou les ARN, ont également montré une importance considérable au niveau de la thérapie génique. En effet, même si leur utilisation dans les applications thérapeutiques actuelles est très limitée, de nombreux acides nucléiques de synthèse se sont avérés très prometteurs pour les stratégies antisens et anti-gène.

C'est dans ce cadre que s'inscrit cette thèse. Notre équipe possède une expérience dans le domaine de la chimie des nucléosides, qui constitue l'un de ses principaux axes de recherche. Les travaux portant sur cette thématique ont notamment permis de synthétiser de nouveaux analogues de nucléosides cylobuténiques **A** et cyclobutaniques **B** et **C** énantiomériquement purs, ainsi que cyclohexéniques **D** en série racémique (Figure A-1).

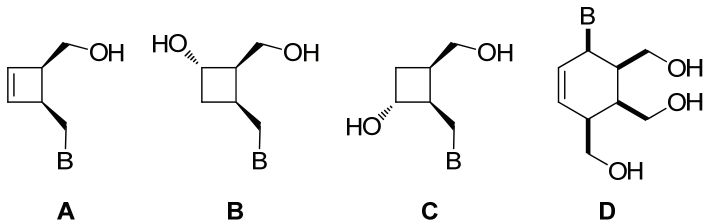


Figure A-1 : Analogues de nucléosides développés par notre équipe

Dans le prolongement de ces résultats, le premier objectif de ce travail consiste à synthétiser les analogues de nucléosides optiquement purs suivants (Figure A-2) :

- Cyclobutaniques **E** et **F**, notre objectif étant d'insérer ces structures dans de nouveaux enchaînements oligonucléotidiques **G** et **H**. Ce sujet s'inscrit dans le contexte des thérapies antisens et anti-gène, en collaboration avec l'équipe du Professeur Didier Dubreuil à Nantes et le laboratoire du Dr Rachid Benhida de l'Université de Nice Sophia-Antipolis.
- Cyclohexéniques trihydroxylés **I**. Cette thématique s'inscrit dans la continuité des travaux déjà effectués en série racémique au sein de notre équipe et qui ont mené à l'analogue **D** précédemment cité.

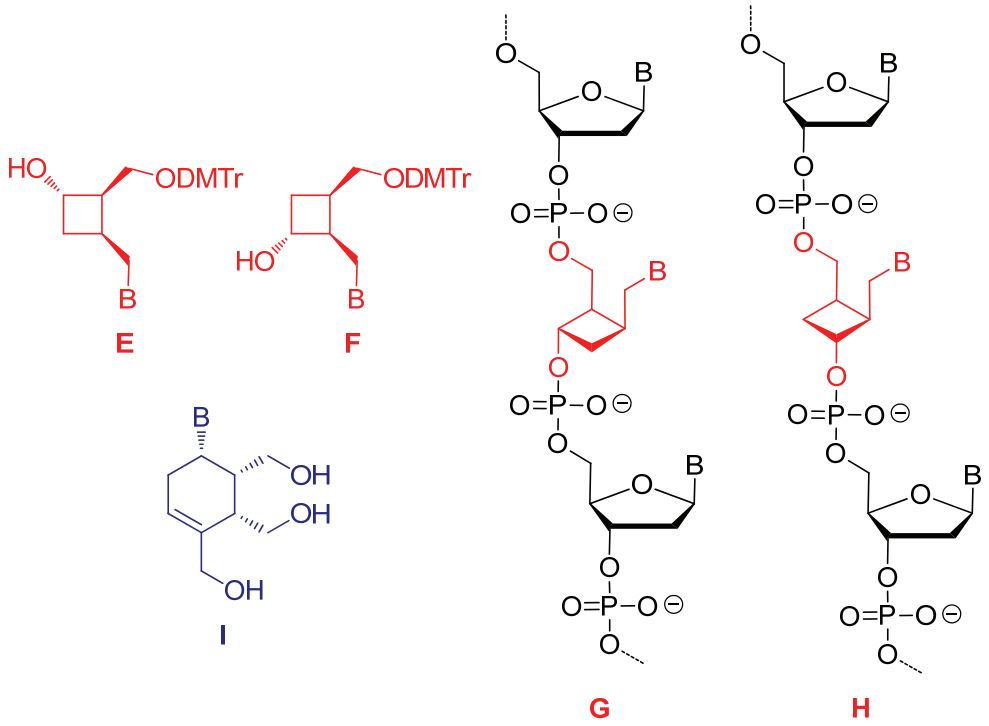


Figure A-2 : Analogues de nucléosides et d'oligonucléotides envisagés

Dans la continuité d'une thématique à l'interface de la glycochimie et de l'hétérochimie, l'équipe du Professeur Didier Dubreuil a réalisé la synthèse de nombreux analogues *C*-nucléosidiques pyrroliques **J** (Figure A-3). La stratégie développée a permis la synthèse de composés pyrano-pyrroles tels que les dérivés **K** et **L**.

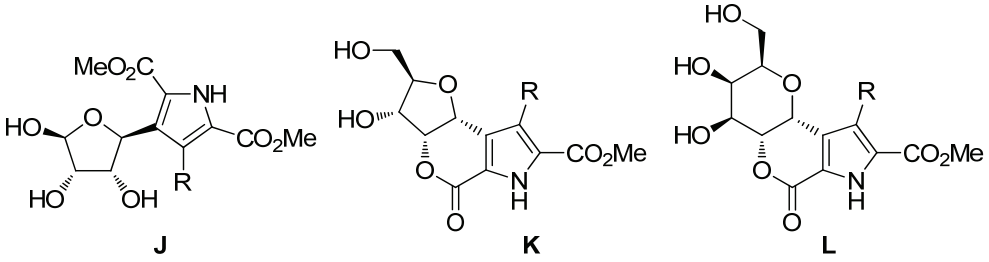
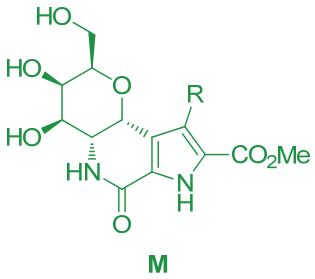


Figure A-3 : Analogues *C*-nucléosidiques et pyrano-pyrroles développés par l'équipe du Professeur Didier Dubreuil

Dans le cadre de la collaboration entre les laboratoires du Mans et de Nantes, un dernier objectif de cette thèse a consisté en la préparation de composés galactosyl-pyrrolo-pyridinones **M** (Figure A-4) en utilisant la stratégie de régression de cycle développée à Nantes que nous présenterons plus loin.



M

Figure A-4 : Dérivés galactosyl-pyrrolo-pyridinones envisagés

Le premier chapitre de ce manuscrit sera consacré à une étude bibliographique sur les nucléosides, les nucléotides et les oligonucléotides. Nous décrirons l'éventail des modifications apportées ces dernières années sur ces composés, en insistant sur les analogues nucléosidiques à quatre et six chaînons, ainsi que sur les acides nucléiques à structure cyclobutylique.

Dans le second chapitre, après avoir décrit les principales méthodes de synthèse asymétrique des analogues de nucléosides à quatre chaînons, nous présenterons nos résultats quant à la préparation des analogues cyclobutaniques **E** et **F**, faisant intervenir une photocycloaddition [2+2] et une réaction d'hydroboration-oxydation. La description des enchaînements oligonucléotidiques **G** et **H** dérivant de ces composés sera ensuite exposée.

Les méthodes énantiosélectives de préparation des analogues de nucléosides à six chaînons ainsi que la synthèse des dérivés **I** chiraux non racémiques, *via* une cycloaddition [4+2] et la construction des bases nucléiques, seront détaillées dans le troisième chapitre.

En dernier lieu, après avoir montré l'intérêt et les méthodes d'élaboration des composés pyrrolo-pyridinones, une approche de synthèse sera décrite *via* une stratégie impliquant une *C*-alcynylation, une cycloaddition [4+2] à demande inverse, une régression de cycle et une lactamisation intramoléculaire.

CHAPITRE I : Les nucléosides, les oligonucléotides et leurs analogues

1- Introduction

L'importance biologique des nucléosides est apparue dès la première moitié du vingtième siècle. Leur présence dans la cellule est indispensable en raison de leur implication dans la transcription, la traduction, la synthèse protéique et dans les processus de transmission de l'information génétique. Les nucléosides modifiés ont donc vivement intéressé le chimiste et le pharmacologue pour la lutte contre les pathologies virales et pour la chimiothérapie anticancéreuse. Les modifications structurales, situées sur la partie osidique comme sur la base nucléique, ont mené à des composés capables de limiter la progression des tumeurs ou d'inhiber la réplication virale en bloquant une des étapes clé du cycle cellulaire.

Par ailleurs, au début des années 1980, le génie génétique s'est développé, permettant ainsi la maîtrise de nouvelles stratégies intervenant au niveau cellulaire. Il est alors devenu possible d'explorer le génome humain, ce qui est considéré comme une étape clé de l'histoire de la médecine. Il en a découlé l'apparition de la thérapie génique. Celle-ci peut se définir comme toute stratégie qui repose sur l'introduction de matériel génétique dans des cellules humaines dans le but de réduire ou d'éliminer une maladie. Contrairement aux médicaments qui agissent sur l'activité et le fonctionnement d'une protéine, les gènes thérapeutiques interviennent plus en amont, à la source même du dysfonctionnement. Cette méthode ouvre des opportunités pour un très grand nombre de maladies.[1] On y retrouve principalement les maladies génétiques héréditaires et les maladies acquises. Par exemple, la thérapie génique est une méthode potentiellement efficace pour traiter les cancers, les infections, l'immunodéficience innée, les maladies cardiovasculaires, le stress oxydant, etc. Cependant, si de très nombreux essais cliniques ont été lancés ces vingt dernières années, il n'existe, à l'heure actuelle, qu'un seul oligonucléotide médicament mis sur le marché, le Vitravene (utilisé pour traiter les rétinites cytomégalovirales de certains patients atteints du SIDA).

[1] Ledley, F. D. *Hum.Gene.Ther*. **1995**, *6,* 1129.

2- L'ADN

Les nucléosides sont les constituants de base des acides nucléiques, qui jouent un rôle fondamental dans la vie et la reproduction des cellules animales, végétales et microbiennes. Les acides nucléiques sont présents non seulement dans le noyau, mais aussi dans le cytoplasme des cellules. Il existe deux types d'acides nucléiques : l'acide désoxyribonucléique (ADN), présent essentiellement dans le noyau des cellules, et l'acide ribonucléique (ARN), présent majoritairement dans le cytoplasme des cellules. C'est dans la synthèse des protéines, supports de la plupart des activités biologiques, que l'ADN et l'ARN jouent un rôle essentiel. L'ADN contient en effet toutes les informations nécessaires à cette synthèse et, en quelque sorte, dicte l'ordre dans lequel tel acide aminé, puis tel autre, doivent s'enchaîner pour donner la protéine adéquate. L'ADN renferme aussi les informations nécessaires à la régulation de cette synthèse. Il est un élément permanent de la cellule et les informations qu'il contient seront transmises aux descendants. L'ADN est donc le support de l'hérédité. Les ARN, eux, permettent l'exécution de la synthèse protéique.

2.1- Les nucléosides et oligonucléotides : définition et structure

Les acides nucléiques sont des biopolymères formés par la répétition de sous-unités appelées nucléosides. Structurellement parlant, les nucléosides découlent de l'union entre une base azotée (purique ou pyrimidique) connectée par une liaison carbone-azote à une partie glucidique : le ribose pour l'ARN et le désoxyribose pour l'ADN (Figure I-1).

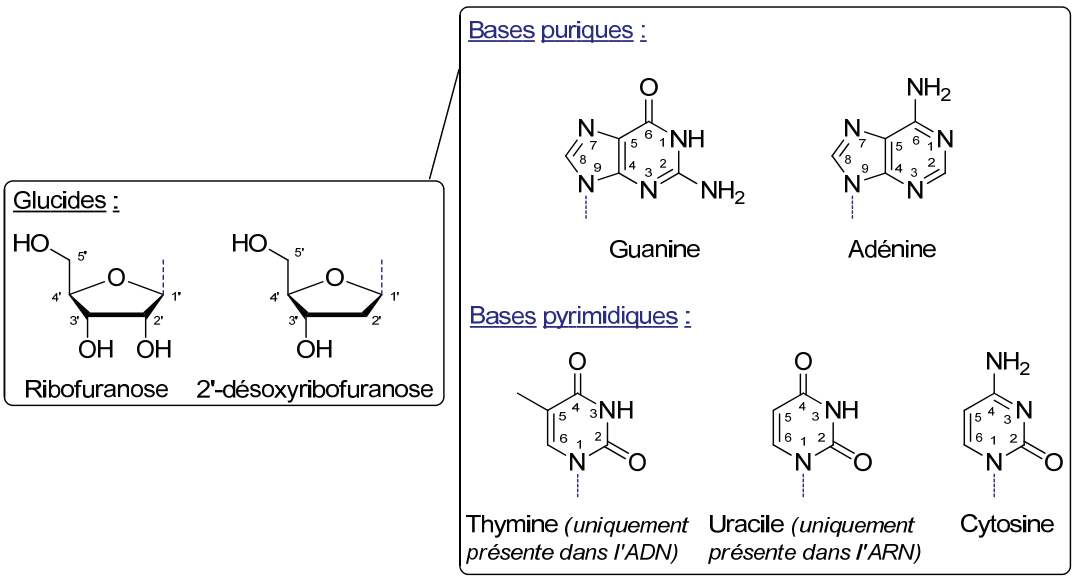


Figure I-1 : Structure générale des nucléosides

La liaison entre deux nucléosides distincts est assurée par de l'acide phosphorique, qui estérifie les hydroxyles présents en position 3' et 5' du ribose ou du désoxyribose. Chaque motif composé d'un sucre, d'une base, et d'un groupement phosphate est appelé un nucléotide (Figure I-2).

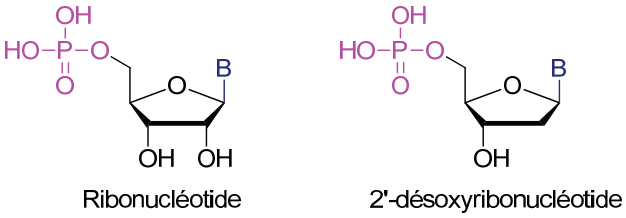


Figure I-2 : Structure générale des nucléotides

Les oligonucléotides sont des macromolécules qui résultent de l'enchaînement de plusieurs nucléotides, reliés entre eux *via* une liaison 3',5'-phosphodiester. Un seul groupement phosphate réunit deux nucléotides contigus en estérifiant d'une part, l'hydroxyle en position 3' du premier nucléotide, et d'autre part, l'hydroxyle en position 5' du second nucléotide (Figure I-3).

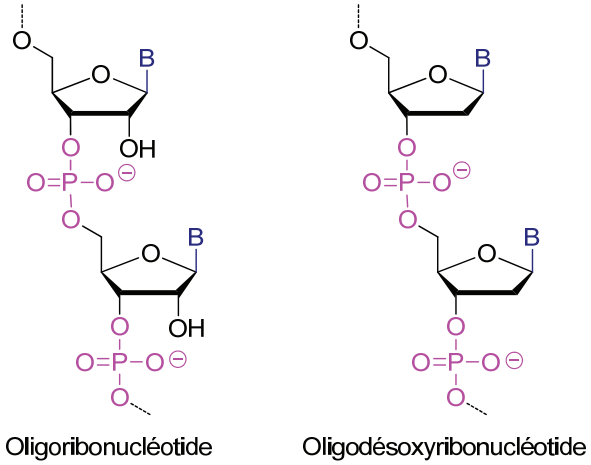


Figure I-3 : Structure générale des oligonucléotides

2.2- Structure et fonction de l'ADN et de l'ARN

En 1953, Watson et Crick (Prix Nobel de Médecine en 1962) ont élucidé pour la première fois la structure de l'ADN.[2] Trois caractéristiques permettent de différencier l'ADN de l'ARN. Tout d'abord, l'ose constituant l'ADN est le 2'-désoxyribose, et non le ribose, comme c'est le cas pour l'ARN. Les bases constituant les nucléotides de l'ADN sont l'adénine, la guanine, la cytosine et la thymine. Notons que dans l'ARN, l'uracile remplace la thymine. Par ailleurs, l'ADN est généralement formé de deux brins de nucléotides alors que l'ARN est le plus souvent monobrin. Les deux brins de l'ADN sont enroulés en double hélice autour d'un axe imaginaire (Figure I-4).

[2] (a) Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Nature* **1953**, *171*, 737 ; (b) Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Nature* **1953**, *171*, 964 ; (c) Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Proc. Roy. Soc. (A)* **1954**, *223*, 80.

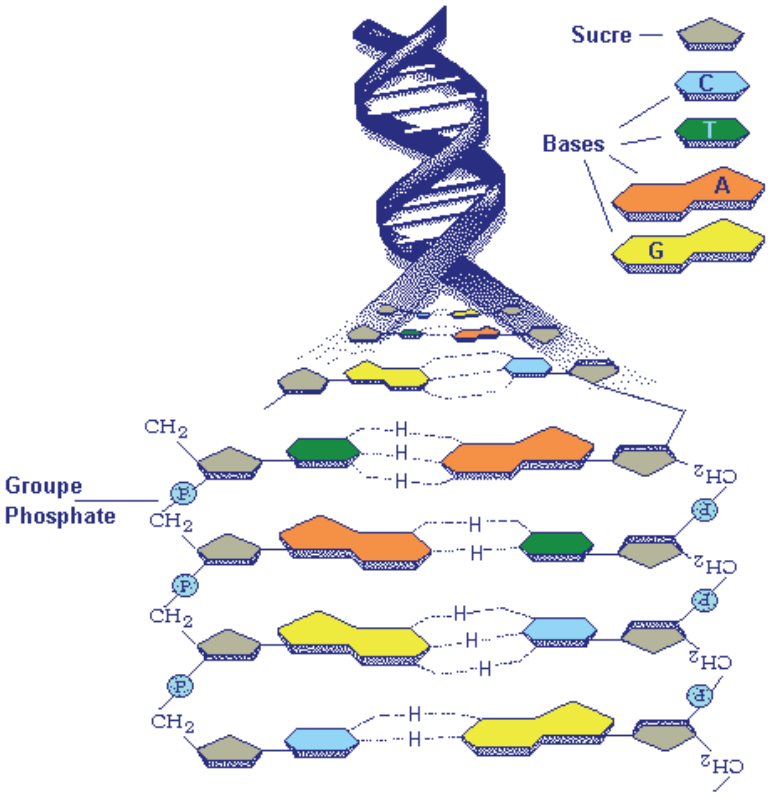


Figure I-4 : Structure de l'ADN

Les deux squelettes pentose-phosphate sont localisés sur les bordures extérieures de l'hélice tandis que les bases se font face à l'intérieur et s'apparient par des liaisons hydrogène maintenant ensembles les deux brins. L'adénine est toujours appariée à la thymine par deux liaisons hydrogène tandis que la guanine et la cytosine sont toujours liées par trois liaisons hydrogène (Figure I-5, liaisons hydrogène en rouge).

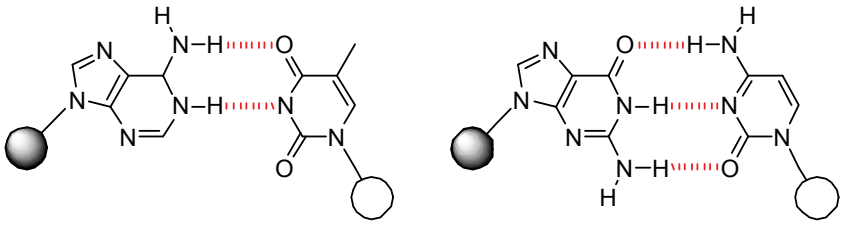


Figure I-5 : Appariement des bases nucléiques par 2 ou 3 liaisons hydrogène

L'ADN et l'ARN sont les dépositaires moléculaires de l'information génétique et établissent le scénario de tous les évènements se produisant dans une cellule. Chaque protéine, et donc chaque constituant cellulaire, résulte d'une information programmée dans la séquence nucléotidique de l'ADN. En effet, la séquence de chaque acide aminé ainsi que de chaque ARN est déterminée par l'ADN. Un gène est un segment d'ADN contenant l'information génétique nécessaire pour la synthèse d'un composé biologique fonctionnel. De façon à propager cette information dans toutes les cellules, l'ADN a la possibilité de se répliquer. Ce processus est dit semi-conservatif car chaque brin d'ADN sert de modèle pour la copie du brin complémentaire (Figure I-6).

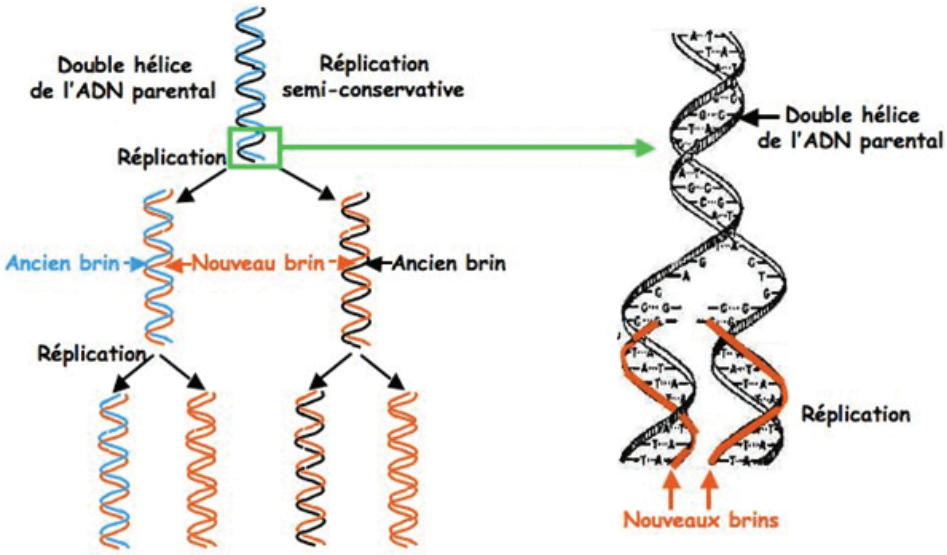


Figure I-6 : Réplication de l'ADN

La réplication démarre à un point fixe : l'origine de réplication. Des protéines spécifiques reconnaissent cette origine et provoquent la séparation des deux brins par rupture des liaisons hydrogène. Des enzymes appelées ADN polymérases entament ensuite l'élongation d'un brin modèle selon les règles d'appariement des bases par paire. En effet, si une adénine est présente dans la matrice modèle, une thymine est ajoutée sur le nouveau brin et ainsi de suite. Une amorce, c'est-à-dire un segment de brin nouveau (complémentaire du modèle) auquel des nucléotides peuvent être ajoutés, est indispensable. L'élongation est toujours effectuée dans le sens 5' → 3'.

L'information contenue dans un gène passe toujours par la formation d'un ARN messager (ARN_m). Un phénomène appelé transcription permet à une enzyme, l'ARN polymérase, de convertir l'information génétique d'un segment d'ADN en un brin d'ARN de séquence complémentaire à celle d'un des brins d'ADN. La traduction permet la synthèse des protéines à partir de la séquence nucléotidique de l'ARN_m (Figure I-7).

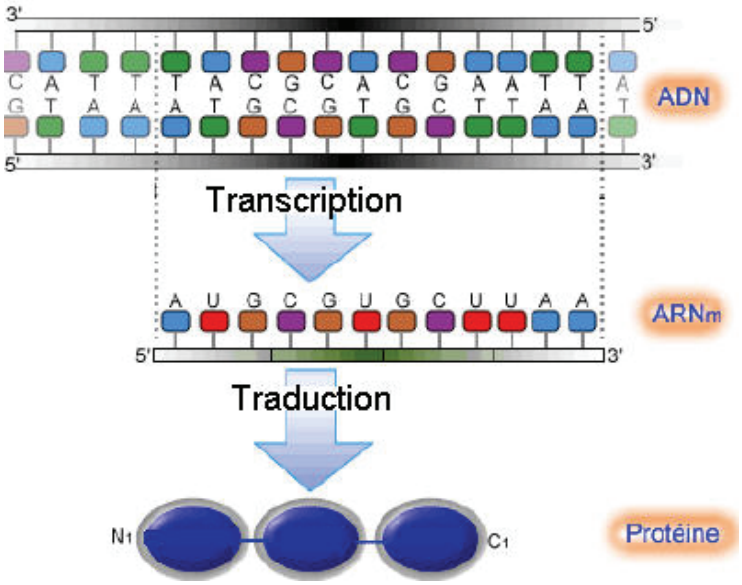


Figure I-7 : Transcription et traduction

3- Les analogues de nucléosides

Compte-tenu de l'importance de l'ADN et de l'ARN, et de leur implication dans de nombreuses maladies, les scientifiques se sont orientés vers la synthèse de briques élémentaires de ces acides nucléiques, tels que les nucléosides. De nombreuses modifications, portant sur la base et / ou sur le sucre, ont été apportées sur les nucléosides naturels. Nous détaillerons donc, après avoir expliqué le mode d'action général des analogues de nucléosides, les principaux changements effectués. Pour les cas où ces modifications portent sur deux sites distincts, nous avons choisi de signaler la modification principale.

3.1- Mode d'action général des analogues de nucléosides[3]

Les analogues de nucléosides sont des composés inactifs qui traversent la membrane cellulaire à l'aide de transporteurs nucléosidiques (Figure I-8, étape A). Ils subissent, par le biais d'enzymes spécifiques, les nucléosides et nucléotides kinases, plusieurs étapes de phosphorylation intracellulaire qui permettent la production et l'accumulation des métabolites actifs, les dérivés di-et triphosphates (Figure I-8, étape B, C et D). Dans le cadre d'une activité anticancéreuse, ces derniers exercent l'activité cytotoxique des analogues de nucléosides par interaction avec les enzymes du métabolisme des nucléotides physiologiques (Figure I-8, étape E) et par incorporation dans l'ADN et l'ARN, induisant ainsi la mort cellulaire par apoptose (Figure I-8, étape F). Dans le cadre d'une activité antivirale, les dérivé di- et triphosphates s'intégrent dans l'ADN ou l'ARN viral et jouent le rôle d'agents terminaux de chaîne.

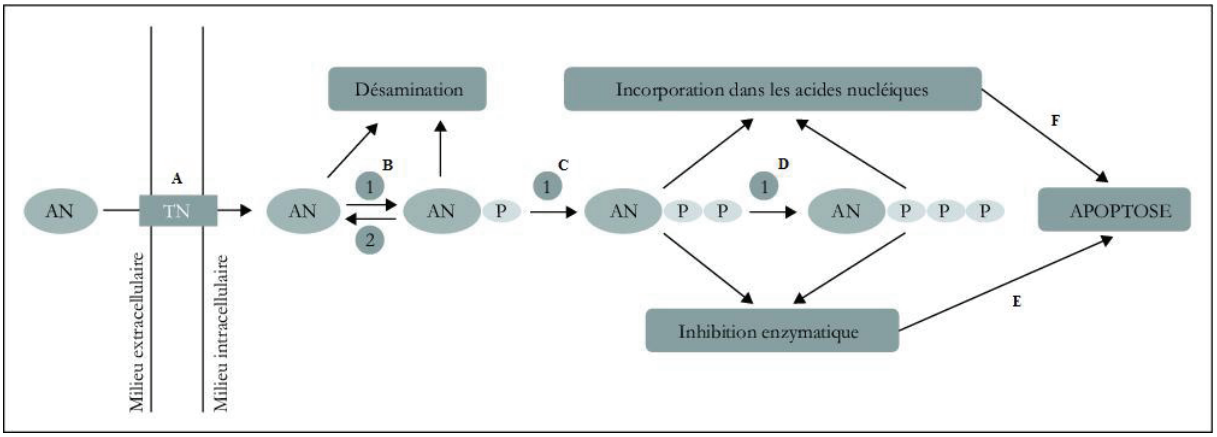


Figure I-8 : Schéma général du métabolisme et du mécanisme d'action des analogues de nucléosides (AN : analogue de nucléoside ; TN : transporteur nucléosidique, 1 : nucléoside et nucléotides kinases ; 2 : 5'-nucléotidases)

[3] Jordheim, L.; Galmarini, C. M.; Dumontet, C.; *Bull. Cancer* **2005** ; *92*, 239.

3.2- Analogues de nucléosides à base modifiée

3.2.1- Analogues à base pyrimidique modifiée

La modification la plus fréquemment apportée sur les bases pyrimidiques consiste à introduire sur leur noyau un ou plusieurs substituants. La 5-iodo-2'-désoxyuridine **I.1** (IdU)[4] est le premier nucléoside antiviral décrit possédant une base pyrimidique modifiée (Figure I-9). Ce composé a été utilisé dans le traitement de diverses infections herpétiques mais son utilisation n'a pas été poursuivie à cause de son manque de sélectivité et de ses effets secondaires intolérables en utilisation systémique. Deux autres exemples, la 5-trifluorométhyl-2'-désoxyuridine **I.2** (TFT)[5] et la 5-éthyl-2'-désoxyuridine **I.3**[6] (EdU), ont montré des propriétés anti-HSV et servent pour traiter l'herpès oculaire. La 5-bromovinyl-2'-désoxyuridine **I.4** (BVDU),[7] quant à elle, est employée contre le Virus Varicelle-Zona (VZV).

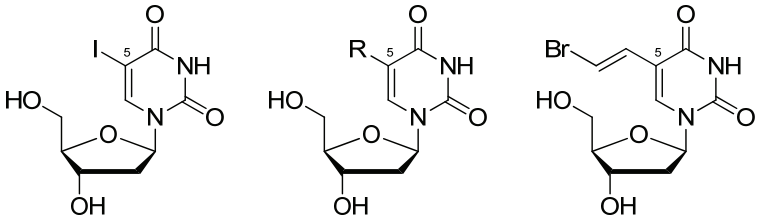
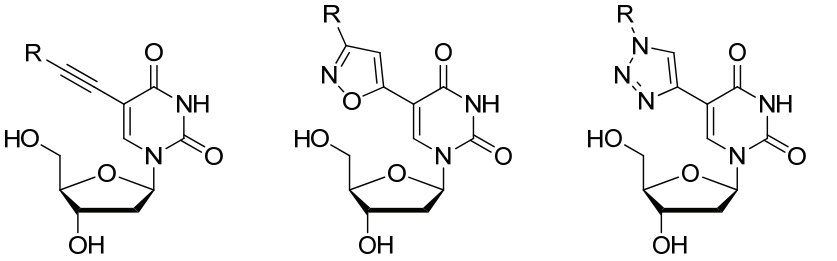


Figure I-9 : IdU, TFT, EdU et BVDU

Un nombre important de nucléosides pyrimidiques modifiés a été décrit ces dernières années.[8] Dembinski et *al.*[9] (**I.5** à **I.12**) ont notamment prouvé que l'alcyne terminal **I.12** possédait un caractère antitumoral (cellules MCF-7, IC_{50} = 0,4 µM) supérieur à celui du *cis*-platine (cellules MCF-7, IC_{50} = 2,0 µM). Par ailleurs, des substituants hétérocycliques ont été introduits sur l'uracile. C'est, entre autres, le cas des analogues oxazoline ou triazole de Lee et *coll.*[10] (**I.13** à **I.16**) (Figure I-10). Malheureusement, ces composés se sont avérés inactifs sur les cancers du sein, du poumon, de la prostate et de l'estomac.

[4] Prusoff, W. H. *Biophys. Acta* **1959**, *32*, 295.
[5] Kaufman, H. E.; Martola, E.; Heidelberger, C. *Science* **1964**, *145*, 585.
[6] De Clercq, E. Synthesis pyrmidine analogs in *Advances to antiviral agents.* Harnden, M., Ed.; Macmillan : London, **1985**, 57.
[7] (a) De Clercq, E.; Descamp, J.; Desomer, P.; Barr, P. J.; Jones, A. S.; Walker, R. T. *Proc. Natl. Sci.* USA **1979**, *76*, 2947 ; (b) De Clercq, E. *Biochem. Pharm.* **2004**, *68*, 2301.
[8] (a) Pour une revue, voir : Agrofoglio, L. A. *Curr. Org. Chem.* **2006**, *10*, 333 ; (b) Agrofoglio, L. A.; Gillaizeau, I.; Saito, Y. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1875 ; (c) Peyron, C.; Benhida, R.; Bories, C.; Loiseau, P. M. *Bioorg. Chem.* **2005**, *33*, 439 ; (d) Torrence, P. F.; Fan, X.; Zhang, X.; Loiseau, P. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 5047 ; (e) Chacko, A.-M.; Qu, W.; Kung, H. F. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4874.
[9] Meneni, S.; Ott, I.; Sergeant, C. D.; Sniady, A.; Gust, R.; Dembinski, R. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 3082.
[10] Lee, Y. S.; Park, S. M.; Kim, H. M.; Park,S.-K.; Lee, K., Lee, C. W.; Kim, B. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4688.



I.5 (R = $CH_3(CH_2)_2$)
I.6 (R = *c*-C_3H_5)
I.7 (R = *c*-$C_6H_{10}OH$)
I.8 (R = *p*-$CH_3C_6H_4$)
I.9 (R = *p*-$CH_3(CH_2)_4C_6H_4$)
I.10 (R = *p*-$(CH_3)_3CC_6H_4$)
I.11 (R = $(CH_3)_3Si$)
I.12 (R = H)

I.13 (R = octyl)
I.14 (R = *p*-*t*-BuC_6H_4)

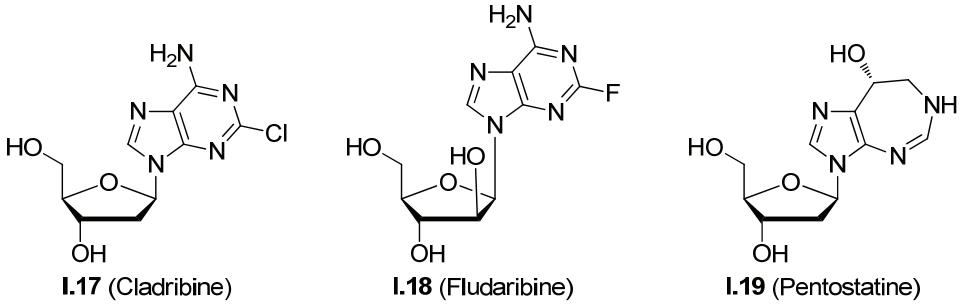
I.15 (R = $C_6H_5CH_2$)
I.16 (R = *p*-*t*-$BuC_6H_4CH_2$)

Figure I-10 : Analogues à base pyrimidique modifiée de Dembinski et *al.* ainsi que de Lee et *al.*

3.2.2- *Analogues à base purique modifiée*

Les principales modifications présentes sur les bases puriques consistent, comme dans le cas des bases pyrimidiques, à fonctionnaliser le noyau hétérocyclique. Cela conduit généralement à de bonnes activités biologiques et a donc vivement intéressé les chercheurs.[11]

Dans les années 1980-90, plusieurs dérivés à base purique modifiée ont été mis sur le marché (Figure I-11). La cladribine **I.17** comporte une base 2-chloro-6-aminopurine et la fludarabine **I.18** une base 2-fluoro-6-aminopurine. Quant à la pentostatine **I.19**, sa base possède un hétérocycle non aromatique à sept atomes. Différents essais cliniques ont confirmé que ces molécules, utilisées seules ou en synergie avec d'autres composés cytotoxiques, étaient actives face aux tumeurs lymphoïdes.[12] La cladribine et la pentostatine servent contre la leucémie à tricholeucocytes.[13] La cladribine est également utilisée, comme la fludaribine, pour traiter la leucémie lymphoïde chronique et le lymphôme non hodgkinien.[14]

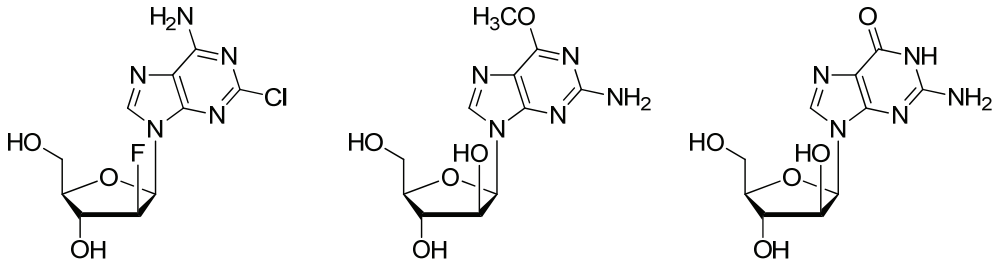


I.17 (Cladribine)
I.18 (Fludaribine)
I.19 (Pentostatine)

Figure I-11 : Cladribine, fludarabine et pentostatine

[11] (a) Tallman, M.S.; Hakimian, D.; Variakojis, D.; Koslow, D.; Sisney, G.A.; Rademaker, A.W.; Rose, E.; Kaul, K. *Blood* **1992**, *80*, 2203-2209 ; (b) Robak, T.; Korycka, A.; Kasznicki, M.; Wrzesień-Kuś, A.; Smolewski, P. *Curr. Cancer Drug Targets* **2005**, *5*, 421.
[12] (a) Robak, T.; Lech-Maranda, E.; Korycka, A.; Robak, E. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 3165 ; (b) Pettit, A. R. *Br. J. Haematol.* **2003**, *121*, 692.
[13] Robak, T. *Cancer Treat. Rev.* **2006**, *32*, 365.
[14] Pastor-Anglada, M.; Molina-Arcas, M.; Casado, F. J.; Bellosillo, B.; Colomer, D.; Gil, J. *Leukemia* **2004**, *18*, 385 ; (b) Robak, T. *Cancer Treat. Rev.* **2007**, *33*, 710 ; (c) Kalinka-Warzocha, E.; Wajs, J.; Lech-Maranda, E.; Ceglarek, B.; Holowiecki, J.; Federowicz, I.; Walewski, J.; Czyz, J.; Robak, T.; Warzocha, K. *Cancer* **2008**, *113*, 367 ; (d) Zinzani, P. L. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* **2002**, *15*, 505.

De nouvelles molécules, plus récentes, ont été synthétisées et testées *in vitro* ainsi que dans des essais cliniques. Par exemple, la clofarabine **I.20**, de structure similaire à la cladribine mais fluorée en position 2' du sucre selon une configuration arabino (Figure I-12), a prouvé son efficacité contre les leucémies chroniques myéloblastiques et lymphoblastiques à cellules T.[15] Elle est d'ailleurs maintenant prescrite en thérapie. La nélarabine **I.21**, qui comporte une base 2-amino-6-méthoxypurine[16] et un hydroxyle de configuration inversée en position 2', est une pro-drogue de l'Ara-G **I.22**.[17] Elle est employée contre les leucémies aiguës lymphoblastiques à cellules T et les lymphomes à cellules T[18].



I.20 (Clofarabine) **I.21** (Nelerabine) **I.22** (Ara-G)

Figure I-12 : Clofarabine, nelerabine et Ara-G

3.2.3- Analogues à base triazolique

De nombreuses recherches sur la synthèse de dérivés 1,2,4-triazoliques ont été effectuées de par leurs propriétés anti-inflammatoires, antimitotiques, antifongiques, et antitumorales[19] ainsi qu'anti-radicalaires et antioxydantes.[20] Plusieurs équipes se sont donc penchées sur la synthèse de nucléosides à base triazolique.[21]

Par exemple, la ribavirine **I.23** (Figure I-13), présentant une base triazolique fonctionnalisée par un groupement amide, a manifesté des propriétés antivirales et anti-herpétiques.[22] Elle est maintenant principalement utilisée pour traiter l'hépatite chronique C et, plus rarement, les enfants atteints par le virus syncitial, une infection respiratoire. De façon à augmenter son efficacité, d'autres dérivés ont été préparés et des propriétés antivirales

[15] (a) Parker, W. B.; Secrist, J. A. 3rd; Waud, W. R. *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2004**, *5*, 592 ; Faderl, S.; Gandhi, V.; Keating, M. J.; Jeha, S.; Plunkett, W.; Kantarjian, H. M. *Cancer* **2005**, *103*, 1985 ; Pui, C. H.; Jeha, S.; Kirkpatrick, P. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 369.

[16] Korycka, A.; Lech-Maranda, E.; Robak, T. *Recent Patents AntiCancer Drug Discov.* **2008**, *3*, 123.

[17] (a) Prus, K. L.; Averett, D. R.; Zimmerman, T. P. *Cancer Res.* **1990**, *50*, 1817 ; (b) Roecker, A. M.; Allison, J. C.; Kisor, D. F. *Future Oncol.* **2006**, *2*, 441 ; (c) Kisor, D. F. *Drugs Today* **2006**, *42*, 455.

[18] http://www.pharmacorama.com/ezine/Nelarabine__nouvel_anti-leucemique.php

[19] (a) Hosur, M. C.; Talawar, M. B.; Bennur, R. S.; Patil, P. A. *Ind. J. Pharm. Sci.* **1993**, *55*, 86 ; (b) Yang, Y.; Lu, W.; Shi, Y. *Huaxue Tongbao*, **1996**, *10*, 6 ; (c) Camden, J. B. *PCT Int. Appl. WO* 1996, 96 40119 ; (d) Oida, S.; Tanaka, T.; Tajima, W.; Somaki, A.; Miyaoka, T.; Yasuda, H. Jpn. Kokai, Tokkyo Koho JP, 10, 158167 (1998).

[20] Dunaev, V. V.; Belenichev, I. F.; Kevalenko, S. I.; Bashkin, I. V.; Knysh, E. G.; Tishkin, V. S. *Ukr. Biokhim. Zh.* **1996**, *68*, 100.

[21] (a) Chem, H. M.; Zhang, J.; Mao, J. M.; Cai, M. S. *Gaodeng Huexiao Huaxue Xuebao* **1994**, *15*, 705 ; (b) Chem, H. M.; Zhang, J.; Mao, J. M.; Cai, M. S. *Chem. Res. Chin.Univ.* **1996**, *12*, 258 ; (c) El Ashry, E. S. H.; El Kilany, Y. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1996**, *67*, 391 ; (d) Al Masoudi, N. A.; Issa, F. B.; Al Timari, U. A. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1997**, *106*, 215 ; (e) Györgydeák, Z.; Holzer, W.; Thiem, J. *Carbohydr. Res.* **1997**, *302*, 229 ; (f) Awad L. F.; El Ashry, E. S. H. *Carbohydr. Res.* **1998**, *312*, 9.

[22] Witkowski, J. T.; Robins, R. K.; Sidwell, R. W.; Simon, N. L. *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 1150.

comparables à celles de la ribavirine ont été dévoilées par l'analogue acétimidamide **I.24**, appelé viramidine.[23] Celui-ci sert également dans le cadre du traitement de l'hépatite C. En revanche, aucune activité anticancéreuse n'a été observée sur les dérivés iminoesters **I.25** et **I.26**.[24]

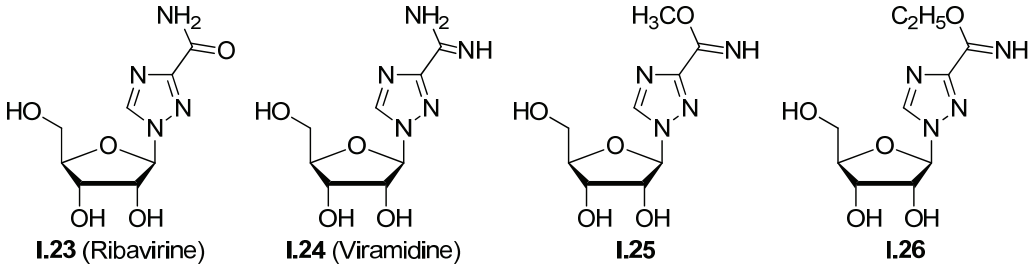


Figure I-13 : Ribavirine et ses analogues

Un nombre important de nucléosides à base triazolique a été décrit ces dernières années. Le dérivé **I.27**,[25] présentant un substituant alcyne sur son cycle triazolique (Figure I-14), inhibe les cellules MiaPaCa-2 du cancer du pancréas tandis que de faibles propriétés antileucémique ont été découvertes sur les alcynes **I.28** (cellules L1210, $IC_{50} = 56\ \mu M$; cellules Molt4/C8, $IC_{50} = 50\ \mu M$; cellules CEM, $IC_{50} = 44\ \mu M$) et **I.29** (cellules L1210, $IC_{50} = 152\ \mu M$; cellules Molt4/C8, $IC_{50} = 36\ \mu M$; cellules CEM, $IC_{50} = 73\ \mu M$).[26]

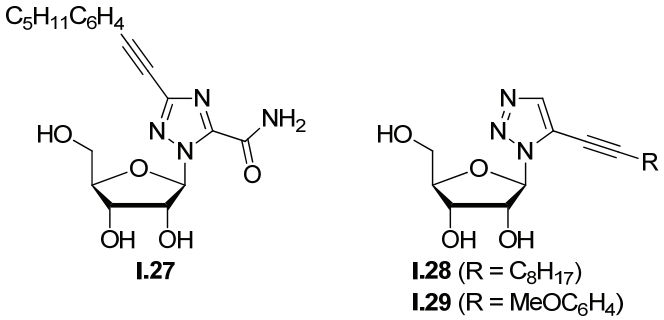
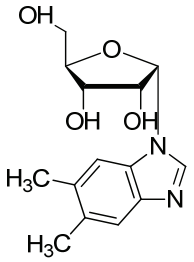


Figure I-14 : Analogues à base triazolique I.27 à I.29

3.2.4- Analogues à base benzimidazolique

L'un des premiers analogues benzimidazoliques développé est le 5,6-diméthyl-1-(α-*D*-*erythro*-pentofuranosyl)-benzimidazole **I.30** (Figure I-15), un constituant de la vitamine B12 qui présente une configuration anomérique α en position 1'.[27]

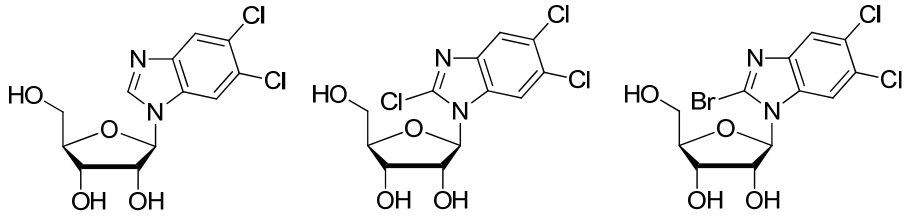
[23] Barnard, D. *Curr. Opini. Investig. Drugs* **2002**, *3*, 1585.
[24] Kini, G. D.; Robins, R. K.; Avery, T. L. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1447.
[25] Xia, Y.; Liu, Y.; Wan, J.; Wang, M.; Rocchi, P.; Qu,F.; Iovanna, J. L.; Peng, L. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6083.
[26] El Akri, K.; Bougrin, K.; Balzarini, J.; Faraj, A.; Benhida, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6656.
[27] Townsend, L. B.; Revankar, G. R. *Chem. Rev.* **1970**, *70*, 389.



I.30

Figure I-15 : Composé I.30

Par la suite, le DRB **I.31**, comportant une base benzimidazolique dichlorée (Figure I-16), a été décrit. Malgré ses propriétés antivirales,[28] il n'a pas trouvé d'application biologique concrète à cause de sa forte cytotoxicité.[29] Par ailleurs, des dérivés à base trihalogénée,[30] comme le TCRB **I.32** et le BDCRB **I.33** inhibent le cytomégalovirus humain (HCMV pour « Human CytoMegaloVirus ») (**I.32**, IC_{50} = 2,4 µM ; **I.33**, IC_{50} = 0,7 µM). [31]



I.31 (DRB) **I.32** **I.33**

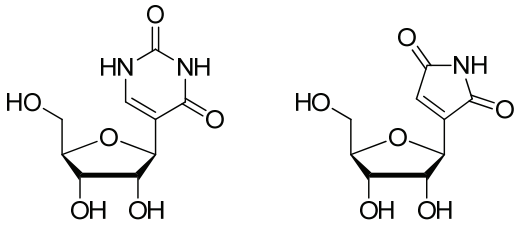
Figure I-16 : DRB et ses analogues

3.2.5- Analogues C-nucléosidiques

Les analogues *C*-nucléosidiques représentent une classe unique où la partie glycosidique est connectée à la base nucléique par une liaison C-C au lieu d'une liaison C-N. Ces composés résistent à l'hydrolyse chimique et enzymatique de la liaison glycosidique. Un grand nombre de *C*-nucléosides, telle que la pseudouridine **I.34** qui possède une base pyrimidique dont l'atome d'azote théoriquement en position 1 est déplacé en position 5 (Figure I-17), sont des molécules naturelles. La pseudouridine est le dérivé *C*-nucléosidique le plus abondant dans la structure de l'ARN_t et de l'ARN_r.[32] Toutefois, cette molécule et ses analogues n'ont pas exprimé d'activité biologique suffisante pour être utilisés à un niveau thérapeutique. La showdomycine **I.35**,[33] fonctionnalisée par une base 1*H*-pyrrole-2,5-dione, a

[28] (a) Tamm, I. *Science* **1957**, *126*, 1235. (b) Sehgal, P. B.; Fraser, N. W.; Darnell, J. E. *Virology* **1979**, *94*, 185 ; (c) Tamm, I.; Kikuchi, T.; Darnell, Jr., J. E.; Salditt-Georgieff, M. *Biochemistry* **1980**, *19*, 2743.
[29] (a) Tamm, I.; Sehgal, P. B. *Adv. Virus Res.* **1978**, *22*, 187 ; (b) Bucknall, R. A. *J. Gen. Virol.* **1967**, *1*, 89.
[30] (a) Townsend, L. B.; Devivar, R. V.; Turk, S. R.; Nassiri, M. R.; Drach, J. C. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4098 ; (b) Stefańska, J. Z.; Gralewska, R.; Starościak, B. J.; Kazimierczuk, Z. *Pharmazie* **1999**, *54*, 879 ; (c) North, T. W.; Sequar, G.; Townsend, L. B.; Drach, J. C.; Barry, P. A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 2760.
[31] Krosky, P. M.; Underwood, M. R.; Turk, S. R.; Feng, K. W.-H.; Jain, R. K.; Ptak, R. G.; Westerman, A. C.; Biron, K. K.; Townsend, L. B.; Drach, J. C. *J. Virol.* **1998**, *72*, 4721.
[32] (a) Cohn, W. E. *J. Biol. Chem.* **1960**, *235*, 1488 ; (b) Cohn, W. E. *Biochim. Biophys. Acta* **1959**, *32*, 569.
[33] (a) Matsuura, S.; Shiratori, O.; Katagiri, K. *J. Antibiot.* **1964**, *17*, 234 ; (b) Nishimura, H.; Shimaoka, N.; Tanaka, Y.; Komatsu, Y.; Kato, H.; Mayama, M. *J. Antibiot.* **1964**, *17*, 148 ; (c) Nakagawa, Y.; Kano, H.; Tsukuda, Y.; Koyama, H. *Tetrahedron Lett.* **1967**, *42*, 4105.

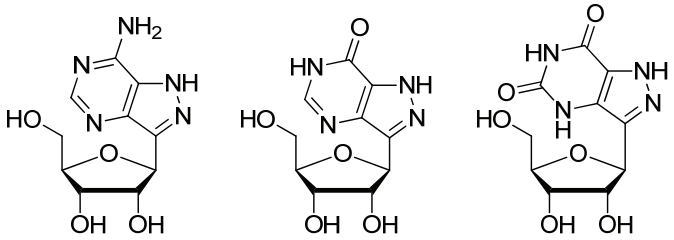
démontré des propriétés antibiotiques et cytotoxiques même si sa trop forte toxicité l'a empêché d'atteindre le stade clinique.



I.34 (Pseudouridine) **I.35** (Showdomycine)

Figure I-17 : Pseudouridine et showdomycine

D'autres composés, telles que les formycines (**I.36** à **I.38**) qui présentent des bases *C*-purique (Figure I-18), ont dévoilé des propriétés antibiotiques et cytotoxiques. Les formycines agissent en inhibant la purine nucléoside phosphorylase et les nucléosidases, ce qui leur confère un caractère potentiellement antitumoral.[34]



I.36 **I.37** **I.38**

Figure I-18 : Dérivés formycines

Quant à la thiazofurine **I.39** et sa base pentahétérocyclique soufrée et azotée (Figure I-19), elle s'est montrée potentiellement cytostatique[35] par inhibition de l'enzyme inosine 5′-monophosphate déshydrogenase (IMPDH).[36] D'autres analogues à base mono- ou dihétérocyclique comme **I.40**,[37] **I.41** et **I.42**,[38] **I.43**,[39] ou **I.44** et **I.45**[40] inhibent également cette enzyme et ont exprimé des propriétés anticancéreuses.

---

[34] Bzowska, A. In *Modified Nucleosides : Biochemistry, Biotechnology and Medicine* ; Herdewijn, P., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2008 ; pp 473-510.

[35] Robins, R. K.; Srivastava, P. C.; Narayanan, V. L.; Plowman, J.; Paull, K. D. *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 107.

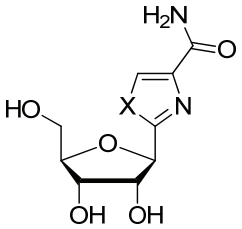
[36] (a) Fridland, A. *Cancer Res.* **1986**, *46*, 532 ; (b) Zatorski, A.; Watanabe, K. A.; Carr, S. F.; Goldstein, B. M.; Pankiewicz, K. W. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2422 ; (c) Pankiewicz, K. W. *Pharmacol. Ther.* **1997**, *76*, 89 ; (d) Szekeres, T.; Sedlak, J.; Novotny, L. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 759. (e) Pankiewicz, K. W.; Patterson, S. E. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 6761 ; (f) Black, P. L.; Jayaram, H. N.; Risal, D.; Goldstein, B. M.; Stuyver, L. J.; Schinazi, R. F. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 887 ; (g) Chen, L. Q.; Pankiewicz, K. W. *Curr. Opin. Drug DiscoVery DeV.* **2007**, *10*, 403 ; (h) Chen, L.; Petrelli, R.; Felczak, K.; Gao, G.; Bonnac, L.; Yu, J. S.; Bennett, E. M.; Pankiewicz, K. W. *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15*, 650.

[37] (a) Srivastava, P. C.; Robins, R. K. *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 445 ; (b) Kirsi, J. J.; North, J.; McKernan, P. A.; Murray, B. K.; Canonico, P. G.; Huggins, J. W.; Srivastava, P. C.; Robins, R. K. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1983**, *24*, 353.

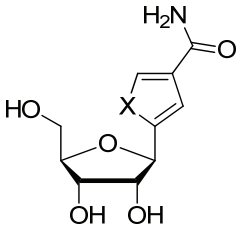
[38] Franchetti, P.; Marchetti, S.; Cappellacci, L.; Yalowitz, J. A.; Jarayam, H. M.; Goldstein, B. M.; Grifantini, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 67.

[39] Franchetti, P.; Cappellacci, L.; Abu Sheikha, G.; Jayaram, H. N.; Gurudutt, V. V.; Sint, T.; Schneider, B. P.; Jones, W. D.; Goldstein, B. M.; Perra, G.; De Montis, A.; Loi, A. G.; La Colla, P.; Grifantini, M. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1731.

[40] Franchetti, P.; Cappellacci, L.; Grifantini, M.; Barzi, A.; Nocentini, G.; Yang, H.; O'Connor, A.; Jayaram, H. N.; Carrell, C.; Goldstein, B. M. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3829.



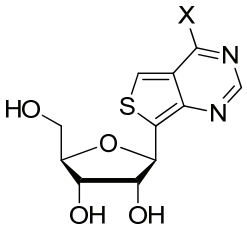
I.39 (Thiazofurine, X = S)
I.40 (Sélénazofurine, X = Se)
I.41 (Oxazofurine, X = O)
I.42 (Imidazofurine, X = NH)



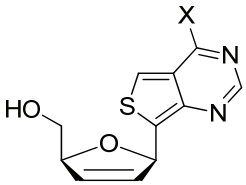
I.43 (Thiophenfurine, X = S)
I.44 (Sélénophenfurine, X = Se)
I.45 (Furanfurine, X = O)

Figure I-19 : Thiazofurine et ses analogues

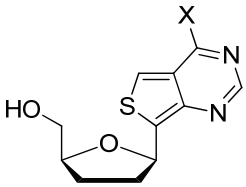
Ainsi, une large gamme de *C*-nucléosides a été développée ces dernières années et ces composés ont été utilisés dans diverses applications.[41] Les dérivés 8-thiopuriques **I.46** à **I.52**[42] (Figure I-20) sont des illustrations récentes. Les molécules **I.47** et **I.50** se sont notamment avérées être des antitumoraux potentiels qui ciblent les cellules MT-4 (**I.47**, CC_{50} = 2,9 µM ; **I.50**, CC_{50} = 7,3 µM).



I.46 (X = OH)
I.47 (X = SH)



I.48 (X = OH)
I.49 (X = SCH_3)
I.50 (X = NH_2)



I.51 (X = OH)
I.52 (X = NH_2)

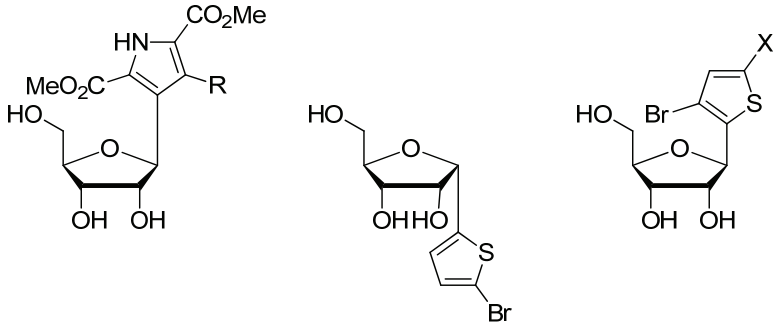
Figure I-20 : Exemples récents de *C*-nucléosides

Enfin, d'autres *C*-nucléosides (**I.53** à **I.58**) (Figure I-21) ont été proposés par les équipes du Professeur Didier Dubreuil et du Dr Rachid Benhida.[43] Une base pyrrolique caractérise les analogues **I.53** et **I.54** tandis qu'un thiophène sert de base aux dérivés **I.55** à **I.58**.

[41] (a) Pour une revue : Stambasky, J.; Hocek, M.; Kocovsky P. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 6729 ; (b) Postema, M. H. D. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 8545 ; (c) Jamarillo, C.; Knapp, S. *Synthesis* **1994**, 1 ; (d) Shaban, M. A. E.; Nasr, A. Z. *AdV. Heterocycl. Chem.* **1997**, *68*, 223 ; (e) Shaban, M. A. E. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1997**, *70*, 163 ; (f) Du, Y. G.; Linhardt, R. J.; Vlahov, I. R. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 9913 ; (g) Ferrero, M.; Gotor, V. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4319 ; (h) Agrofoglio, L. A.; Gillaizeau, I.; Saito, Y. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1875 ; (i) Wu, Q.; Simons, C. *Synthesis* **2004**, *10*, 1533 ; (j) Kilroy, T. G.; O'Sullivan, T. P.; Guiry, P. J. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *23*, 4929 ; (k) Lee, D. Y. W.; He, M. S. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *5*, 1333 ; (l) Wellington, K. W.; Benner, S. A. *Nucleosides, Nucleotides, Nucleic Acids* **2006**, *25*, 1309 ; (m) Adamo, M. F. A.; Pergoli, R. *Curr. Org. Chem.* **2008**, *12*, 1544.

[42] Haman, M.; Pierra, C.; Sommadossi, J.-P.; Musiu, C.; Vargiu, L.; Liuzzi, M.; Storer, M.; Gosselin, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2321.

[43] (a) Joshi, U.; Josse, S.; Pipelier M.; Chevallier, F.; Pradère, J.-P.; Hazard, R.; Legoupy, S.; Huet, F.; Dubreuil, D. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1031 ; (b) Peyron, C.; Navarre, J.-M.; Dubreuil, D.; Vierling, P.; Benhida, R. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 6171.



I.53 (R = Ph)
I.54 (R = *n*-Bu)

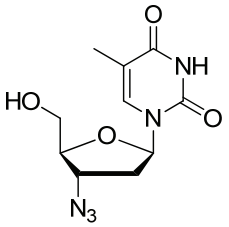
I.55 (X = H)
I.56 (X = Br)

I.57 (X = H)
I.58 (X = Br)

Figure I-21 : Dérivés *C*-nucléosidiques des équipes du Professeur Dubreuil et du Dr Benhida

3.3- Analogues de nucléosides à structure ribosyle modifiée

Outre la modification des bases nucléiques, la recherche scientifique s'est orientée vers la modification de la structure furanosyle des nucléosides. Le plus célèbre, et l'un des premier analogues de ce type, est l'AZT **I.59**[44] (Figure I-22). Celui-ci porte une fonction azoture en position 3' du sucre et est désoxygéné en position 2'.



I.59 (AZT)

Figure I-22 : AZT

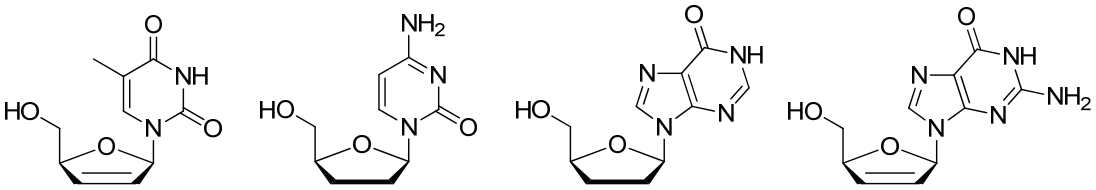
Il est le premier antirétroviral testé contre le VIH et agit par inhibition du fonctionnement de la transcriptase inverse. En effet, les nucléosides et les nucléotides kinases convertissent d'abord l'AZT en dérivé triphosphate, puis la transcriptase inverse l'incorpore dans l'ADN viral. La position 3' ne présentant pas d'hydroxyle, elle ne peut pas être phosphorylée, ce qui bloque la réplication et la production d'ADN viral. L'AZT est employé dans les trithérapies contre le VIH et a encouragé la recherche vers d'autres modifications de la structure ribosyle.

3.3.1- Analogues 2',3'-didésoxynucléosidiques

La découverte de l'AZT a conduit à la synthèse de nombreux 2',3'-didésoxynucléosides potentiellement actifs, notamment comme agents anti-VIH.[45] Actuellement, divers analogues sont sur le marché parmi lesquels le d4T **I.60**[46] et le d4G **I.63**

[44] (a) Mitsuya, H.; Weinhold, K. J.; Furman, P. A.; St Clair, M. H.; Lehman, S. N.; Gallo, R. C.; Bolognesi, D.; Barry, D. W.; Broder, S. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA **1985**, *82*, 7096 ; (b) Perno, C. F.; Yarchoan, R.; Cooney, D. A.; Hartman, N. R.; Gartner, S.; Popovic, M.; Hao, Z.; Gerrard, T. L.; Wilson, Y. A.; Johns, D. G.; Broder, S. *J. Exp. Med.* **1988**, 168, 1111.
[45] Mitsuya, H.; Broder, S. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA **1986**, *83*, 1911.
[46] Balzarini, J.; Kang, G. J.; Dalal, M.; Herdewijn, P.; De Clercq, E.; Broder, S.; Johns, D. G. *Mol. Pharmacol.* **1987**, *32*, 162.

qui présentent tous deux une double liaison non hydroxylée en position 2',3' (Figure I-23). On dénote également le ddC **I.61**[46] et le ddI **I.62**,[47] dont les positions 2' et 3' sont libres. Tous ces dérivés sont de très bons antirétroviraux, inhibent la transcriptase inverse et sont prescrits pour traiter le VIH dans le cadre de polythérapies.[48]

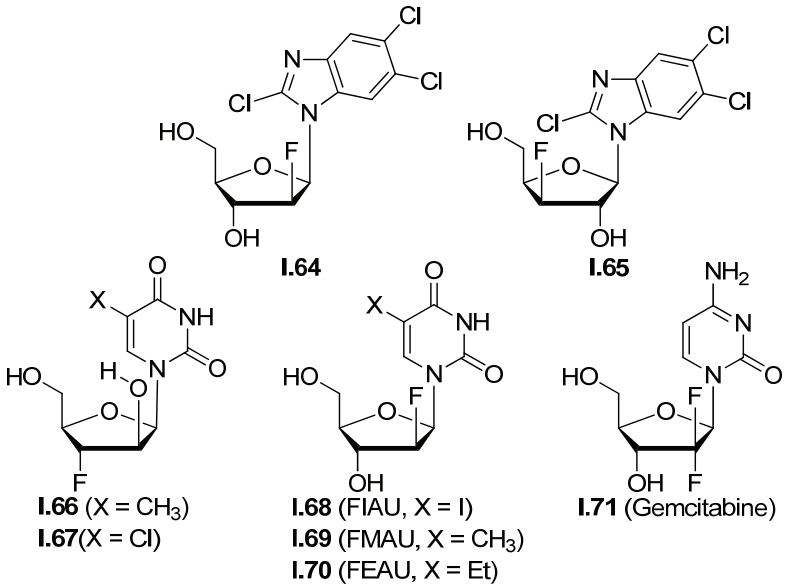


I.60 (d4T) **I.61** (ddC) **I.62** (ddI) **I.63** (d4G)

Figure I-23 : Analogues 2',3'-didésoxynucléosidiques anti-VIH

3.3.2- Remplacement des hydroxyles de la structure ribosyle

D'autres modifications ont porté sur le remplacement d'un ou plusieurs hydroxyles présents sur le sucre. Ainsi, des nucléosides 2'- ou 3'-fluorés ont manifesté d'intéressantes activités biologiques, les inhibiteurs de cytomégalovirus **I.64** (HCMV, IC_{50} = 8,0 μM), 2'-β-fluoré et **I.65** (HCMV, IC_{50} = 9,4 μM),[49] 3'-β-fluoré en sont des exemples (Figure I-24). Les analogues **I.66** et **I.67**,[50] hydroxylés selon une configuration inverse en 2' et fluorés en 3', ont dévoilé des propriétés antirétrovirales tandis que le FIAU **I.68**, le FMAU **I.69** et le FEAU **I.70**, également 2'-β-fluorés, se sont montrés actifs contre l'hépatite B.[51] La gemcitabine **I.71**,[52] quant à elle, est difluorée en position 2' et prescrite pour traiter le cancer du pancréas.



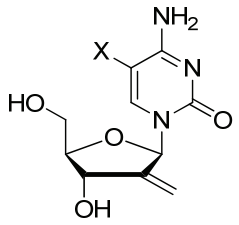
I.64 **I.65**

I.66 (X = CH_3) **I.68** (FIAU, X = I) **I.71** (Gemcitabine)
I.67(X = Cl) **I.69** (FMAU, X = CH_3)
I.70 (FEAU, X = Et)

Figure I-24 : Analogues à structure ribosyle 2'- ou 3'-fluorée

[47] Mitsuya, H.; Broder, S. *U.S. Patent* 4,861,759, 1989.
[48] Mehellou, Y.; De Clercq, E. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 521.
[49] Gundmundsson, K. S.; Freeman, G. A.; Darch, J. C. Townsend, L. B. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2473.
[50] (a) Balzarini, J.; Baba, M. W.; Pauwels, R.; Herdewijn, P.; De Clerq, E. *Biochem. Pharmacol.* **1988**, *37*, 2847 ; (b) Balzarini, J.;Aerschot, A.; Pauwels, R.; Baba, M. W.; Scholz, D.; Herdewijn, P.; De Clerq, E. *Mol. Pharmacol.* **1989**, *35*, 571.
[51] Hong, J. H.; Choi, Y.; Chun, B. K.; Lee, K.; Chu, C. K.; *Arch. Pharm. Res.* **1998**, *21*, 89.
[52] Hertel, L. W.; Kroin, J. S.; Misner, J W.; Tustin, J. M. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2406.

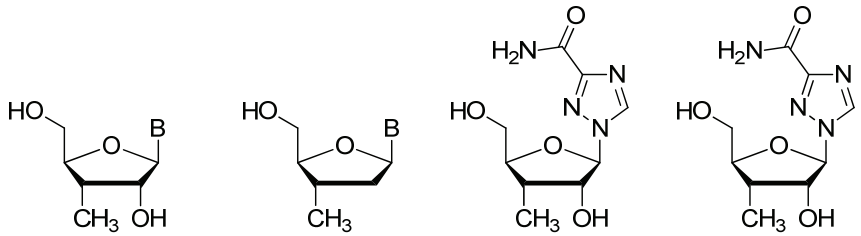
Par ailleurs, une double liaison exocyclique a également été introduite en position 2' du désoxyribose, comme dans le cas du DMDC **I.72** ou du DMDFC **I.73** (Figure I-25), qui sont des inhibiteurs potentiels du HSV-1, du HSV-2, du VZV et du HCMV.[53]



I.72 (DMDC, X = CH_3)
I.73 (DMDFC, X = F)

Figure I-25 : DMDC et DMDFC

En outre, divers analogues méthylés en position 3' du ribose ou du désoxyribose (**I.74** à **I.85**) (Figure I-26) ont été développés ces dernières années.[54] Malheureusement, aucun d'entre eux n'a démontré d'activité anti-VIH.



I.74 (B = adénine)
I.75 (B = guanine)
I.76 (B = thymine)
I.77 (B = uracile)
I.78 (B = cytosine)

I.79 (B = adénine)
I.80 (B = guanine)
I.81 (B = thymine)
I.82 (B = uracile)
I.83 (B = cytosine)

I.84

I.85

Figure I-26 : Analogues à structure ribosyle 3'-méthylée

Pour finir, des dérivés bicycliques[55] (**I.86** à **I.98**) (Figure I-27) ont également été préparés. La structure ribosyle est ainsi fusionnée à un phényle par la liaison 2',3' du sucre dans le cas des molécules **I.86** à **I.89**[56] tandis que les nucléosides **I.90** à **I.98**[57] sont contraints par un cyclopropane accolé au cycle pentose par la liaison 3',4'.

[53] Machida, H.; Sakata, S.; Ashida, N.; Takenuki, K.; Matsuda, A. *Antiviral Chem. Chemother.* **1993**, *4*, 11.
[54] (a) Couturier, S.; Aljarah, M.; Gosselin, G.; Mathé, C.; Périgaud, C. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 11260 ; (b) Aljarah, M.; Couturier, S.; Mathé, C.; Périgaud, C. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 7436.
[55] Pour des revues : (a) Mathé, C.; Perigaud, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 1489 ; (b) Len, C.; Mondon, M.; Lebreton, J. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 7453 ; (c) Lebreton, J.; Escudier, J.-M.; Arzel, N.; Len, C. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3371.
[56] Selouane, A.; Vaccher, C.; Villa, P.; Postel, D.; Len, C. *Tetrahedron : Asymetry* **2002**, *13*, 407.
[57] Gagneron J.; Gosselin, G.; Mathé, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 4891.

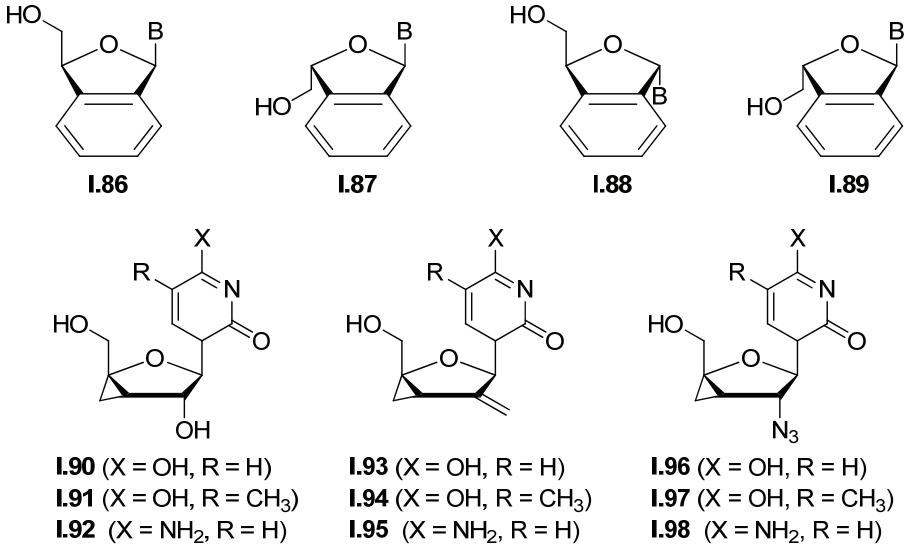


Figure I-27 : Analogues à structure ribosyle fusionnée à un autre cycle

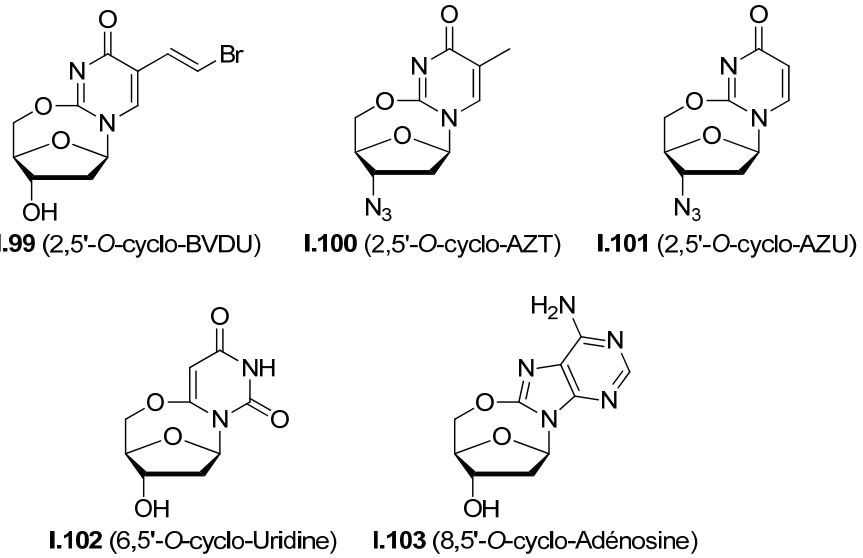
3.3.3- Analogues cyclonucléosidiques

Les cyclonucléosides ont été étudiés dès la seconde moitié du vingtième siècle avec les travaux de Todd et *al.*[58] ainsi que de Ikehara et *coll.*[59] Ces composés, possédant un pont reliant le squelette furanosyle à la base nucléique, expriment souvent des propriétés antivirales[60] ou antitumorales.[61]

Parmi les plus connus, la 2,5'-*O*-cyclo-BVDU **I.99** (Figure I-28) a démontré une activité anti-HSV[62] tandis que les composés **I.100** et **I.101** ont révélé des propriétés anti-VIH (**I.100**, IC_{50} = 0,56 µM ; **I.101**, IC_{50} = 4,94 µM) et contre le virus de la leucémie murine de Rauscher (**I.100**, IC_{50} = 0,27 µM).[63] L'anhydrouridine **I.102** inhibe la rhodopsine kinase[64] et l'anhydroadénosine **I.103** inhibe l'uridine phosphorylase.[65]

---

[58] Clark, V. M.; Todd, A. R.; Zussman, J. *J. Chem. Soc.* **1951**, 2952.
[59] (a) Ikehara, M. *Acc. Chem. Res.* **1969**, *2*, 47 ; (b) Ikehara, M.; Ueda, T. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **1974**, *32*, 402.
[60] (a) Hamamura, E. K.; Prystasz, M.; Verheyden, J. P. H.; Moffat, J. G.; Yamaguchi, K.; Uchida, N.; Sato, K.; Nomura, A.; Shiratori, O.; Takase, S.; Katagiri, K. *J. Med. Chem.* **1976**, *19*, 654 ; (b) Sato, K.; Nomura, A.; Moffat, J. G. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1977**, *11*, 191 ; (c) Nishiyama, S.; Nomura, A.; Yamanaka, T.; Moffat, J. G. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1977**, *11*, 198 ; (d) Hsu, L.-Y.; Chang, Y.-M.; Lin, C.-H.; Drach, J. C. *Nucleosides Nucleotides* **1996**, *15*, 1835.
[61] (a) Hirayama, H.; Sugihara, K.; Wakigawa, K.; Iwamura, M.; Hikita, J.; Ohkuma, H. *Pharmacometrics* **1972**, *6*, 1255 ; (b) Hirayama, H.; Sugihara, K.; Wakigawa, K.; Hikita, J.; Sugihara, T.; Kubota, T.; Ohkuma, H.; Oguro, K. *Pharmacometrics* **1972**, *6*, 1259 ; (c) Hirayama, H.; Sugihara, K.; Sugihara, T.; Wakigawa, K.; Iwamura, M.; Ohkuma, H.; Hikita, J. *Pharmacometrics* **1974**, *8*, 353 ; (d) Hoshi, A.; Kanzawa, F.; Kuretani, K.; Saneyoshi, M.; Arai, Y. *Gann Monogr. Cancer. Res.* **1971**, *62*, 145.
[62] Harnden, M. R. Eur. Pat. Appl. EP 0060099, 1982.
[63] Lin, T.-S.; Shen, Z.-Y.; August, E. M.; Brankovan, V.; Yang, H.; Ghazzouli, I.; Prusoff, W. H. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1891.
[64] Palczewski, K.; Kahn, N.; Hargrave, P. A. *Biochemistry* **1990**, *29*, 6276.
[65] (a) Niedzwicki, J. G.; El Kouni, M. H.; Chu, S. H.; Cha, S. *Biochem. Pharmacol.* **1983**, *32*, 339 ; (b) Dvoøakova, H.; Holy, A. *Chem. Listy* **1991**, *85*, 171 ; (c) El Kouni, M. H.; Naguib, F. N. M.; Panzica, R. P.; Otter, B. A.; Chu, S.-H.; Gosselin, G.; Chu, C. K.; Schinazi, R. F.; Shealy, Y. F.; Goudgaon, N.; Ozerou, A. A.; Ueda, T.; Iltzsch, M. H. *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *51*, 1687.

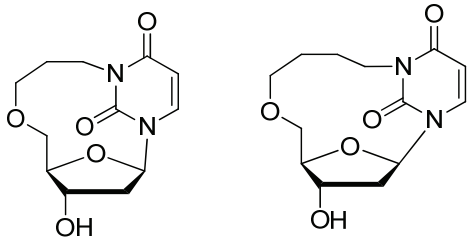


I.99 (2,5'-*O*-cyclo-BVDU) **I.100** (2,5'-*O*-cyclo-AZT) **I.101** (2,5'-*O*-cyclo-AZU)

I.102 (6,5'-*O*-cyclo-Uridine) **I.103** (8,5'-*O*-cyclo-Adénosine)

Figure I-28 : Principaux analogues cyclonucléosidiques connus

De nombreux analogues cyclonucléosidiques ont été proposés ces dernières années.[66] Les dérivés **I.104** et **I.105**[67] (Figure I-29) sont des exemples récents qui présentent un pont à cinq ou six centres reliant le carbone en position 5' du sucre à l'azote en position 3 de l'uridine.



I.104 **I.105**

Figure I-29 : Analogues contraints par un pont oxygéné à 5 ou 6 centres

3.4- Analogues de nucléosides à thio- et azasucre[68]

Un atome de soufre remplace l'atome d'oxygène intracyclique du ribose ou du désoxyribose dans le cas des thionucléosides.[69] La molécule fluorée **I.106** (Figure I-30) a exprimé de bonnes activités antitumorales contre le cancer de l'estomac (IC_{50} = 0,057 µg/mL à 0,6 µg/mL contre différentes lignées cellulaires), la leucémie (CCRF-HSB-2, IC_{50} = 0,086 µg/mL) et d'autres types de cancers[70] tandis que des propriétés anti-herpétiques

[66] Mieczkowski, A.; Roy, V.; Agrofoglio, L. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1828.
[67] Zhong, S.; Mondon, M.; Pilard, S.; Len, C. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 7828.
[68] Pour des revues : (a) Merino, P. *Curr. Med. Chem. AIA* **2002**, *1*, 389 ; (b) Merino, P. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 539.
[69] Pour une revue : Yokoyama, M. *Synthesis* **2000**, 1637.
[70] Miura, S.; Yoshimura, Y.; Endo, M.; Machida, H.; Matsuda, A.; Tanaka, M.; Sasaki, T. *Cancer Lett.* **1998**, *129*, 103.

ont été dévoilées par le composé **I.107** (HSV-1 : E-377, EC_{50} = 0,08 µM ; HSV-2 : MS, EC_{50} = 0,7 µM)[71] (Schéma I-20).

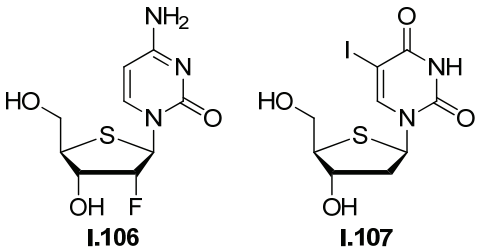


Figure I-30 : Exemples de thionucléosides

En ce qui concerne les azanucléosides, l'atome d'oxygène intracyclique de la structure furanosyle est remplacé par un atome d'azote. Les immucilines **I.108** à **I.112**[72] (Figure I-31), par exemple, sont des analogues *C*-nucléosidiques potentiellement cytostatiques, donc potentiellement anticancéreux, inhibant la purine nucléoside phosphorylase.

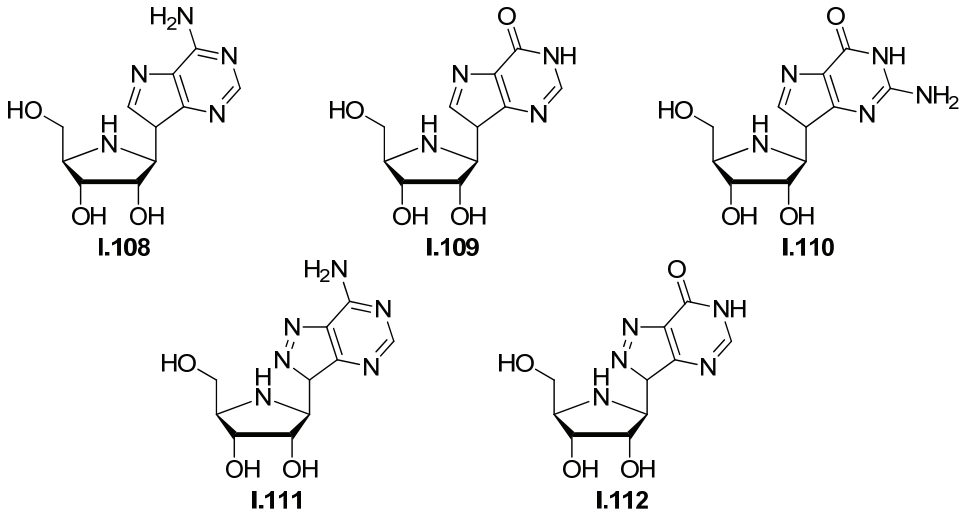


Figure I-31 : Exemples d'azanucléosides

3.5- Analogues *L*-nucléosidiques

Pendant longtemps, il a été admis que seuls les nucléosides possédant une configuration naturelle *D* pouvaient posséder une activité biologique.[73] Peu d'attention fut donc accordée aux analogues *L*-nucléosidiques jusqu'à la découverte du 3TC **I.113**[74] (Figure I-32), puissant inhibiteur de transcriptase inverse prescrit de nos jours dans le cadre

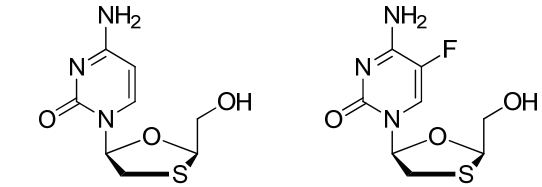
[71] Prichard, M. N.; Quenelle, D. C.; Hartline, C. B.; Harden, E. A.; Jefferson, G.; Frederick, S. L.; Daily, S. L.; Whitley, R. J.; Tiwari, K. N.; Maddry, J. A.; Secrist III, J. A.; Kern, E. R. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 5251.

[72] (a) Miles, R. W.; Tyler, P. C.; Furneaux, R. H.; Bagdassarian, C. K.; Schramm, V. L. *Biochemistry* **1998**, *37*, 8615. (b) Kicska, G. A.; Long, L.; Ho¨rig, H.; Fairchild, C.; Tyler, P. C.; Furneaux, R. H.; Schramm, V. L.; Kaufman, H. L. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, *98*, 4593. (c) Evans, G. B.; Furneaux, R. H.; Gainsford, G. J.; Hanson, J. C.; Kicska, G. A.; Sauve, A. A.; Schramm, V. L.; Tyler, P. C. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 155.

[73] (a) Maury, G. *Chemother. Antiviral Chem.* **2000**, *11*, 165 ; (b) Focher, F.; Spadari, S.; Maga, G. *Curr. Drug Targets Infect. Disord.* **2003**, *3*, 41.

[74] (a) Cameron, J. M.; Collins, P.; Daniel, M.; Storer, R. *Drugs Fut.* **1993**, *18*, 319 ; (b) Jarvis, B.; Faulds, D. *Drugs* **1999**, *58*, 101.

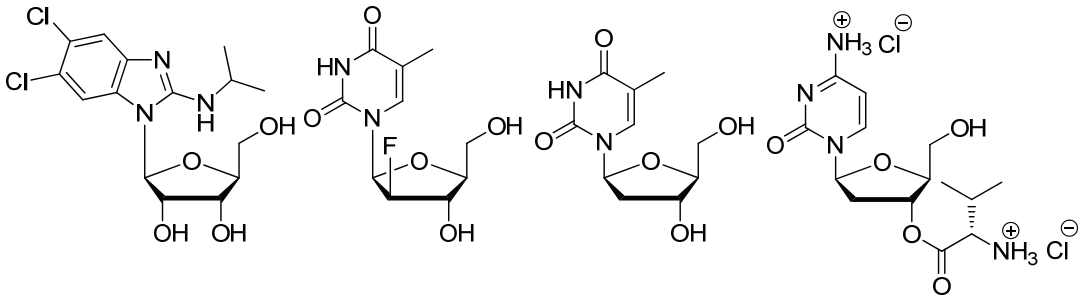
des trithérapies des patients atteints du VIH. Les *L*-nucléosides se sont ainsi montrés plus attractifs et l'analogue 5-fluorocytosine du 3TC, l'emtricitabine **I.114**, également inhibiteur de la transcriptase inverse, fut développé.



I.113 (3TC ou lamivudine) **I.114** (emtricitabine)

Figure I-32 : 3TC et emtricitabine

D'autres exemples se sont révélés intéressants. Le maribavir **I.115**[75] (Figure I-33) a montré des propriétés anti-HCMV par inhibition des protéines virales kinases.[76] La clévudine **I.116**,[77] quant à elle, a prouvé son efficacité comme anti-VIH et contre l'hépatite B mais n'a pas passé les essais cliniques de phase III car elle induisait des cas de myopathie chez les patients. Il existe également la telbivudine **I.117** qui est actuellement utilisée dans le traitement de l'hépatite B, et la valtorcitabine **I.118**, pour laquelle une activité anti-herpétique a été découverte.[78]



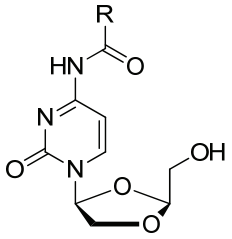
I.115 (maribavir ou FTC) **I.116** (clevudine) **I.117** (telbivudine) **I.118** (valtorcitabine)

Figure I-33 : Exemples de dérivés *L*-nucléosidiques

Les propriétés biologiques de nombreux autres *L*-nucléosides ont été étudiées. D'ailleurs, une revue récente expliquant les différentes applications biologiques des *L*-nucéosides a été publiée par le Professeur Gosselin et le Dr Mathé.[79] A titre d'exemple récent, les composés **I.119** à **I.121**[80] (Figure I-34) ont présenté d'intéressantes perspectives contre le cancer du poumon (**I.119** : cellules A549, IC_{50} = 0,046 µM, SW1573, IC_{50} = 0,276 µM ;

[75] Biron, K. K.; Harvey, R. J.; Chamberlain, S. C.; Good, S. S.; Smith III, A. A.; Davis, M. G.; Talarico, C. L.; Miller, W. H.; Ferris, R.; Dornsife, R. E.; Stanat, S. C.; Drach, J. C.; Townsend, L. B.; Kazalska, G. W. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 2365.
[76] Gershburg, E.; Pagano, J. S. *J. Antimicrob. Chemother.* **2005**, *56*, 277.
[77] Chu, C. K.; Ma, T. W.; Shanmuganathan, K.; Wang, C.-G.; Xiang, Y.-J.; Pai, S. B.; Yao, G.-Q. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1995**, *39*, 979.
[78] Gosselin, G.; Pierra, C.; Benzaria, S.; Dukhan, D.; Imbach, J.-L.; Loi, A. G.; La Colla, P.; Cretton-Scott, E.; Bridges, E. G.Standring, G.; Sommadossi, J.-P. 2004 In : Schinazi, R. F.; Liotta, D. C. (Eds), Frontiers in Nucleosides and Nucleic acids. IHL Press, 309-317.
[79] Mathé, C.; Gosselin, G. *Antivir. Res.* **2006**, *71*, 276.
[80] Radi, M.; Adema, A. D.; Daft, J. R.; Cho, J. H.; Hoebe, E. K.; Alexander, L. M. M.; Peters, G. J.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2249.

I.120 : cellules A549, IC_{50} = 0,024 µM, SW1573, IC_{50} = 0,04 µM ; **I.121** : cellules A549, IC_{50} = 0,015 µM, cellules SW1573, IC_{50} = 0,03 µM).

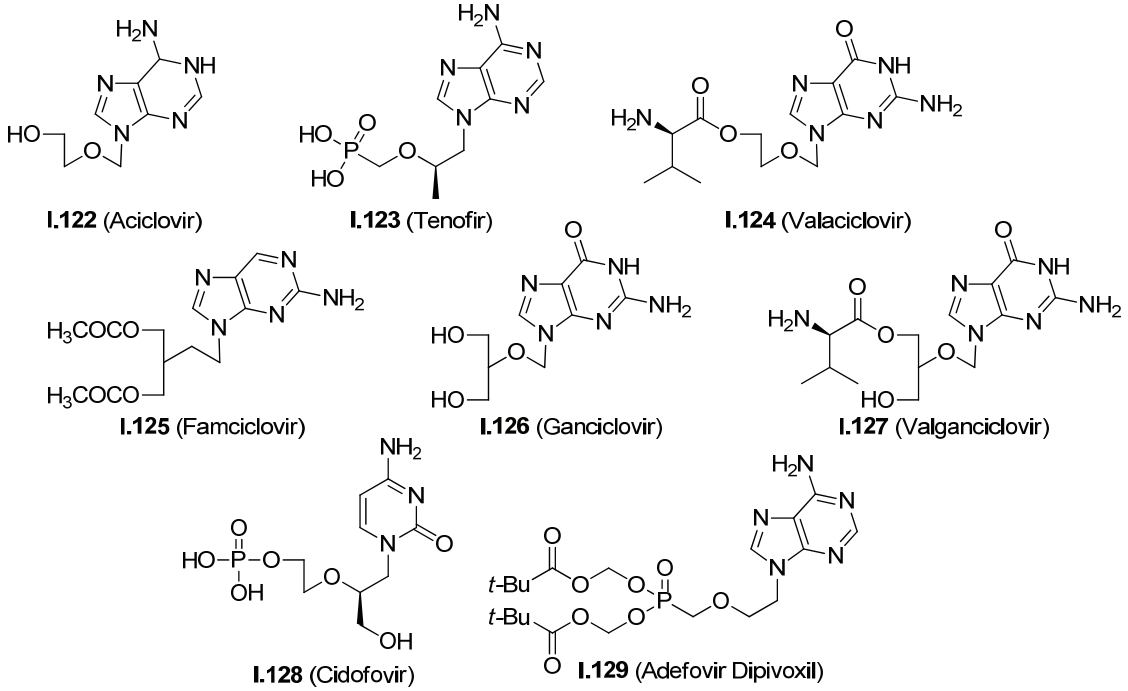


I.119 (R = C_8H_{17})
I.120 (R = C_9H_{19})
I.121 (R = $C_{11}H_{23}$)

Figure I-34 : Exemples récent d'analogues *L*-nucléosidiques

3.6- Analogues de nucléosides acycliques

Dans le cas des acyclonucléosides, la partie sucre est remplacée par un enchaînement non cyclique hydroxylé susceptible d'être phosphorylé en position pseudo 5'. L'intérêt pour cette classe de molécules a débuté au milieu des années 1970 avec la découverte de l'aciclovir **I.122**[81] (Figure I-35) qui est aujourd'hui fréquemment employé pour soigner différentes infections herpétiques ainsi que le VZV. Cette famille comporte actuellement le plus grand nombre d'agents antiviraux commercialisés avec, en plus de l'aciclovir, le tenofir **I.123**, employé contre le VIH comme inhibiteur de transcriptase inverse. Le valaciclovir **I.124** et le famciclovir **I.125** servent dans le cadre du traitement de l'herpès et du VZV tandis que le ganciclovir **I.126**, le valganciclovir **I.127** (prodrogue du ganciclovir) et le cidofovir **I.128** inhibent le cytomégalovirus. Enfin, l'adéfovir dipivoxil **I.129** est utilisé contre l'hépatite B.

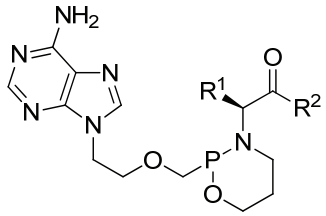


I.122 (Aciclovir) **I.123** (Tenofir) **I.124** (Valaciclovir)
I.125 (Famciclovir) **I.126** (Ganciclovir) **I.127** (Valganciclovir)
I.128 (Cidofovir) **I.129** (Adefovir Dipivoxil)

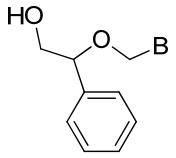
Figure I-35 : Acyclonucléosides utilisés dans les stratégies thérapeutiques

[81] Schaeffer, H. J.; Beauchamp, L.; De Miranda, P.; Elion, G.; Bauer, D. J.; Collins, P. *Nature* **1978**, *272*, 523.

Au vu du nombre important de nucléosides acycliques prescrits dans les diverses stratégies thérapeutiques, il parait évident que cette chimie est toujours en plein essor comme le prouve le développement des dérivés **I.130** à **I.133**[82] ainsi que **I.134** à **I.138**[83] (Figure I-36), qui ont révélé des propriétés anti-VHB intéressantes (**I.130** : IC_{50} = 0,88 µM ; **I.131** : IC_{50} = 0,51 µM ; **I.132** : IC_{50} = 0,12 µM ; **I.133** : IC_{50} = 0,32 µM).



I.130 (R^1 = H, R^2 = CH_3)
I.131(R^1 = CH_3, R^2 = CH_3)
I.132 (R^1 = *i*-Pr, R^2 = CH_3)
I.133 (R^1 = *i*-Bu, R^2 = CH_3)



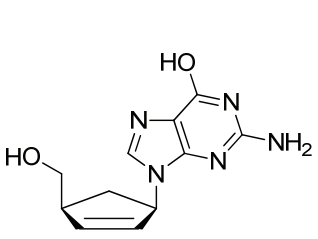
I.134 (B = adénine)
I.135 (B = guanine)
I.136 (B = thymine)
I.137 (B = uracile)
I.138 (B = cytosine)

Figure I-36 : Exemples récents d'analogues de nucléosides acycliques

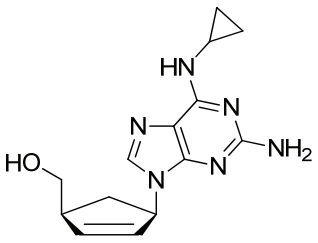
3.7- Analogues de nucléosides carbocycliques à 3 et 5 chaînons

Le remplacement de l'oxygène intracyclique du ribose par un méthylène a permis d'obtenir des analogues de nucléosides carbocycliques. Cette modification de la partie sucre conduit à l'absence d'une véritable liaison glycosidique entre la base et le sucre, et rend ainsi ces molécules résistantes aux phosphorylases et aux dégradations chimiques ou enzymatiques. Ces analogues peuvent être classés selon la taille du cycle remplaçant le ribose (analogues à 3, 4, 5 ou 6 chaînons). Dans cette partie, nous ne nous intéresserons qu'aux dérivés à 3 et 5 chaînons. Les composés à quatre et six chaînons feront l'objet des paragraphes suivants.

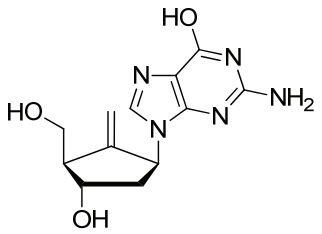
La découverte du carbovir **I.139** (Figure I-37) a permis à la chimie des carbanucléosides de prendre son essor. En effet, ce dérivé cyclopenténique est un puissant inhibiteur de la transcriptase inverse du VIH. Par la suite, d'autres analogues ont été synthétisés comme l'abacavir **I.140**, pro-drogue du carbovir qui inhibe également la transcriptase inverse. L'entecavir **I.141**, dont la partie sucre a été remplacée par un cycle cyclopentanique présentant une double liaison exocyclique, sert pour traiter l'l'hépatite B.



I.139 (Carbovir)



I.140 (Abacavir)

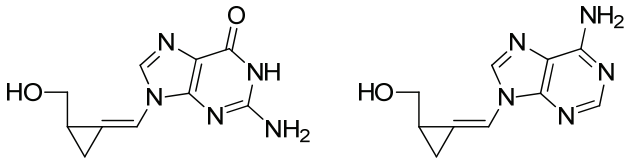


I.141 (Entecavir)

Figure I-37 : Carbovir et ses analogues

[82] Lu, P.; Liu, J.; Wang, Y.; Chen, X.; Yang, Y.; Ji, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 6918.
[83] Ewing, D. F.; Glaçon, V.; Len, C.; Mackenzie, G. *New J. Chem.* **2005**, *29*, 1461.

En ce qui concerne les analogues cyclopropaniques, le synguanol **I.142**[84] (Figure I-38) s'est avéré particulièrement efficace contre le cytomégalovirus (IC_{50} = 2,1 µM) et le VIH (IC_{50} = 1,1 µM). Le synadenol **I.143**, [84] lui, a montré une activité similaire à celle du synguanol contre le cytomégalovirus (IC_{50} = 2,1 µM) et le VIH (IC_{50} = 0,8 µM) mais a également exprimé une activité anti-VHB (EC_{50} = 2,0 µM).



I.142 (Synguanol) **I.143** (Synadenol)

Figure I-38 : Synguanol et synadenol

3.8- Analogues de nucléosides carbocycliques à 4 chaînons

En 1986, l'oxétanocine A **I.144**[85] (Figure I-39) fut isolée à partir d'une souche de *Bacillus Megaterium*. Ce nucléoside naturel contenant un oxétane à la place de la structure osidique du ribose s'est avéré particulièrement prometteur contre les virus du SIDA (inhibition dans les cellules MT-4) et de l'herpès[86] (HSV-2, IC_{50} = 5,8 µg/mL). Son analogue synthétique, l'oxétanocine G **I.145**, a prouvé son efficacité contre l'herpès[87] (HSV-1 VR-3, IC_{50} = 0,52 µg/mL ; HSV-2 UW-268, IC_{50} = 2 µg/mL) mais aussi face à l'hépatite B[88] (ADN polymérase, IC_{50} = 1,5 µM). C'est donc tout naturellement que les études permettant la préparation des analogues carbocycliques de ces composés, le cyclobut-A **I.146** et le cyclobut-G **I.147**, ont vu le jour. Une évaluation biologique a pu démontrer que ces deux dérivés présentaient de bonnes propriétés antivirales.[89] En effet, le cyclobut-A s'est révélé être un très bon inhibiteur du cytomégalovirus (HCMV : ED_{50} = 0,9 à 3,7 µg/mL) mais sa trop grande cytotoxicité a stoppé son développement. Le cyclobut-G (HSV-1 E-377, ED_{50} = 0,05 µg/mL ; HSV-2, ED_{50} = 0,05 à 0,07 µg/mL) a dévoilé une action comparable à celle du ganciclovir (HSV-1 E-377, ED_{50} = 0,08 µg/mL ; HSV-2, ED_{50} = 0,06 à 0,1 µg/mL) contre le virus de l'herpès. D'autres travaux ont donc eu lieu en série chirale non racémique pour identifier l'antipode présentant les meilleures propriétés.[90]

---

[84] (a) Qiu, Y.-L.; Ksebati, M. B.; Ptak, R. G.; Fan, B. Y.; Bretenbach, J. M.; Lin, J. S.; Cheng, Y. C.; Kern, E. R.; Drach, J. C.; Zemlicka, J. *J. Med. Chem* **1998**, *41*, 10 ; (b) Rybak, R. J.; Hartline, C. B.; Qiu, Y. L.; Zemlicka, J.; Harden, E.; Marshall, G.; Sommadassi, J.-P.; Kern, E. R. *Antimicrob. Agents Chemother* **2000**, *44*, 1506.

[85] (a) Shimada, N.; Hasegawa. S.; Harada. T.; Tomisawa, T.; Fujii, A.; Takita, T. *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1623 ; (b) Nakamura. H.; Hasegawa, S.; Shimada, N.; Fujii. A.; Takita, T.; Iitaka, Y. *Zbid* **1986**, *39*, 1626.

[86] (a) Shimada, N.; Hasegawa, S.; Harada, T.; Tomisawa, T.; Fujii, A.; Takita, T. *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1623 ; (b) Hoshino, H.; Shimizu, N.; Shimada, M.; Takita, T.; Takeuchi, T. *J. Antibiot.* **1987**, *40*, 1077 ; (c) Niitsuma, S.; Ichikawa, Y.; Takita, T. *Studies in Natural Chemistry* **1992**, *10*, 585.

[87] Tohoku, J. *Exp. Med.* **1992**, *167*, 57.

[88] Nagahata, T.; Kitagawa, M.; Matsubara, K. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, *38*, 707.

[89] Norbeck, D.; Kern, E.; Hayashi, S.; Rosenbrook, W.; Sham, H.; Herrin, T.; Plattner, J. J.; Erickson, J.; Clement, J.; Swanson, R.; Shipkowitz, N.; Hardy, D.; Marsh, K.; Arnett, G.; Shannon, W.; Broder, S.; Mitsuya, H. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1281.

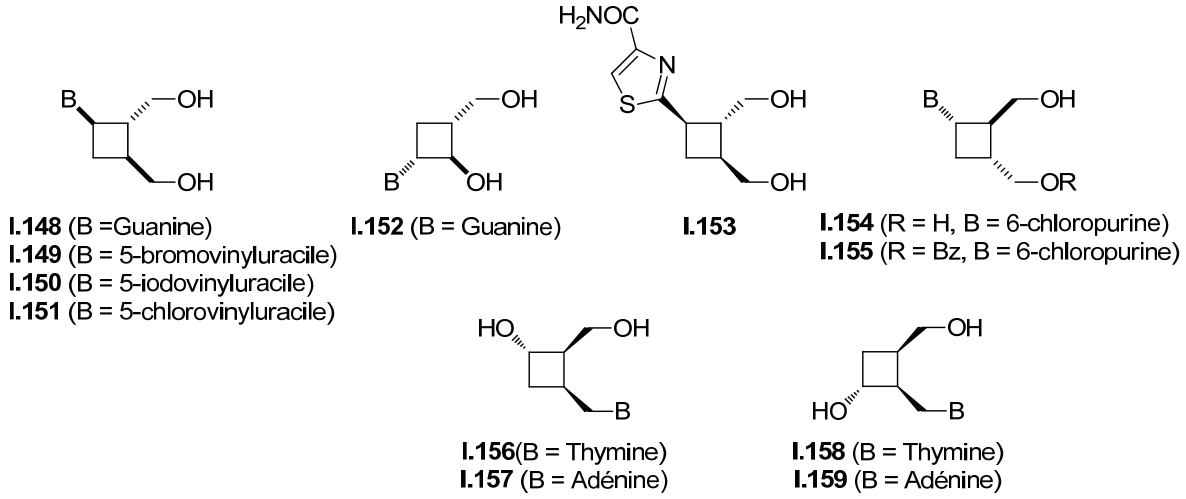
[90] (a) Ichikawa, Y.; Narita, A.; Shiozawa, A.; Hayashi, Y.; Narasaka, K. *J. Chem. Soc.* **1989**, 1919 ; (b) Bissachi, G. S.; Braitman, A.; Cianci, C. W.; Clark, J. M.; Field, A. K.; Hagen, M. E.; Hockstein, D. R.; Malley, M. F.; Mitt, T.; Slusarchyk, W. A.; Sundeen, J. E.; Terry, B. J.; Tuomari, A. V.; Weaver, E. R.; Young, M. G.; Zahler,



I.144 (Oxétanocine A, B = adénine)
I.145 (Oxétanocine G, B = guanine)
I.146 (Cyclobut-A, B = adénine)
I.147 (Cyclobut-G, B = guanine)

Figure I-39 : Oxétanocine A et G, cyclobut-A et G

D'autres analogues cyclobutaniques dihydroxylés tels que **I.148**,[91] **I.149**, **I.150** et **I.151**, **I.152**,[92] **I.153**[93] ainsi que **I.154** et **I.155**[94] ont été développés afin de déterminer la relation structure-activité. Dans notre équipe, Yoann Marsac a réalisé la synthèse des molécules **I.156** à **I.159** lors de sa thèse de doctorat[95] (Figure I-40). Les analogues **I.148** (HSV-1, IC_{50} = 0,08 à 0,2 µM ; HSV-2, IC_{50} = 0,04 à 0,08 µM ; VZV, IC_{50} = 0,2 µM, HCMV, IC_{50} = 2 à 4 µM) et **I.152** (HSV-1, IC_{50} = 0,8 µM ; HSV-2, IC_{50} = 0,4 µM ; VZV, IC_{50} = 2 à 4 µM, HCMV, IC_{50} = 2 à 4 µM) ont exprimé une activité anti-herpétique et contre le cytomégalovirus. Les dérivés **I.149** (cellules Ellen, ID_{50} = 0,03 à 0,15 µM ; cellules Ito, ID_{50} = 0,01 à 0,05 µM), **I.150** (cellules Ellen, ID_{50} = 0,03 à 0,05 µM ; cellules Ito, ID_{50} = 0,05 à 0,1 µM) et **I.151** (cellules Ellen, ID_{50} = 0,2 à 0,4 µM ; cellules Ito, ID_{50} = 0,02 à 0,05 µM) se sont avérés actifs contre le VZV. Par ailleurs, une faible activité contre le virus du syndrome respiratoire aigu sévère a été observée sur l'analogue **I.155** (SRAS-CoV, IC_{50} = 14,5 µM). Aucune des autres molécules n'a révélé d'activité biologique significative.



I.148 (B =Guanine)
I.149 (B = 5-bromovinyluracile)
I.150 (B = 5-iodovinyluracile)
I.151 (B = 5-chlorovinyluracile)
I.152 (B = Guanine)
I.153
I.154 (R = H, B = 6-chloropurine)
I.155 (R = Bz, B = 6-chloropurine)
I.156(B = Thymine)
I.157 (B = Adénine)
I.158 (B = Thymine)
I.159 (B = Adénine)

Figure I-40 : Analogues cyclobutaniques dihydroxylés

R. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1415 ; (c) Pariza, R. J.; Hannick, S. M.; Sowin, T.; Doherty, E. M. **Eur.Pat. Appl. EP 452,729**, 23 octobre 1991, *Chem. Abstr.* **1992**, *116*, 84111m ; (d) Slusarchyk, W. A.; Zahler, R. **Eur. Pat. Appl. EP 484,843**, 13 mai 1992, *Chem. Abstr.* **1992**, *117*, 171960b ; (e) Cotteril, I. C.; Roberts, S. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 2585 ; (f) Chen, X.; Siddiqi, S.; Schneller, S. W. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2249 ; (g) Bissachi, G. S.; Singh, J.; Godfrey, J. D.; Kissick, T. P.; Mitt, T.; Malley, M. F.; Di Marco, J. D.; Gougoutas, J. Z.; Mueller, R. H., Zahler, R. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2902.

[91] Slusarchyk, W. A.; Young, M. G.; Bissachi, G. S.; Hockstein, D. R.; Zahler, R. *Tetrahedron Letters* **1989**, *30*, 6453.

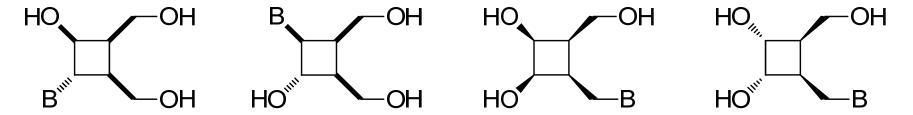
[92] Jacobs, G. A.; Tino, J. A.; Zahler, R. *Tetrahedron Letters* **1989**, *30*, 6955.

[93] Kikuchi, Y.; Nishiyama, S.; Yamamura, S. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1897.

[94] Ikejiri, S.; Saijo, M.; Morikawa, S.; Fukushi, S.; Mizutani, T.; Kurane, I.; Maruyame, T. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2470.

[95] Marsac, Y.; Nourry, A.; Legoupy, S.; Pipelier, M.; Dubreuil, D.; Aubertin, A.-M.; Bourgougnon, N.; Benhida, R.; Huet, F. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7607.

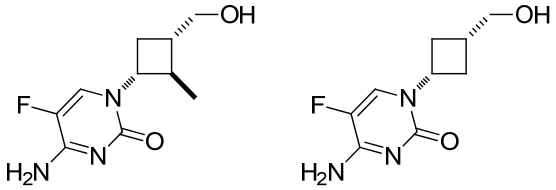
De nombreux nucléosides cyclobutaniques trihydroxylés, tels que **I.160** et **I.161,**[96] ainsi que **I.162**, **I.163** **I.164** et **I.165**[95] ont également été décrits par notre équipe. Malheureusement, ils n'ont pas dévoilé d'activité anti-VIH intéressante (Figure I-41).



I.160 (B = Adénine) **I.161** (B = Adénine) **I.162** (B = Thymine) **I.164** (B = Thymine)
I.163 (B = Adénine) **I.165** (B = Adénine)

Figure I-41 : Analogues cyclobutaniques trihydroxylés

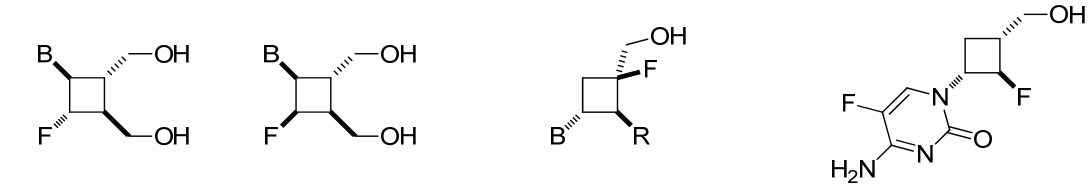
Par ailleurs, la préparation de dérivés 5-fluorocytosine porteurs d'une seule fonction hydroxyle **I.166** et **I.167** (Figure I-42) a été réalisée par Li et *al.*[97] mais n'a pas conduit à des analogues actifs contre le VIH.



I.166 **I.167**

Figure I-42 : Analogues cyclobutaniques monohydroxylés

L'oxygène présent dans le cycle oxétane a également été substitué par un motif fluorométhylène. Les analogues **I.168** et **I.169**,[98] **I.170** et **I.171**,[99] **I.172**[100] et enfin **I.173**,[97] sont des exemples de ces modifications (Figure I-43). La molécule **I.168** a montré des propriétés anti-herpétiques (HSV-1, IC_{50} = 0,7 à 2 µM ; HSV-2, IC_{50} = 0,7 µM) équivalentes à celles de l'aciclovir et une activité contre le VZV (IC_{50} = 2 à 4 µM) tandis que des propriétés anti-VIH ont été exprimées par le cyclobutane **I.171** (VIH-1, IC_{50} =3,9 µM ; VIH-2, IC_{50} = 1,5 µM).



I.168 (B = Guanine) **I.169** (B = Guanine) **I.170** (R = H, B = Guanine) **I.173**
I.171 (R = H, B = Adénine)
I.172 (R = CH_2OH, B = Adénine)

Figure I-43 : Analogues cyclobutaniques fluorés

[96] Mévellec, L.; Huet, F. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 13145.
[97] Li, Y.; Mao, S.; Hager, M. W.; Becnel, K. D.; Schinazi, R. F.; Liotta, D. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3398.
[98] Vite, G. D.; Tino, J. A.; Zahler, R.; Goodfellow, V.; Tuomari, A. V.; McGeever-Rubin, B.; Field, A. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 1211.
[99] Gharbaoui, T.; Legraverend, M.; Ludwig, O.; Bisagni, E.; Aubertin, A.-M.; Chertanova, L. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 1641.
[100] Sato, Y.; Maruyama, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 91.

Il a également été décrit la préparation des phosphonates **I.174** et **I.175**[99] ainsi que du triphosphate **I.176**[97] (Figure I-44). Une activité anti-VIH (IC_{50} = 4,7 à 6,9 µM) a été détectée sur le triphosphate **I.176**.

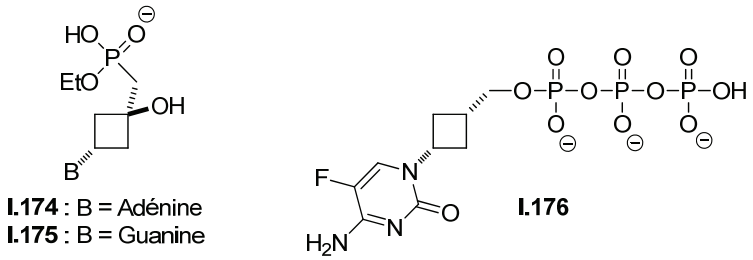


Figure I-44 : Analogues cyclobutaniques phosphorylés

En dernier lieu, les nucléosides cyclobuténiques **I.177**[101] à **I.178**[102] (Figure I-45) ainsi que les analogues présentant une double liaison exocyclique **I.179** à **I.187**[103] ont été développés au sein de notre équipe. Des évaluations biologiques ont prouvé l'inactivité de ces nucléosides face au VIH.

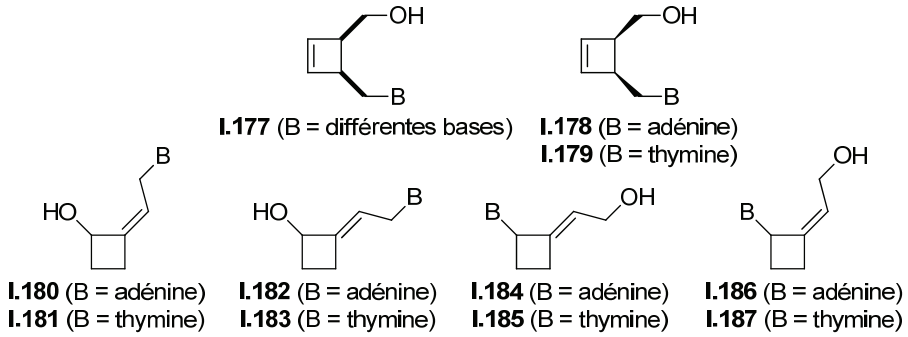


Figure I-45 : Analogues cyclobuténiques et possédant une double liaison exocyclique

3.9- Analogues de nucléosides carbocycliques à 6 chaînons

3.9.1- Analogues cyclohexéniques

Les premiers analogues de nucléosides cyclohexéniques remontent à la fin des années 1950. En effet, Schaeffer et Weimar[104] ont proposé les analogues cyclohexéniques **I.188** à **I.191** (Figure I-46).

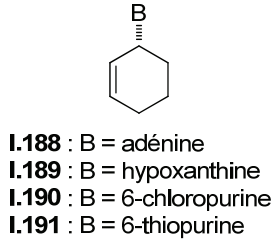


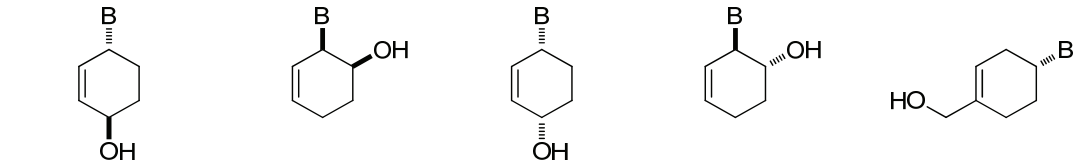
Figure I-46 : Analogues cyclohexéniques de Schaeffer et Weimar

[101] Gourdel-Martin, M.-E.; Huet, F. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2166.
[102] Hubert, C.; Alexandre, C.; Aubertin, A.-M.; Huet, F. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3775.
[103] Danappe, S.; Pal, A.; Alexandre, C.; Aubertin, A.-M.; Bourgougnon, N.; Huet, F. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 5782.
[104] Schaeffer, H. J.; Weimar, R. D *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 197.

Ce n'est qu'à partir des années 1990 que la chimie des nucléosides cyclohexéniques prend vraiment son essor. Ainsi, d'innombrables analogues allant du monohydroxylé au trihydroxylé ont vu le jour.

3.9.1.a- Analogues cyclohexéniques monohydroxylés

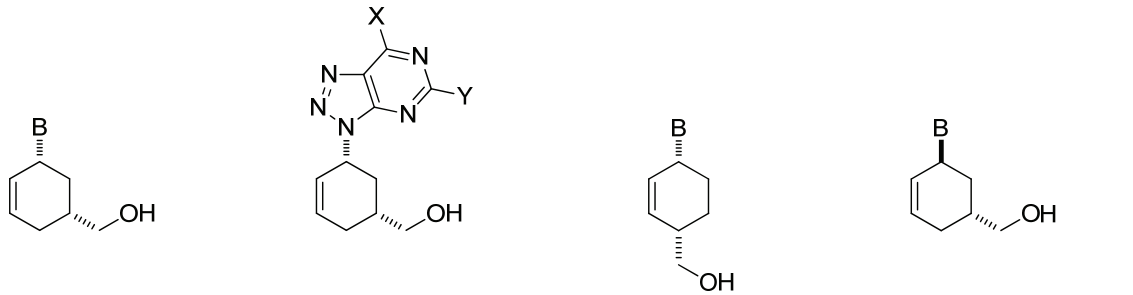
Arango et *al.*[105] ont décrit les dérivés monohydroxylés **I.192** à **I.200** (Figure I-47). Ceux-ci ont été évalués biologiquement, toutefois, aucune propriété anti-VIH n'a été découverte.



I.192 (B = thymine) **I.193** (B = thymine) **I.194** (B = thymine) **I.195** (B = adénine) **I.199** (B = thymine)
I.196 (B = guanine)
I.197 (B = 2-amino-6-chloropurine)
I.198 (B = thymine)

Figure I-47 : Analogues cyclohexéniques monohydroxylés de Arango et *al.*

De plus, la préparation d'homologues cyclohexéniques du carbovir a été effectuée par l'équipe de Vince[106] (**I.200** à **I.205** et **I.208** à **I.224**) ainsi que par celle de Camplo[107] (**I.206** et **I.207**) (Figure I-48). Les molécules **I.201** (IC_{50} = 4 µg/mL), **I.204** (IC_{50} = 4 µg/mL) et **I.210** (IC_{50} = 18 µg/mL) se sont avérées cytotoxique contre des cellules tumorales de la souris.



I.200 (B = adénine)
I.201 (B = 6-chloropurine)
I.202 (B = hypoxanthine)
I.203 (B = guanine)
I.204 (B = 2-amino-6-chloropurine)
I.205 (B = 2,6-diaminopurine)
I.206 (B = thymine)
I.207 (B = cytosine)

I.208 (X = Cl et Y = H)
I.209 (X = NH_2 et Y = H)
I.210 (X = Cl et Y = NH_2)
I.211 (X = NH_2 et Y = NH_2)
I.212 (X = OH et Y = NH_2)

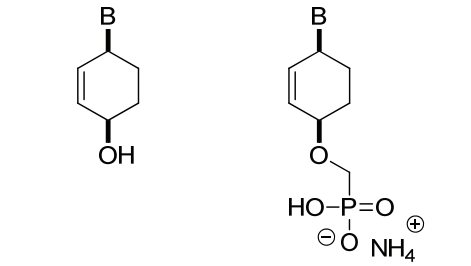
I.213 (B = adénine)
I.214 (B = 6-chloropurine)
I.215 (B = hypoxanthine)
I.216 (B = guanine)
I.217 (B = 2-amino-6-chloropurine)
I.218 (B = 2-amino-6-cyclopropylaminopurine)

I.219 (B = adénine)
I.220 (B = 6-chloropurine)
I.221 (B = hypoxanthine)
I.222 (B = guanine)
I.223 (B = 2-amino-6-chloropurine)
I.224 (B = 2,6-diaminopurine)

Figure I-48 : Analogues cyclohexéniques monohydroxylés homologues du carbovir

[105] Arango, J. H.; Geer, A.; Rodriguez, J.; Young, P. E.; Scheiner, P. *Nucleosides & Nucleotides* **1993**, *12*, 773.
[106] (a) Konkel, M. J.; Vince, R. *Nucleosides & Nucleotides* **1995**, *14*, 2061 ; (b) Konkel, M. J.; Vince, R. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 799 ; (c) Konkel, M. J.; Vince, R. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8969.
[107] (a) Barral, K.; Halfon, P.; Pèpe, G.; Camplo, M. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 81 ; (b) Barral, K.; Courcambeck, J.; Pèpe, G.; Balzarini, J.; Neyts, J.; De Clercq, E.; Camplo, M. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 450.

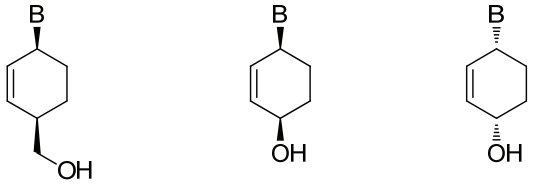
Par ailleurs, Herdewijn et *coll.*[108] ont développé plusieurs analogues monohydroxylés (**I.225** à **I.228**) ainsi que les monophosphates (**I.229** à **I.232**) correspondant à ces dérivés (Figure I-49).



I.225 (B = adénine) **I.229** (B = adénine)
I.226 (B = guanine) **I.230** (B = guanine)
I.227 (B = thymine) **I.231** (B = thymine)
I.228 (B = cytosine) **I.232** (B = cytosine)

Figure I-49 : Analogues cyclohexéniques monohydroxylés de Herdewijn et *al.*

Finalement, ces dernières années, la description en série énantiomériquement pure de divers cyclohexènes monohydroxylés a été proposée par Olivo et *al.*[109] (**I.233** et **I.234**) ainsi que par Alibés, Busqué et *coll.*[110](**I.235** à **I.238**) (Figure I-50). Cependant, aucune activité anti-VIH significative n'a été observée sur ces composés.

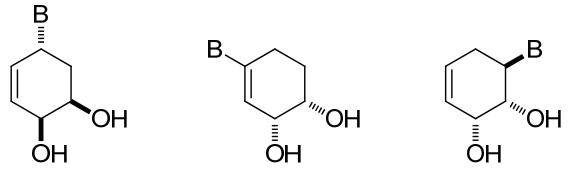


I.233 (B = guanine) **I.235** (B = adénine) **I.237**(B = adénine)
I.234 (B = 2-amino-6-diisopropylaminopurine) **I.236** (B = uracile) **I.238** (B = uracile)

Figure I-50 : Analogues cyclohexéniques monohydroxylés énantiomériquements purs

3.9.1.b- Analogues cyclohexéniques dihydroxylés

Des dérivés porteurs d'une fonction hydroxyle supplémentaire ont également été synthétisés par Borchardt et *al.*[111] (**I.239** à **I.241**) (Figure I-51). Ces molécules ont été testées vis-à-vis de l'enzyme adenosylhomocysteine hydrolase mais n'ont pas montré d'inhibition suffisante pour être de bons antiviraux.

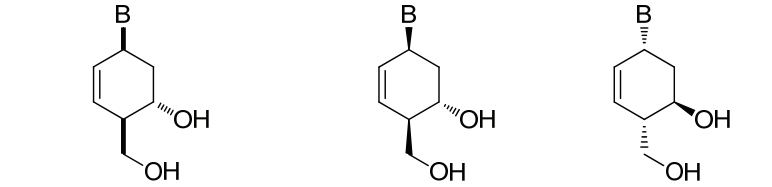


I.239 (B = adénine) **I.240** (B = adénine) **I.241** (B = adénine)

Figure I-51 : Analogues cyclohexéniques dihydroxylés de Borchardt et *al.*

[108] Pérez-Pérez, M. J.; Rozenski, J.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1531.
[109] Olivo, H. F.; Yu, J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 391.
[110] Ferrer, E.; Alibes, R.; Busqué, F.; Figueredo, M.; Font, J.; De March, P. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2425.
[111] Ramesh, K.; Wolfe, M. S.; Lee, Y.; Vander Velde, D.; Borchardt, R. T. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 5861.

De nombreux nucléosides dihydroxylés ont, par ailleurs, été préparés par l'équipe d'Herdewijn,[112] aussi bien en série racémique (**I.242** à **I.250**) qu'en série chirale non racémique (**I.251** à **I.254**) (Figure I-52). Le composé **I.243** s'est avéré actif contre le VIH (50 % de réduction de la cytopathogénicité à 0,38 µg/mL) tandis que les molécules **I.252** (HSV-1, IC_{50} = 0,002 à 0,38 µg/mL ; HSV-2, IC_{50} = 0,05 à 0,07 µg/mL ; VZV, IC_{50} = 0,49 à 2,8 µg/mL ; CMV, IC_{50} = 0,6 à 0,8 µg/mL) et **I.254** (HSV-1, IC_{50} = 0,003 à 1,28 µg/mL ; HSV-2, IC_{50} = 0,07 à 0,1 µg/mL ; VZV, IC_{50} = 1,2 à 6,8 µg/mL ; CMV, IC_{50} = 1,5 à 1,7 µg/mL) ont présenté des activités contre le virus de l'herpès, le VZV et le cytomégalovirus.



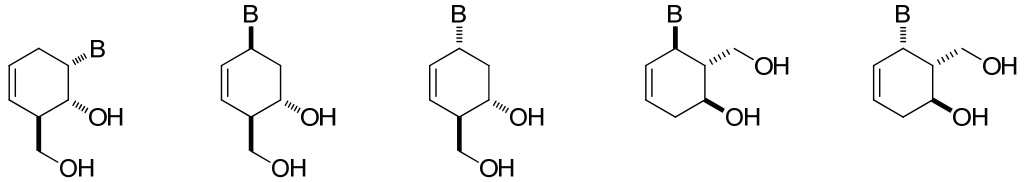
I.242 (B = guanine)
I.243(B = 2,6-diaminopurine)
I.244 (B = thymine)
I.245 (B = uracile)
I.246 (B = 5-iodouracile)
I.247 (B = 5-fluorouracile)
I.248 (B = cytosine)
I.249 (B = 5-méthylcytosine)
I.250 (B = 5-fluorocytosine)

I.251 (B = adénine) **I.252**(B = guanine)

I.253 (B = adénine) **I.254** (B = guanine)

Figure I-52 : Analogues cyclohexéniques dihydroxylés de Herdewijn et *al.*

Pour finir, divers autres analogues dihydroxylés ont été proposés ces dernières années par l'équipe de Hee Hong[113] (**I.255**) ainsi que par Yoshimura, Takahate et *al.*[114] (**I.256** à **I.259**) (Figure I-53).



I.255 (B = adénine) **I.256** (B = cytosine) **I.257** (B = cytosine) **I.258** (B = cytosine) **I.259** (B = cytosine)

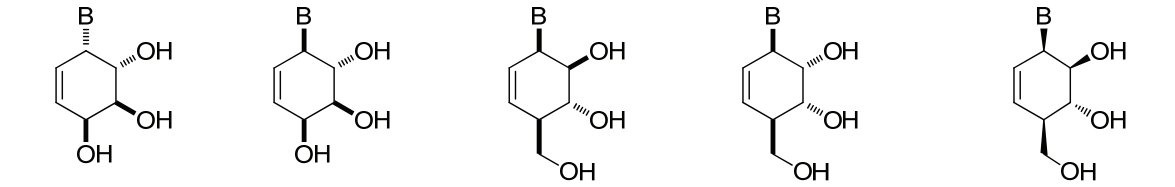
Figure I-53 : Analogues cyclohexéniques dihydroxylés de Hee Hong et *al.* ainsi que de Yoshimura, Takahate et *al.*

3.9.1.c- Analogues trihydroxylés

Les nucléosides cyclohexéniques comportant trois hydroxyles apparaissent moins nombreux que leurs homologues mono- et dihydroxylés. Parmi les équipes ayant réalisé ce type de composé, il y a, entre autres, Borchardt et *coll.*[111] (**I.260** et **I.261**) ainsi que Herdewijn

[112] (a) Wang, J.; Herdewijn, P.; *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7820 ; (b) Wang, J.; Froeyen, M.; Hendrix, C.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 736 ; (c) Gu, P.; Morral, J.; Wang, J.; Rozenski, J.; Busson, R.; Van Aerschot, A.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2003**, *22*, 845.
[113] Lee, H.; Hee Hong, J. Bull. Kor. Chem. Soc. **2007**, *28*, 1645.
[114] Yoshimura, Y.; Ohta, M.; Imahori, T.; Imamichi, T.; Takahata, H. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3449.

et *al.*[115] (**I.262** à **I.269**) (Figure I-54). Le dérivé **I.262** a montré une légère activité anti-herpétique (HSV-1, IC_{50} = 4 µg/mL) tandis que l'analogue **I.225** a été confirmé inactif face à l'hépatite C.



I.260 (B = adénine) **I.261** (B = adénine) **I.262** (B = adénine) **I.263** (B = guanine) **I.264** (B = 2-amino-6-chloropurine) **I.265** (B = uracile) **I.266** (B = cytosine) **I.267** (B = adénine) **I.268** (B = hypoxanthine) **I.269** (B = adénine)

Figure I-54 : Analogues cyclohexéniques trihydroxylés de Borchardt et *al.* ainsi que de Herdewijn et *al.*

3.9.2- Analogues cyclohexaniques

Beaucoup de nucléosides cyclohexaniques ont également été décrit. Comme leurs homologues cyclohexéniques, ils présentent en général une ou plusieurs fonctions hydroxyles même s'il en existe des non hydroxylés. On dénote également des analogues possédant un second cycle accolé au cyclohexane.

3.9.2.a- Analogues non hydroxylés

Les dérivés ne comportant pas de fonction hydroxyle (**I.270** et **I.271**) sont peu nombreux et ont été proposés par l'équipe de Young[116] (Figure I-55). La molécule **I.270**, inhibe une enzyme de la prolifération cellulaire, ce qui lui confère une activité antitumorale potentielle.



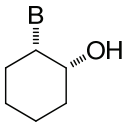
I.270 (B = adénine) **I.271** (B = adénine)

Figure I-55 : Analogues cyclohexaniques non hydroxylés

3.9.2.b- Analogues monohydroxylés

En 1959, Schaeffar et Weimar[104] ont synthétisé les premiers analogues cyclohexaniques monohydroxylés (**I.272** à **I.275**) (Figure I-56).

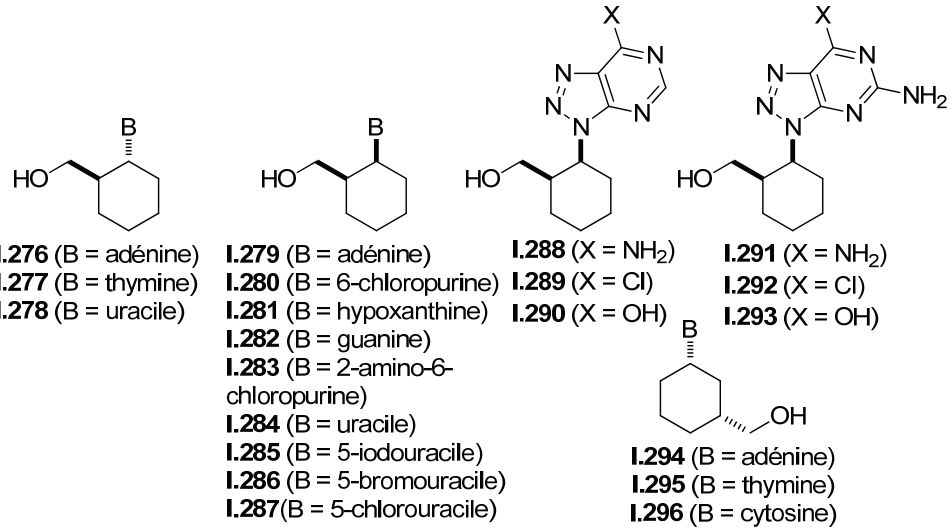
[115] (a) Wang, J.; Viña, D.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4499 ; (b) Vijgen, S.; Nauwelaerts, K.; Wang, J.; Van Aerschot, A.; Lagoja, I.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4591 ; (c) Horvath, A.; Ruttens, B.; Herdewijn, P. *Tetrahedron Letters* **2007**, *48*, 3621.
[116] Young, R. C.; Jones, M.; Milliner, K. J.; Rana, K. K.; Ward, J. G. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 2073.



I.272 (B = adénine)
I.273 (B =hypoxanthine)
I.274 (B =6-chloropurine)
I.275 (B =6-thiopurine)

Figure I-56 : Analogue cyclohexaniques monohydroxylés de Schaeffer et Weimar

Par la suite, la recherche a abouti à d'autres dérivés monohydroxylés développés par Viña et *al.*[117](**I.276** à **I.293**) ainsi que par Camplo et *coll.*[107] (**I.294** à **I.296**) (Figure I-57). Une modeste activité antitumorale a ainsi été découverte pour le composé **I.283** (cellules L1210, IC_{50} = 7,6 µg/mL ; cellules Molt4/C8, IC_{50} = 8,3 µg/mL ; cellules CEM/0, IC_{50} = 7,7 µg/mL).



I.276 (B = adénine)
I.277 (B = thymine)
I.278 (B = uracile)

I.279 (B = adénine)
I.280 (B = 6-chloropurine)
I.281 (B = hypoxanthine)
I.282 (B = guanine)
I.283 (B = 2-amino-6-chloropurine)
I.284 (B = uracile)
I.285 (B = 5-iodouracile)
I.286 (B = 5-bromouracile)
I.287(B = 5-chlorouracile)

I.288 (X = NH_2)
I.289 (X = Cl)
I.290 (X = OH)

I.291 (X = NH_2)
I.292 (X = Cl)
I.293 (X = OH)

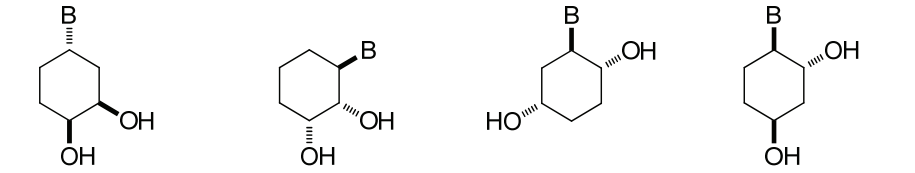
I.294 (B = adénine)
I.295 (B = thymine)
I.296 (B = cytosine)

Figure I-57 : Analogues cyclohexaniques monohydroxylés des équipes de Camplo et Viña

3.9.2.c- Analogues dihydroxylés

La préparation de nombreuses molécules présentant deux hydroxyles a été décrite par Borchardt et *al.*[111] (**I.297** et **I.298**) et par Calvani et *coll.*[118] (**I.299** à **I.302**) (Figure I-58). Cela a permis de détecter des propriétés anti-herpétiques, ainsi que contre le cytomégalovirus sur les composés **I.299** (HSV-2, EC_{50} = 0,97 µM ; CMV, EC_{50} = 0,97 µM) et **I.302** (HSV-1, EC_{50} = 0,97 µM ; CMV, EC_{50} = 0,97 µM).

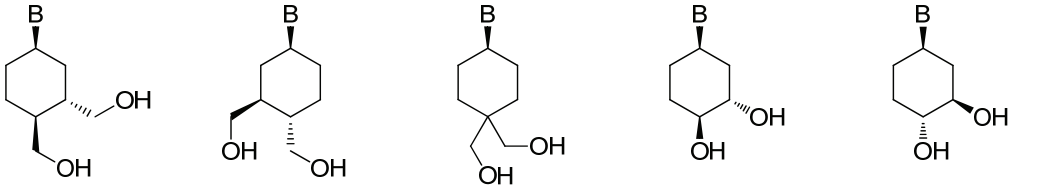
[117] Viña, D.; Santana, L.; Uriarte, E. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2001**, *20*, 1363 ; (b) Teran, C.; Santana, L.; Uriarte, E.; Viña, D.; De Clercq, E. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleics Acids* **2003**, *22*, 787.
[118] Calvani, F.; Macchia, M.; Rossello, A.; Gismondo, M. R.; Drago, L.; Fassina, M. C.; Cisternino, M.; Domiano, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2567.



I.297 (B = adénine) **I.298** (B = adénine) **I.299** (B = uracile) **I.300** (B = adénine)
I.301 (B = guanine)
I.302 (B = uracile)

Figure I-58 : Analogues cyclohexaniques dihydroxylés de Borchardt et *al.* ainsi que de Calvani et *al.*

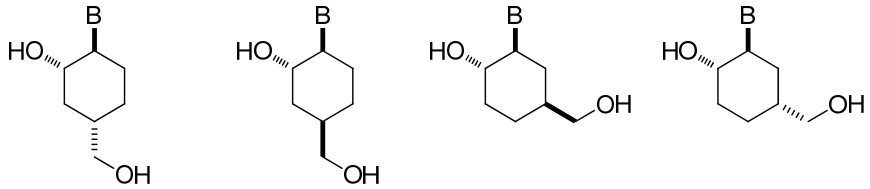
Par ailleurs, la synthèse de dérivés chiraux non racémiques a été effectuée par les équipes de Kvarnström[119] (**I.303** à **I.306**) et d'Herdewijn[120] (**I.307** à **I.319**) (Figure I-59). Cependant, après évaluation biologique, aucune activité anti-VIH n'a été observée sur les analogues **I.303** à **I.306** et les molécules **I.307** à **I.319** se sont révélées inactives face au VIH et au HSV.



I.303 (B = adénine) **I.305** (B = adénine) **I.307** (B = adénine) **I.310** (B = adénine) **I.315** (B = adénine)
I.304 (B = guanine) **I.306** (B = guanine) **I.308** (B = thymine) **I.311** (B = guanine) **I.316** (B = guanine)
I.309 (B = cytosine) **I.312**(B = thymine) **I.317** (B = thymine)
I.313 (B = uracile) **I.318** (B = uracile)
I.314 (B = cytosine) **I.319** (B = cytosine)

Figure I-59 : Analogues cyclohexaniques dihydroxylés chiraux

Finalement, d'autres nucléosides dihydroxylés (**I.320** à **I.323**) ont été étudiés ces dernières années par Hrebabecky et *coll.*[121] (Figure I-60).



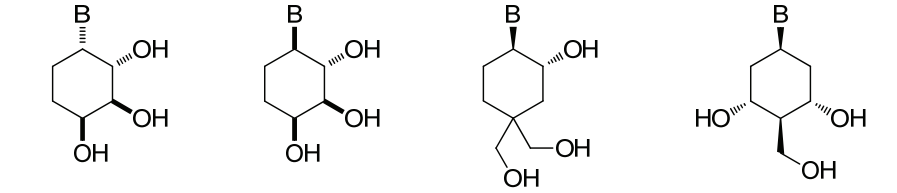
I.320 (B = adénine) **I.321** (B = thymine) **I.322** (B = adénine) **I.323** (B = thymine)

Figure I-60 : Analogues cyclohexaniques de Hrebabecky et *al.*

3.9.2.d- Analogues trihydroxylés et tétrahydroxylés

Dans la littérature, Borchardt et *al.*[111] (**I.324** et **I.325**) ainsi que l'équipe d'Herdewijn[122] (**I.326** à **I.331**), ont effectué la préparation de quelques nucléosides cyclohexaniques trihydroxylés (Figure I-61).

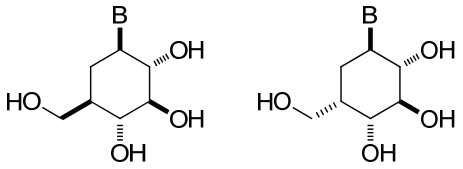
[119] Rosenquist, A.; Kvarnström, I. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6282.
[120] (a) Mikhailov, S. N.; Blaton, N.; Rozenski, J.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *Nucleosides & Nucleotides* **1996**, *15*, 867 ; (b) Maurinsh, Y.; Schraml, J.; De Winter, H.; Blaton, N.; Peeters, O.; Lescrinier, E.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; De Clercq, E.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2861.
[121] Hrebabecky, H.; Masojidkova, M.; Holy, A. *Collect. Czech. Chem. Comm.* **2002**, *67*, 1681.



I.324 (B = adénine) **I.325**(B = adénine) **I.326** (B = adénine) **I.329** (B = adénine)
I.327 (B = thymine) **I.330** (B = guanine)
I.328 (B = cytosine) **I.331** (B = 2-amino-6-chloropurine)

Figure I-61 : Analogues cyclohexaniques trihydroxylés

Par ailleurs, il a également été développé des dérivés tétrahydroxylés (**I.332** et **I.333**) par Kitagawa et *coll.*[123] (Figure I-62).

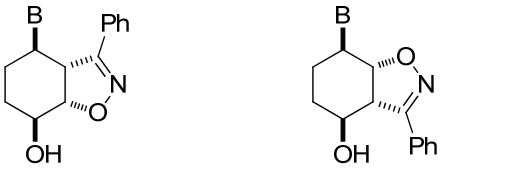


I.332 (B = adénine) **I.333** (B = adénine)

Figure I-62 : Analogues cyclohexaniques tétrahydroxylés

3.9.2.e- Analogues bicycliques

D'autres nucléosides plus atypiques, possédant un hétérocycle isoxazole fusionné au cyclohexane, ont été proposés par l'équipe de Quadrelli[124] (**I.334** à **I.341**) (Figure I-63).



I.334 (B = adénine) **I.338** (B = adénine)
I.335 (B = 6-chloropurine) **I.339** (B = 6-chloropurine)
I.336 (B = thymine) **I.340** (B = thymine)
I.337 (B = uracile) **I.341** (B = uracile)

Figure I-63 : Analogues cyclohexaniques comportant un hétérocycle

Mehta et *al.*,[125] quant à eux, ont envisagé la synthèse d'analogues bicycliques de type décaline **I.342** ou de molécules comportant une partie cyclopentanique accolée au cyclohexane **I.343** (Figure I-64).

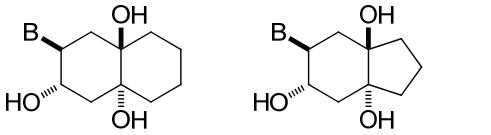
---

[122] (a) Mikhailov, S. N.; Blaton, N.; Rozenski, J.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *Nucleosides & Nucleotides* **1996**, *15*, 867 ; (b) Wang, J.; Busson, R.; Blaton, N.; Rozenski, J.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3051.

[123] Kitagawa, I.; Cha, B. C.; Nakae, T.; Okaichi, Y.; Takinami, Y.; Yoshikawa, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 542.

[124] (a) Quadrelli, P.; Mella, M.; Carosso, S.; Bovio, B.; Caramella, P. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 6003 ; (b) Quadrelli, P.; Mella, M.; Assanelli, G.; Piccanello, A. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 7312.

[125] Mehta, G.; Talukdar, P.; Pullepu, V.; Sen, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 4691.



I.342 (B = adénine) **I.343** (B = adénine)

Figure I-64 : Analogues cyclohexaniques accolés à un cyclopentane ou à un cyclohexane

En dernier lieu, Hrebabecky et *coll.*[126] ont préparé des analogues bicycliques **I.344** à **I.351** (Figure I-65) pour lesquels le second cycle est fixé en 1,4 de la partie cyclohexanique du nucléoside.



I.344 (B = adénine)
I.345 (B = 6-chloropurine)
I.346 (B = 6-cyclopropylaminopurine)

I.347 (B = adénine)
I.348 (B = 6-chloropurine)
I.349 (B = 6-cyclopropylaminopurine)



I.350 (B = 6-chloropurine) **I.351** (B = 6-chloropurine)

Figure I-65 : Analogues cyclohexaniques bicycliques de Hrebabecky et *al.*

[126] Hrebabecky, H.; Dracinsky, M.; Holy, A. *Collect. Czech. Chem. Comm.* **2009**, *74*, 1425.

4- Les analogues d'oligonucléotides

Outre les analogues de nucléosides, les chercheurs se sont intéressés à la préparation d'acides nucléiques modifiés pour des applications biologiques ciblant l'ADN ou l'ARN. Avant d'exposer les principales modifications apportées sur ces biopolymères, nous nous intéresserons à leur principale utilisation dans le cadre de la thérapie génique.

4.1- Applications thérapeutiques des analogues d'oligonucléotides : la thérapie génique

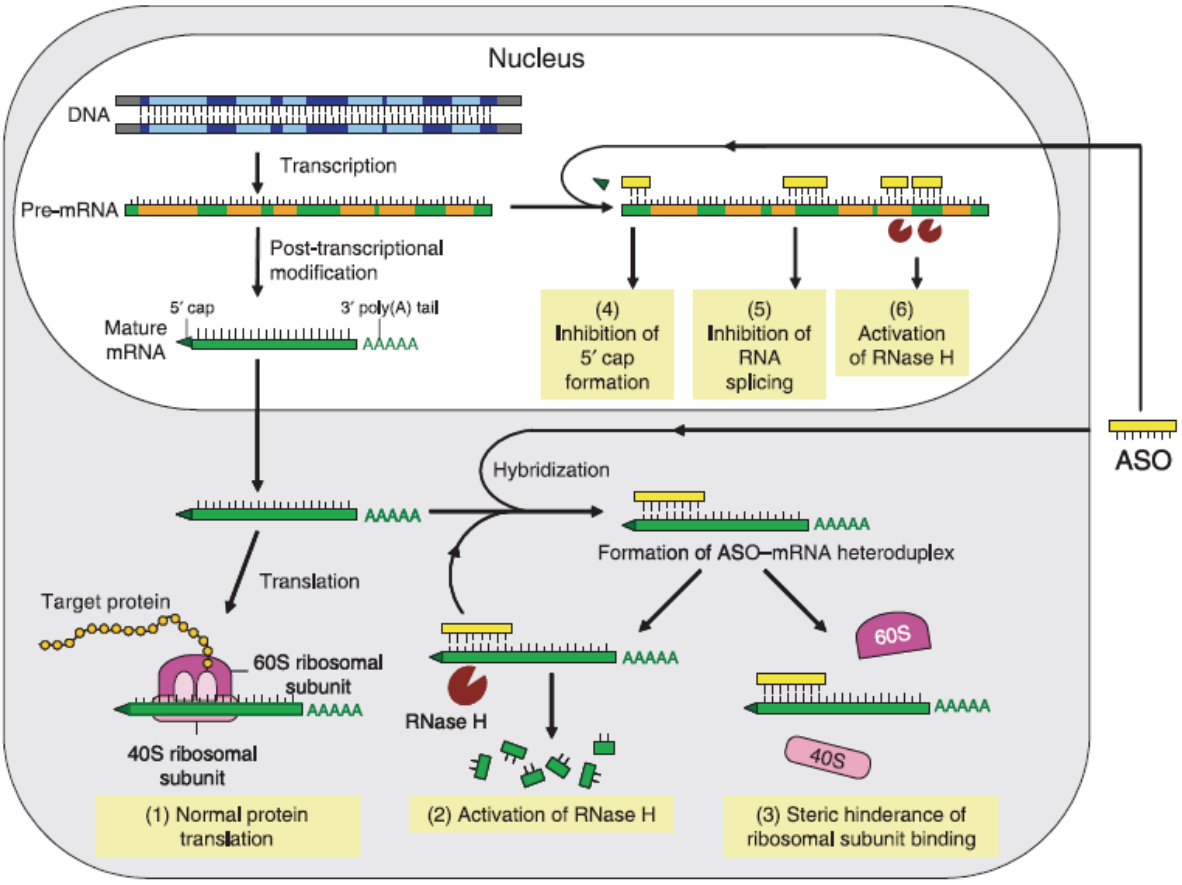
4.1.1- Principales stratégies thérapeutiques

4.1.1.a- Ciblage de l'ARN

La principale stratégie ciblant l'ARN est la stratégie antisens. Elle consiste à hybrider un oligonucléotide complémentaire (oligonucléotide antisens ou ASO) sur une séquence définie de l'ARN. L'association de l'antisens avec l'ARN cible peut alors perturber le décodage de l'information portée par ce dernier, et donc, l'accomplissement normal de différents évènements (maturation d'un ARN prémessager, traduction d'un ARN_m, transcription inverse d'un génome rétroviral).

Différents mécanismes peuvent alors intervenir. L'oligonucléotide antisens peut s'apparier à un ARN_m complémentaire pour former un hétéroduplex ASO / ARN_m. Cet hétéroduplex peut alors être reconnu par la RNAse H (enzyme qui hydrolyse le brin d'ARN dans un double brin ADN / ARN), ce qui permet de dégrader l'ARN_m et ainsi d'inhiber la synthèse de telle ou telle protéine (Figure I-66, étape 2). Dans le cas où la RNAse ne reconnait pas l'hétéroduplex ASO / ARN_m, le brin d'ARN_m ne peut être dégradé. Toutefois, l'encombrement stérique engendré par la présence de l'oligonucléotide antisens peut empêcher les ribosomes de se fixer à l'ARN_m, ce qui inhibe la traduction et la synthèse protéique (Figure I-66, étape 3). La stratégie de ciblage de l'ARN englobe aussi le saut d'exon,[127] l'interférence ARN,[128] les ribozymes[129] et les aptamères.[130]

[127] Sierakowska, H.; Sambade, M. J.; Agrawal, S.; Kole, R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 12840.
[128] Fire, A.; Mello, C. *Nature* **1998**, *391*, 806.
[129] (a) Cech, T. R.; Zaug, A. J.; Grabowski, A. J. *Cell* **1981**, *27*, 487 ; (b) Doudna, J. A.; Cech, T. R. *Nature* **2002**, *418*, 222.
[130] Gold, L.; Polisky, B.; Uhlenbeck, O.; Yarus, M. *Annu. Rev. Biochem.* **1995**, *64*, 763.



Modes of action of antisense oligonucleotides (ASOs). In the absence of ASO, normal gene and protein expression is maintained. The ASO is taken up by cellular endocytosis and can hybridize with target mRNA in the cytoplasm. Formation of an ASO–mRNA heteroduplex induces (2) activation of RNase H, leading to selective degradation of bound mRNA or (3) steric interference of ribosomal assembly. Both actions will result in target protein knockdown. Alternatively, the ASO can enter the nucleus and regulate mRNA maturation by (4) inhibition of 5′ cap formation, (5) inhibition of mRNA splicing and (6) activation of RNase H. Theoretically, the ASO can selectively knock down any target gene and protein expression, leading to therapeutic benefit.

Figure I-66 : Mécanisme d'action des oligonucléotides antisens

Pour que cette stratégie soit efficace, les oligonucléotides se doivent d'être suffisamment résistants dans les conditions physiologiques afin de former des hétéroduplex stables avec l'ARN.[131] Les acides nucléiques naturels ne sont pas assez résistants vis-à-vis des nucléases en milieu cellulaire, et sont rapidement dégradés. Il est donc nécessaire de les modifier chimiquement pour palier cet inconvénient. La stratégie antisens a conduit au premier oligonucléotide médicament dirigé contre la rétinite cytomégalovirale,[132] virus de type herpès touchant certains malades atteints du SIDA. D'autres oligonucléotides ciblant différentes pathologies sont au stade des évaluations cliniques. Les oligonucléotides antisens pourraient être employés comme agents antiviraux,[133] antitumoraux,[134] etc.

[131] Zamecnik, P. C.; Stephenson, M. L. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1978**, *75*, 280.
[132] Crooke, S. T.; *Annu. Rev. Med.* **2004**, *55*, 61.
[133] Hélène, C.; Toulmé, J. J. *Biochim. Biophys. Acta* **1990**, *1049*, 99.
[134] Heikkila, R.; Schwab G.; Wickstrom, E.; Loke, S. L.; Pluznik, D. H.; Watt, L.; Neckers, L. M. *Nature* **1987**, *328*, 445.

4.1.1.b- Ciblage de l'ADN

Connue également sous le nom de stratégie anti-gène, cette approche consiste à hybrider un oligonucléotide synthétique à l'ADN pour former une triple hélice stabilisée par des liaisons hydrogène de Hoogsteen ou de Hoogsteen inverses[135] (Figure I.67). Ce phénomène stoppe aussi bien la réplication que la transcription de l'ADN[136] en empêchant les enzymes et les protéines de se fixer sur l'ADN.

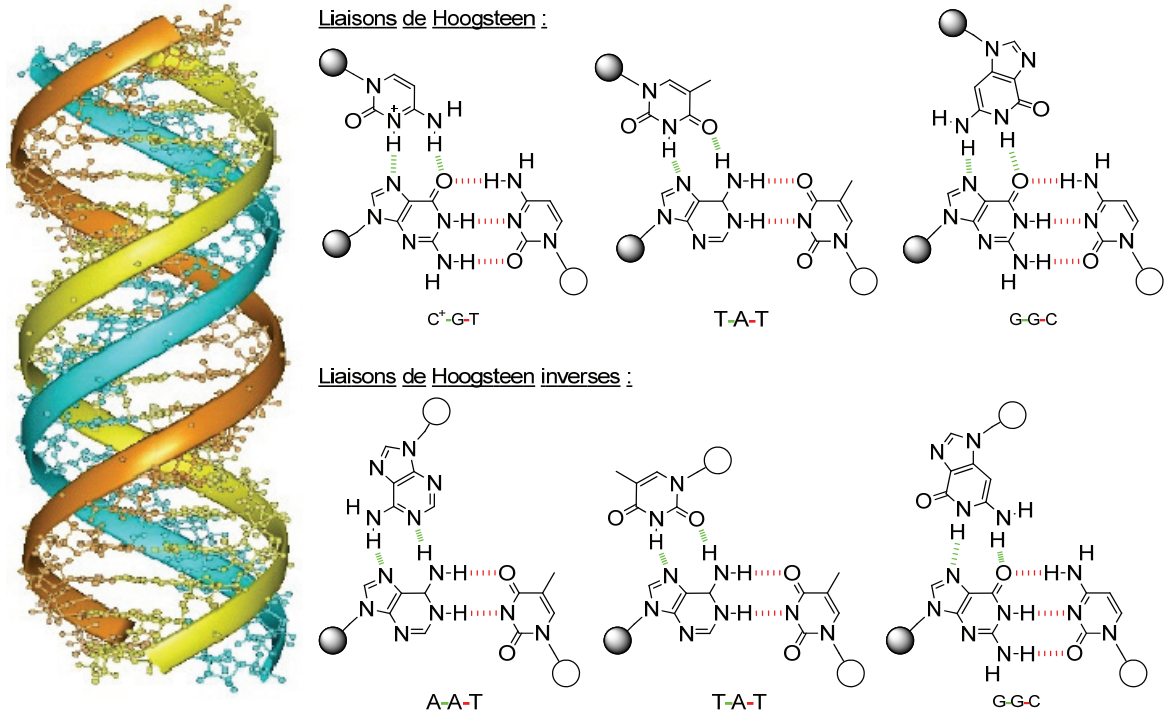


Figure I-67 : Triple hélice (brin supplémentaire en bleu) et liaisons de Hoogsteen et Hoogsteen inverse (en vert)

Cette approche possède un avantage considérable comparée à la stratégie antisens : son activité. En effet, chaque cellule n'a en principe que deux copies d'un gène alors qu'un gène peut donner des milliers de copies d'ARN_m continuellement transcrites, ce qui implique la nécessité d'une concentration importante d'oligonucléotides. Cette stratégie permet en outre la manipulation du génome et ainsi d'induire des recombinaisons et des mutations.[137] En revanche, la formation d'une triple hélice *in vivo* est désavantagée par le nombre de sites potentiels (hybridation restreinte le plus souvent sur des séquences cibles homopurine / homopyrimidine). De nombreuses recherches ont ainsi été menées afin d'étendre le domaine d'application des triples hélices.[138]

[135] Sun, J.-S.; Garestier, T.; Hélène, C. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 327.
[136] Faria, M.; Giovannangelli, C. *J. Gene Med.* **2001**, *3*, 299.
[137] Seidman, M. M.; Glazer, P. M. *J. Clin. Invest.* **2003**, *112*, 487.
[138] (a) Doronina, S. O.; Behr, J.-P. *Chem. Soc. Rev.* **1997**, *26*, 63-71 ; (b) Blanalt-Feidt, S.; Doronina, S. O.; Behr, J.-P. *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, *18*, 605-606 ; (c) Blanalt-Feidt, S.; Doronina, S. O.; Behr, J.-P. *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, *18*, 1617-1618.

4.1.2- *Transport des oligonucléotides jusqu'à leur cible : les vecteurs*

Pour qu'un oligonucléotide médicament puisse agir efficacement contre une maladie, il doit parvenir intact jusqu'à sa cible, c'est à dire dans le cytoplasme pour les applications antisens ou dans le noyau pour la stratégie anti-gène. Cependant, la nature polyanionique de l'oligonucléotide ne lui permet pas de franchir la membrane cellulaire. Une des solutions consiste à associer l'acide nucléique à un vecteur (Figure I-68). Ce vecteur doit véhiculer l'oligonucléotide vers les cellules cibles, s'associer aux cellules, s'y introduire et permettre à l'oligonucléotide d'échapper à la dégradation lysosomiale. Dans le cas d'une stratégie intervenant au niveau nucléique, le vecteur doit également permettre à l'oligonucléotide de migrer vers et de pénétrer à l'intérieur du noyau. Ces vecteurs peuvent s'utiliser *in vivo* (injection dans le système sanguin) ou *in situ* (insertion directement au niveau du tissu ou de la cellule cible). Il est également possible de travailler *ex vivo* en extrayant des cellules qui seront manipulées en laboratoire pour être ensuite réinjectées au sujet.

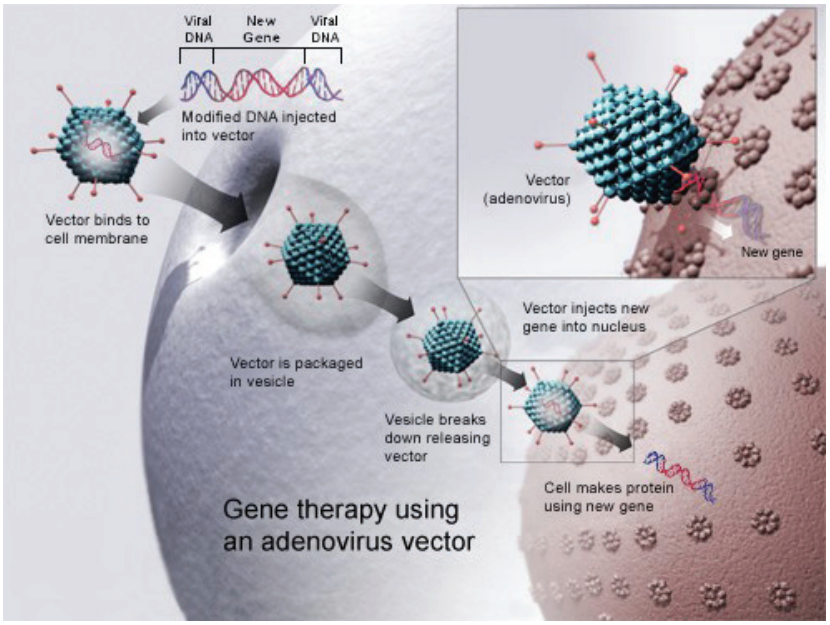


Figure I-68 : Fonctionnement d'un vecteur

Deux grandes familles de vecteurs se distinguent :

- *les vecteurs viraux* représentent les vecteurs naturels les plus évolués pour transférer une information génétique étrangère dans une cellule. On utilise un virus éteint auquel est associé le gène à introduire. Parmi les virus les plus utilisés pour la fabrication des vecteurs, il y a les adénovirus et les rétrovirus.
- *les vecteurs non viraux* sont en fait de l'ADN nu plus ou moins associé à des complexes lipidiques ou à des polymères.

Les avantages et inconvénients des différents types de vecteurs sont variables mais les vecteurs viraux restent les plus efficaces et les plus utilisés. Les vecteurs non viraux, bien que ne possédant pas d'activité pathogène, sont encore difficiles à transfecter *in vivo* et possèdent parfois une toxicité importante qui limite leur utilisation dans les essais cliniques.

4.2- Oligonucléotides modifiés

Comme nous l'avons mentionné, les oligonucléotides doivent être suffisamment résistants dans les conditions physiologiques pour être utilisés en thérapie génique. Les scientifiques se sont donc tournés vers la modification des acides nucléiques naturels. Celles-ci peuvent porter sur différents sites : le lien phosphate, le sucre ribose, ou encore la base nucléique (Figure I-69). Nous ne listerons pas ici toutes les modifications existantes mais juste les plus utilisées dans le cadre de la thérapie génique.

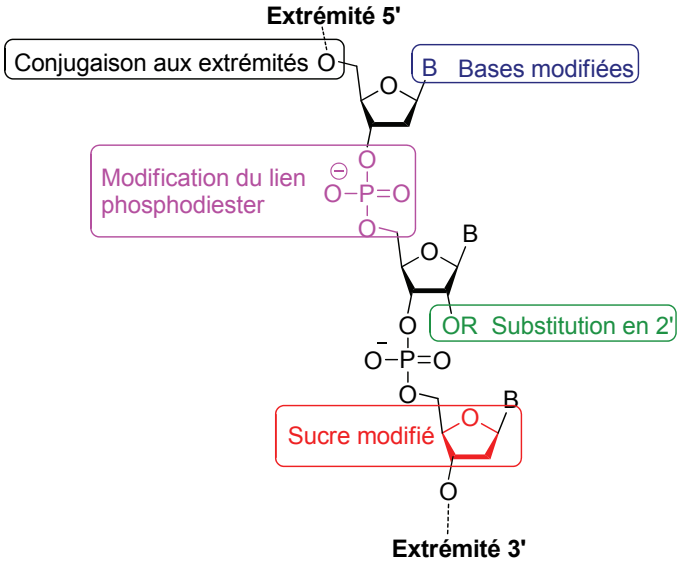


Figure I-69 : Modifications chimiques possibles des oligonucléotides

4.2.1- *Principales propriétés recherchées sur un oligonucléotide*

Les différentes modifications induites sur les oligonucléotides ont pour vocation de modifier ou d'améliorer leurs propriétés. Plusieurs paramètres peuvent influer sur l'efficacité de tel ou tel autre oligonucléotide utilisé pour les stratégies antisens et anti-gène :

- *Sa stabilité en milieu biologique*. En effet les oligonucléotides naturels sont rapidement dégradés par des enzymes appelées nucléases. Un oligonucléotide à visée thérapeutique se doit donc d'être suffisamment résistant à ces enzymes pour ne pas être éliminé dès son entrée dans le cytoplasme.
- *Son affinité pour les séquences d'ADN ou d'ARN complémentaires*.
- *Sa spécificité de séquence*. Un oligonucléotide se doit de posséder une bonne spécificité de séquence pour cibler des gènes bien précis.
- *La stabilité des duplex ou des triplex formés avec l'ARN ou l'ADN*. Cette stabilité est mesurée par la température de fusion (T_m) des hétéroduplex ou des triplex. La méthode de mesure de ce paramètre fera l'objet du paragraphe suivant.

4.2.2- *Mesure de la température de fusion de l'ADN*

Les interactions non covalentes qui unissent les deux chaînes de la molécule d'ADN double brin peuvent être rompues par la chaleur. Cette dénaturation thermique se traduit par le changement des propriétés spectroscopiques et notamment par une absorbance différente.

Cette caractéristique a été exploitée pour mesurer un paramètre de l'ADN, sa température de fusion (T_m pour « melting temperature »). En effet, si une solution d'ADN double brin est chauffée progressivement, et que l'on suit la densité optique à 260 nm en fonction de la température, on constate une augmentation importante de la densité optique comprise entre 20 % et 30%. Cet effet, appelé *effet hyperchrome*, est dû à la séparation des deux brins de la double hélice par rupture des empilements des bases et des liaisons hydrogène interchaînes (désappariement des bases) : on parle alors de fusion de l'ADN.

La courbe de densité optique en fonction de la température a une forme sigmoïdale (Figure I-70a) et permet de déterminer un point de transition, la T_m, qui correspond à la température à laquelle les molécules d'ADN sont à demi-dénaturées (c'est-à-dire, la température à laquelle 50 % des brins d'ADN sont sous forme simple brin, les 50 % restant étant sous forme de duplex). Pour plus de facilité, la T_m est déterminée à partir du maximum de la dérivée première de la courbe sigmoïdale obtenue (Figure I-70b).

La T_m dépend de la longueur du polymère et de la composition en bases. Plus la teneur en paires G-C est grande, plus la T_m sera élevée et donc plus le duplex sera stable. Ceci s'explique par le fait que les paires de bases G-C, qui forment trois liaisons hydrogène, sont plus stables que les paires A-T, qui n'en forment que deux. La T_m dépend aussi de la force ionique du milieu (la présence de cations stabilise l'ADN, ce qui induit une augmentation de la T_m). La forme sigmoïde indique que les interactions entre les bases appariées et empilées sont coopératives. Ces interactions coopératives entre bases appariées disparaissent au cours de la fusion jusqu'à séparation complète des deux brins. A ce moment, on n'observe plus qu'une très faible variation d'absorbance (Figure I-70a).

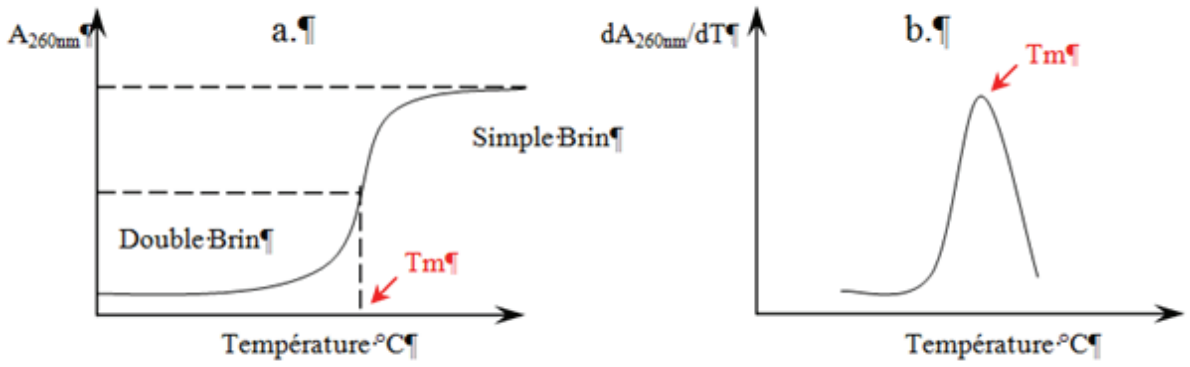


Figure I-70 : a) Courbe type de dénaturation thermique d'un duplex d'ADN, b) Dérivé première de la courbe de dénaturation thermique permettant une détermination simple de la T_m

4.2.3- Modification du lien phosphodiester

Du fait de leurs liaisons internucléosidiques phosphodiester, les oligonucléotides classiques sont des polyanions hydrophiles qui traversent avec difficulté les membranes cellulaires. De plus, ils sont rapidement dégradés *in vivo* par les exo- et endonucléases. Enfin, ils sont rapidement éliminés de la circulation par filtration rénale. Afin d'améliorer la résistance de ces liaisons aux nucléases, des modifications du lien internucléosidique phosphodiester ont été entreprises. Les principales modifications apportées sont les méthylphosphonates (MP)[139] et les phosphorothioates (PS)[140] L'oxygène portant la charge négative du squelette phosphodiester est remplacé par un groupement méthyle pour les oligonucléotides MP ou par un atome de soufre dans le cas des oligonucléotides PS (Figure I-71).

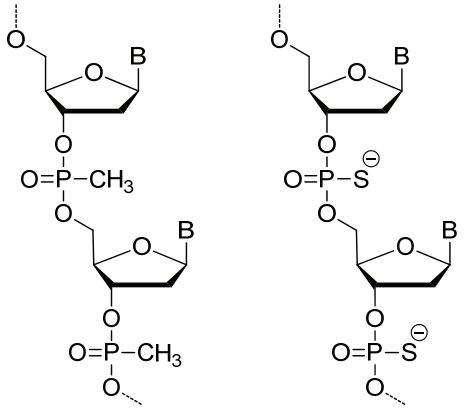


Figure I-71 : Oligonucléotides MP et PS

La nouvelle liaison internucléosidique des oligonucléotides MP les rend très hydrophobes, favorisant ainsi le franchissement membranaire. Ils résistent mieux aux nucléases[139] et sont donc plus stables en milieu biologique. Ils peuvent de plus établir des liaisons hydrogènes et former des duplex ARN / MP ou des triplex ADN / MP stables.[141] Malheureusement, ils sont insensibles à la RNAse H,[142] ce qui limite les applications antisens possibles.

Les oligonucléotides PS ont aussi une très grande résistance vis-à-vis des nucléases[143] et, par conséquent, une plus grande stabilité dans les milieux physiologiques. La demi-vie d'un oligonucléotide PS dans du sérum humain est de 9 à 10 heures à 37°C, soit presque dix fois plus qu'un oligonucléotide classique.[144] De plus, la modification du lien

[139] (a) Miller, P. S.; Yano, J.; Yano, E.; Carroll, C.; Jayaraman, K.; Ts'o, P. O. *Biochemistry* **1979**, *18*, 5134 ; (b) Miller, P. S.; McParland, K. B.; Jayaraman, K.; Ts'o, P. O. *Biochemistry* **1981**, *20*, 1874.
[140] Pour une revue : Eckstein, F. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2000**, *10*, 117.
[141] (a) Miller, P. S.; Ts'o P. O. P. *Annu. Rep. Med. Chem.* **1988**, *23*, 295 ; (b) Miller, P. S. In : Murray, J. A. H. (Ed.), Antisense RNA and DNA. New York : Wiley-Liss, 1992 : 241 ; (c) Miller, P. S.; Cassidy, A.; hamma, T.; Kondo, N. S. *Pharmacology & Therapeutics* **2000**, *85*, 159.
[142] (a) Giles, R. V.; Tidd, D. M. *Anticancer Drug Des.* **1992**, *7*, 37 ; (b) Giles, R. V.; Tidd, D. M. *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 763.
[143] Eckstein, F. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2000**, *10*, 117.
[144] (a) Campbell, J. M.; Bacon, T. A.; Wickstrom, E. *J. Biochem. Biophys. Methods* **1990** *20*, 259 ; (b) Crooke, S. T. *Methods Enzymol*. **2000,** *313*, 3 ; (c) Phillips, M. I.; Zhang, Y. C. *Methods Enzymol.* **2000**, *313*, 46.

internucléosidique ne modifie pas la reconnaissance des hétéroduplex ARN / PS par la RNAse H.

L'inconvénient majeur des oligonucléotides PS est qu'ils créent des interactions non spécifiques avec certaines protéines et possèdent donc un caractère potentiellement toxique.[145] En outre, l'affinité des oligonucléotides PS pour l'ARN se trouve légèrement réduite, la température de fusion d'un hétéroduplex ARN / PS diminuant d'environ 0,5°C par nucléotide PS inséré.[146]

Néanmoins, cette famille s'avère très prometteuse dans le cadre de la stratégie antisens.[147] En effet, divers phosphorothioates sont actuellement au stade des essais cliniques et laissent présager d'intéressantes activités au niveau de maladies tels que le cancer, le diabète, les maladies cardiovasculaires, auto-immunes et infectieuses.[148] L'oblimersen (Genasense) est un oligodésoxynucléotide PS 18-mère (5'-TCTCCCAGCGTGCGCCAT-3') complémentaire des codons 1 à 6 de l'ARN_m de la protéine Bcl-2.[149] Celle-ci, surexprimée dans différents cancers, permet aux cellules d'échapper à l'apoptose. L'oblimersen permet donc d'inhiber l'expression de cette protéine. Les essais cliniques contre le mélanome malin en sont actuellement en phase III.[150] Le fomivirsen (Vitravene), seul oligonucléotide antisens actuellement autorisé sur le marché, est un oligodésoxynucléotide PS 21-mère (5'-GCGTTTGCTCTTCTTCTTGCG-3') destiné à traiter la rétinite cytomégalovirale dont souffrent certains malades atteints du SIDA.[132,151]

4.2.4- Modification de la structure furanosyle

4.2.4.a- Oligonucléotides 2'-substitués

Dans l'optique d'encore améliorer la résistance aux nucléases, des oligodésoxyribonucléotide 2'-substitués ont été développés. Les modifications les plus étudiées sont l'ajout d'un groupement 2'-*O*-méthyl (OMe) ou 2'-*O*-méthoxyéthyl (OMOE)[132] (Figure I-72).

[145] Kurreck J. *Eur. J. Biochem.* **2003**, *270*, 1628.
[146] Crooke S. T. *Methods Enzymol.* **2000**, *313*, 3.
[147] Wilson, C.; Keffe, A. D. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, *10*, 607.
[148] (a) Klasa, R. J.; Gillum, A. M.; Klem, R. E.; Frankel, S. R. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2002**, *12*, 193 ; (b) Dean, N. M.; Bennet, C. F. *Oncogene* **2003**, *22*, 9087 ; (c) Yu, R. Z.; Su, J. Q.; Grundy, J. S.; Geary, R. S.; Sewell, K. L.; Dorr, A.; Levin, A. A. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2003**, *13*, 57 ; (d) Ravichandran, L. V.; Dean, N. M.; Marcusson, E. G. *Oligonucleotides* **2004**, *14*, 49 ; (e) Crooke, S. T. *Ann. Rev. Med.* **2004**, *55*, 61.
[149] Klasa, R.;. Gillum, A.; Klem, R.; Frankel, S. *Antisense Nucl. Acid Drug Devel.* **2002**, *12*, 193.
[150] http://www.genta.com/Products_and_Pipeline/Genasense/Genasense.html
[151] (a) Crooke, S. T. Antisense Acid Nucleic *Drug Dev.* **1998**, 8, 7-8 ; (b) Zambarakji, H. J.; Mitchell, S. M.; Lightman, S.; Holder, G. E. *Br. J. Ophthalmol.* **2001**, *85*, 1142 ; (c) Hetzer, C.; Bisgrove, D.; Cohen, M. S.; Pedal, A.; Kaehlcke, K.; Speyerer, A.; Bartscherer, K.; Taunton, J.; Ott, M. *PLoS ONE* **2007**, *2*, e151.

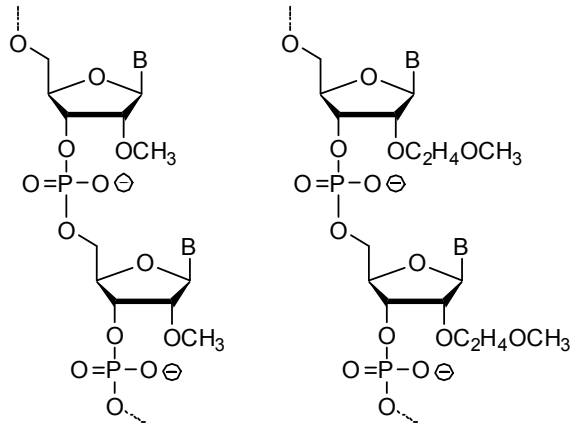


Figure I-72 : Oligonucléotides OMe et OMOE

Cependant, ces oligonucléotides n'induisent pas la reconnaissance par la RNAse,[152] ce qui réduit les applications antisens possibles. Pour palier cet inconvénient, des oligonucléotides chimériques (oligonucléotides composés d'au moins deux variétés différentes de séquences nucléiques, les unes différant des autres par leur nature chimique) comportant une région centrale d'environ 10 désoxyribonucléotides PS entourée de chaque coté par environ 5 nucléotides 2'-OMe ou 2'-OMOE ont été synthétisés. Dans ce cas, la RNAse H peut reconnaitre les hétéroduplex.[153] De plus, les duplex ARN / OMe ou ARN / OMOE sont stabilisés par une augmentation de la température de fusion. Par exemple, la séquence modifiée ISIS 5357 (5'-$G^{OMe/PS}T^{OMe/PS}T^{OMe/PS}C^{OMe/PS}T^{OMe/PS}C^{OMe/PS}G^{PS}C^{PS}T^{PS}G^{PS}G^{PS}T^{PS}G^{PS}A^{PS}G^{OMe/PS}T^{OMe/PS}T^{OMe/PS}T^{OMe/PS}C^{OMe/PS}A$-3') a révélé une température de fusion de $T_m = 61,9°C$. De nombreuses recherches ont été effectuées pour évaluer la stabilité et la toxicité de ces oligonucléotides chimériques.[132,154]

4.2.4.b- Oligonucléotides verrouillés ou « Locked Nucleic Acids » (LNA)[155]

Wengel et *al.*[156] sont les premiers à avoir réalisé l'incorporation de résidus LNA au sein d'un oligonucléotide. Les LNA sont des oligoribonucléotides contraints généralement par un pont méthylène reliant l'atome d'oxygène en position 2' du ribose au carbone en position 4' (Figure I-73).

[152] Altmann, K. H.; Fabbro, D.; Dean N. M. *Biochem. Soc. Trans.* **1996**; *24*, 630.
[153] McKay, R. A.; Miraglia, L. J.; Cummins, L. L.; Owen, S. R.; Sasmor, H.; Dean N. M. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*,1715.
[154] Yu, R. Z.; Geary R. S.; Monteith, D. K. *J. Pharm. Sci.* **2004**; *93*, 48.
[155] Pour une revue : Kaur, H.; Ravindra Babu, B.; Maiti, S. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4672-4697.
[156] (a) Singh, S. K.; Nielsen, P.; Koshkin, A. A.; Olsen, C. E; Wengel, J. *Chem. Commun*. **1998**, *4*, 455 ; (b) Koshkin, A. A; Singh, S. K.; Nielson, P.; Rajwanshi, V. K.; Kumar, R.; Meldgaard, M.; Olsen, C. E.; Wengel, J. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3607.

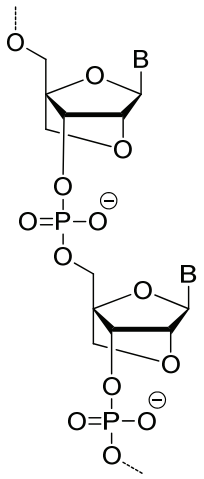


Figure I-73 : Structure générale d'un LNA

L'introduction de ces motifs dans les oligonucléotides permet d'améliorer significativement leur stabilité en milieu physiologique. En effet, la demi-vie d'un 18-mère comportant trois résidus LNA à chacune de ses extrémités peut atteindre 17 heures à 37°C dans du sérum humain,[157] soit presque deux fois plus qu'un oligonucléotide PS et vingt fois plus qu'un oligonucléotide phosphodiester. La présence de résidu LNA au sein d'un oligonucléotide ADN renforce également son affinité pour les brins complémentaires d'ADN ou d'ARN et fait augmenter les températures de fusion des duplex.[158,55b] Cette stabilisation peut même atteindre un $\Delta Tm = 10°C$ pour chaque nucléotide substitué par un LNA.[159] Il est donc souvent impossible de mesurer les T_m dans ce cas ($\Delta Tm > 90°C$).

Comme pour les oligonucléotides OMe ou OMOE, un brin entièrement composé de LNA ne peut pas activer la RNAse H. Cependant, l'introduction de quelques résidus LNA contigus dans un oligonucléotide restaure la reconnaissance par la RNAse H.[157] Un autre avantage des LNA est, qu'à l'heure actuelle, ils n'ont démontré qu'une très faible toxicité.[160]

Toutes ces conditions réunies font des oligonucléotides chimériques comportant des LNA des composés de référence pour l'utilisation en stratégie antisens. Les LNA laissent présager d'intéressantes perspectives thérapeutiques,[161] notamment au niveau du cancer.[162] Certains sont dors et déjà à l'étape des tests cliniques pour le traitement de diverses maladies tels que le cancer, l'hépatite C, les maladies génétiques et infectieuses, l'hypercholestérolémie, etc.[163] Le SPC-2996, un oligonucléotide 16-mère comportant plusieurs résidus LNA (5'-CTCCCAGCGTGCGCCA-3') est actuellement en essais cliniques

[157] Kurreck, J.; Wyszko, E.; Gillen, C.; Erdmann, V. A. *Nucl. Acids Res.* **2002**, *30*, 1911.
[158] Petersen, M.; Nielsen, C. B.; Nielsen, K. E.; Jensen, G. A.; Bondensgaard, K.; Singh, S. K.; Rajwanshi, V. K.; Koshkin, A. A.; Dahl, B. M.; Wengel, J.; Jacobsen, J. P. *J. Mol. Rec.* **2000**, *13*, 44.
[159] (a) Bondensgaard, K.; Petersen, M., Singh, S. K.; Rajwanshi, V. K.; Kumar, R.; Wengel, J.; Jacobsen, J. P. *Chemistry* **2000**, *6*, 2687 , (b) Braasch, D. A.; Corey, D. R. *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 1.
[160] Wahlestedt, C. ; Salmi, P.; Good, L.; Kela, J.; Johnsson, T.; Hokfelt, T.; Broberger, C.; Porreca, F.; Lai, J.; Ren, K.; Ossipov, M.; Koshkin, A.; Jakobsen, N.; Skouv, J.; Oerum, H.; Jacobsen, M. H.; Wengel, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 5633.
[161] Rakesh, V.; Jesper, W. *RNA Biology* **2009**, *6*, 321-323.
[162] Miriam, F.; Henrik O. *Curr. Pharm. Des.* **2008**, *14*, 1138-1142.
[163] http://www.santaris.com/Pipeline/Default.aspx

de phase II contre la leucémie lymphoïde chronique. Il est complémentaire des 6 premiers codons de l'ARN_m de la Bcl-2 et inhibe donc l'expression de cette protéine.

4.2.5- Oligonucléotides morpholino phosphorodiamidates ou « Phosphorodiamidate Morpholino Oligonucleotides » (PMO)

Les oligonucléotides morpholino phosphorodiamidates (PMO) possèdent une structure cyclique morpholino à la place du squelette furanosyle du sucre. De plus, le lien phosphodiester est remplacé par un lien phosphorodiamidate (Figure I-74).[164]

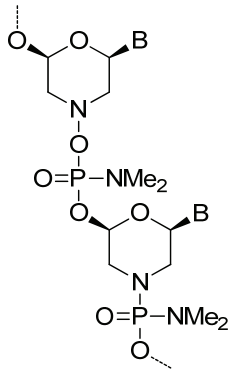


Figure I-74 : Structure générale des PMO

Les PMO sont très solubles dans l'eau, très résistants à diverses enzymes telles que les nucléases[165] et ne se dégradent pas dans le sérum physiologique.[166] Ils montrent une très forte affinité avec les acides nucléiques naturels, notamment avec l'ARN. A séquence identique, un PMO 20-mère a montré une stabilisation du duplex ARN / PMO jusque $\Delta Tm = 12,8°C$ par rapport au duplex ARN / ADN.[164] Cependant, les PMO ne sont pas reconnus par la RNAse et agissent donc la plupart du temps par blocage stérique des ARN_m.

Les PMO laissent présager d'intéressantes activités biologiques comme antiviraux,[167] antibactériens[168] ou contre les maladies génétiques.[169] Par exemple, le 30-mère AVI-4658 (CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG) est en essais cliniques de phase II pour le traitement de la dystrophie musculaire de Duchenne.[170]

---

[164] Summerton, J.; Weller, D. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **1997**, *7*, 187.
[165] Hudziak, R. M.; Barofsky E.; Barofsky D. F.; Weller D. L.; Huang S. B.; Weller D. D. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* **1996**, *6*, 267.
[166] Youngblood, D. S.; Hatlevig S. A.; Hassinger J. N.; Iversen P. L.; Moulton H. M. *Bioconjug. Chem.* **2007**, *18*, 50.
[167] Geller B. L. *Curr. Opin. Mol. Ther.* **2005**, *7*, 109.
[168] Deas, T. S.; Bennett C. J.; Jones S. A.; Tilgner M.; Ren P.; Behr M. J.; Stein D. A.; Iversen P. L.; Kramer L. D.; Bernard K. A.; Shi P. Y. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 2470.
[169] Mc Clorey, G.; Fall A. M.; Moulton H. M.; Iversen, P. L.; Rasko, J. E.; Ryan, M.; Fletcher, S.; Wilton S. D. *Neuromuscul Disord.* **2006**, *16*, 583.
[170] http://www.avibio.com/our-programs/

4.2.6- Oligonucléotides peptidiques ou « Peptide Nucleic Acids » (PNA)[171]

Les PNA[172] sont des mimes d'acides nucléiques dont l'ossature ribose-phosphate a été remplacée par un squelette neutre constitué de liaisons *N*-(2-aminoéthyl)glycine (Figure I-75).

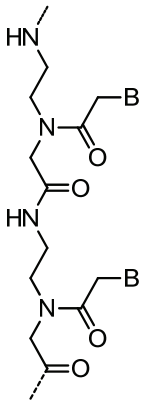


Figure I-75 : Structure générale des PNA

La structure inhabituelle du squelette peptidique rend les PNA très stables en milieu biologique car ils sont très résistants à la dégradation par les nucléases. [173] De plus, ils peuvent imiter les oligonucléotides naturels et forment des liaisons hydrogène de Watson-Crick.[174] La neutralité du squelette assure l'hybridation des PNA à une séquence d'ARN ou d'ADN complémentaire sans être perturbée par les répulsions électrostatiques inter-brin.[175] Les duplex PNA / ADN et PNA / ARN se montrent donc plus stables que les duplex naturels ADN / ADN et montrent une augmentation significative de la température de fusion.[176] Il semblerait également que pour les brins courts (≤ 15 bases), ces hétéroduplex présentent une spécificité de séquence au moins égale, si ce n'est supérieure aux duplex naturels.[177] La très forte affinité des PNA pour l'ADN double brin leur permet également d'être utilisés dans la stratégie anti-gène. En effet, l'absence de répulsion électrostatique facilite l'invasion de l'ADN double brin.[178]

Les PNA ne présentent toutefois pas que des avantages. Malgré la neutralité du squelette, ils franchissent difficilement la membrane cellulaire. De plus, lorsque la longueur

[171] Achim, C.; Armitage, B.A.; Ly D.H.; Schneider, J.W. Wiley Encyclopedia of chemical biology **2008**.
[172] Nielsen, P. E.; Egholm, M.; Berg, R. H.; Buchardt, O. *Science* **1991**, *254*, 1497-1500.
[173] Demidov, V. V.; Potaman, V. N.; Frank-Kamenetskii, M. D.; Egholm, M.; Buchard, O.; Sonnichsen, S. H. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 1310.
[174] Egholm, M.; Buchardt, O.; Christensen, L.; Behrens, C.; Freier, S. M.; Driver, D. A.; Berg, R. H.; Kim, S. K.; Norden, B.; Nielsen, P. E. *Nature* **1993**, *365*, 566-568.
[175] (a) Egholm, M.; Buchardt, O.; Christensen, L.; Behrens, C.; Freier, S.; Driver, D. A.; Berg, R. H.; Kim, S. K.; Norden, B.; Nielsen, P. E.
Nature **1993**, *365*, 566 ; (b) Almarsson, O.; Bruice, T. C.; Kerr, J.; Zuckermann, R. N. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.* **1993**, *90*, 7518.
[176] Tomac, S.; Sarkar, M.; Ratilainem, T.; Wittung, P.; Nielsen, P.; Norden, B.; Graslund, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5544.
[177] Ratilainen, T. ; Holmen, A.; Tuite, E.; Nielsen, P. E.; Norden, B. *Biochemistry* **2000**, *39*, 7781.
[178] (a) Griffith, M. C.; Risen, L. M.; Greig, M. J.; Lesnik, E. A.; Sprankle, K. G.; Griffey, R. H.; Kiely, J. S.; Freier, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 831 ; (b) Bentin, T.; Nielsen, P. E. *Biochemistry* **1996**, *35*, 8863 ; (c) Kuhn, H.; Demidov, V. V.; Nielsen, P. E.; Frank-Kamenetskii, M. D. *J. Mol. Biol.* **1999**, *286*, 1337 ; (d) Zhang, X.; Ishihara, T.; Corey, D. R. *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 3332.

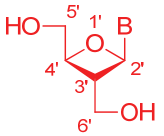
de l'oligonucléotide augmente, la grande affinité des PNA pour les acides nucléiques va à l'encontre de la spécificité de séquence et des mésappariements peuvent apparaitre.[179] Cela peut être problématique dans les applications thérapeutiques où une séquence d'au moins 15 nucléotides est nécessaire pour pouvoir cibler un site unique du génome. En outre, la neutralité du squelette polyamide pose des problèmes de solubilisation en milieu aqueux. Différentes solutions à ce problème ont été étudiées comme combiner les PNA à une partie plus lipophile placée en position terminale.[180] Enfin, comme tous les oligonucléotides dont le squelette ribose-phosphate a été profondément modifié, les PNA n'induisent pas la reconnaissance des hétéroduplex PNA /ARN par la RNAse H. Ils ne sont donc pas de bons candidats pour les applications antisens classiques. Par contre, ils sont utilisés avec succès pour agir au niveau de l'épissage du pré-ARN_m afin de rétablir[181] ou inhiber[182] la synthèse d'une protéine. Par exemple, des PNA ont été utilisés *in vivo* pour corriger l'épissage du gène humain de la β-globine sur des souris transgéniques.[183] De nombreux oligonucléotides PNA et analogues structurellement modifiés ont été synthétisés et étudiés pour les stratégies antisens et antigène.[184]

4.2.7- Oligonucléotides cyclobutaniques

Nous avons souligné précédemment que les nucléosides cyclobuténiques et cyclobutaniques peuvent se montrer prometteurs dans le domaine thérapeutique. C'est donc tout naturellement que la synthèse d'oligonucléotides comportant des motifs oxétanocine a été entreprise.

En 1996, Kakefuda et *al.*[185] ont incorporé le motif oxétanocine A dans des 2'-oligodésoxyribonucléotides pour former les acides nucléiques **I.353** et **I.354** (Figure I-76). Les duplex formés avec ces oligonucléotides se révèlent plus résistants aux nucléases mais déstabilisent les hétéroduplex ARN / oligonucléotide par rapport aux duplex ARN / ADN (ΔT_m = -6°C pour **I.353** et ΔT_m = -8°C pour **I.354**)

[179] Weiler, J.; Gausepohl, H.; Hauser, N.; Jensen, O. N.; Hoheisel, J. D. *Nucleic Acids Res.* **1997**, *25*, 2792.
[180] Chiarantini, L.; Cerasi, A.; Fraternale, A.; Millo, E.; Benatti, U.; Sparnacci, K.; Laus, M.; Ballestri, M.; Tondelli, L. *J. Controlled Release* **2005**, *109*, 24.
[181] Sazani, P.; Kang, S. H.; Maier, M. A.; Wei, C.; Dillman, J.; Summerton, J.; Manoharan, M.; Kole, R. *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 3965.
[182] Siwkowski, A. M.; Malik, L.; Esau, C. C.; Maier, M. A.; Wancewicz, E. V.; Albertshofer, K.; Monia, B. P.; Bennett, C. F.; Eldrup, A. B. *Nucleic Acids Res.* **2001**, *32*, 2695.
[183] Sazani, P.; Gemignani, F.; Kang, S. H.; Maier, M. A.; Manoharan, M.; Persmark, M.; Bortner, D.; Kole, R. *Nat. Biotechnol.* **2002**, *20*, 1228.
[184] (a) Zhilina, Z. V.; Ziemba, A. J.; Ebbinghaus, S. W. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *5*, 1119 ; (b) Achim, C.; Armitage, B.A.; Ly D.H.; Schneider, J.W. Wiley Encyclopedia of chemical biology **2008**.
[185] Kakefuda, A.; Masuda, A.; Ueno, Y.; Ono, A.; Matsuda, A. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 2863.

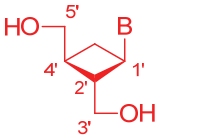


I.144 (B = Adénine)

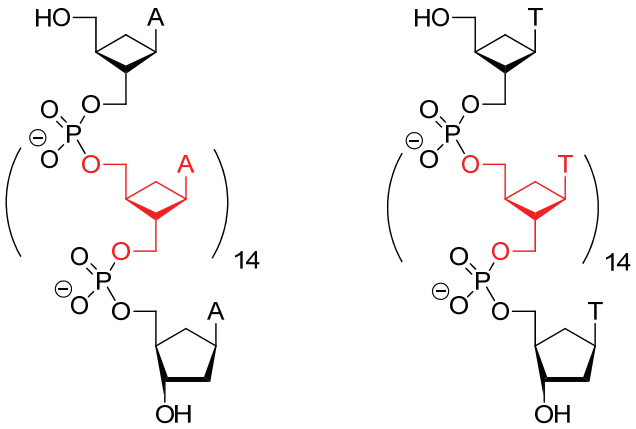
I.352 : 5'-d(CGCGAATTCGCG)-3'
I.353 : 5'-d(CGCGOxAATTCGCG)-3'
I.354 : 5'-d(CGCGAOxATTCGCG)-3'

Figure I-76 : Oligonucléotides comportant des nucléotides oxétanocine A

La synthèse de deux nouveaux oligonucléotides comportant des motifs respectifs de type oxétanocine carbocyclique A et oxétanocine carbocyclique T a été effectuée en 1999 par N. Katagiri et M. Yamaguchi[186] (Figure I-77). Le dérivé **I.357** possède une bonne stabilité en milieu physiologique et montre une remarquable capacité à former des duplex avec l'ARN (T_m = 54°C pour le duplex **I.357 / rU$_{15}$**) et des triples hélices. Un an plus tard, les oligonucléotides comportant les motifs oxétanocine carbocyclique C et G ont été développés et ont présenté des propriétés similaires au niveau de la formation de triples hélices.[187]



I.146 (B = adénine)
I.147 (B = guanine)
I.355 (B = thymine)
I.356 (B = cytosine)



I.357 (5'-coxA$_{15}$dA-3') **I.358** (5'-coxT$_{15}$dT-3')

Figure I-77 : Oligonucléotides composés de motifs oxétanocine carbocyclique A et T

[186] Katagiri, N.; Morishita, Y.; Osawa, I.; Yamaguchi, M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6835.
[187] Honzawa, S.; Ohwada, S.; Morishita, Y.; Sato, K.; Katagiri, N.; Yamaguchi, M. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 2615.

4.3- Méthodes de synthèse d'oligonucléotides

La synthèse d'oligonucléotides permet d'obtenir des séquences spécifiques mais aussi d'incorporer des nucléosides non-naturels. Les premières synthèses ont été effectuées en milieu homogène (couplages en solution). Aujourd'hui, elles sont réalisées sur support solide par automatisation. Les réactions s'effectuent au niveau de l'atome de phosphore et il est nécessaire de protéger le sucre et la base nucléique. Cependant, les rendements des couplages se doivent d'être excellents (> 98 %) pour ne pas faire chuter le rendement global de la synthèse de l'oligonucléotide. Il faut également disposer de techniques de purifications poussées pour séparer l'oligonucléotide désiré des diverses séquences tronquées. L'élongation se fait généralement dans le sens 3' → 5', ce qui signifie que le nucléotide ou l'oligonucléotide en cours d'élongation réagit par son hydroxyle en position 5' sur un nucléotide phosphorylé en position 3'.

4.3.1- Synthèse en solution

4.3.1.a- Méthode phosphodiester[188]

Dans le cadre de la méthode phosphodiester, la réaction se déroule entre le groupement phosphate monoester en position 5' d'un nucléotide et la fonction hydroxyle non protégée en position 3' d'un nucléoside. L'activation du groupement phosphate par un chlorure de sulfonyle induit la formation d'un anhydride mixte activé vis-à-vis de l'hydroxyle nucléophile du nucléoside. Un dinucléotide phosphodiester est alors formé (Schéma I-1). Les hydroxyles sont ensuite déprotégés en milieu basique puis phosphorylés à leur tour. La formation d'espèces chargées rend les étapes de purification particulièrement laborieuses.

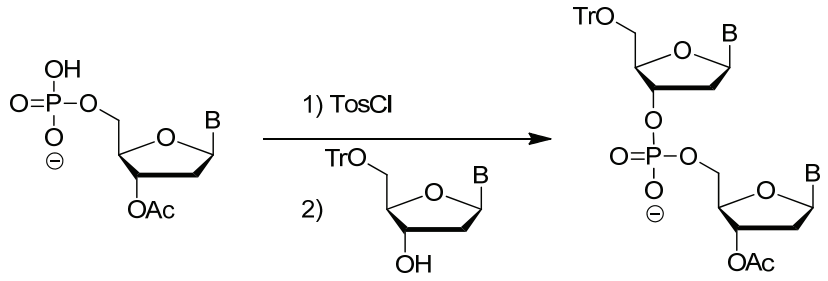


Schéma I-1 : Synthèse d'oligonucléotides par approche phosphodiester

4.3.1.b- Méthode phosphotriester[189]

Contrairement à la méthode phosphodiester, l'approche phosphotriester aboutit à la formation d'espèces non chargées grâce à la protection de l'atome de phosphore. Le chlorure de sulfonyle permet l'activation d'un nucléotide 3'-phosphodiester et la formation d'un anhydride mixte qui réagit sur l'alcool en position 5' d'un autre nucléoside. Un dinucléotide

[188] Gilham, P. T.; Khorana, H. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 6212.
[189] Michelson A. M.; Todd, A. R. *J. Chem. Soc.* **1955**, 2632.

phosphotriester est alors formé (Schéma I-2). Un traitement par des oximates permet finalement la déprotection du groupement *o*-chlorophényle.

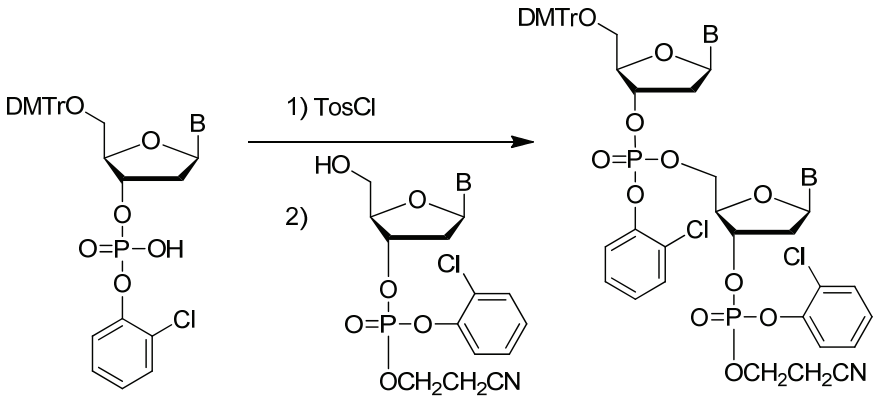


Schéma I-2 : Synthèse d'oligonucléotides par approche phosphotriester

4.3.1.c- Méthode phosphite triester[190]

Le développement des nucléotides chlorophosphite (Schéma I-3) a ouvert la voie à la synthèse automatisée grâce à des temps de couplages très courts. Ces réactifs sont toutefois très sensibles à l'humidité. De plus, la réaction doit être menée à -78°C et conduit à de nombreux produits secondaires.

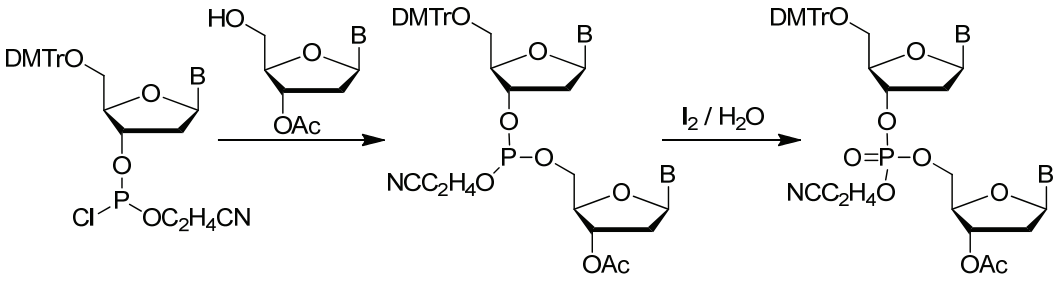


Schéma I-3 : Synthèse d'oligonucléotides par approche phosphite triester

Le développement des phosphoramidites,[191] plus faciles à utiliser et à conserver, a levé les dernières barrières pour la conception de synthétiseurs automatisés.

4.3.2- Synthèse automatisée sur support solide

L'automatisation de la synthèse d'oligonucléotides a permis l'accès à de nombreuses séquences variées utilisables dans divers domaines. Elle s'effectue sur support solide et l'élongation est réalisée dans le sens 3' → 5'. La protection des bases, du phosphate et de l'extrémité 5' du nucléotide ajouté est indispensable. Deux approches principales existent : l'utilisation de synthons phosphoramidites ou la méthode aux H-phosphonates.

[190] Letsinger, R. L.; Finnan, J. L.; Lundsford W. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 3278.
[191] Beaucage, S. L.; Caruthers, M. H. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 1859.

4.3.2.a- Méthode aux phosphoramidite

i) Nature du support

Les supports sont généralement en verre à porosité contrôlée en fonction de la taille de l'oligonucléotide souhaité. Les résidus hydroxyles présents à la surface du verre réagissent avec le dérivé silylé $EtO_3Si(CH_2)_3NH_2$ puis un premier nucléoside possédant une fonction succinate diester en position 3' est introduit par réaction avec les résidus amines présents à la surface du support (Schéma I-4).

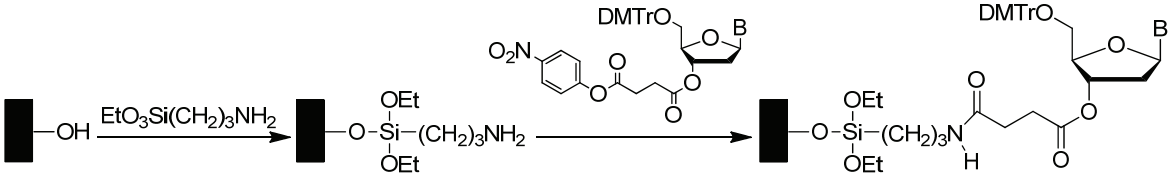


Schéma I-4 : Synthèse des supports

ii) Nature des synthons

Les nucléotides sont introduits sous forme de dérivés phosphoramidites. Leur hydroxyle en position 5' est protégé par un groupement 4,4'-diméthoxytrityl. Les groupements NH_2 sont protégés par des groupements benzoyles (adénine et cytosine) ou isobutyryles (guanine) (Figure I-78).

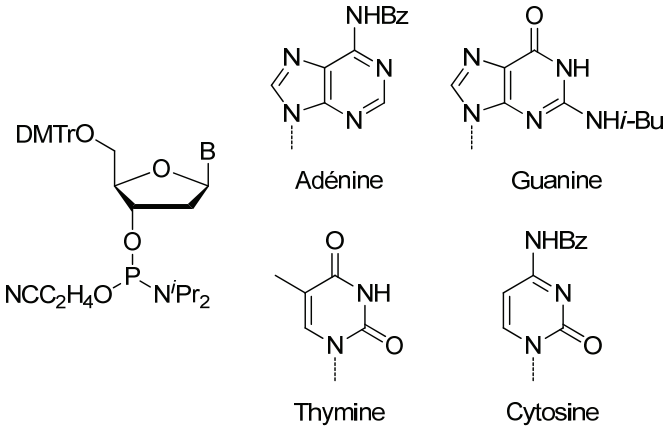


Figure I-78 : Structure des monomères phosphoramidites

iii) Cycle de synthèse

Le cycle de synthèse effectué par les synthétiseurs automatisés se décompose en quatre étapes principales (Schéma I-5).

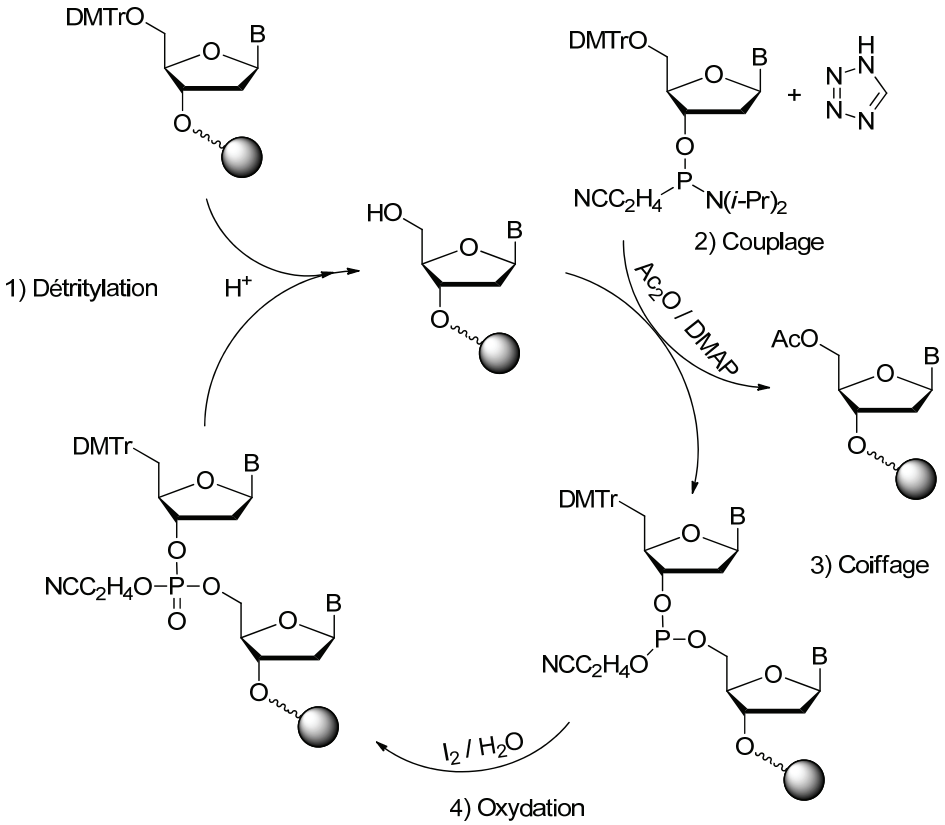


Schéma I-5 : Les différentes étapes d'un cycle de synthèse automatisé

Etape 1 : Détritylation

Le premier cycle débute par une détritylation du premier nucléoside greffé sur le support. Pour les cycles suivants, cette réaction se déroule en position 5' du dernier nucléotide incorporé. Ainsi, l'hydroxyle primaire présent sur le carbone 5' est détritylé en milieu acide (généralement dans l'acide acétique à 80 %). Cette réaction est très rapide et la faible acidité du milieu limite les phénomènes de dépurination (Schéma I-6).

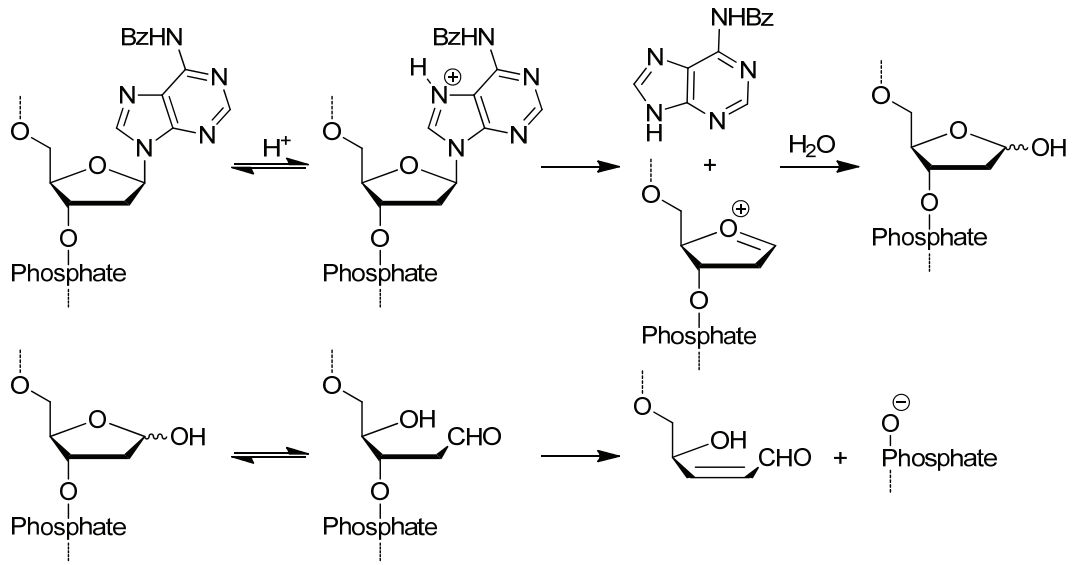


Schéma I-6 : Réaction de dépurination

Etape 2 : Couplage

Lors de l'étape de couplage, le nucléotide phosphoramidite réagit avec la position 5' précédemment déprotégée du nucléoside supporté. Cette réaction est activée par un acide faible (le tétrazole en général) qui protonne le groupement di-isopropylamino. La substitution de ce groupe par l'ion tétrazolure forme une espèce très réactive qui réagit avec l'hydroxyle en 5' du nucléoside supporté pour former un nucléotide phosphite triester (Schéma I-7).

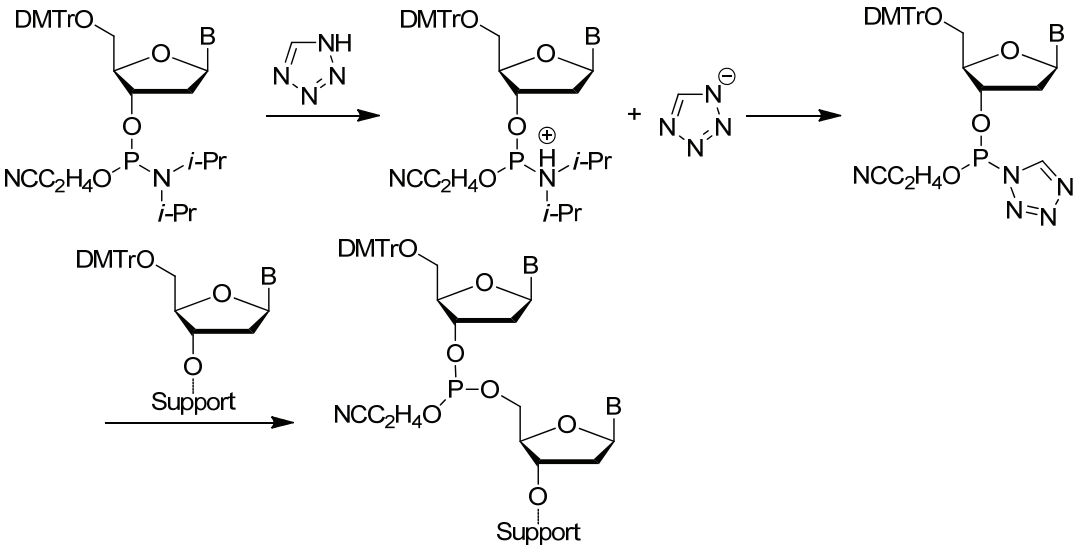


Schéma I-7 : Réaction de couplage aux phosphoramidites

Etape 3 : Coiffage

Le rendement de l'étape de couplage n'est jamais quantitatif et il reste toujours des oligonucléotides dont l'hydroxyle en 5' est libre. Pour éviter que ceux-ci ne réagissent lors des étapes suivantes, ils sont acétylés. Sans cette précaution, de nombreuses séquences tronquées seraient obtenues, le rendement chuterait et la purification serait plus compliquée.

Etape 4 : Oxydation

Finalement, l'oxydation du phosphite triester en phosphate triester est effectuée. Généralement, l'iode est utilisé dans un mélange eau / pyridine. Des thiophosphates peuvent également être générés si l'on utilise un mélange CS_2 / pyridine[192] ou le réactif de Beaucage (3*H*-1,2-benzodithiol-3-one 1,1-dioxide)[193] (Schéma I-8).

[192] Seela, F.; Kretschmer, U. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 3861.
[193] Radhakrishnan, P. I.; Lawrence, R. P.; William, E.; Regan, J. B.; Beaucage, S. L. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4693.

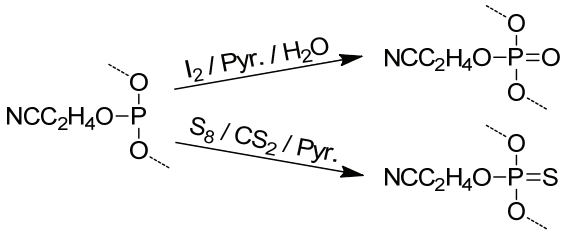


Schéma I-8 : Etape d'oxydation

Le cycle reprend alors à la première étape sauf si l'étape d'oxydation est la dernière de la synthèse de l'oligonucléotide.

<u>Etape 5 :</u> Déprotection

Une fois l'élongation de l'oligonucléotide terminée, les phosphates sont encore protégés par des groupements cyanoéthyles et les bases par des groupements benzoyles ou isobutyles. De plus, l'oligonucléotide est encore greffé au support. Un traitement basique par de l'ammoniaque à 28 % permet alors de cliver l'oligonucléotide du support. Les phosphates sont déprotégés par β-élimination. Des conditions plus vigoureuses sont nécessaires pour déprotéger les bases. Finalement, un traitement acide permet de déprotéger le DMTr puis les oligonucléotides sont purifiés par HPLC. Notons qu'il est possible de ne déprotéger le groupement DMTr qu'après purification pour simplifier celle-ci. On parle alors de mode DMTr-on.

4.3.2.b- Méthode aux H-phosphonates

Les travaux de l'équipe de Todd[194] ont permis d'élaborer des nucléotides présentant un groupement H-phosphonate (Figure I-79).

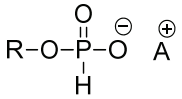


Figure I-79 : Structure d'un H-phosphonate

L'activation du H-phosphonate par un chlorure d'acide comme le chlorure de pivaloyle induit la formation d'un anhydride mixte, réactif par rapport à la fonction hydroxyle présente en position 5' de l'oligonucléotide greffé sur le support (Schéma I-9).

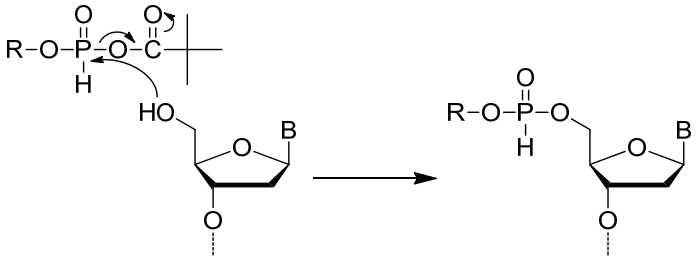


Schéma I-9 : Mécanisme de couplage aux H-phosphanates

[194] Corby, N. S.; Kenner, G. W.; Todd, A. R. *J. Chem. Soc. (Lond.)* **1952**, 3669.

Après activation par un électrophile (X = I^+, CCl_3^+, …), le H-phosphonate peut réagir avec un nucléophile (alcool, eau, amine, …) pour former un large éventail de produits possibles tels que des phosphates triester, des phosphates diester, des thiophosphates ou des phosphoramides (Schéma I-10).

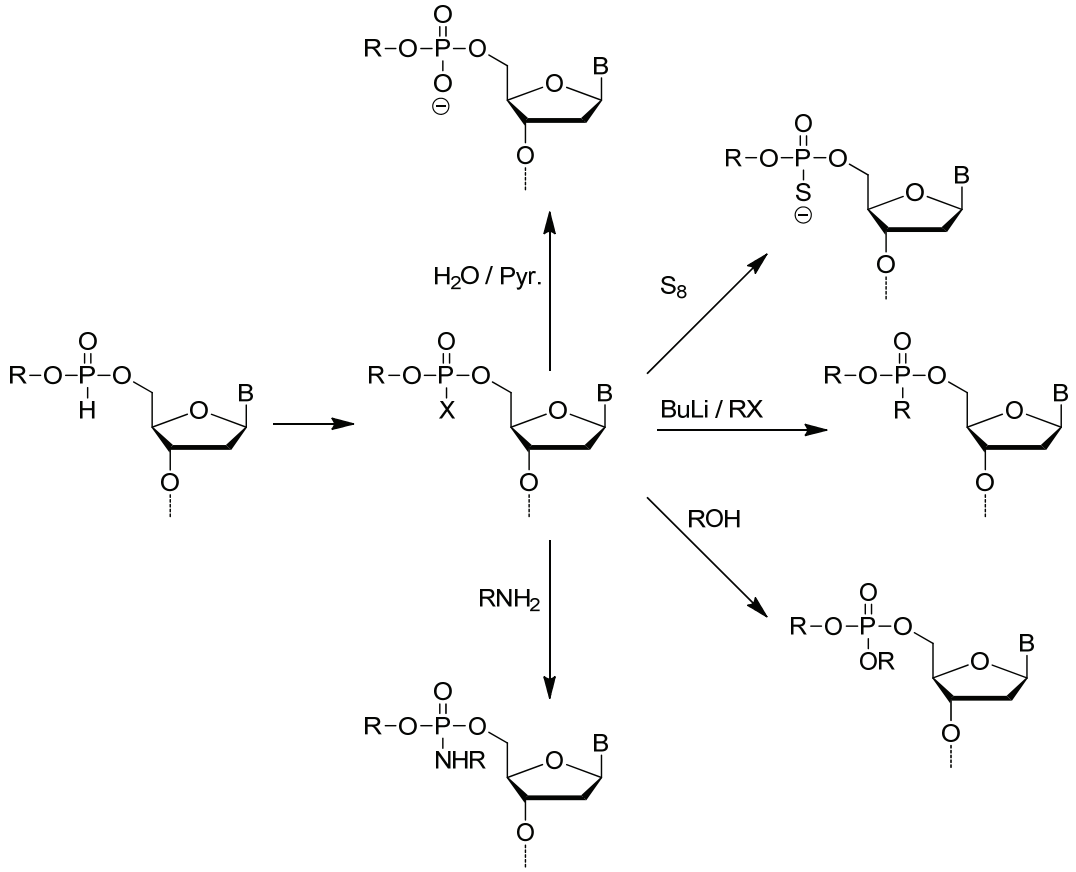


Schéma I-10 : Fonctionnalisation du H-phosphonate

Cette méthode s'avère compatible avec les synthétiseurs automatisés à ceci près que le tétrazole est remplacé par le chlorure de pivaloyle lors de l'étape de couplage. De plus, tous les H-phosphonates sont oxydés ensemble en fin de synthèse. Enfin, la réactivité de la liaison H-phosphonate permet l'obtention des liaisons internucléosidiques modifiées.

5- Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons commencé par rappeler les principales caractéristiques de l'ADN, de l'ARN et des constituants nucléosidiques et nucléotidiques. Leur importance au niveau du métabolisme et leur implication dans de nombreuses maladies ne font pas d'ambigüité. De plus, nous avons prouvé que les modifications structurelles apportées sur les nucléosides comme sur les oligonucléotides pouvaient permettre d'améliorer significativement les activités biologiques potentielles de ces composés.

Nous nous sommes particulièrement intéressés aux analogues carbocycliques cyclobutaniques et cyclohexéniques. En effet, ces dérivés semblent particulièrement prometteurs et sont l'un des principaux axes de recherche de notre équipe. Ainsi, la synthèse de nouveaux analogues de nucléosides et d'oligonucléotides carbocycliques à quatre et six chaînons a été envisagée. Les deux prochains chapitres seront dédiés à la description des résultats obtenus dans le cadre de la préparation de ces analogues cyclobutaniques et cyclohexéniques.

CHAPITRE II : Synthèse d'analogues de nucléosides et d'oligonucléotides cyclobutaniques

1- Introduction

Au vu des perspectives possibles d'avenir des oligonucléotides à structure cyclobutylique, nous avons souhaité accéder à des analogues d'oligonucléotides cyclobutaniques de l'oxétanocine.

Cependant, nous avons pensé qu'il serait plus judicieux d'utiliser des systèmes cyclobutaniques plus contraints sur la partie sucre (4'-hydroxy au lieu de 4'-hydroxyméthyle) et plus flexibles sur la position anomérique (1'-méthylène). Ceci permettrait d'augmenter le degré de liberté au niveau de la position pseudo anomérique pour une meilleure reconnaissance par la base nucléique.

Par conséquent, nous avons orienté nos recherches vers la synthèse d'analogues de nucléosides tels que les molécules **II.2** à **II.5** (Figure II-1), destinées à être incorporées dans des enchaînements oligonucléotidiques cyclobutyliques **II.A** et **II.B**.

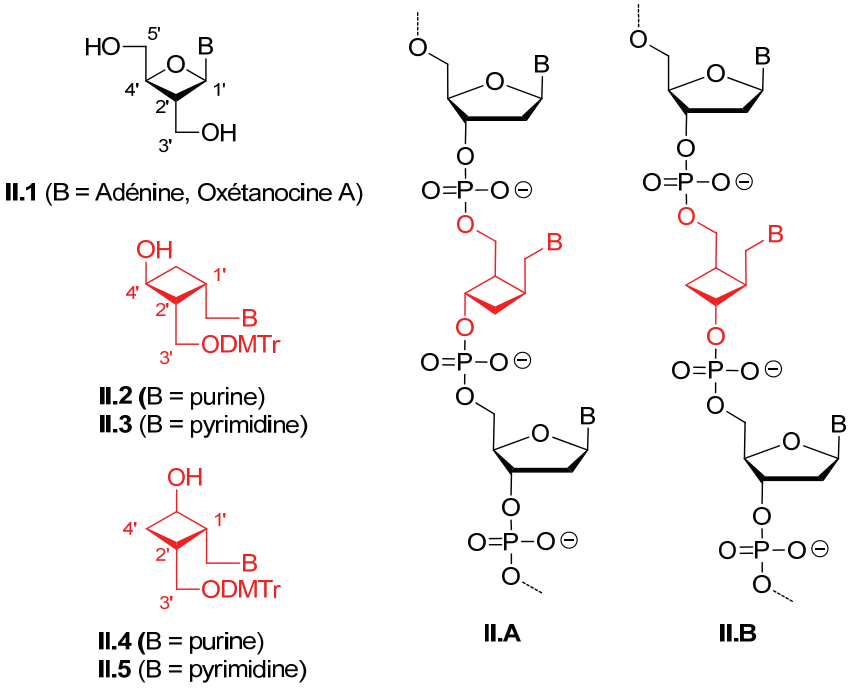


Figure II-1 : Oligonucléotides cibles de types II.A et II.B

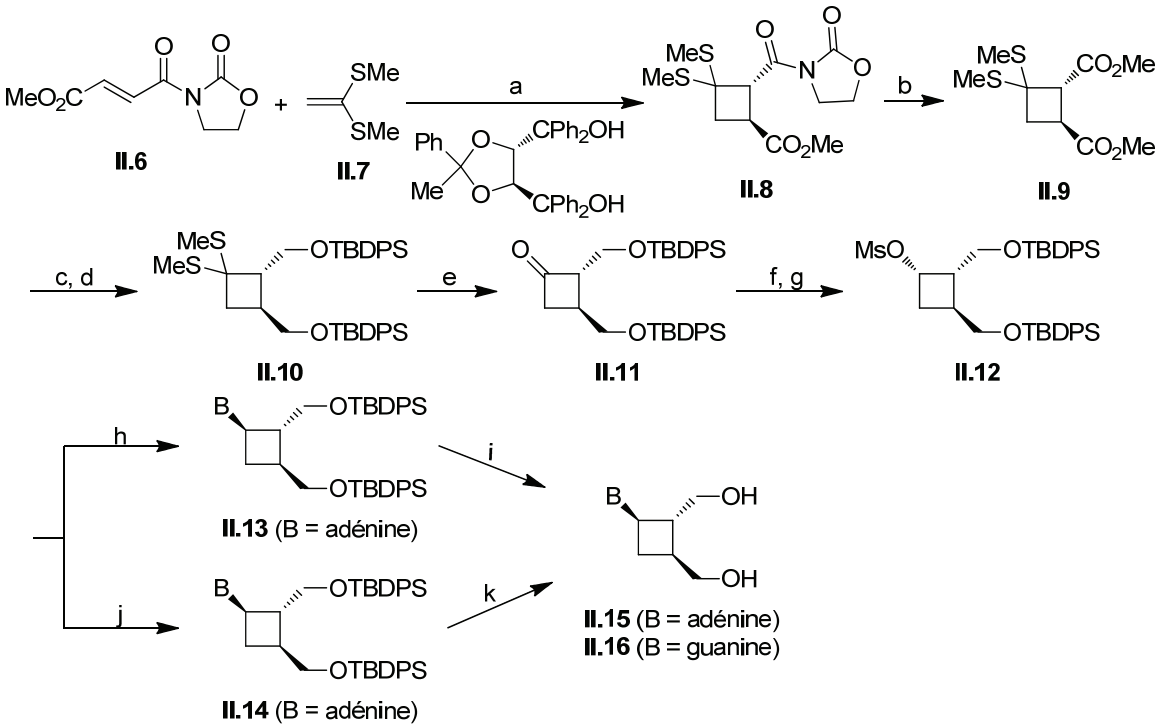
La première partie de ce chapitre sera consacrée à un rappel bibliographique concernant la synthèse énantiosélective d'analogues de nucléosides cyclobutaniques. Puis, dans la seconde partie, notre stratégie de synthèse ainsi que la préparation des nucléosides seront décrites. Enfin, la troisième partie abordera l'incorporation de nos motifs cyclobutyliques dans des enchaînements oligonucléotidiques.

2- Méthodes énantiosélectives de synthèse d'analogues de nucléosides cyclobutaniques

Comme nous l'avons démontré dans le premier chapitre, il existe de nombreux analogues de nucléosides cyclobutaniques. Cependant, toutes ces synthèses ne sont pas toujours énantiosélectives. Or, il est impératif de nos jours de produire de nouvelles molécules énatiomériquement pures pour la recherche thérapeutique. Nous nous intéresserons donc ici aux diverses méthodes d'accès aux nucléosides cyclobutaniques chiraux non racémiques.

2.1- Par cycloaddition [2+2] asymétrique

Ichikawa et *al.*[195] ont décrit la synthèse énantio- et diastéréosélective des cyclobut-A **II.15** et -G **II.16** (Schéma II-1). L'étape clé est une cycloaddition [2+2] asymétrique, induite par copule chirale entre l'oxazolidinone **II.6** et l'alcène **II.7**, qui a conduit, avec un excès énantiomérique de 98 %, au cyclobutane **II.8**. Celui-ci a été converti en diester **II.9** par clivage de la fonction oxazolidinone. La réduction des fonctions esters en hydroxyles, puis une protection, ont induit la formation du thioacétal **II.10**, qui, traité en présence de *N*-chlorosuccinimide et de nitrate d'argent, a fourni la cétone **II.11**. Celle-ci a alors été réduite par le DIBAL-H, puis mésylée, pour produire le composé **II.12**. L'introduction des bases par substitution nucléophile a finalement fourni le cyclobut-A **II.15** et le cyclobut-G **II.16**.

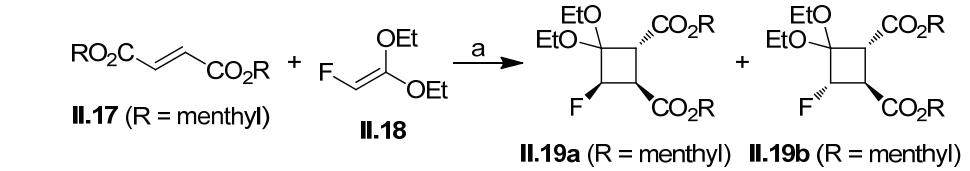


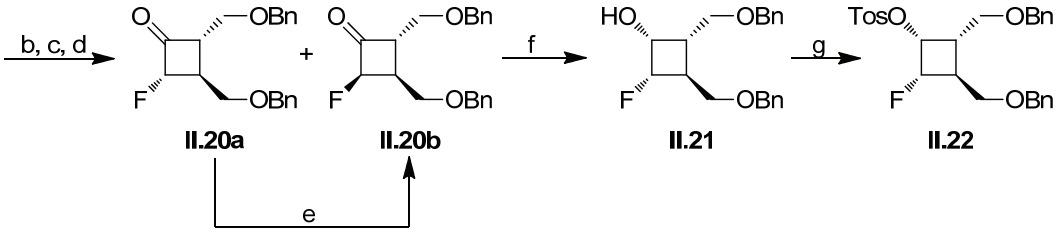
(a) $Ti(O\textit{i}\text{-}Pr)_2Cl_2$, TM 4 A, 83 %, 98 % ee, (b) $(MeO)_2Mg$, MeOH, 0°C, 96 % ; (c) $LiAlH_4$, Et_2O, 0°C, 99 % ; (d) TBDPSCl, Et_3N, DMAP, pyr- / CH_2Cl_2, 100 % ; (e) NCS-$AgNO_3$, CH_3CN / H_2O, 93 % ; (f) DIBAL-H, $PhCH_3$, -78°C, 83 % ; (g) MsCl, Et_3N, CH_2Cl_2, 100 % ; (h) NaH, adénine, DMF, 140°C, 46 % ; (i) HCl, MeOH, 74 % ; (j) LiH, guanine, DMF, 140°C, 30 % ; (k) HCl, MeOH, reflux, 79 %.

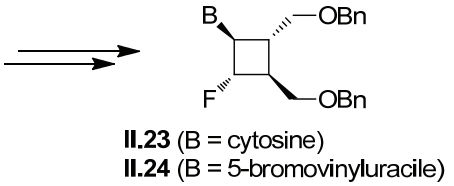
Schéma II-1 : Synthèse des cyclobut-A et G par Ichikawa et *al.*

[195] Ichikawa, Y.; Narita, A.; Shiozawa, A.; Hayashi, Y.; Narasakab, K *J. Chem. Soc., Chem. Comm* **1989**, 1919.

La préparation des nucléosides **II.23** et **II.24** a été proposée par Ahmad et *coll.*[196] (Schéma II-2). Une cycloaddition [2+2] avec inducteur chiral (fonction menthyle) a permis d'accéder à un mélange diastéréoisomérique des molécules **II.19a** et **II.19b**. Après aménagement des cyclobutanes, le composé **II.20a** a été isomérisé en **II.20b**. La réduction de la fonction cétone, puis la tosylation de l'hydroxyle résultant de cette réaction, ont finalement produit, après insertion des bases, les nucléosides **II.23** et **II.24**.





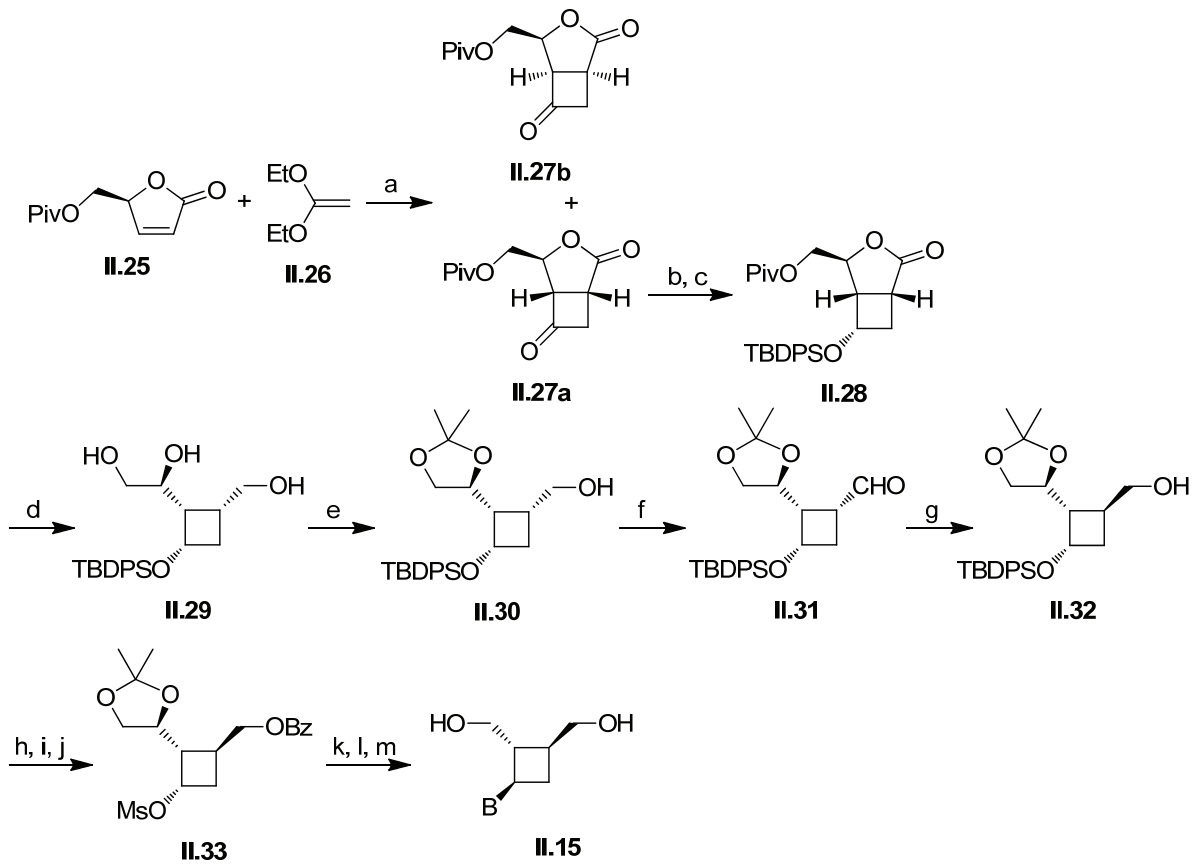


(a) Et_2AlCl, $PhCH_3$ / hexane, -78°C, 37 %, 5 / 1 (**II.19a** / **II.19b**), 99 % de ; (b) $LiAlH_4$, THF, 95 % ; (c) NaH, BnBr, DMF, 98 % ; (d) H_2SO_4, CH_3CN, 100 % brut ; (e) DBU, CH_3CN, 100 % brut ; (f) LS-sélectride, 60 % ; (g) TsCl, pyr., 93 %

Schéma II-2 : Synthèse des nucléosides cyclobutaniques II.23 et II.24 par Ahmad et *al.*

L'équipe d'Alibés[197] a également réalisé la synthèse du cyclobut-A **II.15** (Schéma II-3). Un mélange séparable de deux diastéréoisomères **II.27a** et **II.27b** a d'abord été formé par cycloaddition photochimique [2+2] entre **II.25** et **II.26**. La cyclobutanone **II.27a** a ensuite été réduite, puis protégée par un TBDPS, pour former le dérivé **II.28**. L'ouverture de la lactone a conduit au composé **II.29**, dont la fonction diol 1,3 a été protégée par un isopropylidène, pour conduire à la molécule **II.30**, qui a alors été épimérisée en **II.32**. Après benzoylation de l'hydroxyle primaire, déprotection du TBDPS, et mésylation, le dérivé **II.33** a été formé. L'adénine a finalement été insérée par substitution nucléophile puis une déprotection a permis l'accès au cyclobut-A **II.15**.

[196] Ahmad, S.; Bisacchi, G. S.; Field, K.; Jacobs, G. A., Tuomari, A. V.; McGeever-Rubin, B.; Vite, G. D.; Zahler, R. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, 1215.
[197] Rustullet, A.; Alibés, R.; de March, P.; Figueredo, M.; Font, J. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2827.



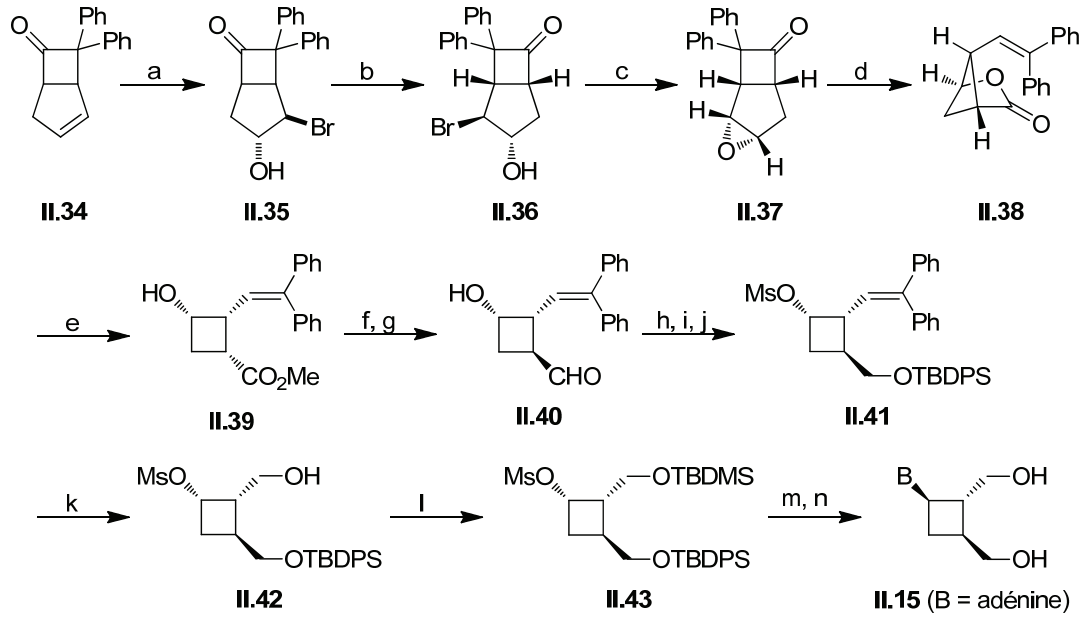
(a) hν, Et_2O, -20°C puis p-TsOH, acétone, 56°C, 69 % ; (b) L-sélectride, THF, -78°C, 96 % ; (c) TBDPSCl, imidazole, THF, 92 % ; (d) $LiAlH_4$, THF, 0°C, 88 % ; (e) $CuSO_4$, HCl cat., acétone, 82 % ; (f) DMP, CH_2Cl_2, 85 % ; (g) Na_2CO_3, MeOH puis $NaBH_4$, MeOH, 88 % ; (h) BzCl, pyr. / CH_2Cl_2, 86 % ; (i) TBAF, THF, 97 % ; (j) MsCl, Et_3N, CH_2Cl_2, 93 % ; (k) K_2CO_3, adénine, 18-C-6, DMF, 120°C, 45 % ; (l) Na_2CO_3, MeOH puis TFA, H_2O, 80 % ; (m) $NaIO_3$, THF / H_2O puis $NaBH_4$, MeOH, 0°C, 84 %

Schéma II-3 : Synthèse du cyclobut-A par Alibés et *al.*

2.2- Par acétylation énantiosélective enzymatique

Dans leur préparation du cyclobut-A (Schéma II-4), Cotterill et Roberts,[198] ont formé la molécule **II.35** par addition électrophile et l'ont désymétrisée *via* une étape d'acétylation énantiosélective à l'aide d'une lipozyme. Après époxydation en composé **II.37**, une réaction photochimique a fourni le dérivé **II.38**. Un traitement acide a permis de former le cyclobutane **II.39** puis la fonction ester de ce dernier a été réduite en aldéhyde et une épimérisation a généré la molécule **II.40**. La réduction de l'aldéhyde **II.40**, sa protection par un TBDPS, puis la mésylation de l'alcool secondaire ont amené au composé **II.41**. La fonction vinyl de celui-ci a alors été réduite en hydroxyle et protégée pour fournir le dérivé **II.42**. L'introduction des bases par substitution nucléophile a finalement permis d'isoler le cyclobut-A **II.15**.

[198] Cotteril, I. C.; Roberts, S. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1992**, 2585.



(a) *N*-bromoacétamide, acétone / H_2O, 73 % ; (b) lipozyme, acétate de vinyl, 42°C, 10 j, 42 % ; (c) K_2CO_3, MeOH, 90 % ; (d) hν, 400 W, PhH, 4 h, 44 % ; (e) APTS, MeOH, 12 h, 85 % ; (f) DIBAL-H, $PhCH_3$, -100°C, 12 h, 74 % ; (g) Et_3N, $PhCH_3$, 90°C, 4 h, 60 % ; (h) DIBAL-H, $PhCH_3$, -78°C à t. a., 3 h, 70 % ; (i) TBDPSCl, Et_3N, DMAP, CH_2Cl_2, 0°C, 4 h, 85 % ; (j) MsCl, Et_3N, CH_2Cl_2, 90 % ; (k) O_3, CH_2Cl_2 / MeOH, -78°C, 2 h puis $NaBH_4$, 77 % ; (l) $TBDMSOSO_2CF_3$, Et_3N, CH_2Cl_2, 1 h, 95 % ; (m) adénine, NaH, 18-C-6, DMF, 140°C, 16 h, 41 % ; (n) Bu_4NF, THF, 2 h, 91 %

Schéma II-4 : Synthèse du cyclobut-A par Cotteril et Roberts

Dans notre équipe, Christophe Pichon et Cécile Hubert ont réalisé l'acétylation enzymatique du diol cyclobuténique *méso* **II.44** à l'aide d'une enzyme, la lipase de *Pseudomonas Fluorescens* (PFL).[199] Cette réaction a été effectuée dans l'acétate de vinyle, qui sert à la fois de solvant et de donneur d'acyle. Le monoacétate cyclobuténique **II.45** a ainsi été obtenu avec un rendement de 96 % et un excès énantiomérique de 99 % (Schéma II-5).

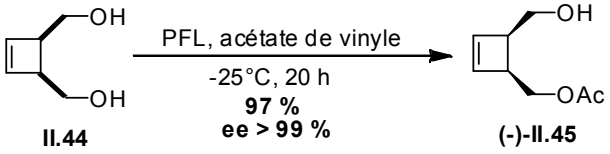
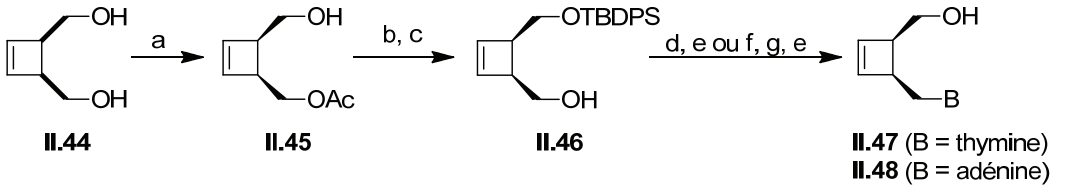


Schéma II-5 : Acétylation enzymatique du diol II.44 par Christophe Pichon et Cécile Hubert

Sur la base de ces travaux, Cécile Hubert a effectué la synthèse des nucléosides cyclobuténiques **II.47** et **II.48**[102] (Schéma II-6). Après l'acétylation enzymatique, la protection de l'alcool secondaire puis une désacétylation ont généré le composé **II.46**, sur lequel les bases ont été insérées par réaction de Mitsunobu pour former les nucléosides cyclobuténiques **II.47** et **II.48**.

[199] Pichon, C.; Hubert, C.; Alexandre, C.; Huet, F. *Tetrahedron : Asymmetry* **2000**, *11*, 2429-2434.

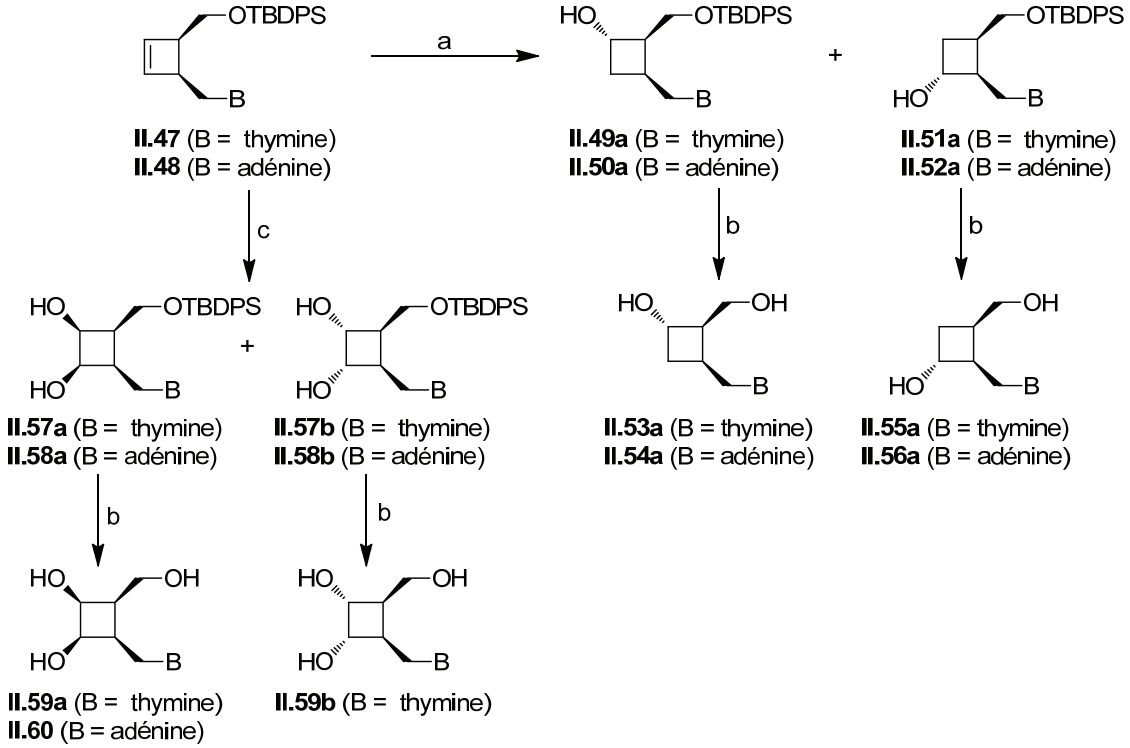


II.44 **II.45** **II.46** **II.47** (B = thymine) **II.48** (B = adénine)

(a) PFL, acétate de vinyl, -25°C, 20 h, 99 % ; (b) TBDPSCl, imidazole, DMF, 95 % ; (c) NH_3 / MeOH, 74 % ; (d) adénine, Ph_3P, DIAD, THF, 60 % ; (e) TBAF, THF, 94 % ; (f) N^3-benzoylthymine, Ph_3P, DIAD, THF, 94 % ; (g) NaOH, 74 %

Schéma II-6 : Nucléosides cyclobuténiques II.47 et II.48 développés au laboratoire par Cécile Hubert

Yoann Marsac a prolongé ces travaux lors de sa thèse de doctorat et a préparé les nucléosides cyclobutaniques dihydroxylés **II.53a** à **II.56a** et trihydroxylés **II.59a** à **II.60**[95] (Schéma II-7). Une hydroboration-oxydation suivie d'une désilylation a permis d'isoler les analogues dihydroxylés **II.53a** à **II.56a**. Les analogues trihydroxylés **II.59a** à **II.60** ont été obtenus par une réaction de dihydroxylation suivie d'une désilylation.



II.47 (B = thymine) **II.48** (B = adénine)
II.49a (B = thymine) **II.50a** (B = adénine)
II.51a (B = thymine) **II.52a** (B = adénine)
II.57a (B = thymine) **II.58a** (B = adénine)
II.57b (B = thymine) **II.58b** (B = adénine)
II.53a (B = thymine) **II.54a** (B = adénine)
II.55a (B = thymine) **II.56a** (B = adénine)
II.59a (B = thymine) **II.60** (B = adénine)
II.59b (B = thymine)

(a) BH_3.THF puis NaOH, H_2O_2, 67 % **II.49**, 69 % **II.50** ; (b) HF.pyr., CH_2Cl_2, 71 % **II.51a**, 55 % **II.52a**, 68 % **II.51b**,40 % **II.52b**, 55 % **II.55a**, 66 % **II.56**, 62 % **II.55b**, ; (c) OsO_4, NMO, THF / H_2O, 94 % **(+)-II.53**, 90 % **II.54**

Schéma II-7 : Nucléosides cyclobutaniques développés au laboratoire par Yoann Marsac

De manière à pouvoir incorporer ces motifs cyclobutyliques dans des enchaînements oligonucléotidiques, il nous est nécessaire de produire, en quantité suffisante, des précurseurs cyclobutaniques dont l'hydroxyle primaire en position en position pseudo 5' est protégé par une fonction DMTr. Nous avons donc envisagé de reprendre et d'optimiser la voie de synthèse présentée ci-dessus, en tenant compte de ces nouveaux paramètres. La préparation des nucléosides cyclobutaniques protégés par la fonction DMTr, ainsi que l'insertion d'un de ces motifs dans des oligonucléotides, seront décrites dans le prochain paragraphe.

3- Préparation des analogues d'oligonucléotides cyclobutaniques

3.1- Stratégie envisagée

Un schéma rétrosynthétique a été envisagé (Schéma II-8). Les enchaînements oligonucléotidiques **II.A** et **II.B** seraient obtenus par incorporation des nucléotides **II.C** ou **II.D** à l'aide d'un synthétiseur automatisé.

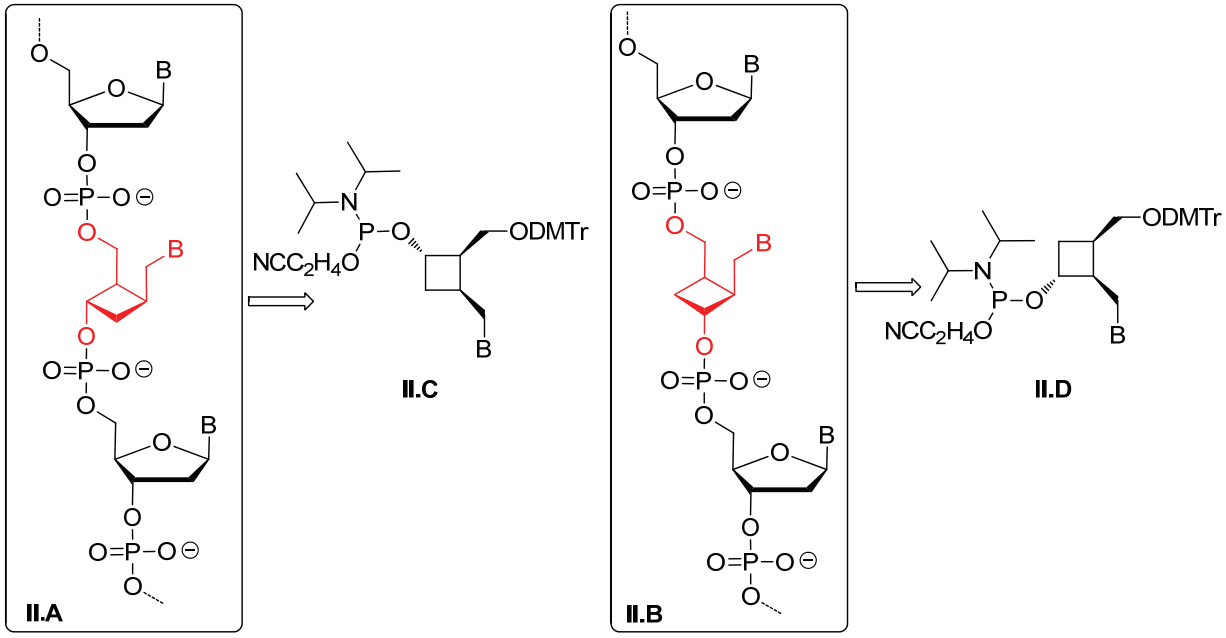


Schéma II-8 : Rétrosynthèse des oligonucléotides II.A et II.B

Pour ce faire, les nucléotides phosphoramidites **II.C** et **II.D** seraient préparés par phosphorylation de l'hydroxyle secondaire des nucléosides cyclobutaniques **II.81a**, **II.83a**, **II.82a** et **II.84a** (Schéma II-9). Ceux-ci résulteraient de l'hydroboration-oxydation de la double liaison cyclobutènique des analogues **II.72** et **II.73a**.

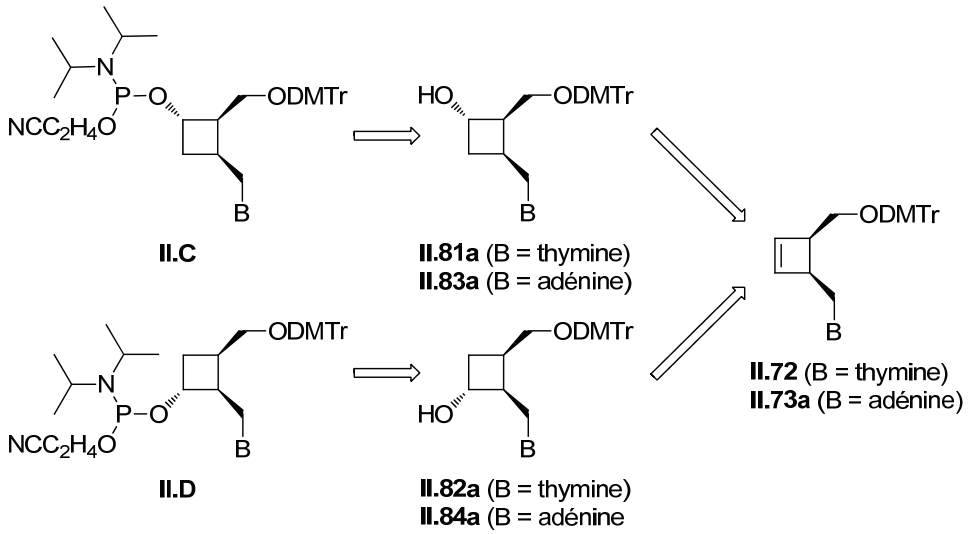


Schéma II-9 : Rétrosynthèse des nucléotides phosphoramidites II.C et II.D

Enfin, les nucléosides cyclobuténiques **II.72** et **II.73a** seraient formés en introduisant les bases nucléiques par réaction de Mitsunobu sur l'hydroxyle primaire du composé **II.67**, lui même généré à partir du monoacétate cyclobuténique **II.45**. Celui-ci serait issu de la monoacétylation énantiosélective enzymatique du diol cyclobuténique *méso* **II.44**.

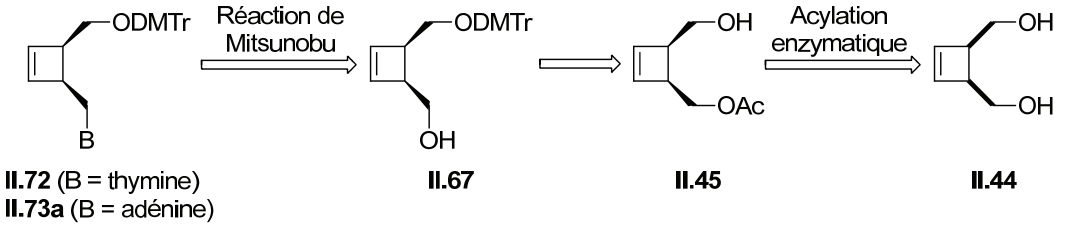


Schéma II-10 : Rétrosynthèse des nucléosides cyclobuténiques II.72a et II.73a

En résumé, les étapes clés que nous avons définies sont :

- L'acétylation enzymatique du diol cyclobutanique *méso* **II.44** en monoacétate chiral non racémique **II.45**, qui a déjà été décrite dans notre équipe,
- L'insertion des bases puriques et pyrimidiques par réaction de Mitsunobu,
- La fonctionnalisation de la double liaison des nucléosides cyclobuténiques par réaction d'hydroboration-oxydation,
- La synthèse des phosphoramidites et leur incorporation dans les motifs oligonucléotidiques.

3.2- Préparation du cyclobutène II.67

Afin de préparer le composé **II.67**, précurseur des nucléosides cyclobuténiques **II.72** et **II.73a**, il est nécessaire de synthétiser le diol cyclobuténique *méso* **II.44**.[200] Pour cela, nous avons d'abord réalisé une cycloaddition photochimique [2+2] entre le *trans*-1,2-dichloroéthène **II.61** et l'anhydride maléique **II.62** pour former l'anhydride dichloré **II.63**, de configuration *cis,* et avec un rendement global de 54 % (Schéma II-11). La réduction du composé **II.63** en présence de zinc activé et d'anhydride acétique génère ensuite l'anhydride cyclobuténique **II.64** avec un rendement de 53 %. Celui-ci est finalement réduit par l'hydrure mixte de lithium et d'aluminium au reflux du THF pour conduire au diol cyclobuténique *méso* **II.44** avec un très bon rendement de 89 %.

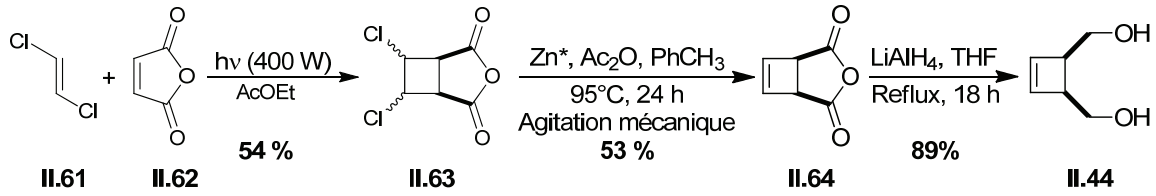


Schéma II-11 : Préparation du diol cyclobuténique *méso* II.44

[200] Gauvry, N.; Comoy, C.; Lescop, C.; Huet, F. *Synthesis* **1999**, 574.

La préparation du monoacétate cyclobuténique **II.45** a ensuite été entreprise selon les conditions décrites par Pichon et *al.*[199] au sein de notre équipe. Le diol cyclobuténique *méso* **II.44** réagit avec l'enzyme PFL dans l'acétate de vinyle à -25°C pendant 20 heures. Le monoacétate cyclobuténique **II.45** est obtenu avec un très bon rendement de 86 % (Schéma II-12). L'excès énantiomérique de ce composé ne peut pas être déterminé directement par chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur colonne chirale. En effet, les cyclobutènes sont sujets à l'ouverture électrocyclique en diènes à des températures supérieures à 80°C. Ainsi, le dérivé **II.45** est converti par hydrogénation catalytique en cyclobutane **II.65** avec un rendement quantitatif et un excès énantiomérique de 99 %. Celui-ci, mesuré par CPG sur colonne chirale, permet de déduire celui du composé **II.45**.

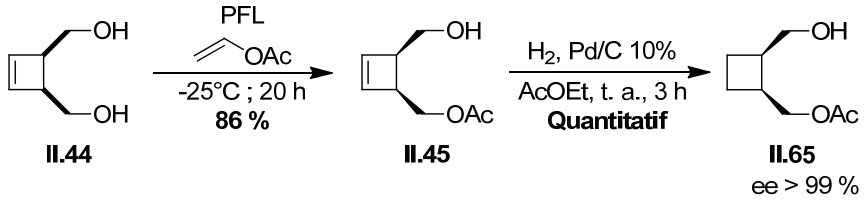


Schéma II-12 : Préparation du monoacétate cyclobuténique II.45 puis hydrogénation catalytique conduisant à II.65

La protection du monoacétate cyclobuténique **II.45** par le groupement DMTr dans des conditions classiques permet ensuite d'accéder au cyclobutène **II.66** avec un rendement quantitatif. Cette protection se révèle instable en milieu acide et le groupement protecteur DMTr se clive partiellement sur silice non neutralisée ou dans le chloroforme non stabilisé sur alumine basique ou sur feuille d'argent. Il convient donc d'être prudent quant à l'utilisation des composés présentant cette protection. La désacétylation, effectuée à l'aide d'une solution méthanolique saturée en ammoniac, induit la formation du précurseur **II.67** avec un très bon rendement de 91 % (Schéma II-13).

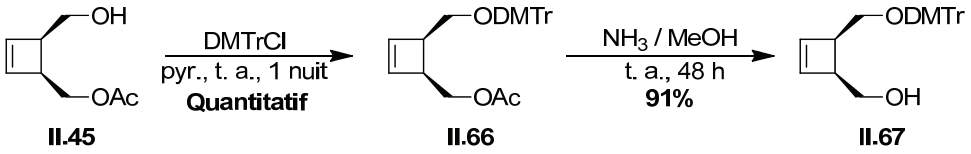


Schéma II-13 : Préparation du précurseur II.67

3.3- Préparation des nucléosides cyclobuténiques II.72 et II.73a

La préparation des nucléosides cyclobuténiques **II.72** et **II.73a** nécessite l'introduction des bases nucléiques sur le précurseur **II.67**. Nous avons choisi d'insérer, par réaction de Mitsunobu, une base pyrimidique, à savoir la thymine, et une base purique, l'adénine.

3.3.1- Choix de la réaction de Mitsunobu

La réaction de Mitsunobu permet la substitution d'alcools primaires ou secondaires, activés par le tandem azodicarboxylate de diéthyle / triphénylphosphine (DEAD / PPh_3), par des nucléophiles carbonés, oxygénés ou azotés possédant un hydrogène acide de pKa < 11.

Elle permet ainsi l'accès à un grand nombre de dérivés organiques dans des conditions très douces.[201] De plus, son caractère S_N2, induisant une inversion de configuration du carbone portant la fonction hydroxyle, lui confère de larges applications dans la synthèse de produits biologiquement actifs.[202] Elle est très fréquemment utilisée de nos jours dans la synthèse de nouveaux nucléosides car elle permet en général d'introduire les bases nucléiques avec obtention d'un seul isomère en position pseudo-anomérique, N^9 pour les purines et N^1 pour les pyrimidines.[203,107a]

3.3.2- Accès à l'analogue de la thymine II.72

Avant d'envisager la synthèse du nucléoside cyclobuténique **II.72**, la préparation de la N^3-benzoylthymine **II.70** a été entreprise. Pour cela, la thymine **II.68** réagit avec le chlorure de benzoyle dans des conditions classiques pour former l'intermédiaire dibenzoylé **II.69**, qui est directement et sélectivement débenzoylé pour conduire à la N^3-benzoylthymine **II.70** avec 76 % de rendement (Schéma II-14).

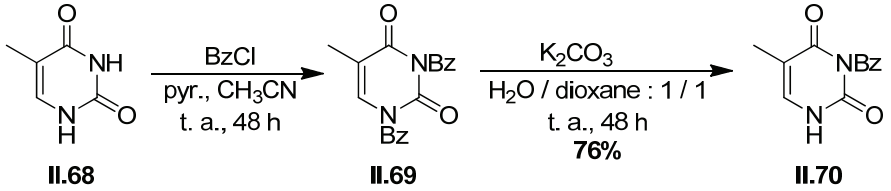


Schéma II-14 : Préparation de la N^3-Benzoylthymine II.70

La réaction de Mitsunobu, effectuée en présence du tandem DIAD / PPh_3, entre le précurseur **II.67** et la N^3-benzoylthymine **II.70** permet d'isoler l'intermédiaire **II.71** avec un bon rendement de 83 % (Schéma II-15). Une débenzoylation à l'aide d'une solution méthanolique saturée en ammoniac génère finalement le nucléoside cyclobuténique **II.72** avec un excellent rendement de 96 %.

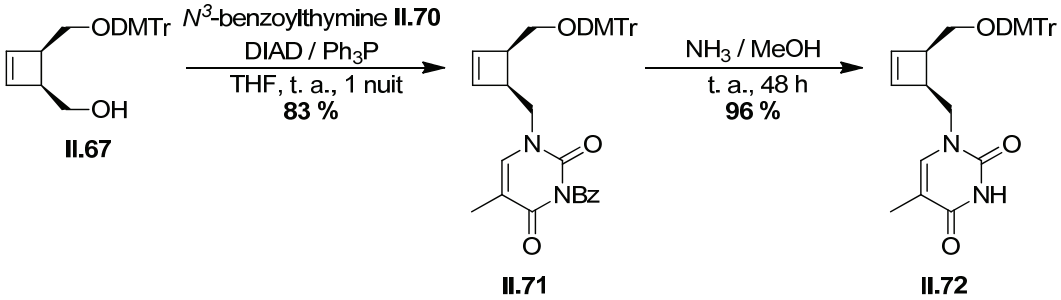


Schéma II-15 : Préparation du nucléoside cyclobuténique II.72

[201] Mitsunobu, O. *Synthesis* **1981**, 1.
[202] Hugues, D. L. ; Reamer, R. A. ; Bergan, J. J. ; Grabowski E. J. J. *J. Am. Chem. Soc*. **1988**, *110*, 6487.
[203] (a) Szarek, W. A.; Depew, C.; Jarrel, H. C.; Jones, J. K. N. *J. Chem. Soc, Chem. Commun.* **1975**, 648 ; (b) Nokami, J.; Matsuura, H.; Takahashi, H.; Yamashita, M. *Synlett* **1994**, 491.

3.3.3- Accès à l'analogue de l'adénine II.73a

L'accès à l'analogue cyclobuténique de l'adénine a été effectué dans les mêmes conditions que pour l'analogue de la thymine. Le précurseur **II.67** réagit donc dans le THF en présence d'adénine et du tandem DIAD / PPh_3 selon une réaction de Mitsunobu. Après purification (1 seule tâche en chromatographie sur couche mince (CCM) après chromatographie sur colonne de gel de silice), un dédoublement des signaux RMN ^1H, en particulier ceux correspondant à la double liaison cyclobuténique (signaux encadrés en bleu), et aux méthoxy du groupement protecteur DMTr (signaux entourés en vert), est observé (Figure II-2).

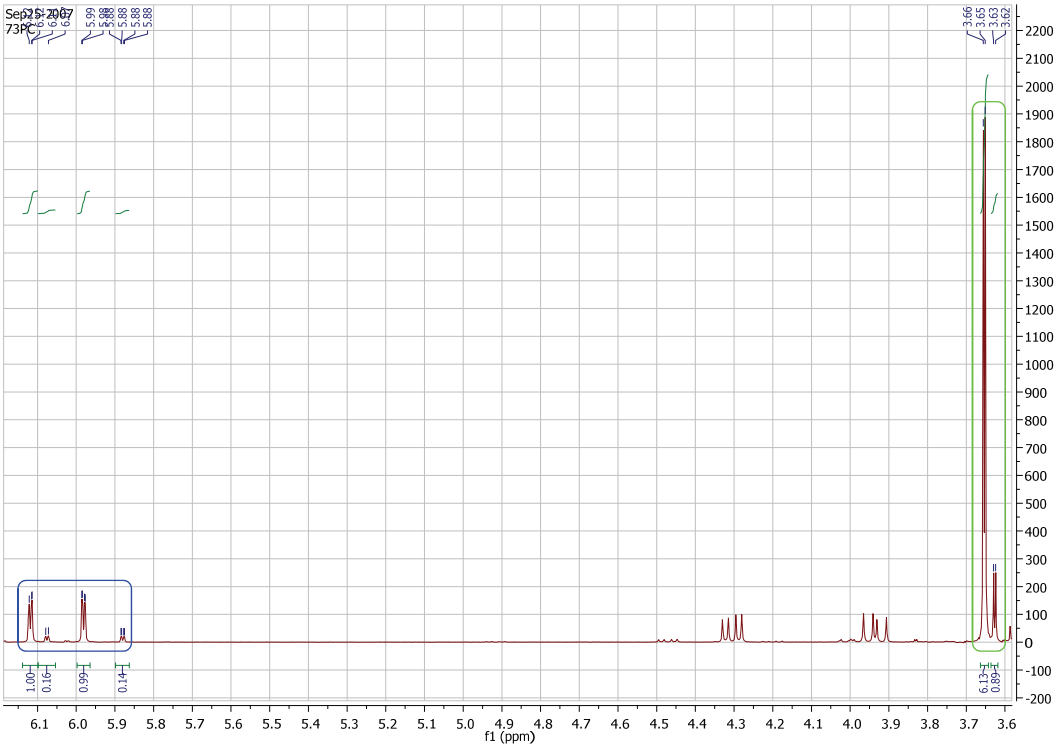


Figure II-2 : Dédoublement des signaux RMN

Au vu de ces informations, il nous a semblé plausible d'avoir formé un mélange (que nous ne sommes pas parvenu à séparer) des deux régioisomères N^9 **II.73a** et N^7 **II.73b** dans des proportions 85 / 15 déterminées par RMN (Schéma II-16).

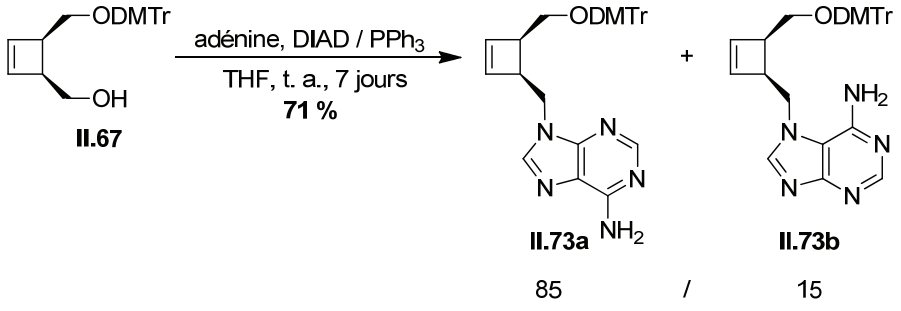
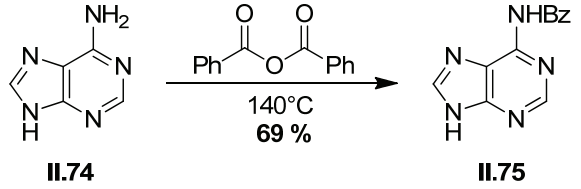


Schéma II-16 : Formation supposée d'un mélange des régioisomères N^9 et N^7

Pour éviter d'obtenir un tel mélange, il est possible d'encombrer l'amine primaire de l'adénine en la protégeant, ce qui peut permettre de bloquer l'approche N^7 pour ne former que le régioisomère N^9. Nous avons donc entrepris la protection de l'amine primaire de l'adénine pour palier cet inconvénient.

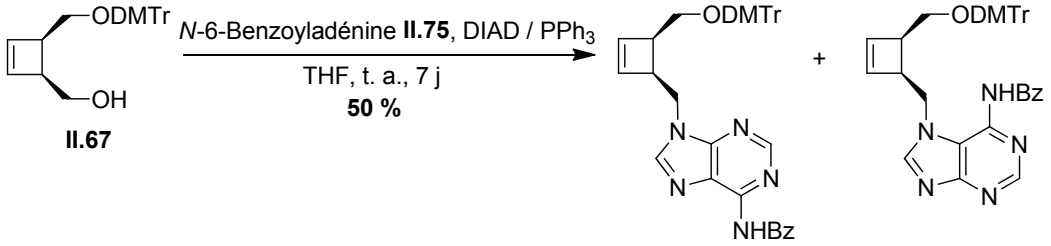
La première protection envisagée a été le groupement benzoyle. L'amine primaire de l'adénine **II.74** est donc benzoylée *via* une réaction sans solvant à l'aide de l'anhydride benzoïque à 140°C pour obtenir la N^6-benzoyladénine **II.75** avec un bon rendement de 69 % (Schéma II-17).



II.74 **II.75**

Schéma II-17 : Benzoylation de l'adénine

La réaction de Mitsunobu entre le précurseur **II.67** et l'adénine benzoylée **II.75** est ensuite tentée selon les mêmes conditions que précédemment (Schéma II-18) et permet d'améliorer le ratio (N^9 / N^7 : 90 / 10), sans pour autant obtenir une régiosélectivité totale ou pouvoir séparer les régioisomères **II.76a** et **II.76b**.

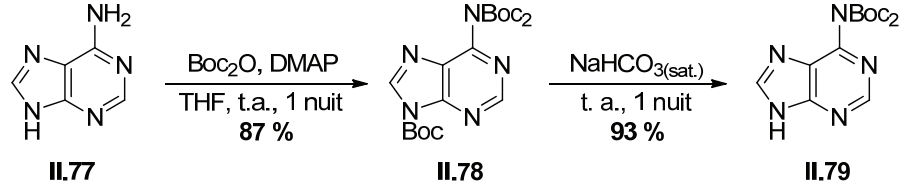


II.67 **II.76a** / **II.76b**

90 / 10

Schéma II-18 : Réaction de Mitsunobu entre le dérivé II.67 et la N^6-benzoyladénine

Il est également décrit dans la littérature la diprotection de l'adénine par une fonction Boc avant réaction de Mitsunobu.[204] Afin de tenter cette approche, l'adénine est d'abord triprotégée en composé **II.78** dans des conditions classiques (Schéma II-19). La déprotection sélective de l'atome d'azote N^9 conduit à la N^6,N^6-*bis*Boc-adénine **II.79** avec un très bon rendement de 93 %.



II.77 **II.78** **II.79**

Schéma II-19 : Protection de l'adénine par deux fonctions Boc

[204] (a) Dey, S.; Garner, P. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7697 ; (b) Yin, X.-Q.; Li, W.-Q.; Schneller, S.-W. F. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 9187 ; (c) Benoît, Y.-M.; Strazewski, P. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9836.

Le couplage par réaction de Mitsunobu est ensuite effectué, toujours à l'aide du tandem DIAD / PPh_3 dans le THF. Après une purification particulièrement laborieuse, le régioisomère N^9 **II.80** est isolé avec un rendement de 69 % (Schéma II-20). La déprotection en milieu basique conduit finalement au nucléoside cyclobuténique **II.73a** avec un bon rendement de 71 %.

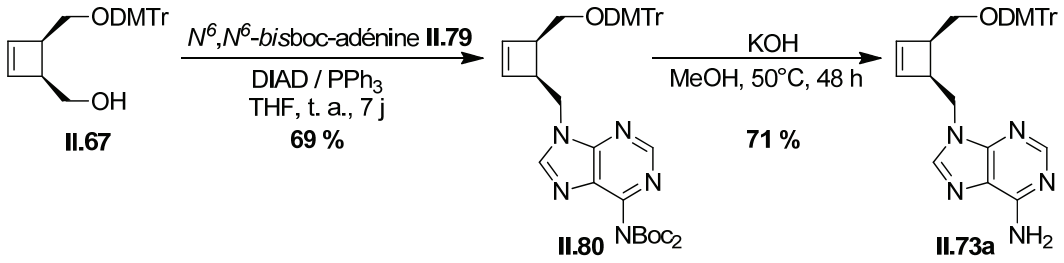


Schéma II-20 : Préparation du nucléoside cyclobuténique II.73a

3.4- Tentative de préparation des nucléosides cyclobutaniques protégés par une fonction DMTr

La préparation des nucléosides cyclobutaniques requiert l'hydroboration-oxydation de la double liaison cylobuténique des dérivés **II.72** et **II.73a**. Les travaux antérieurs réalisés au sein de notre équipe ont montré que le complexe borane-tétrahydrofurane (BH_3.THF) en solution 1 M dans le THF donnait les meilleurs résultats sur ce type de composé.[205]

3.4.1- Hydroboration de l'analogue thymine II.72

Le dérivé **II.72** réagit donc avec le complexe BH_3.THF selon une réaction d'hydroboration (Schéma II-21). L'étape d'oxydation par la soude et le peroxyde d'hydrogène conduit ensuite aux quatre isomères possibles, à savoir les deux régioisomères *trans* **II.81a** et **II.82a**, et les deux régioisomères *cis* **II.81b** et **II.82b** avec un ratio *trans* / *cis* de 90 / 10 et un rendement global de 70 %. Nous ne sommes malheureusement pas parvenus à séparer ces régioisomères lors de nos différentes tentatives de purification.

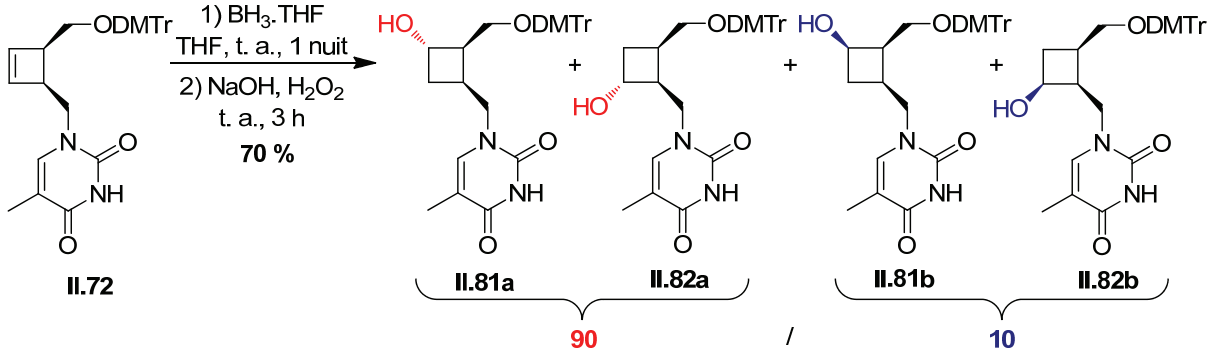


Schéma II-21 : Hydroboration-oxydation du composé II.72

[205] Marsac, Y. *Thèse de doctorat*, Université du Maine, Le Mans, **2003**.

Face à ces difficultés, nous avons décidé de protéger l'hydroxyle secondaire issu de l'étape d'hydroboration-oxydation afin de tenter d'améliorer la séparation des quatre régioisomères (Schéma II-22). Différents essais sont effectués (Tableau II-1). La première tentative est d'acétyler le mélange des régioisomères dans des conditions classiques (Entrée 1). Toutefois, la purification ne permet pas de séparer les quatre isomères d'hydroboration. Un second essai est réalisé par benzoylation des hydroxyles secondaires (Entrée 2). Cependant, la séparation n'est pas meilleure que précédemment. Enfin, lors de notre dernière tentative, le groupement 4-nitrobenzoyle est introduit (Entrée 3). Celui-ci nous permet uniquement de séparer les composés *cis* des *trans* dans un ratio *trans* / *cis* de 90 / 10 et avec un rendement global de 51 %.

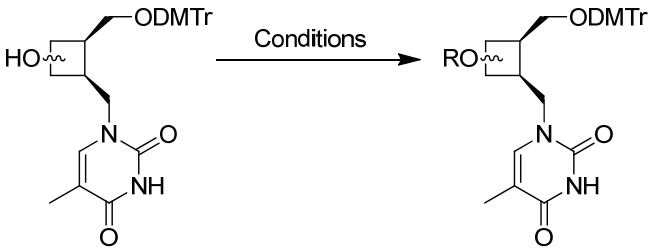


Schéma II-22 : Protection des isomères d'hydroboration

Entrée	Protection (R)	Conditions et rendement global	Observation
1	P = Ac	Ac_2O, DMAP, pyr.	Mélange inséparable
2	P = Bz	BzCl, DMAP, pyr.	Mélange inséparable
3	P = 4-NO_2Bz	4-NO_2BzCl, NaH, THF, 51 %	*cis* / *trans* : 9 / 1

Tableau II-1 : Groupements protecteurs utilisés pour tenter de séparer les isomères d'hydroboration

3.4.2- Hydroboration de l'analogue adénine II.73a

Dans les mêmes conditions que celles utilisées pour les analogues cyclobutaniques thymine, nous avons entrepris l'hydroboration-oxydation du dérivé cyclobuténique **II.73a**. La réaction avec BH_3.THF puis en présence de NaOH / H_2O_2 mène à un mélange des deux régioisomères *trans* **II.83a** et **II.84a** et des deux régioisomères *cis* **II.83b** et **II.84b** avec un ratio *trans* / *cis* de 80 / 20 et un rendement global de 70 % (Schéma II-23). Malheureusement, nous ne sommes pas non plus parvenus à séparer ces quatre régioisomères, même en tentant de fonctionnaliser l'hydroxyle secondaire de ces composés.

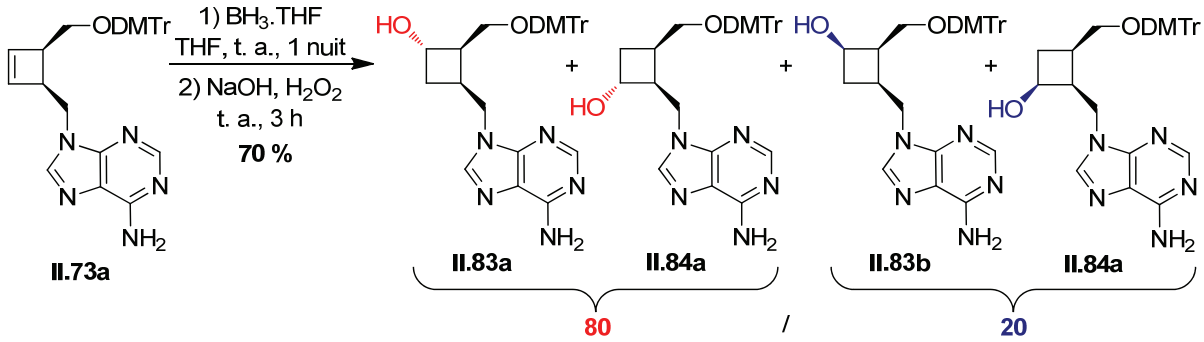


Schéma II-23 : Hydroboration-oxydation du composé II.73a

3.5- Nouvelle stratégie de synthèse : passage par une protection TBDPS

Face à l'échec de la stratégie introduisant le DMTr en début de synthèse, nous avons entrepris de réutiliser la stratégie passant par un groupement protecteur silylé[95] afin de le remplacer par le groupement DMTr en fin de synthèse.

Les nucléosides cyclobutaniques comportant le groupement DMTr seraient donc obtenus dans des conditions classiques après désilylation des cyclobutènes **II.49a** à **II.52a** (Schéma II-24). Ceux-ci seraient préparés, comme précédemment, par réaction d'hydroboration-oxydation des nucléosides cyclobuténiques silylés **II.47** et **II.48**.

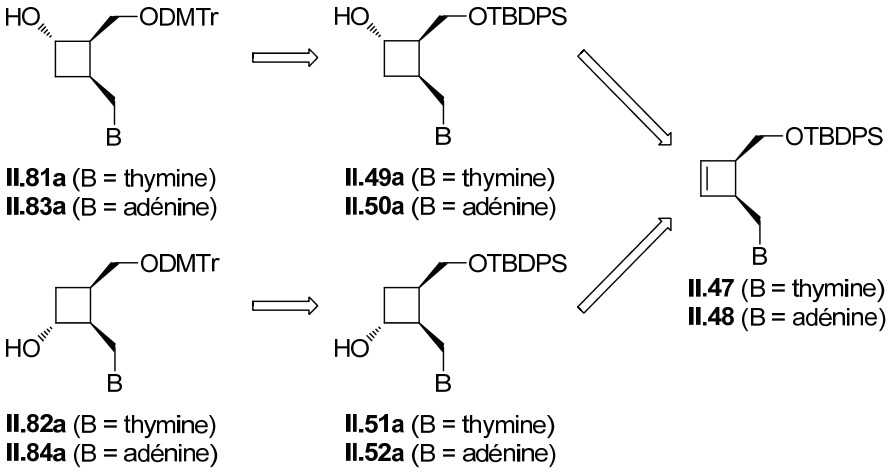


Schéma II-24 : Rétrosynthèse des nucléotides II.81a, II.83a, II.82a et II.84a

Las analogues **II.47** et **II.48** seraient synthétisés selon les conditions décrites par Cécile Hubert[102] (Schéma II-25).

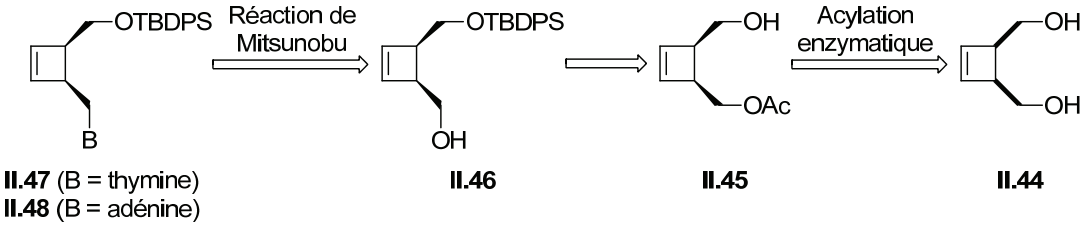
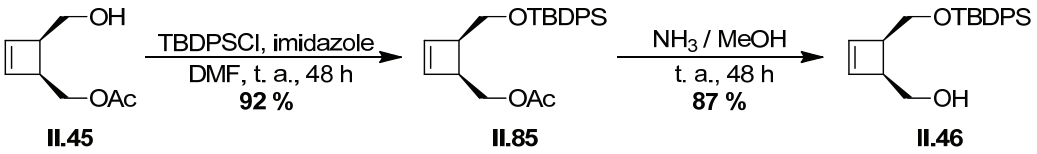


Schéma II-25 : Rétrosynthèse des nucléosides cyclobuténiques II.47 et II.48

3.6- Synthèse des nucléosides cyclobuténiques sylilés II.47 et II.48

3.6.1- Préparation du composé II.46

Le monoacétate cyclobuténique **II.45** est tout d'abord protégé par le groupement TBDPS pour conduire au dérivé **II.85** avec un très bon rendement de 92 %. Une désacétylation effectuée à l'aide d'une solution méthanolique saturée en ammoniac permet ensuite d'isoler la molécule **II.46** avec un rendement de 87 % (Schéma II-26).



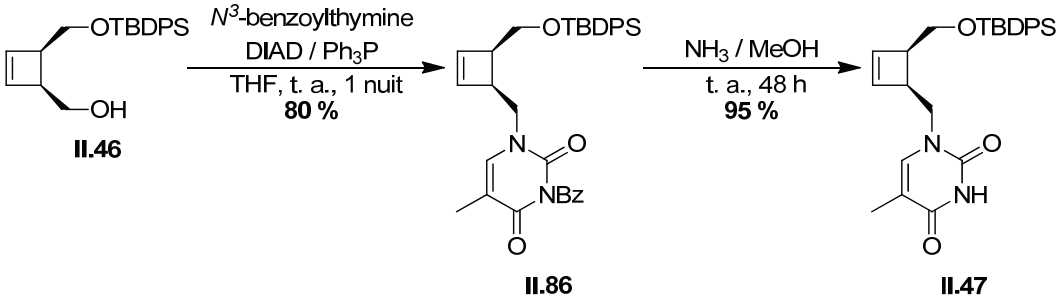
II.45 **II.85** **II.46**

Schéma II-26 : Préparation du composé silylé II.46

3.6.2- Introduction des bases nucléiques par réaction de Mitsunobu

3.6.2.a- Accès à l'analogue de la thymine II.47

La réaction de Mitsunobu, conduite dans le THF en présence du tandem DIAD / PPh_3, entre l'alcool **II.46** et la N^3-benzoylthymine **II.70** conduit, avec un bon rendement de 80 %, à l'intermédiaire benzoylé **II.86**. Sa déprotection par une solution méthanolique saturée en ammoniac fournit l'analogue cyclobuténique de la thymine **II.47** avec un excellent rendement de 95 % (Schéma II-27).



II.46 **II.86** **II.47**

Schéma II-27 : Préparation du nucléoside cyclobuténique II.47

3.6.2.b- Accès à l'analogue l'adénine II.48

L'accès à l'analogue cyclobuténique de l'adénine est réalisé de la même manière que pour l'analogue de la thymine. Le précurseur **II.46** réagit donc avec l'adénine selon une réaction de Mitsunobu pour générer uniquement le nucléoside N^9 **II.48** avec un rendement de 46 % (Schéma II-28).

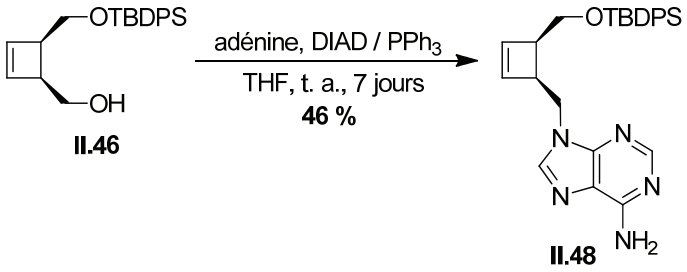


Schéma II-28 : Préparation du nucléoside cyclobuténique II.48

3.7- Préparation des nucléosides cyclobutaniques protégés par une fonction DMTr

3.7.1- Accès aux analogues de la thymine

3.7.1.a- Hydroboration du composé II.47

L'hydroboration par BH_3.THF du composé **II.47**, suivie de l'étape d'oxydation, fournit les quatre isomères, avec un ratio *trans* / *cis* de 90 / 10 et un rendement de 72 %. Les régioisomères *trans* **II.49a** et **II.51a** sont séparés par chromatographie sur colonne de gel de silice tandis que cela n'est pas réalisable pour les régioisomères *cis* **II.49b** et **II.51b** (Schéma II-29).

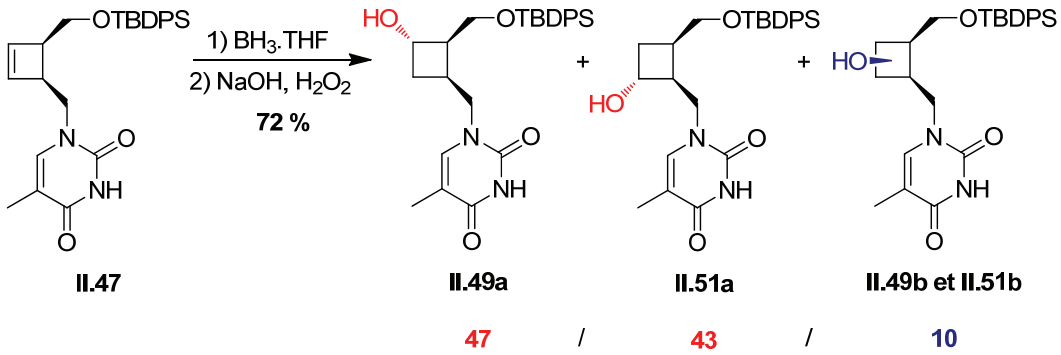


Schéma II-29 : Hydroboration-oxydation du composé II.47

3.7.1.b- Acétylation et désilylation des composés II.49a et II.51a

Même si la fonction DMTr est en général sélective des alcools primaires, il nous a semblé plus prudent de protéger les hydroxyles secondaires. L'acétylation des composés **II.49a** et **II.51a** en présence d'anhydride acétique dans la pyridine permet d'accéder aux produits acétylés **II.87** et **II.88** avec des rendements respectifs de 79 % et 78 % (Schéma II-30). La déprotection des fonctions silylées est ensuite effectuée en présence de HF.pyridine à 70 %. Cette réaction s'avère très lente et plusieurs jours sont nécessaires pour la mener à terme. De plus, il est nécessaire d'ajouter régulièrement du HF.pyridine dans le milieu réactionnel. Ainsi, du fait de conditions probablement trop acides, les composés **II.87** et **II.88** sont à la fois désilylés et désacétylés pour produire les analogues cyclobutaniques dihydroxylés **II.53** et **II.55** avec des rendements identiques de 62 %.

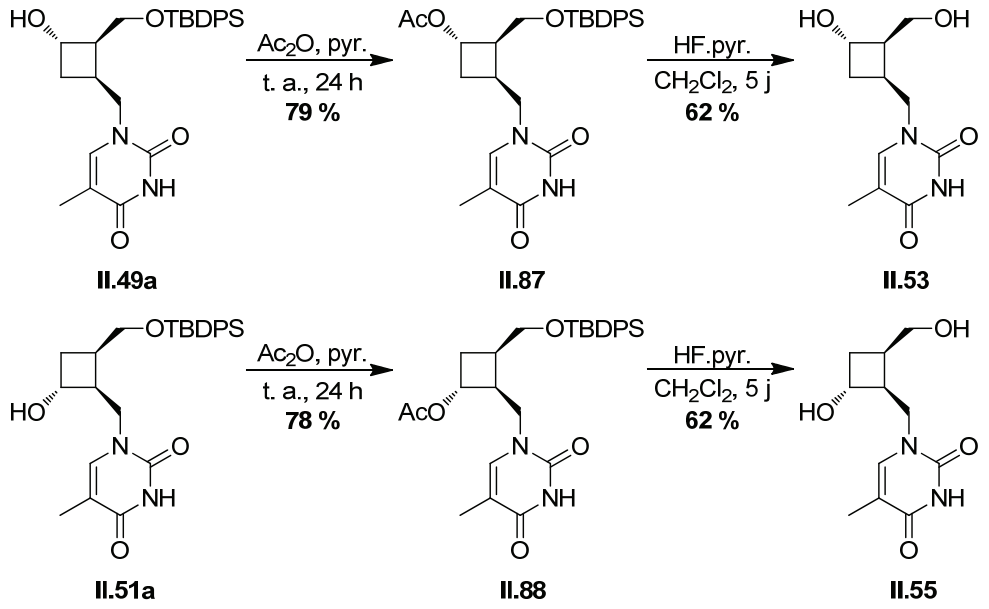


Schéma II-30 : Préparation des nucléosides cyclobutaniques dihydroxylés II.53 et II.55

3.7.1.c- Préparation des nucléosides cyclobutaniques cibles II.81a et II.82a

L'étape précédente nous a fourni de manière inattendue les analogues dihydroxylés **II.53** et **II.55** dont l'hydroxyle secondaire n'est pas protégé. L'introduction du groupement DMTr, généralement sélective des hydroxyles primaires par rapport aux secondaires, a donc tout de même été tentée. Ainsi, les composés **II.53** et **II.55** sont mis en réaction avec le chlorure de DMTr en présence de pyridine et de DMAP. Cependant, même au bout d'une semaine, un très faible taux de conversion est observé. Cela est probablement du à l'encombrement stérique engendré par la thymine. Nous avons donc tenté des conditions plus drastiques, à savoir le chlorure de DMTr en présence de pyridine et de DMAP à 80°C pendant une semaine. Dans ce cas, les nucléosides **II.81a** et **II.82a** sont finalement isolés avec des rendements respectifs de 61 % et 59 % (Schéma II-31).

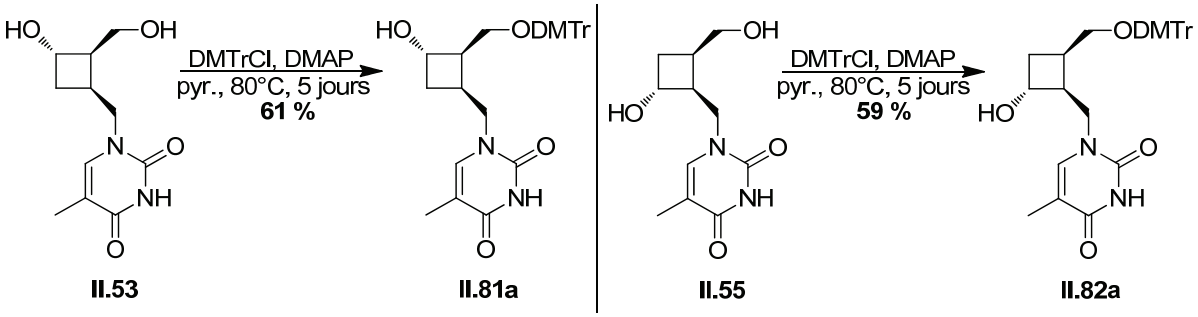


Schéma II-31 : Préparation des nucléosides cibles II.81a et II.82a

3.7.2- Accès aux analogues de l'adénine

3.7.2.a- Hydroboration du composé II.48

L'hydroboration par BH_3.THF du composé **II.48** fournit quatre isomères, avec un ratio *trans* / *cis* de 80 / 20 et un rendement global de 74 %. Les régioisomères *trans* **II.50a** et **II.52a** sont très difficilement séparés par chromatographie sur colonne de gel de silice tandis que les régioisomères *cis* **II.50b** et **II.52b** ne le sont absolument pas (Schéma II-32).

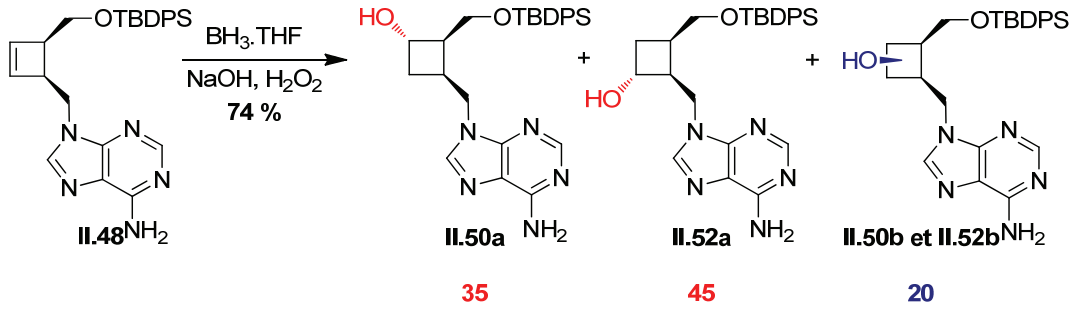


Schéma II-32 : Hydroboration-oxydation du composé II.48

3.7.2.b- Benzoylation et désilylation des composés II.50a et II.52a

La protection des hydroxyles secondaires et de l'amine primaire de l'adénine a été envisagée par benzoylation pour palier aux problèmes de désacétylation des analogues de la thymine pendant l'étape de désilylation. La protection des composés **II.50a** et **II.52a** par le chlorure de benzoyle dans la pyridine génère ainsi les dérivés **II.89** et **II.90** avec des rendements respectifs de 76 % et 79 % (Schéma II-33). Leur désilylation a ensuite lieu en présence de HF.pyridine à 70 % pour conduire aux dérivés **II.91** et **II.92** avec des rendements identiques de 60 %.

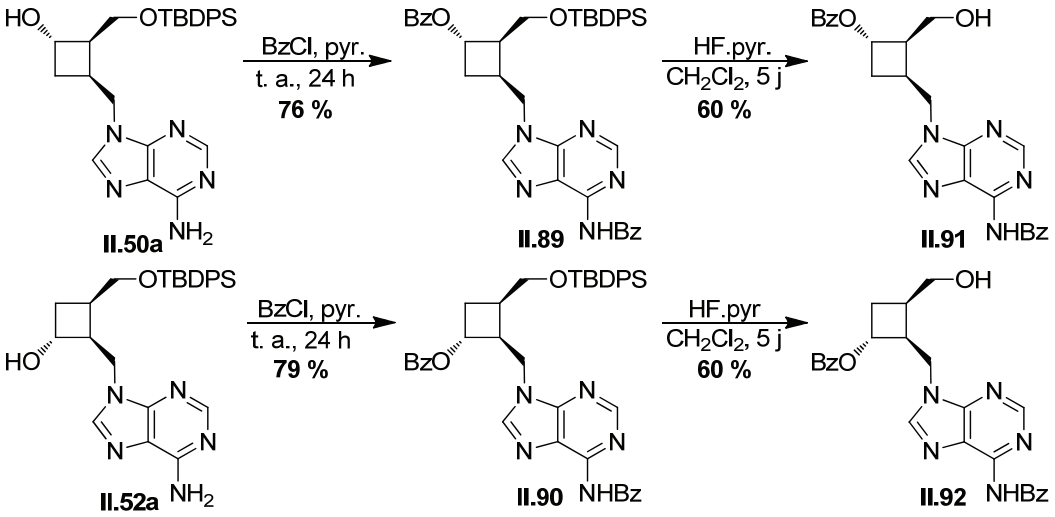


Schéma II-33 : Benzoylation et désilylation des composés II.50a et II.52a

3.7.2.c- Préparation des nucléosides cibles II.93 et II.94

Les mêmes conditions que celles utilisées pour les nucléosides thymidines ont été reprises pour introduire la fonction DMTr sur les dérivés de l'adénine. Les composés **II.91** et **II.92** réagissent ainsi en présence de DMTrCl, de DMAP et de pyridine à 80°C pendant une semaine (Schéma II-34). Malheureusement, une dégradation inexpliquée du composé **II.91** est observée lors de cette réaction et ne permet donc pas l'obtention de la molécule benzoylée **II.93**. L'analogue **II.94**, quant à lui, est obtenu mais avec un faible rendement de 40 %. Le composé **II.94** est par la suite débenzoylé à l'aide d'une solution méthanolique saturée en ammoniac. Le nucléoside DMTr **II.84a** est ainsi finalement isolé avec un rendement de 80 %.

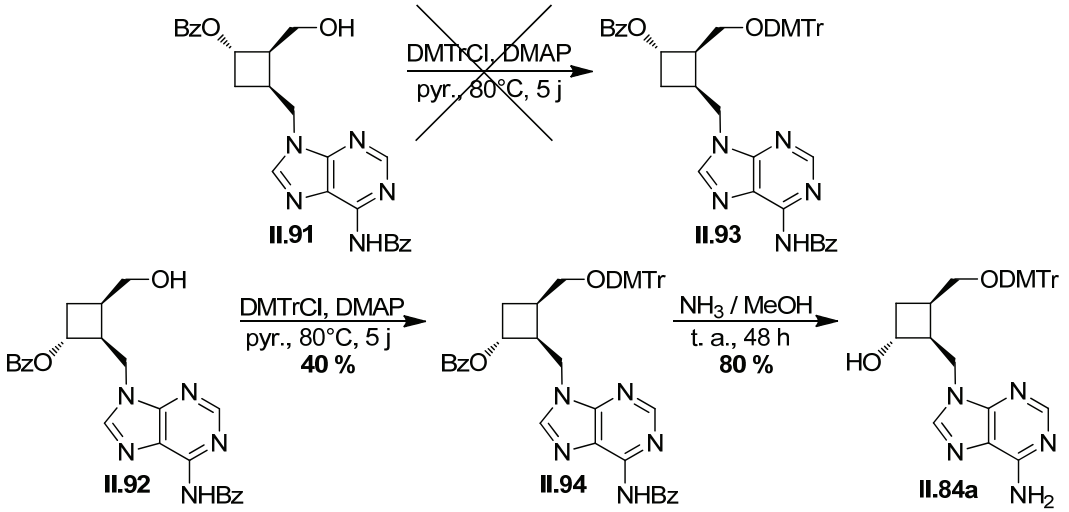


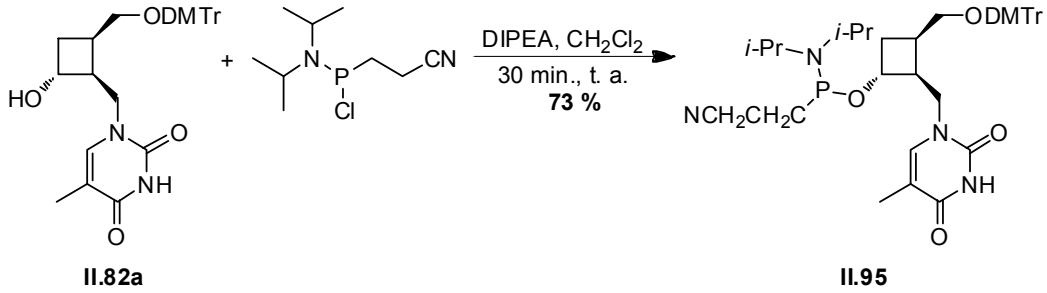
Schéma II-34 : Tentatives de préparation des nucléosides cyclobutaniques cibles II.93 et II.84a

3.8- Préparation des nucléotides phosphoramidites et incorporation dans les enchaînements oligonucléotides

Les nucléosides cyclobutaniques **II.81a**, **II.82a** et **II.84a** ayant finalement pu être synthétisés, nous avons alors pu entreprendre leur incorporation dans des enchaînements oligonucléotidiques. Par contrainte de temps, seul le précurseur phosphoramidite **II.95** a pu être synthétisé. Sa préparation et son intégration dans des enchaînements oligonucléotidiques ont été effectuées par l'équipe du Dr Rachid Benhida, du Laboratoire de Chimie des Molécules Bioactives et des Arômes (LCMBA) de l'Université de Nice Sophia-Antipolis.

3.8.1- *Préparation du phosphoramidites II.95*

En premier lieu, le nucléotide phosphoramidite **II.95** est préparé par réaction de l'analogue cyclobutanique thymine **II.82a** avec le 2-cyanoéthyl-*N*,*N*-di-isopropylchlorophosphoramidite, en présence de di-isopropylamine dans le dichlorométhane pour générer le dérivé phosphoramidite **II.95** avec un bon rendement de 73 % (Schéma II-35).



II.82a **II.95**

Schéma II-35 : Préparation du phosphoramidite II.95

3.8.2- *Préparation des oligonucléotides*

Il a ensuite été réalisé la préparation de trois oligodésoxyribonucléotides (ODN) comportant ce motif cyclobutanique : deux 15-mères (**ODN-I** et **ODN-II**) destinés à être testés dans le contexte de la stratégie antisens et un 18-mère (**ODN-III**), envisagé pour l'évaluation en stratégie anti-gène.

La synthèse automatique des trois oligodésoxyribonucléotides a été effectuée sur un synthétiseur Expedite 8900 en utilisant des colonnes de 0,2 µmol selon la méthode aux phosphoramidites en mode DMTr-on décrite lors du rappel bibliographique sur les méthodes de synthèse d'oligonucléotides (Chapitre I, p. 54-57). Les rendements de couplage sur support solide du nucléotide modifié et des nucléotides commerciaux sont compris entre 90 % et 100 %. Les rendements obtenus lors du couplage du phosphoramidite issu de notre nucléoside cyclobutanique thymine **II.82a** sont comparables à ceux obtenus avec les phosphoramidites commerciaux (Figure II-3).

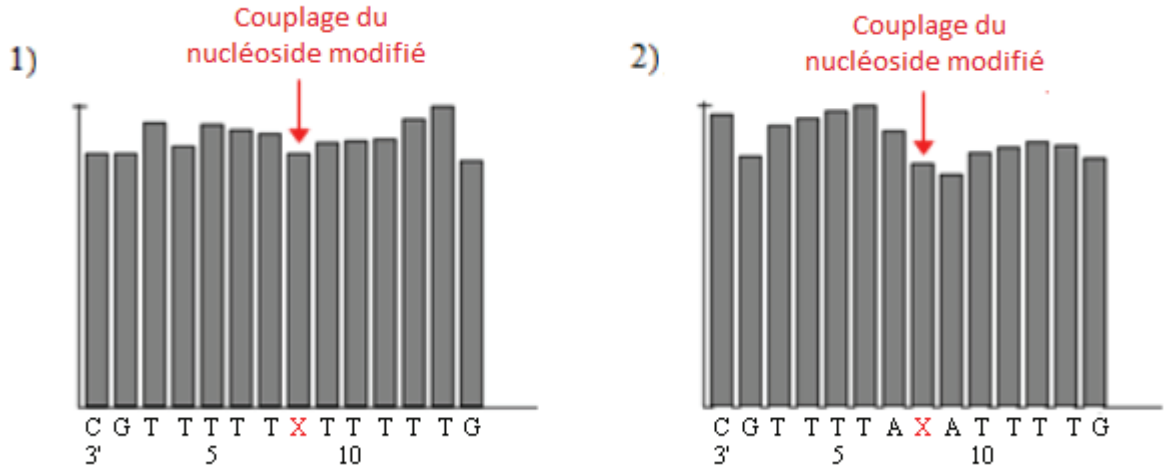


Figure II-3 : Rendements par étape de couplage obtenus lors de la synthèse des 1) ODN-I et 2) ODN-II

Après traitement à l'ammoniaque, les oligonucléotides 5'-*O*-diméthoxytritylés ont été purifiés par HPLC en phase inverse sur une colonne C-8. Cette technique a permis de séparer et donc de purifier des oligonucléotides de séquences et de tailles variées, en fonction de leur hydrophobicité. Le temps de rétention des oligonucléotides 5'-*O*-diméthoxytritylés se situe aux alentours de 29 minutes.

A la suite de cette étape de purification, un traitement acide par une solution aqueuse d'acide acétique à 50 % a permis la déprotection du groupement DMTr. Au final, les oligonucléotides **ODN-I** et **ODN-II** ont été obtenus suffisamment propres pour ne pas subir de nouvelle étape de purification (Figure II-4).

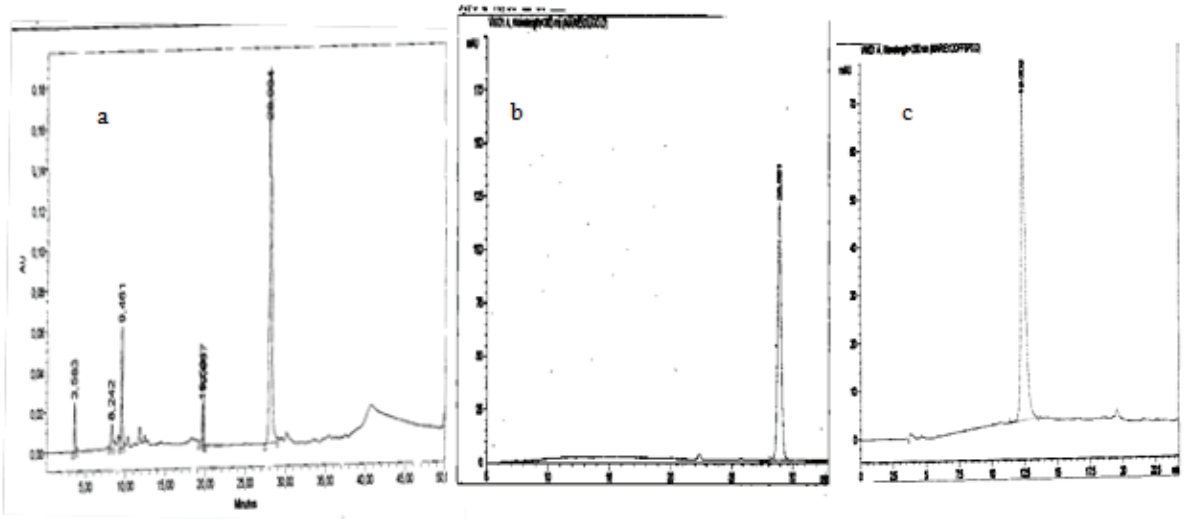
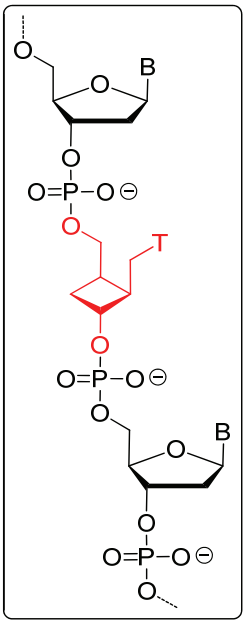


Figure II-4 : Profil HPLC des oligonucléotides, a) chromatogramme du brut de réaction obtenu pour la synthèse de l'ODN-I en mode DMTr-on (t_r = 28 min.), b) chromatogramme du produit après purification et c) chromatogramme du produit après traitement acide (t_r = 12,4 min.)

Au bilan de cette synthèse, trois oligodésoxyribonucléotides comportant un motif cyclobutanique ont été synthétisés (Figure II-5) :

- Un 15-mère de séquence 5'-CGTTTTTXTTTTTGC-3' (**ODN-I**) qui sera testé en stratégie antisens sur l'ODN **compl. 1** (formation du duplex **ODN-I** / **compl. 1**),
- Un 15-mère de séquence 5'-CGTTTTAXATTTTGC-3' (**ODN-II**) qui sera évalué en stratégie antisens sur l'ODN **compl. 2** (formation du duplex **ODN-II** / **compl. 2**).
- Un 18-mère de séquence 5'-TTTTCTTCTCTTXTTCTT-3' (**ODN-III**) qui sera testé en stratégie anti-gène (triple hélice) sur le duplex **ADN I** / **ADN II** (formation du triplex **ODN-III** / **ADN I** / **ADN II**.

L'étude des propriétés physicochimiques des différents duplex ou triplex par mesure des températures de fusion est actuellement en cours.



Structure des oligonucléotides synthétisés

```
ODN-I        5′-CGTTTTTXTTTTTGC-3′     : oligo 1
ODN-II       5′-CGTTTTAXATTTTGC-3′     : oligo 2
ODN-III      5′-TTTTCTTCTCTTXTTCTT-3′  : oligo 3
```

Séquences des oligonucléotides synthétisés

```
ODN-I        5′-CGTTTTTXTTTTTGC-3′     : oligo 1
             5′-GCAAAAAAAAAAACG-3′     : compl 1

ODN-II       5′-CGTTTTAXATTTTGC-3′     : oligo 2
             5′-GCAAAATATAAAACG-3′     : compl 2
```

Séquences antisens

```
          3′-CGTA-TTTTCTTCTCTTTTCTT-AGTG-5′    : ADN I
          5′-GCAT-AAAAGAAGAGAAAAAGAA-TCAC-3′   : ADN II
ODN-III      5′-TTTTCTTCTCTTXTTCTT-3′          : oligo 3
```

Séquence anti-gène

Figure II-5 : Structure et séquence des oligonucléotides synthétisés (X = motif cyclobutanique)

4- Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons souhaité accéder à des analogues de nucléosides cyclobutaniques de l'oxétanocine protégés par une fonction DMTr en position pseudo 5', notre objectif étant l'incorporation de ces motifs dans de nouveaux enchaînements oligonucléotidiques originaux. Les étapes clés de cette synthèse sont :

- Une acétylation énantiosélective enzymatique d'un diol cyclobuténique *méso*,
- L'introduction des bases puriques ou pyrimidiques par réaction de Mitsunobu
- Une réaction d'hydroboration-oxydation.

La stratégie initiale a cependant du être remaniée à cause de l'obtention de régioisomères que nous ne sommes pas parvenus à séparer lors de l'étape d'hydroboration-oxydation. Au final, deux analogues pyrimidiques et un analogue purique ont pu être préparés (Figure II-6).

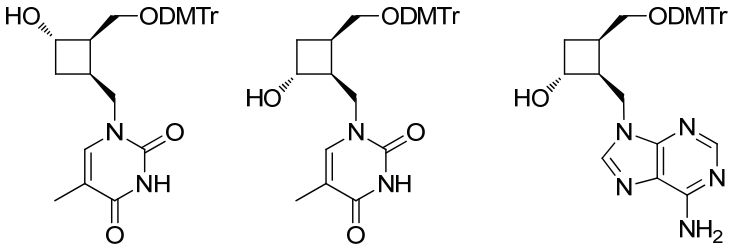


Figure II-6 : Analogues de nucléosides synthétisés

L'incorporation de ces structures dans des enchaînements oligonucléotidiques a ainsi pu être entreprise et un de ces motifs a abouti à la synthèse de trois nouveaux analogues d'oligonucléotides originaux (Figure II-7). Deux d'entre eux (**ODN-I** et **ODN-II**) seront testés en stratégie antisens, le troisième (**ODN-III**) sera évalué en stratégie anti-gène.

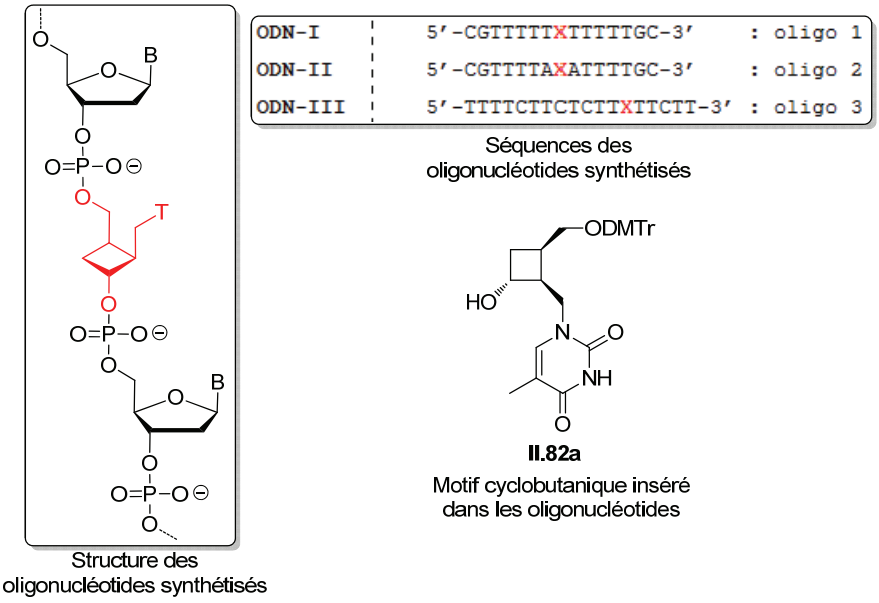
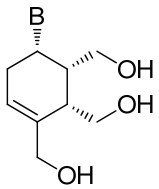


Figure II-7 : Oligonucléotides synthétisés

CHAPITRE III : Synthèse d'analogues de nucléosides cyclohexéniques

1- Introduction

Comme nous l'avons souligné dans le premier chapitre, les analogues de nucléosides cyclohexéniques se révèlent être des cibles intéressantes car ils possèdent souvent de bonnes activités biologiques. Par conséquent, nous avons souhaité développer une approche vers des analogues cyclohexéniques trihydroxylés puriques et pyrimidiques **III.A** (Figure III-1), dont les structures préfigureraient, par la suite, l'accès à de nouveaux analogues contraints. Notre objectif à court terme est la possibilité d'insérer ces structures cyclohexaniques nucléosidiques dans des enchaînements oligonucléotidiques.



III.A

Figure III-1 : Molécules cibles

La première partie de ce chapitre sera consacrée à un rappel bibliographique concernant la synthèse énantiosélective d'analogues de nucléosides cyclohexéniques et cyclohexaniques. Puis, lors de la seconde partie, la synthèse énantiosélective des nucléosides cyclohexéniques **III.A** sera décrite.

2- Méthodes énantiosélectives de synthèse d'analogues de nucléosides cyclohexéniques et cyclohexaniques

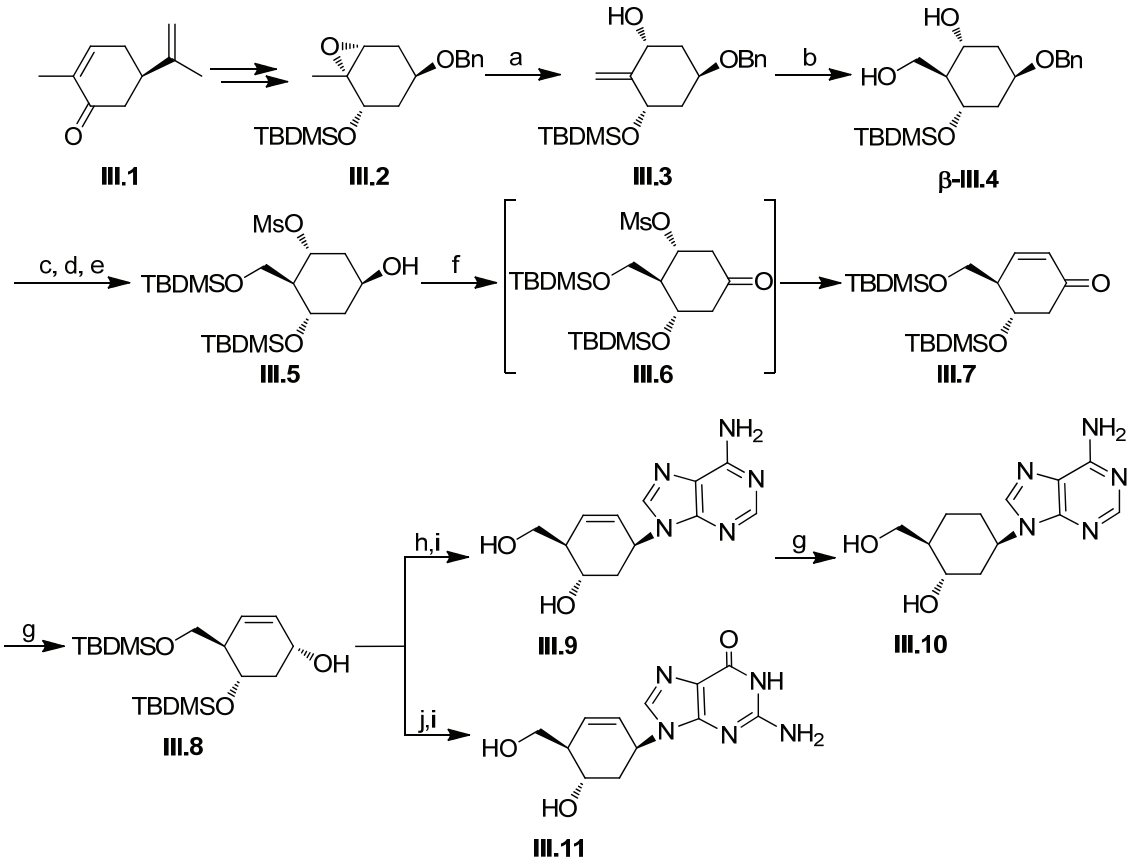
Nous avons montré dans le premier chapitre que de nombreux analogues de nucléosides cyclohexéniques et cyclohexaniques ont été développés. Nous allons maintenant exposer les différentes méthodes de synthèse. Toutefois, nous nous limiterons aux moyens permettant d'accéder à des analogues énantiomériquement purs.

2.1- A partir d'un pool chiral

2.1.1- Via des structures cyclohexéniques et cyclohexaniques énantiomériquement pures

L'équipe d'Herdewijn a réalisé la synthèse des nucléosides **III.9**, **III.10** et **III.11** de configuration *D* à partir de la *R*-(-)-carvone **III.1**[112a,112b] (Schéma III-1). Dans cette optique, l'époxyde **III.2**, préparé en sept étapes à partir de la *R*-(-)-carvone **III.1**,[206] a d'abord réagi avec le 2,2,6,6-tétraméthylpipéridure de lithium (LTMP) et le chlorure de diéthylaluminium pour former le dérivé **III.3**, présentant une double liaison exocyclique. Celle-ci a ensuite été hydroborée-oxydée pour fournir le composé tétrahydroxylé **III.4**. La protection de l'hydroxyle primaire, puis la mésylation du secondaire, et une débenzylation ont ensuite permis d'accéder à la molécule **III.5**, dont l'hydroxyle secondaire non protégé a été oxydé pour conduire au composé **III.7**. Après réduction de la fonction énone dans les conditions de Luche, le cyclohexène **III.8** a été obtenu. L'introduction des bases, avec inversion de configuration, par réaction de Mitsunobu, suivie de la déprotection des fonctions hydroxyles, a finalement généré les analogues cyclohexéniques **III.9** et **III.11**. L'analogue cyclohexanique **III.10** a, quant à lui, été produit par hydrogénation catalytique du nucléoside **III.9**.

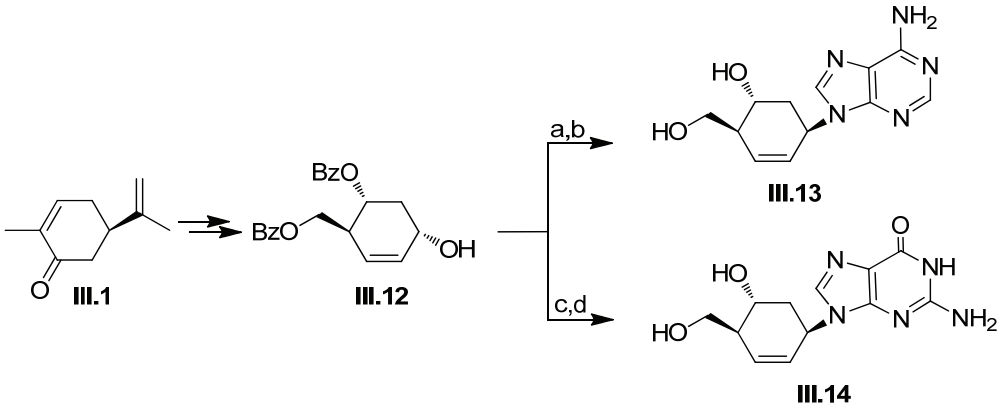
[206] Wang, J.; Busson, R.; Blaton, N.; Rozenski, J.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3051.



(a) LiTMP, Et_2AlCl, PhH / $PhCH_3$ (1 / 1), 79 % ; (b) 9-BBN, THF, 74 % ; (c) TBDMSCl, imidazole, DMF, 70 % ; (d) MsCl, Et_3N, CH_2Cl_2, 0°C ; (e) 10 % Pd/C, $HCOONH_4$, MeOH, reflux, 76 % ; (f) MnO_2, CH_2Cl_2, 48 % ; (g) $NaBH_4$, $CeCl_3.7H_2O$, MeOH, 0°C à t. a., 91 % ; (h) adénine, DEAD, Ph_3P, dioxane, 66 % ; (i) TFA / H_2O (3 / 1), 58 % (**III.9**), 46 % (**III.11**) ; (j) 2-amino-6-chloropurine, DEAD, Ph_3P, dioxane ; (k) H_2, Pd/C, MeOH, 75 %

Schéma III-1 : Synthèse des analogues cyclohexéniques et cyclohexaniques III.9, III.10 et III.11

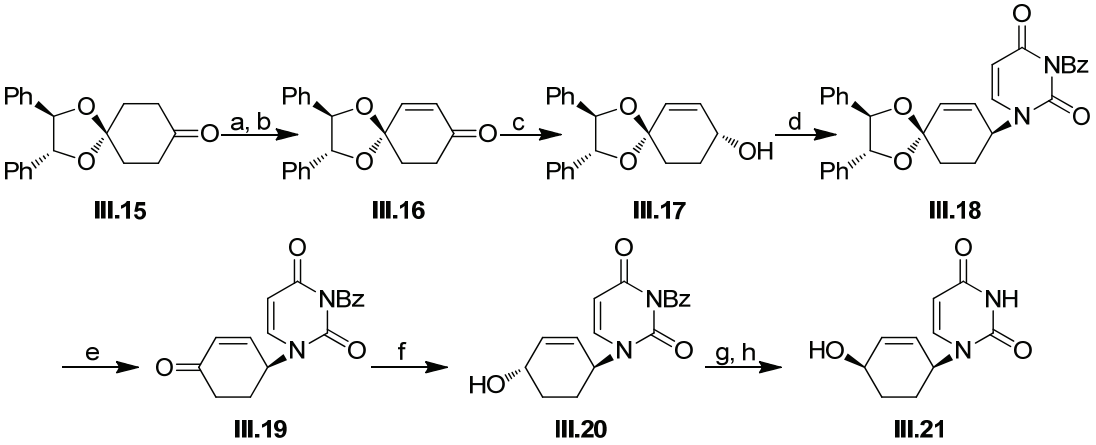
Les analogues de configuration *L* **III.13** et **III.14**[112b] ont également été développés par les mêmes auteurs *via* cette voie de synthèse (Schéma III-2).



(a) adénine, DEAD, Ph_3P, dioxane, 40 % ; (b) K_2CO_3, MeOH, 77 % ; (c) 2-amino-6-chloropurine, DEAD, Ph_3P, dioxane ; (d) TFA / H_2O (3 / 1), 58 %

Schéma III-2 : Synthèse des analogues cyclohexéniques III.13 et III.14

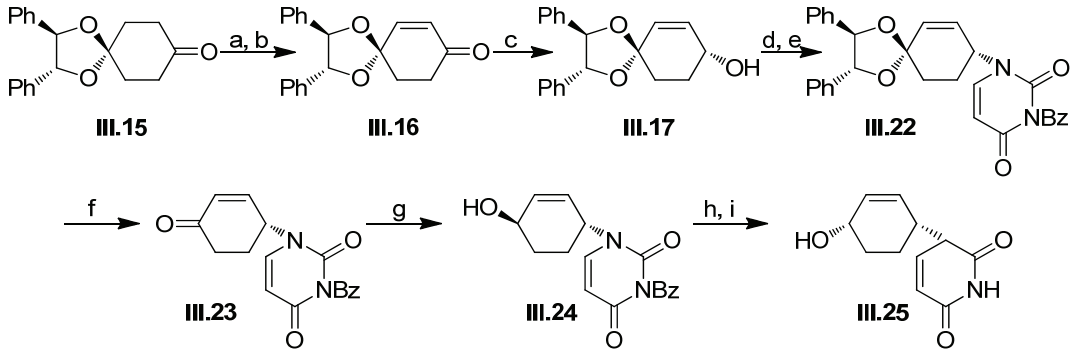
Alibés et *al.*[110] ont entrepris la préparation de l'analogue **III.21** de configuration *D* (Schéma III-3). La bromation du composé **III.15**, suivie d'une étape d'élimination, a permis de générer le dérivé α,β-insaturé **III.16**. La fonction énone a ensuite été réduite en présence de catéchol borane et d'un inducteur chiral pour former la molécule monohydroxylée **III.17**. L'introduction de l'uracile par réaction de Mitsunobu a conduit au dérivé **III.18** qui, après déprotection de l'acétal, a induit la formation de la molécule α,β-insaturé **III.19**. A nouveau, la réduction de l'énone, par le catéchol borane en présence d'un inducteur chiral, a permis de synthétiser l'alcool allylique **III.20**. L'épimérisation de celui-ci, suivie d'un traitement basique a finalement fourni le nucléoside cyclohexénique **III.21**.



(a) Br_2, Et_2O, -10°C à 0°C ; (b) DBU, dioxane, 100°C, 78 % ; (c) (*S*)-2-Me-CBS, CB, CH_2Cl_2, -78°C à t. a., 70 % ; (d) N^3-benzoyluracile, DBAD, Ph_3P, THF, -10°C à t. a., 87 % ; (e) TFA / H_2O (14 / 1), 0°C, 89 % ; (f) (*S*)-2-Me-CBS, CB, CH_2Cl_2, -78°C à t. a., 99 % ; (g) p-$NO_2C_6H_4CO_2H$, DBAD, Ph_3P, THF, -10°C à t. a., 91 % ; (h) Me_2NH, EtOH, 99 %

Schéma III-3 : Synthèse de l'analogue cyclohexénique III.21

Suivant la même stratégie de synthèse, le dérivé de configuration *L* **III.25** a été développé par la même équipe (Schéma III-4), la seule différence avec la voie précédente étant l'introduction de l'uracile avec rétention de configuration *via* un couplage palladié.



(a) Br_2, Et_2O, -10°C à 0°C ; (b) DBU, dioxane, 100°C, 78 % ; (c) (*S*)-2-Me-CBS, CB, CH_2Cl_2, -78°C à t. a., 70 % ; (d) $ClCO_2Et$, pyr., DMAP, CH_2Cl_2 ; (e) N^3-benzoyluracile, $(\eta^3\text{-}C_3H_5PdCl)_2$, dppe, DMF, 80°C, 72 % ; (f) TFA / H_2O (14 / 1), 0°C, 89 % ; (g) (*S*)-2-Me-CBS, CB, CH_2Cl_2, -78°C à t. a., 99 % ; (h) p-$NO_2C_6H_4CO_2H$, DBAD, Ph_3P, THF, -10°C à t. a., 91 % ; (i) Me_2NH, EtOH, 99 %

Schéma III-4 : Synthèse de l'analogue cyclohexénique III.25

2.1.2- *Via un réarrangement de Ferrier*

La synthèse de l'analogue trihydroxylé **III.33** a été proposée en 2007 par Herdewijn et *coll.*[115c] (Schéma III-5). Le composé **III.27**, obtenu en 13 étapes à partir de l'α-*D*-glucopyranoside de méthyle, a d'abord été iodé sur son hydroxyle primaire. Le dérivé iodé **III.28** a ensuite été mis en réaction avec le DBU pour conduire à la molécule **III.29** présentant une double liaison exocyclique. Un réarrangement de Ferrier[207] a ensuite permis de générer le cyclohexane **III.30** avant une élimination menant à l'énone **III.31**. Une réduction dans les conditions de Luche a abouti à la formation de l'alcool allylique **III.32** sur lequel l'adénine a finalement été introduite par réaction de Mitsunobu pour accéder à l'analogue cyclohexénique **III.33**.

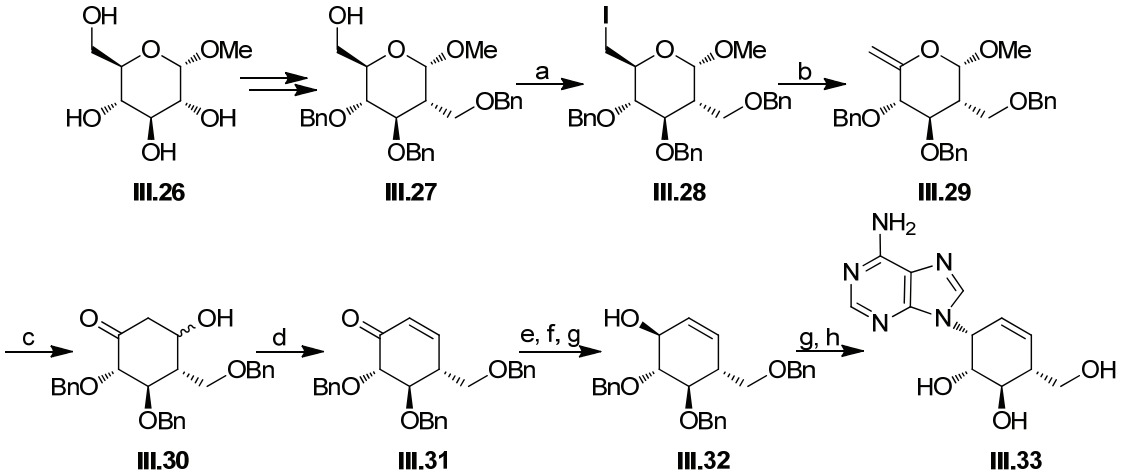
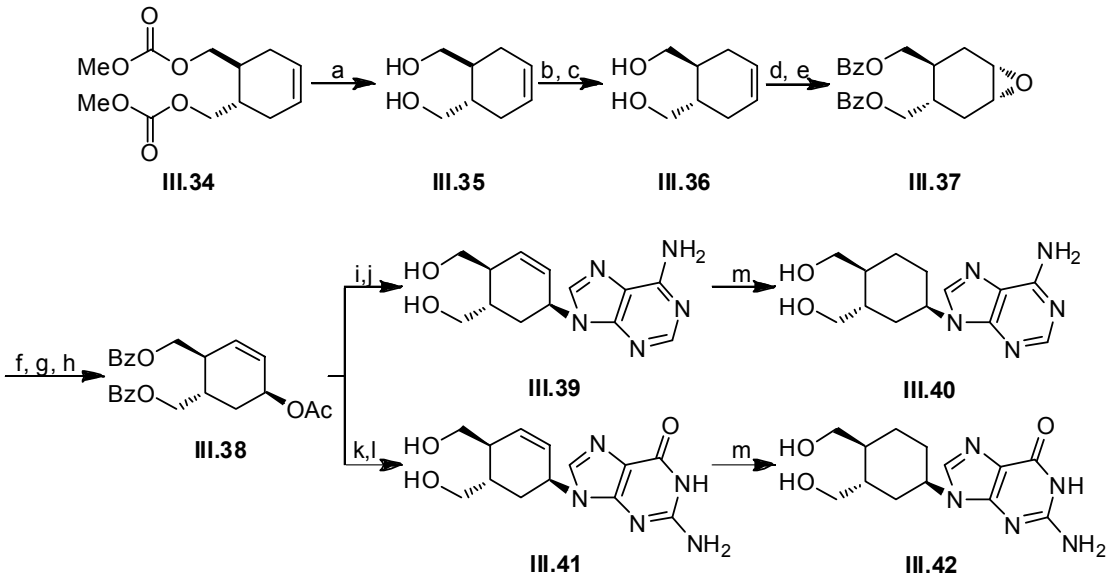


Schéma III-5 : Synthèse de l'analogue cyclohexénique III.33

2.2- Par acétylation énantiosélective enzymatique

Dans leur préparation des analogues puriques **III.39** à **III.42** (Schéma III-6), Rosenquist et Kvarnstrom[119] ont effectué l'acétylation énantiosélective enzymatique du diol **III.35** à l'aide de l'enzyme SAM-II en présence d'acétate de vinyle. Cette étape clé a conduit, après désacétylation, au diol optiquement actif **III.36**. La protection de celui-ci sous forme de benzoyle, suivie de l'époxydation de la double liaison par le *m*-CPBA, a permis de former le dérivé **III.37**. Une réaction en présence de TMSOTf et de DBU, suivie d'une méthanolyse acide et d'une acétylation dans des conditions classiques, a fourni l'alcool allylique acétylé **III.38**, sur lequel l'adénine et la guanine ont été introduites avec rétention de configuration par couplage palladié, pour finalement accéder aux analogues cyclohexéniques **III.39** et **III.41**. Les nucléosides cyclohexaniques **III.40** et **III.42** ont, quant à eux, été obtenus par hydrogénation catalytique de leurs homologues cyclohexéniques.

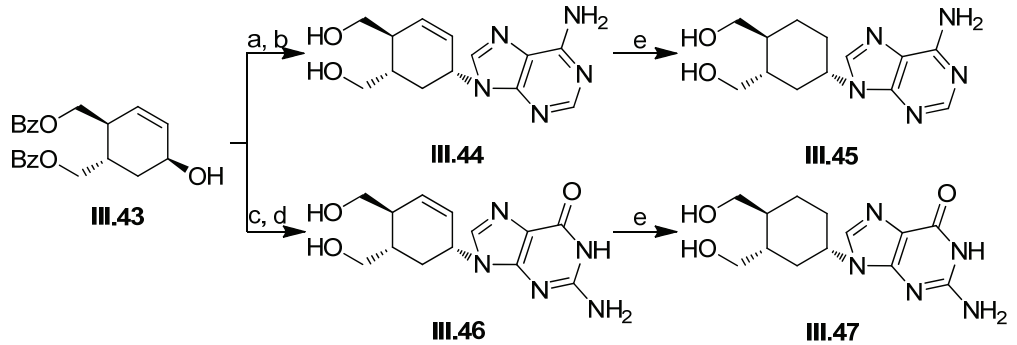
[207] Ferrier, R. J.; Middleton, S. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2779.



(a) $LiAlH_4$, TFH, 93 % ; (b) SAM-II, acétate de vinyle, $CHCl_3$, 44 % ; (c) NaOMe, MeOH, 36 %, 100 % ee ; (d) BzCl, pyr., 98 % ; (e) *m*-CPBA, CH_2Cl_2, 87 % ; (f) TMSOTf, DBU, $PhCH_3$; (g) MeOH / H^+, 86 % ; (h) Ac_2O, pyr.,96 % ; (i) adénine, NaH, $Pd(PPh_3)_4$; (j) MeOH, NH_3 / MeOH, 69 % ; (k) 2-amino-6-chloropurine, NaH, $Pd(PPh_3)_4$; (l) NaOH / H_2O, 46 % ; (m) H_2, Pd/C, 98 % (**III.33**), 95 % (**III.35**)

Schéma III-6 : Synthèse des analogues cyclohexénique et cyclohexaniques III.39 à III.42

En employant la réaction de Mitsunobu à la place du couplage au palladium, induisant par ce fait une inversion de configuration au niveau du carbone portant la base nucléique, les mêmes auteurs ont synthétisé les analogues de configuration inverse **III.44** à **III.47** (Schéma III-7).



(a) 6-chloropurine, Ph_3P, DIAD ; (b) MeOH, NH_3 / MeOH, 52 % ; (c) 2-amino-6-chloropurine, Ph_3P, DIAD ; (d) NaOH / H_2O, 34 % ; (e) H_2, Pd/C, 99 % (**III.45**), 93 % (**III.47**)

Schéma III-7 : Synthèse des analogues cyclohexéniques et cyclohexaniques III.44 à III.47

3- Préparation des analogues de nucléosides cyclohexéniques

3.1- Stratégie de synthèse

Dans l'optique d'accéder aux analogues cyclohexéniques envisagés, le schéma rétrosynthétique suivant a été proposé (Schéma III-8). Les nucléosides cyclohexéniques **III.80** et **III.86** seraient préparés par élaboration des bases puriques ou pyrimidiques autour de l'amine primaire du triol **III.58**, dont les trois hydroxyles primaires auraient préalablement été protégés. Ce triol **III.58** résulterait de la réduction de la partie lactonique et de l'ester conjugué de l'adduit **III.56**.

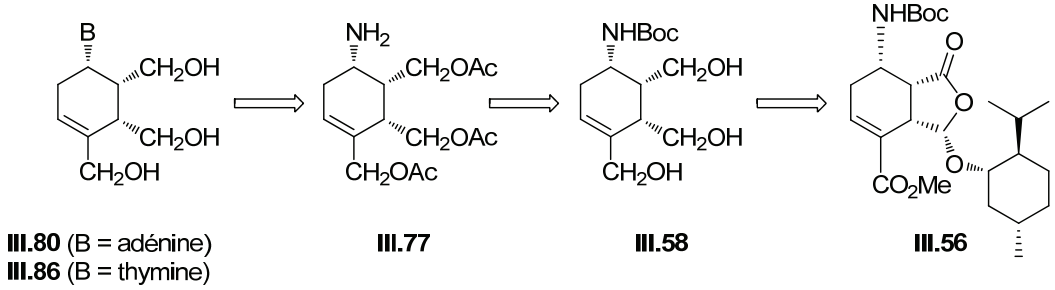


Schéma III-8 : Rétrosynthèse des nucléosides cyclohexéniques III.81 et III.86

L'adduit **III.56**, quant à lui, dériverait d'une étape de cycloaddition [4+2] entre le diène (*E*,*E*) **III.51** et le diénophile **III.54** (Schéma III-9). Le diène **III.51** serait issu de l'ouverture du lactame bicyclique **III.50**, accessible par voie photochimique avant protection par un groupement Boc. Le diénophile **III.54** résulterait de la réaction entre la furanone **III.53**, également accessible par voie photochimique, et le *D*-menthol.

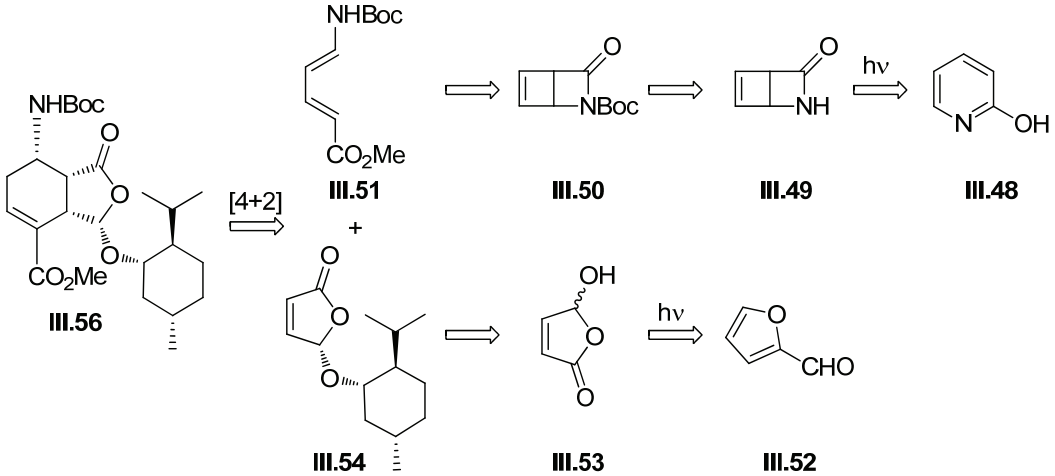


Schéma III-9 : Rétrosynthèse de l'adduit III.56

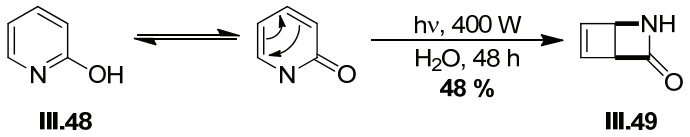
En résumé, les étapes clés que nous avons définies sont :

- L'obtention stéréosélective du diène (*E*,*E*) **III.51**,
- La réaction de cycloaddition [4+2] entre le diène **III.51** et le diénophile **III.54**,
- L'élaboration des bases puriques et pyrimidiques.

3.2- Préparation de l'adduit III.56

3.2.1- Préparation du diène III.51

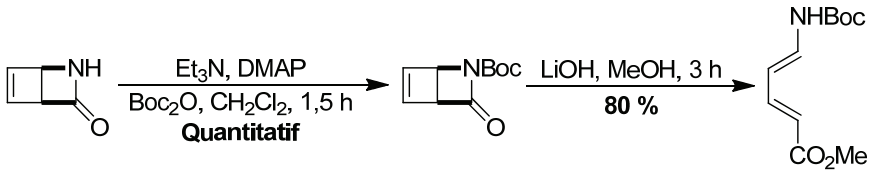
Le lactame bicyclique **III.49** est le composé clé de notre synthèse pour accéder au diène (*E*,*E*) **III.51**. Nous l'avons préparé selon des conditions décrites par Dilling,[208] par fermeture électrocyclique de la pyridin-2-one **III.48** selon une voie photochimique (Schéma III-10). L'avantage de cette méthode est d'utiliser un réactif peu coûteux et de s'effectuer à température ambiante dans l'eau. Néanmoins, Dilling l'a décrite en milieu relativement dilué (10^{-3} M) car le rendement de la réaction semble varier selon la concentration. En effet, à une concentration de 10^{-3} M, le rendement est de 88 %. Il chute rapidement si l'on augmente la concentration. Au sein de notre équipe, Noëlle Gauvry[209] est parvenue à trouver un compromis entre le rendement et la quantité de lactame recueillie. Le meilleur résultat a été obtenu en partant de 3,95 g de pyridin-2-one et à la concentration de $4{,}10.10^{-2}$ M. On obtient alors une quantité de lactame isolée de 1,9 g (48%).



III.48 **III.49**

Schéma III-10 : Préparation du lactame bicyclique III.49

La protection de la fonction azote du lactame **III.49** sous sa forme Boc est ensuite effectuée dans des conditions classiques pour conduire au lactame protégé **III.50** avec un rendement quantitatif (Schéma III-11). L'ouverture en diène (*E*,*E*) **III.51** est ensuite entreprise selon des conditions décrites au sein de notre équipe.[209] Ainsi, la méthanolyse du lactame **III.50**, à l'aide d'hydroxyde de lithium en présence de méthanol, fournit le diène (*E*,*E*) **III.51** avec un bon rendement de 80 %.



III.49 **III.50** **III.51**

Schéma III-11 : Préparation du diène (*E*,*E*) III.51

3.2.2- Préparation du diénophile III.54

La 2-hydroxy-2(5H)-furanone **III.53** a été préparée par une méthode décrite par Paquette et *al.*[210] Le 2-furfuraldéhyde **III.52** est mis en solution dans du méthanol en présence de Rose de Bengale, puis irradié sous dégazage de dioxygène. Les auteurs ont utilisé une

[208] Dilling, W. L. *Org. Photochem. Synth.* **1976**, *2*, 5.
[209] (a) Gauvry, N. *Thèse de Doctorat*, Université du Maine, Le Mans, **1999**; (b) Gauvry, N.; Huet, F. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 583.
[210] Moradei, O. M.; Paquette, L. A. *Org. Synth.* **2003**, *80*, 66.

lampe de 600 W pendant 20 heures de réaction. Ne disposant pas d'une telle lampe, nous avons mené la réaction pendant 40 heures sous irradiation d'une lampe de 400 W et obtenu la 2-hydroxy-2(5H)-furanone **III.53** souhaitée avec un rendement de 86 % (Schéma III-12).

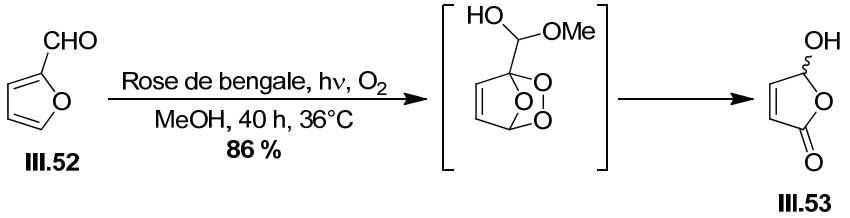


Schéma III- 12 : Préparation de la 2-hydroxy-2(5H)-furanone III.53

Nous avons ensuite pu entreprendre la synthèse du diénophile **III.54** selon des conditions décrites par Feringa et *coll.*[211]. Pour cela, la 5-hydroxy-2(5*H*)-furanone **III.53** est mise en présence d'acide *D*-(+)-camphre sulfonique et de *D*-(+)-menthol au reflux du toluène. Les deux diastéréoisomères **III.54** et **III.55** sont ainsi obtenus dans un rapport 1 / 1 et avec un rendement global de 89% (Schéma III-13). Une cristallisation dans l'éther de pétrole à -30°C permet d'isoler la (+)-5-(*D*-menthyloxy)-2(5*H*)-furanone **III.54**. Le dérivé **III.55**, qui ne cristallise pas, est épimérisé en présence d'acide *D*-(+)-camphre sulfonique au reflux du dichlorométhane pendant 19 heures. A nouveau, l'étape de cristallisation nous permet d'isoler le diénophile **III.54** avec un rendement global de 59 % à partir de la furanone **III.53**.

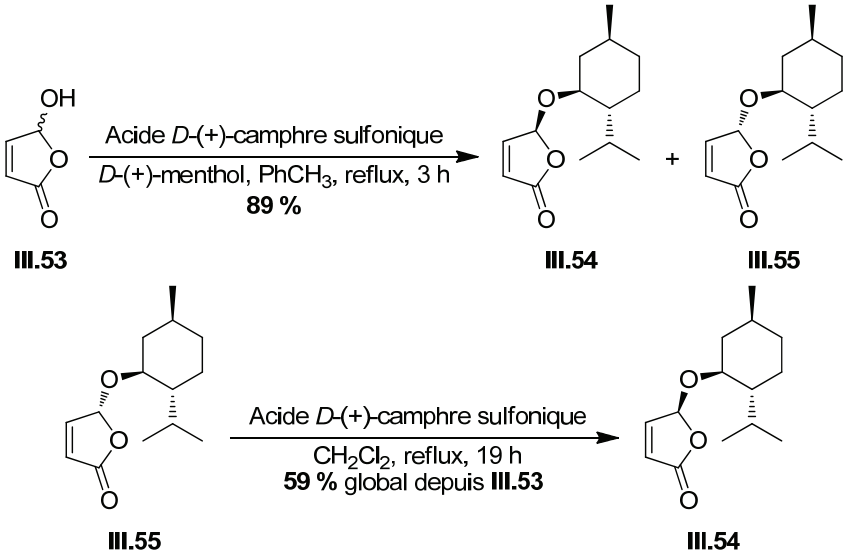


Schéma III-13 : Préparation du diénophile III.54

[211] Feringa, B. L.; De Lange, B.; De Jong, J. C. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2471.

3.2.3- Préparation de l'adduit III.56

La synthèse de l'adduit **III.56** a déjà été décrite dans notre équipe par Ramzi Ait-Youcef.[212] Il avait ainsi été expliqué que la réaction de cycloaddition [4+2] entre le diène **III.51** et le diénophile **III.54**, conduite en tube scellé à 120°C, permettait l'accès à l'adduit **III.56** dont la double liaison est conjuguée à l'ester (Schéma III-14). L'endo- et régiosélectivité totale de cette réaction avaient été déterminées d'après l'analyse des données RMN.

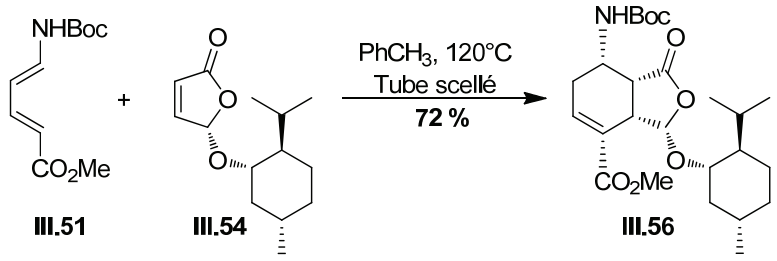


Schéma III-14 : Synthèse de l'adduit III.56 déjà effectuée au laboratoire

Nous avons donc décidé de réutiliser ces conditions. Ainsi, le diène (*E*,*E*) **III.51** réagit avec le diénophile **III.54**, dans le toluène à 120°C, et en tube scellé. Cependant, seul l'adduit **III.57** ne présentant pas la double liaison conjuguée avec l'ester est isolé avec un faible rendement de 20 % (Schéma III-15).

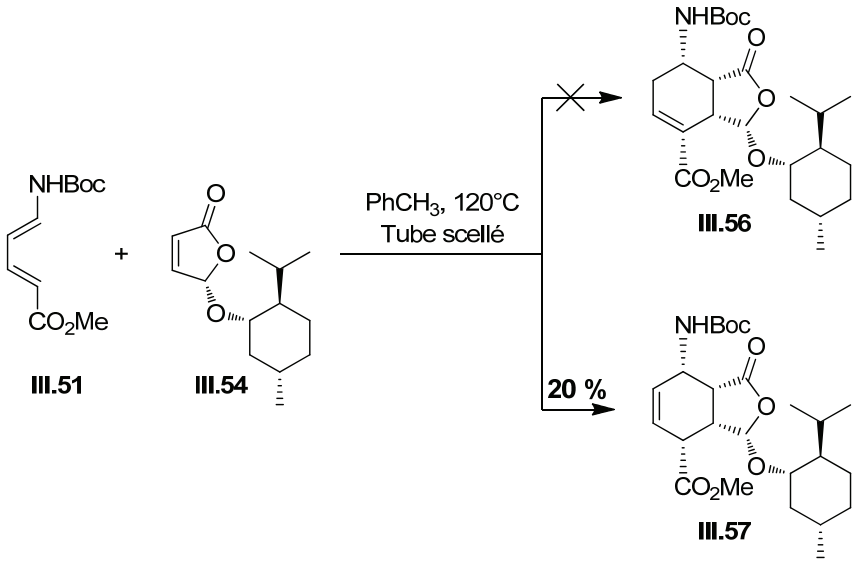


Schéma III-15 : Non obtention de l'adduit III.56

Pour expliquer cette isomérisation induite, nous avons émis l'hypothèse que, lors des essais réalisés antérieurement au laboratoire, il pouvait rester des traces d'acide camphre sulfonique dans le diénophile **III.54**, ou des traces d'hydroxyde de lithium dans le diène **III.51**. Celles-ci auraient pu induire l'isomérisation de la double liaison qui se serait alors conjuguée avec l'ester. Afin de confirmer notre hypothèse, l'adduit **III.57** est mis en présence de traces d'acide *D*-(+)-camphre sulfonique au reflux du toluène pendant douze heures

[212] Ait-Youcef, R. *Thèse de Doctorat*, Université du Maine, Le Mans, **2005**.

(Schéma III-16). Malheureusement, la double liaison n'est pas isomérisée dans ces conditions et seul le composé de départ est récupéré.

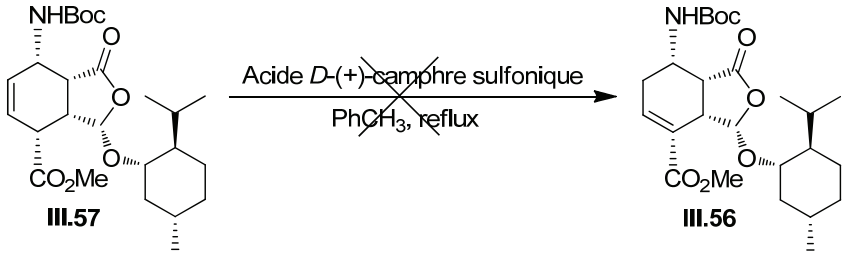


Schéma III-16 : Tentative de conjugaison de la double liaison de l'adduit III.57 en conditions acides

En revanche, en présence de traces d'hydroxyde de lithium au reflux du toluène, la double liaison de l'adduit **III.57** se conjugue avec la fonction ester pour fournir quantitativement l'adduit α,β-insaturé **III.56** au bout de douze heures de réaction (Schéma III-17).

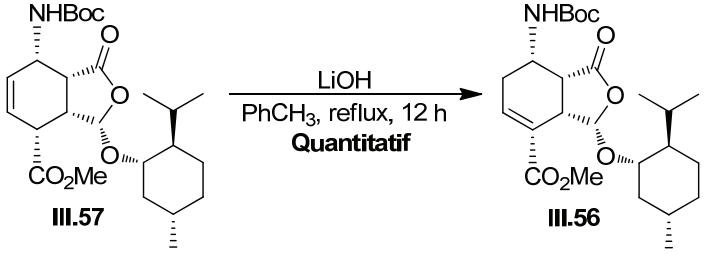


Schéma III-17 : Conjugaison de la double liaison de l'adduit III.57 en conditions basiques

Nous avons donc décidé de conduire systématiquement la cycloaddition [4+2] de Diels-Alder en présence de lithine. Dans ces conditions, le diène **III.51** conduit, par réaction avec le diénophile **III.54**, à la formation directe de l'adduit **III.56** avec 72 % de rendement (Schéma III-18).

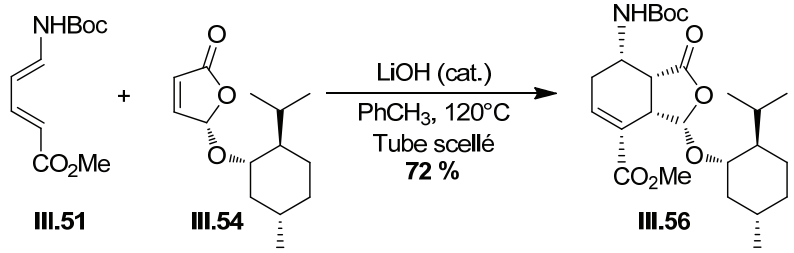


Schéma III- 18 : Préparation de l'adduit III.56

De façon à confirmer la stéréochimie induite par cette cycloaddition, une analyse par diffraction aux rayons X a été effectuée. Celle-ci a permis de prouver le caractère endo- et régiosélectif total de cette réaction (Figure III-2).

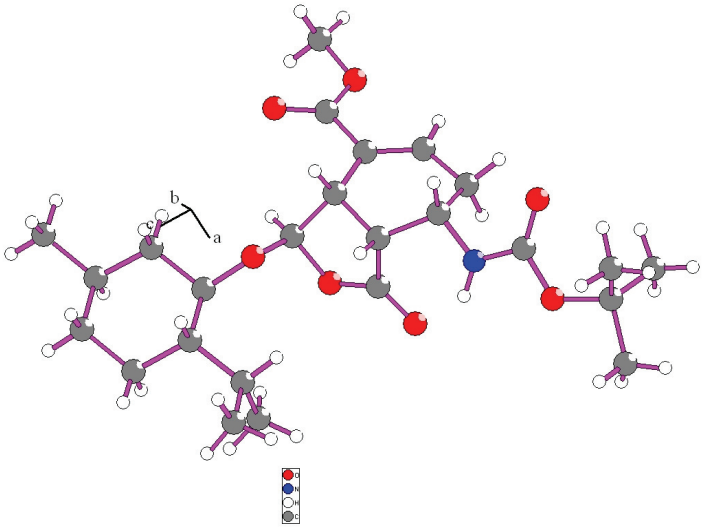


Figure III-2 : Analyse RX du composé III.56

3.3- Préparations des nucléosides cyclohexéniques III.80 et III.86

3.3.1- Préparation puis protection du triol cyclohexénique III.58

La réduction de l'adduit **III.56** a ensuite été entreprise. Dans notre équipe, cette réaction a déjà été effectuée en présence d'hydrure mixte de lithium et d'aluminium, selon des conditions décrites par l'équipe de Feringa.[213] Celle-ci a conduit au triol **III.58** avec un faible rendement variant selon les réactions de 15 % (Schéma III-19). Le produit secondaire **III.59** avait vraisemblablement été obtenu par addition de Michael du menthol sur la double liaison conjuguée de l'adduit **III.56**.

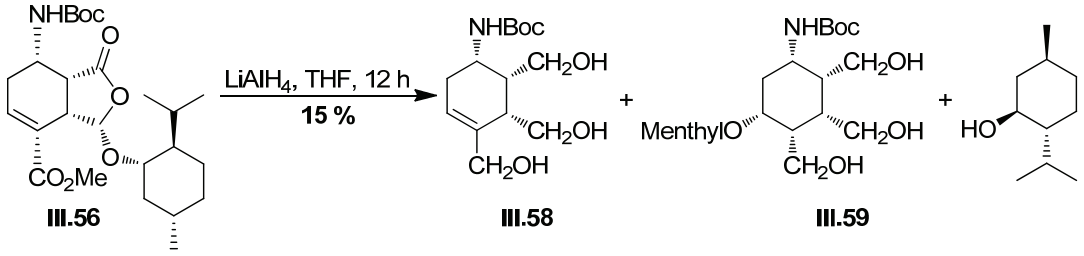


Schéma III-19 : Réduction de l'adduit III.56 par LiAlH4

Afin d'accéder au triol cyclohexénique **III.58** avec un meilleur rendement, une large gamme de réducteurs a été testée (Tableau III-1).

[213] Feringa, B. L.; De Lange, B.; De Jong, J. C. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2471.

Entrée	Hydrure (éq)	Solvant	T°C	Temps	Composé obtenu
1	$NaBH_4$ (3 éq)	MeOH	0°C à t. a.	24 h	Produit de départ
2	$NaBH_4$, $CeCl_3.7H_2O$ (3 éq)	MeOH	0°C à t. a.	24 h	Produit de départ
3	$LiBH_4$ 2 M (3 éq)	THF	0°C à reflux	24 h	Produit de départ
4	$LiAlH_4$, $AlCl_3$ (3 éq)	THF	0°C à t. a.	24 h	Mélange de produits / pas de triol **III.58**
5	$LiBHEt_3$ (6 éq)	THF	0°C	12 h	Mélange de produits / pas de triol **III.58**
6	*DIBAL-H (6 éq)*	*Toluène*	*-78°C à t. a.*	*24 h*	*Triol **III.58**,*

Tableau III-1 : Différents réducteurs testés pour la réduction de l'adduit III.56 en triol III.58

Les premiers essais ont été menés en présence de $NaBH_4$ (Entrée 1), dans les conditions de Luche (Entrée 2) ou à l'aide de $LiBH_4$ (Entrée 3). Aucun n'a permis la réduction de l'adduit **III.56** et, dans les trois cas, le produit de départ a été récupéré. L'utilisation d'hydrure d'aluminium généré *in situ* par réaction de l'hydrure mixte d'aluminium et de lithium avec le chlorure d'aluminium n'a pas non plus abouti à la formation du triol **III.58** souhaité et un mélange complexe non séparé a été observé (Entrée 4). Il en a été de même en employant le super hydrure $LiBHEt_3$ (Entrée 5). Au final, seul l'essai effectué à l'aide du DIBAL-H, à une température allant de -78°C à température ambiante (Entrée 6), s'est avéré concluant et a fourni le triol **III.58**.

La réaction avec le DIBAL-H a lieu à -78°C pendant trois heures avant de remonter à température ambiante, on peut donc supposer que l'ester conjugué est d'abord réduit en alcool allylique (Schéma III-20), ce qui permet par la suite d'éviter les réactions parasites sur la double liaison conjuguée. La remontée à température ambiante induirait ensuite l'ouverture de la lactone en diol. Au final, le triol **III.58** est obtenu avec un bon rendement brut de 57 %.

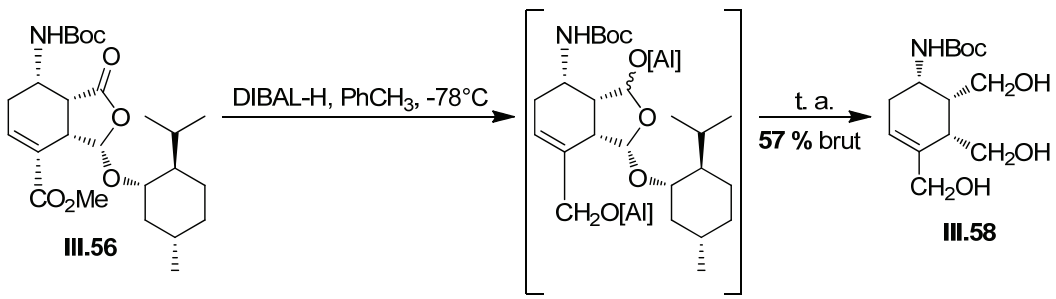


Schéma III-20 : Mécanisme supposé de la réduction de l'adduit III.56 par le DIBAL-H

Celui-ci est ensuite directement acétylé en présence d'anhydride acétique et de DMAP dans la pyridine pour conduire au triacétate **III.59** avec un bon rendement de 51 % sur 2 étapes (Schéma III-21).

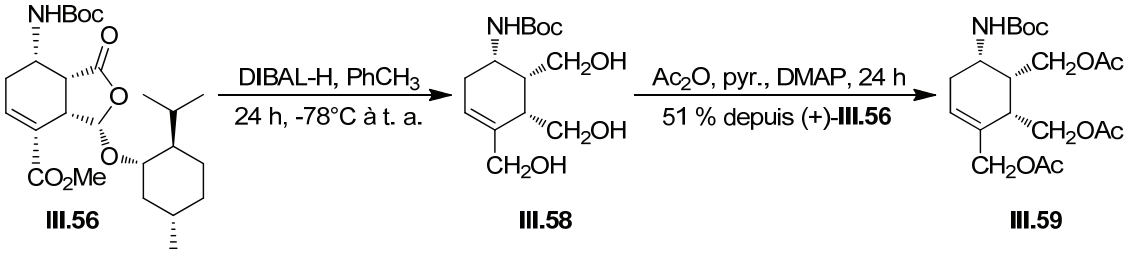


Schéma III-21 **: Préparation du triacétate III.59**

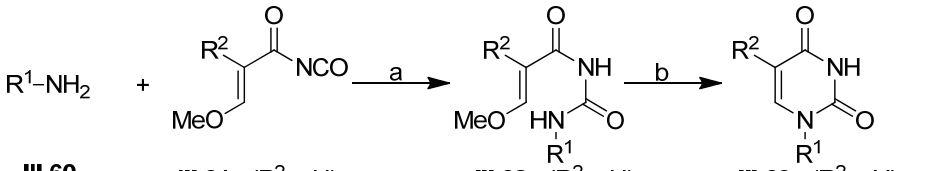
3.3.2- Elaboration des bases nucléiques

Pour la préparation de nos analogues de nucléosides cyclohexéniques, nous avons projeté d'introduire des bases puriques et pyrimidiques, à savoir l'adénine et la thymine. Ces bases seront construites autour de l'amine primaire déprotégée du triacétate **III.59**. Avant de décrire ces résultats, nous rappellerons préalablement les principales méthodes utilisées pour élaborer les bases nucléiques.

3.3.2.a- Méthodes de construction des bases pyrimidiques et puriques autour d'une amine primaire

i) Construction des bases pyrimidiques

La thymine et l'uracile sont généralement construites selon la méthode de Schaw et Warrener[214] (Schéma III-22). L'amine **III.60** est couplée avec un isocyanate d'acryloyle **III.61** pour fournir une urée intermédiaire **III.62**. Une cyclisation en milieu acide ou basique permet de finaliser la formation des pyrimidines **III.63**.

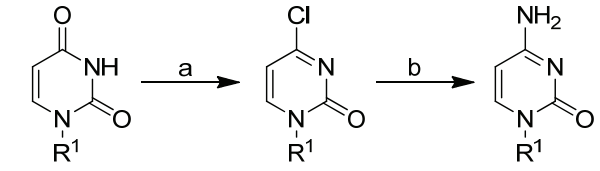


(a) PhH, DMF, -20°C à t. a. ; (b) H_2SO_4, MeOH / H_2O,reflux ou NH_4OH / MeOH, reflux

Schéma III-22 : Construction de la thymine et de l'uracile selon les conditions de Schaw et Warrener

[214] Shaw, G.; Warrener, R. N. *J. Chem. Soc.* **1958**, 153.

La cytosine **III.65**, quant à elle, se prépare en deux étapes à partir de l'uracile **III.63a**, par chloration puis traitement à l'ammoniac sous pression (Schéma III-23).

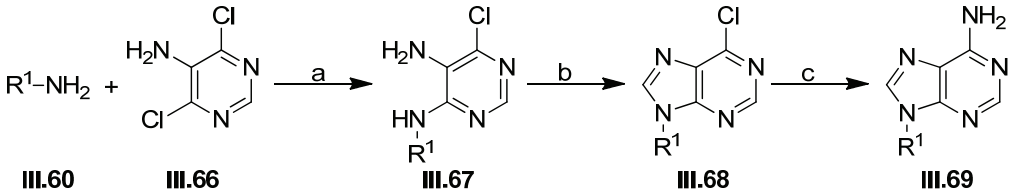


(a) $SOCl_2$, DMF / $CHCl_3$, reflux ; (b) NH_3 / MeOH, pression

Schéma III-23 : Construction de la cytosine

ii) Construction des bases puriques

Classiquement, la construction de l'adénine se déroule en trois étapes.[215] La première est une substitution nucléophile aromatique entre une amine **III.60** et la 5-amino-4,6-dichloropyrimidine **III.66** conduisant à l'intermédiaire **III.67**. Une cyclisation en milieu acide puis une réaction sous pression avec de l'ammoniac permet d'obtenir l'adénine **III.69** (Schéma III-24).



(a) Et_3N, BuOH, reflux ; (b) $CH(OEt)_3$ / Ac_2O ou $MeCO_2CH(OEt)_2$; (c) NH_3 / MeOH, pression

Schéma III-24 : Construction de l'adénine

Cependant, les rendements de l'étape de substitution nucléophile aromatique peuvent se montrer assez faibles en raison d'un manque de réactivité de la pyrimidine **III.66**. Deux autres substrats facilitant cette étape ont donc été développés : la 4,6-dichloro-5-nitropyrimidine **III.70**[216] et la 4,6-dichloro-5-formamidopyrimidine **III.71**[217] (Figure III-3).

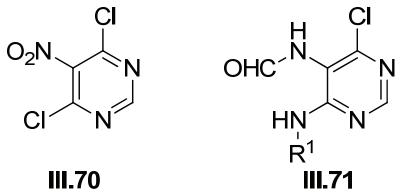
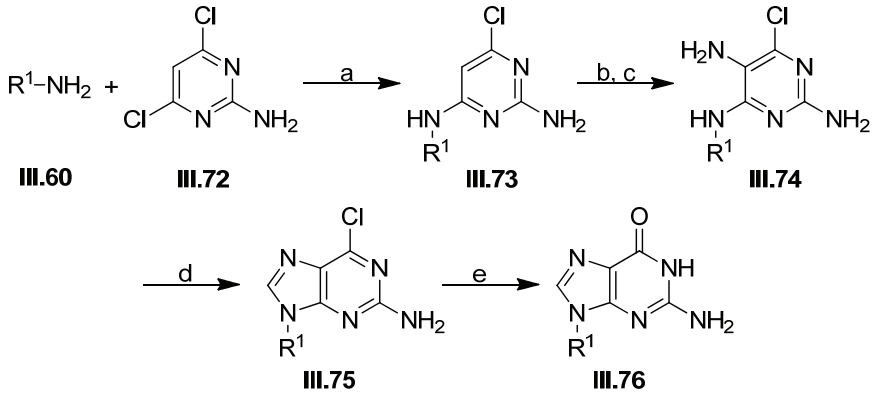


Figure III-3 : Autres substrats utilisés dans la construction de l'adénine

Quant à la guanine, la séquence réactionnelle est comparable.[218] La substitution est effectuée avec la 2-amino-4,6-dichloropyrimidine **III.72** pour former le dérivé **III.73**.

[215] Arita, M.; Adachi, K.; Ito, Y.; Sawai, H.; Ohno, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4049.
[216] Agrofoglio, L.; Condom, R.; Guedj, R.; Challand, R.; Selway, J. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6271.
[217] Harnden, M. R.; Wyatt, P. G.; Boyd, M. R.; Sutton, D. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 187.
[218] Coe, D.; Myers, P.; Parry, D.; Roberts, M.; Storer, R. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 151.

L'amine en position 5 est introduite par couplage avec un sel de diazonium puis réduction. Après cyclisation, la guanine **III.76** est formée par action de la soude (Schéma III-25).



(a) Et_3N, BuOH, reflux ; (b) 4-$ClC_6H_4N_2^+Cl^-$; (c) Zn / AcOH ; (d) $CH(OEt)_3$ / Ac_2O ou $MeCO_2CH(OEt)_2$; (e) NaOH, reflux

Schéma III-25 : Construction de la guanine

3.3.2.b- Préparation de l'analogue purique III.80

Afin de construire l'adénine, nous avons opté pour l'utilisation de la 5-formamido-4,6-dichloropyrimidine **III.71** car cette méthode a déjà été employée dans notre équipe. Ainsi, la réaction entre la 5-amino-4,6-dichloropyrimidine **III.66** et un mélange acide formique / anhydride acétique dans le toluène permet de former le réactif **III.71** avec un excellent rendement de 95 % (Schéma III-26).

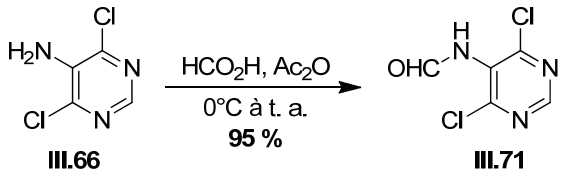


Schéma III-26 : Préparation du réactif III.71

L'étape suivante consiste à déprotéger l'amine primaire du triacétate **III.59**. La réaction est menée en présence de TMSOTf à 0°C pendant quatre heures pour fournir le précurseur aminé **III.77** avec un rendement brut de 95 % (Schéma III-27). Pour éviter une éventuelle migration des fonctions acétates, ce composé est rapidement, et sans purification, engagé dans l'étape suivante.

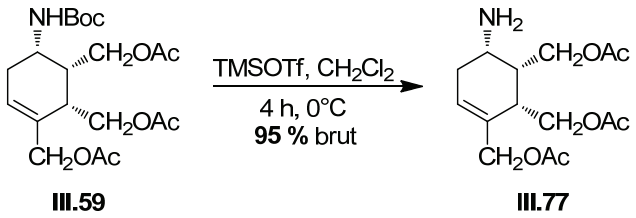


Schéma III-27 : Déprotection du composé III.59

L'amine **III.77** réagit donc selon une réaction de substitution nucléophile aromatique avec la pyrimidine **III.71** qui aboutit à la formation de l'intermédiaire **III.78** (Schéma III-28).

Cependant, des problèmes de purification nous ont poussés à tenter la fermeture de cycle sans purifier le produit brut. Celle-ci, conduite à l'aide d'acétate de diéthoxyméthyle à 120°C, génère le dérivé 6-chloropurine **III.79** dans un mélange de produits non séparables. A nouveau, des problèmes de purification nous ont poussés à entreprendre la dernière étape sans purifier le brut réactionnel. Le composé **III.79** est donc mis en présence d'une solution méthanolique saturée en ammoniac à 80°C sous une pression de onze bars. Après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice, le dérivé cyclohexénique **III.80** est isolé à partir du précurseur aminé **III.77** sans aucune purification au niveau des étapes intermédiaires et avec un bon rendement global de 20 % sur quatre étapes. Au final, nous avons donc synthétisé, en série énantiomériquement pure, un nouvel analogue de nucléoside cyclohexénique adénine **III.80** dont les évaluations biologique auront lieu ultérieurement.

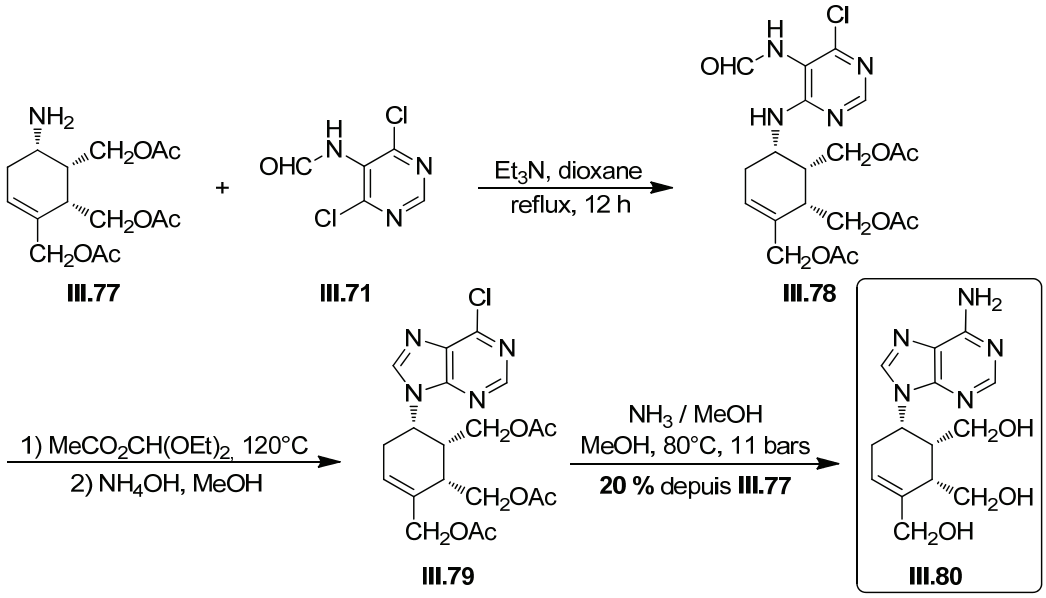


Schéma III-28 : Préparation de l'analogue cyclohexénique III.80

3.3.2.c- Préparation de l'analogue pyrimidique III.86

Pour élaborer la thymine, l'acide 3-méthoxyméthacrylique **III.84** est d'abord préparé à partir du méthacrylate de méthyle **III.81** (Schéma III-29). L'addition de brome sur la double liaison mène à la molécule **III.82**, puis l'action du méthylate de sodium dans le méthanol, et une élimination par chauffage en présence d'hydrogénosulfate de potassium, fournissent l'ester **III.83** qui est saponifié et conduit à l'acide **III.84**.

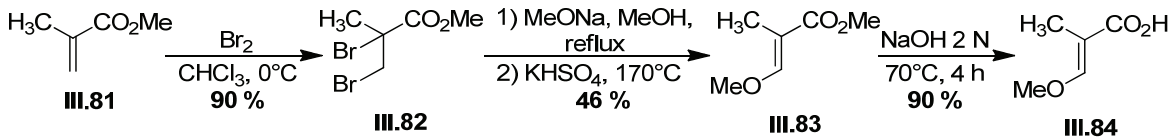


Schéma III-29 : Préparation de l'acide III.84

Le précurseur aminé **III.77** réagit ensuite avec l'isocyanate **III.61b** (généré *in situ* à partir de l'acide **III.84**) selon les conditions décrites par Shaw et Warrener[214] (Schéma III.30), ce qui permet d'isoler l'urée **III.85** avec un rendement modeste de 40 %. La réaction de fermeture de cycle, en présence d'ammoniaque dans le méthanol, à 80°C, et en tube scellé, génère le dérivé thymine **III.86** avec un bon rendement de 59 %. Finalement, nous avons donc synthétisé, en série chirale non racémique, un nouvel analogue de nucléoside cyclohexénique thymine **III.86** qui sera par la suite évalué biologiquement.

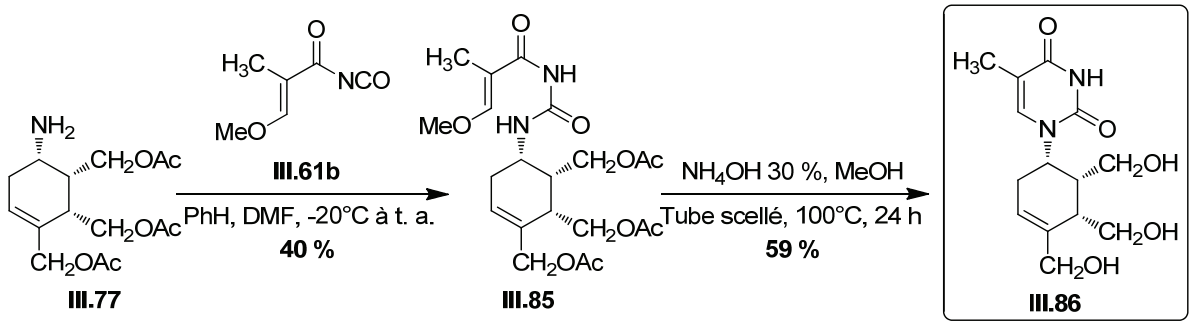


Schéma III-30 : Préparation de l'analogue cyclohexénique III.86

3.4- Approche vers la synthèse d'analogues cyclohexaniques contraints

Comme nous l'avons souligné dans l'introduction de ce chapitre, la structure de nos nucléosides cyclohexéniques préfigure l'accès à de nouveaux analogues cyclohexaniques contraints. En effet, en ouvrant la lactone de l'adduit **III.56** en fonction acétal-ester, il devrait être possible de différencier les hydroxyles présents sur le cycle et de réaliser une cyclisation intramoléculaire par addition de Michael sur la fonction α,β-insaturée (Schéma III-31).

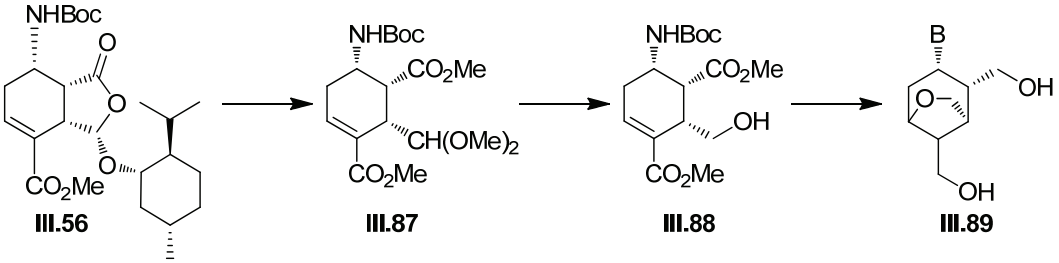


Schéma III-31 : Stratégie de synthèse envisagée des nucléosides cyclohexaniques contraints

Des essais préliminaires ont été effectués selon des conditions décrites par l'équipe de Feringa.[219] L'adduit **III.56** est ainsi mis en présence d'acide *p*-toluène sulfonique au reflux du méthanol pendant vingt-quatre heures (Schéma III-32). Malheureusement, cette réaction n'aboutit qu'à de la dégradation et non à l'acétal **III.87**.

[219] Lubben, M.; Feringa, B. L. *Tetrahedron : Asymmetry* **1991**, *2*, 775.

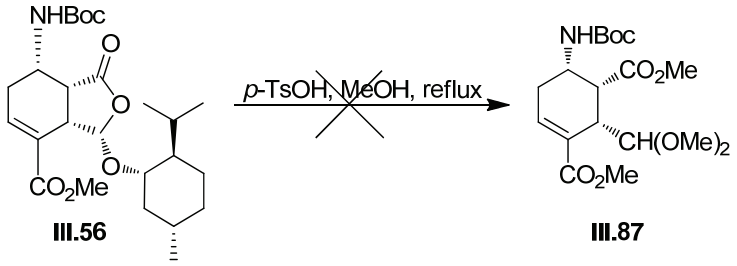


Schéma III-32 : Tentative d'ouverture de la lactone de l'adduit III.56

Nous avons alors envisagé de mener la réaction dans des conditions plus douces. Différentes tentatives de formation de l'acétal **III.87** ont été réalisées (Tableau III-2). Le premier essai a été tenté selon des conditions décrites par Dibble.[220] L'adduit **III.56** réagit avec la résine acide DOWEX dans le méthanol à température ambiante (Entrée 1). L'acétal **III.87** n'est pas obtenu et le produit de départ est récupéré. Les mêmes résultats sont observés en utilisant de l'acide chlorhydrique 1 M en solution aqueuse dans le méthanol (Entrée 2). En conduisant la réaction au reflux du méthanol (Entrée 3), seule l'amine déprotégée est générée. Enfin, en utilisant une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 10 %, et en présence de méthanol, la réaction conduit au produit de départ à température ambiante (Entrée 4) ou à de la dégradation en chauffant à reflux (Entrée 5). Ainsi, aucune des conditions testées ne s'est avérée efficace et cette voie n'a pour l'instant pas abouti.

Entrée	Conditions	Résultats
1	DOWEX, MeOH, t. a.	Produit de départ
2	HCl 1 M, MeOH, t. a.	Produit de départ
3	HCl 1 M, MeOH, reflux.	Clivage du Boc
4	HCl 10 %, MeOH, t. a.	Produit de départ
5	HCl 10 %, MeOH, reflux	Dégradation

Tableau III-2 : Tentatives d'ouverture de la partie lactonique du composé III.56 en acétal

[220] Tu, N. P.; Dibble, P. W. *Synthesis* **1996**, 77.

4- Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons réalisé la synthèse énantiosélective de nouveaux analogues de nucléosides cyclohexéniques trihydroxylés. Les étapes clés de cette synthèse sont :

- La formation stéréosélective d'un diène de configuration (*E*,*E*) et d'un diénophile énantiomériquement pur présentant un inducteur chiral,
- Une cycloaddition [4+2] de Diels-Alder à caractère endo- et régiosélectif total,
- La construction des bases nucléiques à partir d'une amine primaire.

Malgré des problèmes de reproductibilité de la réaction de cycloaddition, déjà décrite dans notre équipe, et des difficultés lors de la réduction du cycloadduit en triol, nous sommes finalement parvenus à former deux nouveaux nucléosides cyclohexéniques énantiomériquement purs dont, l'analogue adénine **III.80** avec un rendement global de 3 % sur dix étapes, et l'analogue thymine **III.86** avec un rendement global de 3,6 % sur neuf étapes (Figure III-4). Ces nouveaux nucléosides seront évalués biologiquement ultérieurement.

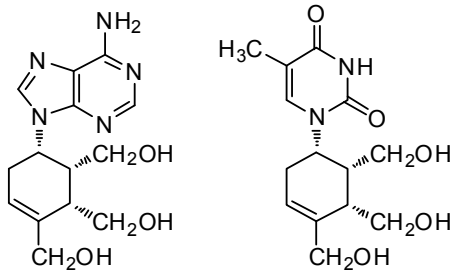


Figure III-4 : Nouveaux analogues de nucléosides cyclohexéniques synthétisés

Cette méthode s'avérant efficace, nous envisageons par la suite d'introduire d'autres bases nucléiques telles que la guanine ou la cytosine (Schéma III-33).

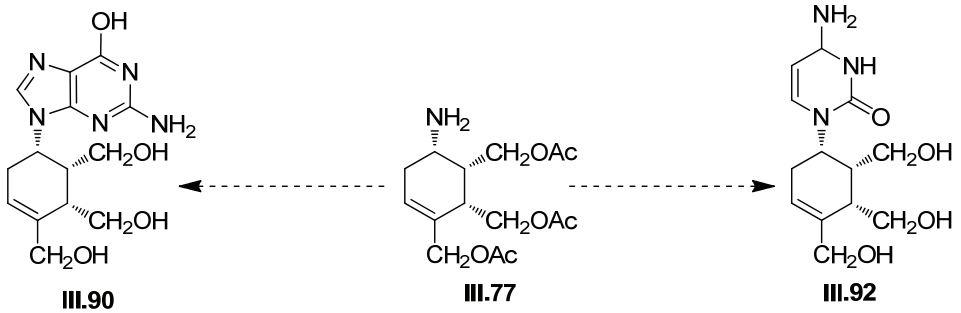
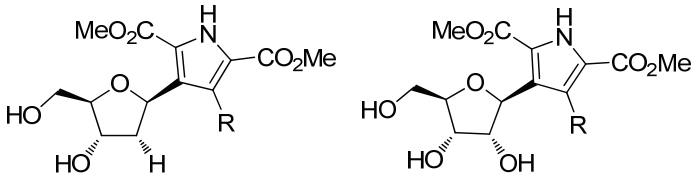


Schéma III-33 : Introduction de la guanine et de la cytosine

CHAPITRE IV : Approche vers la synthèse de galactosyl pyrrolo-pyridinones

1- Introduction

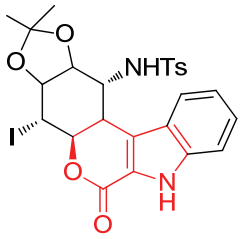
Ce quatrième et dernier chapitre s'inscrit dans le cadre de la prolongation des travaux réalisés précédemment entre notre équipe, possédant des compétences dans les domaines de la chimie des nucléosides et de l'hétérochimie, et celle du Professeur Didier Dubreuil, dont les principaux axes de recherche sont la glycochimie et l'hétérochimie. La mise en commun des compétences de nos deux groupes a notamment conduit à la synthèse de nouveaux analogues *C*-nucléosidiques pyrroliques **IV.A** et **IV.B**[226] qui ont déjà été mentionnés précédemment (Chapitre I, p. 16, Figure I-21) et dont les structures sont rappelées ci-dessous (Figure IV-1).



IV.A **IV.B**

Figure IV-1 : Analogues *C*-nucléosidiques pyrroliques développés par l'équipe du Professeur Didier Dubreuil

De plus, un nombre important de molécules biologiquement intéressantes comportant un motif pyrano-pyrrole (Figure IV-2, motif pyrano-pyrrole représenté en bleu) ont été décrites dans la littérature.[221] Par exemple, l'indolactone **IV.1** a montré des propriétés antitumorales (cellules BXPC-3, GI_{50} = 1,9 µg/mL)[222]. L'activité de ce type de molécule est souvent attribuée au caractère accepteur de Michael des lactones α,β-insaturées.[223]

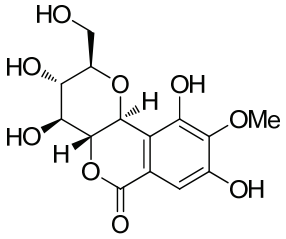


IV.1 (indololactone)

Figure IV-2 : Indolactone IV.1

[221] (a) Collet, L. A.; Davies-Coleman, M. T.; Rivett, D. E. A. *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* **1998**, *75*, 181 ; (b) Mereyala, H. B.; Joe, M. *Curr. Med. Chem.* **2001**, *1*, 293.
[222] Rinner, U.; Hudlicky, T.; Gordon, H.; Pettit, G. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5342.
[223] Hoffman, H. M. R.; Rabe, J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1985**, *24*, 94.

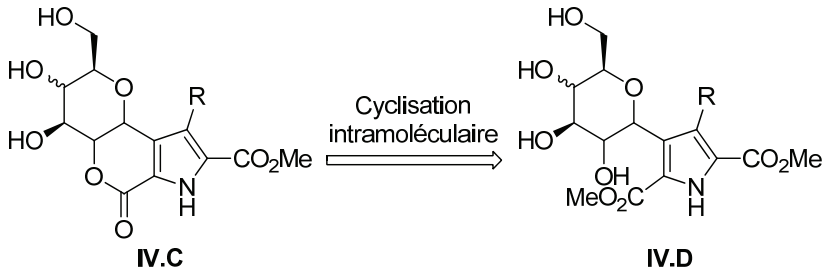
Par ailleurs, la bergénine **IV.2** est un *C*-aryl glucoside qui possède une jonction *trans* entre les positions 1 et 2 du sucre et le cycle lactone (Figure IV-3). Ce composé a exprimé, entre autres, une activité anti-VIH (gp120, $EC_{50} = 40\ \mu g/mL$)[224] et des effets anti-inflammatoires.[225]



IV.2 (bergénine)

Figure IV-3 : Bergénine IV.2

L'équipe du Professeur Didier Dubreuil possède un savoir-faire dans la conception de dérivés pyrroliques et dans le domaine de la glycochimie. Les propriétés intéressantes de la bergénine combinées à celles des pyrano-pyrroles les ont tout naturellement amenés à entreprendre la synthèse de glycosides pyrano-pyrroles **IV.C**. En effet, une cyclisation intramoléculaire entre un groupement ester présent sur un pyrrole, et une fonction hydroxyle judicieusement positionnée sur un glycoside, leur a paru facilement réalisable (Schéma IV-1).



IV.C **IV.D**

Schéma IV-1 : Voie d'accès au motif galactosyl-pyrano-pyrrole par lactonisation intramoléculaire

L'accès à ce type de motif leur a semblé d'autant plus judicieux qu'il peut être réalisé strictement suivant la voie de synthèse déjà mise au point sur la préparation des *C*-nucléosides pyrroliques, avec comme seule modification, le choix de l'acétylénique de départ (Schéma IV-2). Les étapes clés de la stratégie de synthèse impliquent la régression de cycles pyridaziniques en pyrroles et la préparation du dérivé pyridazinique par cycloaddition [4+2] entre la tétrazine et le sucre acétylénique. Les dérivés acétyléniques furanopyranosides β (**Ia**) ont ainsi permis d'accéder aux nucléosides pyrroliques. Les dérivés acétyléniques furanosides ou pyranosides de configuration α et les sucres linéaires (respectivement **Ib**, **Ic**, **Id**) ont fourni les dérivés pyrano-pyrroles.[226]

[224] Piacente, S.; Pizza, C.; De Tommasi, N.; Mahmood, N. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 565.
[225] Swarnalakshmi, T.; Sethuraman, M. G.; Sulochana, N.; Arivudainambi, R. *Curr. Sci.* **1984**, *53*, 917.
[226] Naud, S.; Pipelier, M.; Viault, G.; Adjou, A.; Huet, F.; Legoupy, S.; Aubertin, A.-M.; Evain, M.; Dubreuil, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *20*, 3296.

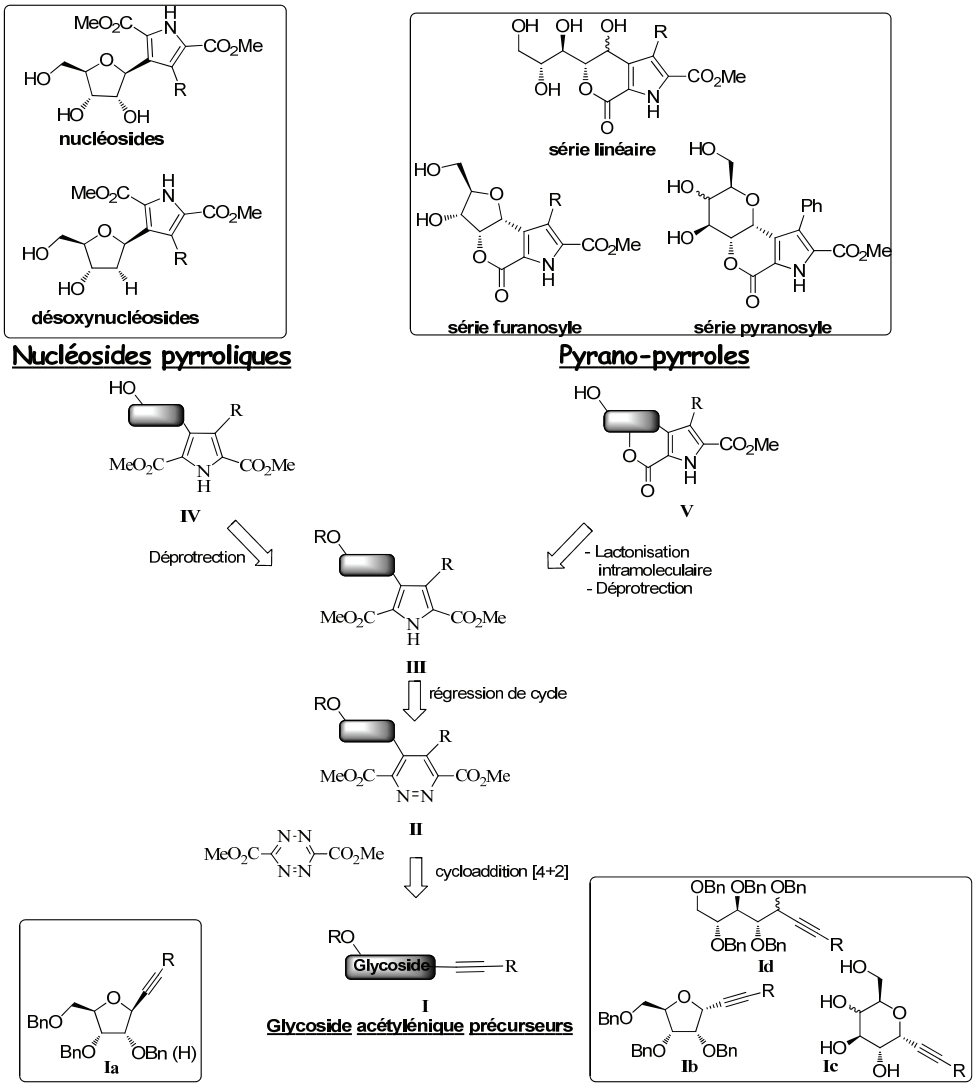
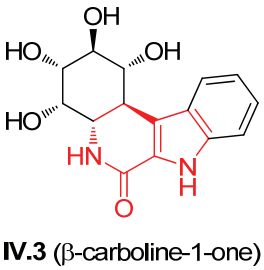


Schéma IV-2 : Stratégie employée par l'équipe du Professeur Didier Dubreuil lors de la synthèse des *C*-nucléosides pyrroliques et des composés pyrano-pyrroles

En outre, les composés pyrrolo-pyridinones, analogues azotés des pyrano-pyrroles, sont également connus pour leurs applications biologiques potentielles (Figure IV-4). Une activité anticancéreuse (P388, GI_{50} = 18,3 µg/mL) a notamment été observée sur l'analogue de la β-carboline-1-one **IV.3**.[222]



IV.3 (β-carboline-1-one)

Figure IV-4 : Dérivé pyrrolo-pyridinone analogue de la β-carboline-1-one IV.3

Ainsi, compte-tenu des travaux antérieurs effectués sur la synthèse des pyrano-pyrroles et des propriétés biologiques intéressantes de leurs analogues azotés, nous avons envisagé le développement de nouveaux dérivés galactosyl-pyrrolo-pyridinones **IV.E**

(Figure IV-5), analogues azotés des pyrano-pyrroles **IV.F** réalisés par l'équipe du Professeur Didier Dubreuil.

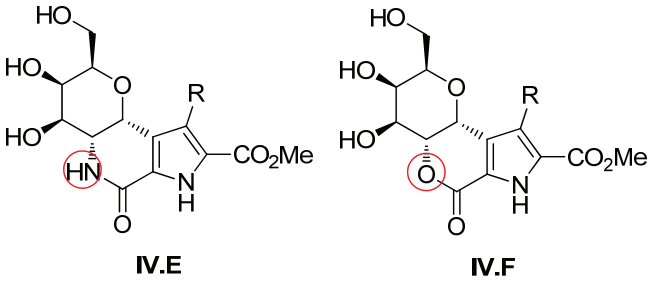


Figure IV-5 : Cibles galactosyl-pyrrolo-pyridinones et leur analogie avec les dérivés pyrano-pyrroles

Les pyrrolo-pyridinones **IV.E** pourraient ainsi être synthétisés à partir de galactosides α-*C*-acétyléniques **IV.I** azotés en position 2, selon la séquence rétrosynthétique de cyclisation-régression de pyridazine-cycloaddition [4+2] (Schéma IV-3). Le groupement azoté pourrait être issu de diverses fonctions (X = NHP, N_3, NO_2). Toutefois, utiliser une amine ne nous semble pas judicieux car il a été prouvé que celles-ci pouvaient réagir par addition nucléophile sur la tétrazine[227] employée dans l'étape de cycloaddition [4+2]. Nous nous sommes donc orientés vers l'utilisation de précurseurs 2-azido- ou 2-nitro-α-*C*-acétyléniques.

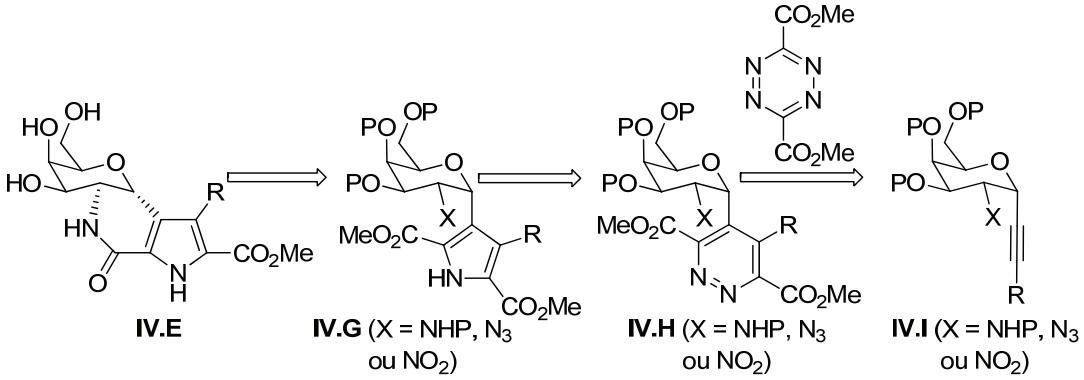


Schéma IV-3 : Rétrosynthèse envisagée pour la préparation des dérivés pyrrolo-pyridinones

Le temps imparti ne nous permettant pas la synthèse totale des dérivés pyrrolo-pyridinones souhaités, nous nous sommes intéressés à la préparation des précurseurs acétyléniques clés azidés ou nitrés **IV.I**, ainsi qu'à la mise au point de l'étape de cycloaddition [4+2] à demande inverse.

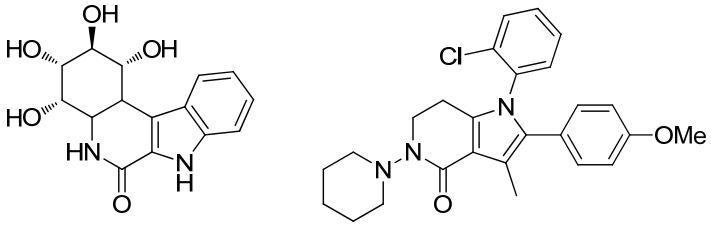
Dans un premier temps, quelques molécules biologiquement actives contenant le motif pyrrolo-pyridinone et les différentes voies de synthèse permettant d'accéder à ce motif seront décrites. La seconde partie sera dédiée à une étude bibliographique concernant l'introduction d'acétyléniques en position α du carbone anomérique de composés pyranosyles. Enfin, notre stratégie de synthèse, la préparation des précurseurs acétyléniques, et quelques essais de cycloaddition [4+2] seront présentés.

[227] Kämpchen, T.; Massa, W.; Overheu, W.; Schmidt, R.; Seitz, G. *Chem. Ber.* **1982**, *115*, 683.

2- Les dérivés pyrrolo-pyridinones

2.1- Intérêt biologique du motif pyrrolo-pyridinone

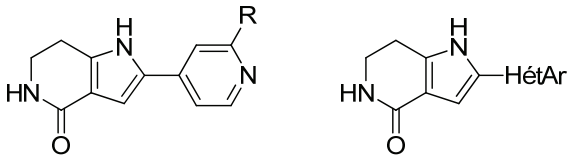
De nombreuses activités biologiques peuvent être associées à des structures plus ou moins complexes contenant une structure pyrrolo-pyridinone. Par exemple, la β-carboline-1-one **IV.3** (Figure IV-6) inhibe la prolifération des cellules P388 (IG_{50} = 18,3 µg/mL) de la leucémie lymphoïde. La molécule **IV.4**, [228] quant à elle, révèle une activité contre l'obésité.



IV.3 (β-carboline-1-one) **IV.4**

Figure IV-6 : Dérivés pyrrolo-pyridinones IV.3 (β-carboline-1-one) et IV.4

Des molécules plus simples tels que les bicycles **IV.5**[229] et **IV.6**[230] (Figure IV-7) ont également exprimé d'intéressantes activités. Les composés **IV.5**, dont la position 2 du pyrrole est substituée par une pyridine, ont présenté des propriétés contre le facteur de nécrose tumorale α (TNFα) (cellules MK-2, IC_{50} = 0,008 à 0,608 µM) qui intervient dans les maladies inflammatoires chroniques. Les dérivés **IV.6**, possédant un hétérocycle aromatique en position 2 du pyrrole, inhibent la Cdc7 kinase (IC_{50} = 0,002 à 0,178 µM), une protéine intervenant dans la réplication de l'ADN, ce qui leur confère une activité antitumorale potentielle.



IV.5 **IV.6**

Figure IV-7 : Dérivés pyrrolo-pyridinones IV.5 et IV.6

Par ailleurs, des activités biologiques ont été observées sur des dérivés tri- ou tétracycliques (Figure IV-8). La quinoléinone **IV.7**[231] ou les indoles **IV.8**,[231] **IV.9**[232] et

[228] Smith, R. A.; Fathi, Z.; Brown, S.-E.; Choi, S.; Fan, J.; Jenkins, S.; Kluender, H. C. E.; Konkar, A.; Lavoie, R.; Mays, M.; Natoli, J.; O'Connor, S. J.; Ortiz, A. A.; Podlogar, B.; Taing, C.; Tomlinson, S.; Tritto, T.; Zhang, Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 673.
[229] Anderson, D. R.; Meyers, M. J.; Vernier, W. F.; Mahoney, M. W.; Kurumbail, R. G.; Caspers, N.; Poda, G. I.; Schindler, G. F.; Reitz, D. B.; Mourey, R. J. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2647.
[230] Vanotti, E.; Amici, R.; Bargiotti, A.; Berthelsen, J.; Bosotti, R.; Ciavilella, A.; Cirla, A.; Cristiani, C.; D'Alession, R.; Forte, B.; Isacchi, A.; Martina, K.; Menichincheri, M.; Molinari, A.; Montagnoli, A.; Orsini, P.; Pillan, A.; Roletto, F.; Scolaro, A.; Tibolla, M.; Valsasina, B.; Varasi, M.; Volpi, D.; Santocanale, C. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 487.
[231] Chen, Y.-L.; Chung, C.-H.; Chen, I. L.; Chen, P.-H.; Jeng, H.-Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 2705.
[232] Wang, S.; Dong, Y.; Wang, X.; Hu, X.; O Liu, J.; Hu, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 911.

IV.10[233] se sont avérés de très bons anticancéreux actifs sur de nombreuses souches. L'analogue quinoléique **IV.7** s'est montré actif sur les mélanomes (SK-MEL-28, GI_{50} = 0,3 µM) tandis que l'indole **IV.8** inhibe l'expression des cellules UO-31 responsables du cancer des ovaires (GI_{50} = 0,55 µM). Quant aux dérivés tricycliques **IV.9** (IC_{50} = 1,20 à 2,11 µM) et **IV.10** (IC_{50} = 1,20 à 2,11 µM), ils inhibent l'expression des cellules HeLa retrouvées dans divers cancers.

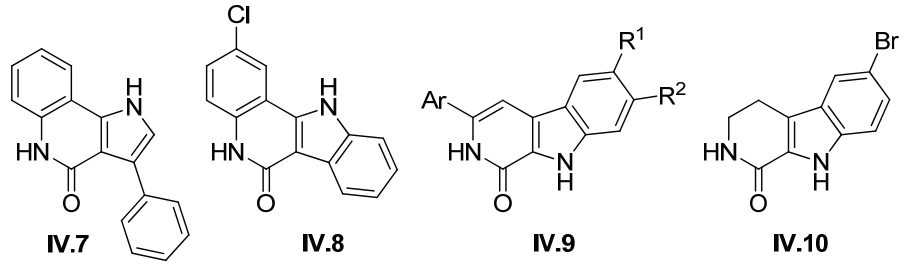


Figure IV-8 : Dérivés pyrrolo-pyridinones tri- et tétracycliques

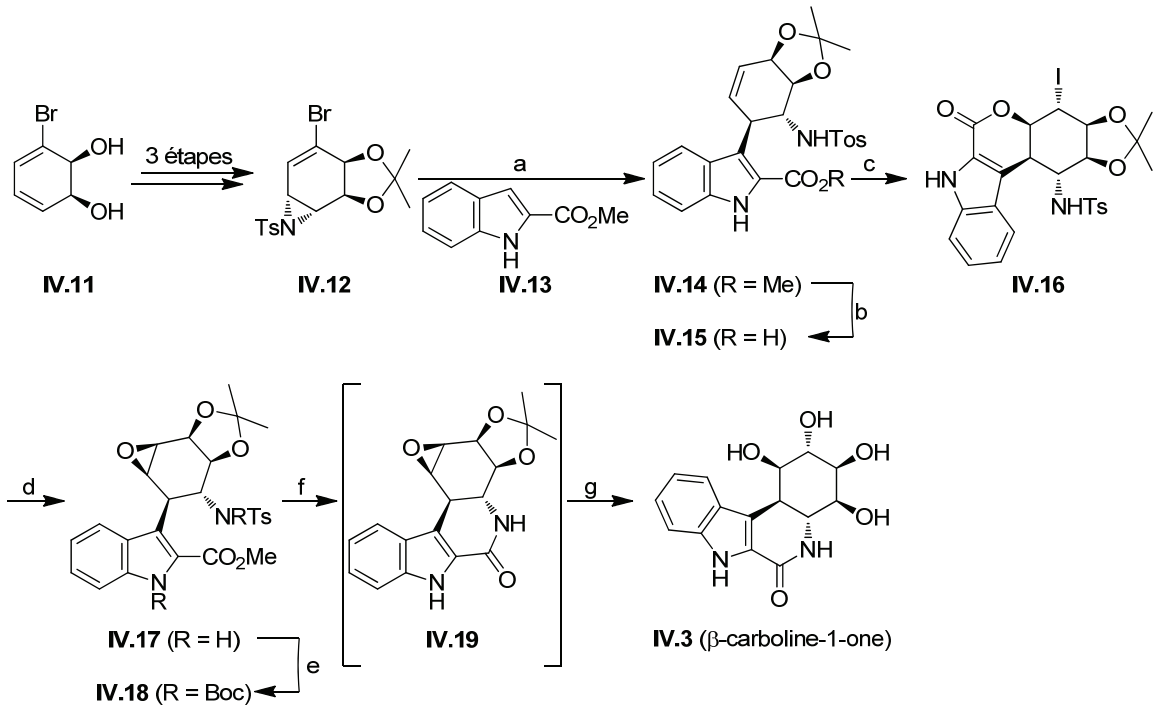
Les dérivés pyrrolo-pyridinones semblent donc présenter d'intéressantes activités biologiques. Dans le prochain paragraphe, nous présenterons quelques voies de synthèse ayant mené à la préparation de molécules contenant le motif pyrrolo-pyridinone.

2.2- Méthodes de synthèse des dérivés pyrrolo-pyridinones

2.2.1- *A partir d'un pyrrole déjà construit*

La synthèse de la β-carboline-1-one **IV.3** a été développée par Hudlicky et *coll.*[222] (Schéma IV-4). La vinylaziridine **IV.12** a été préparée en trois étapes à partir du diol diénique **IV.11**.[234] L'indole **IV.13** et l'aziridine **IV.12** ont ensuite été adsorbés sur gel de silice et chauffés à 70°C pour produire la molécule **IV.14**, qui a été saponifiée pour accéder à l'acide **IV.15**. Une iodolactonisation a ensuite mené au tétracycle **IV.16**, puis un traitement basique a abouti à la formation de l'époxyde **IV.17**. La protection des atomes d'azote sous forme de fonctions Boc, puis le chauffage du composé **IV.18** adsorbé sur silice, ont finalement généré la β-carboline-1-one **IV.3**.

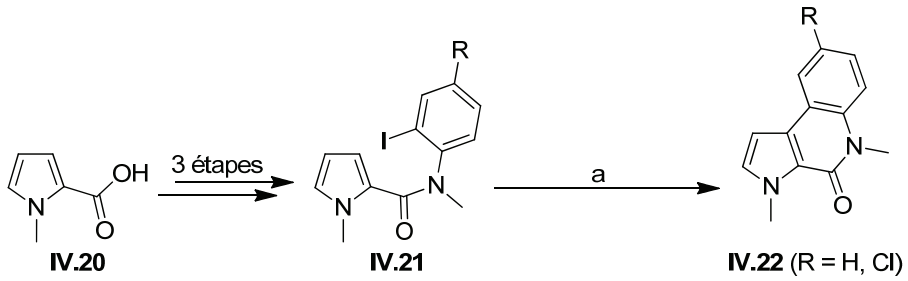
[233] Kim, M. K.; Oh, H. L.; Choi, B.-Y.; Lim, H.; Cho, Y.-H.; Lee, C.-H. *Cancer Sci.* **2007**, *98*, 1402.
[234] Hudlicky, T.; Tian, X. R.; Knigsberger, K. K.; Maurya, R.; Rouden, J.; Fan, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10752.



(a) silice, 70°C, 68 % ; (b) LiOH / H_2O, 95 % ; (c) I_2 / $NaHCO_3$, THF, 71 % ; (d) LiOMe, MeOH, 85 % ; (e) Boc_2O, 40°C ; (f) Na / naphtalène puis silice, H_2O, 1 h, 170°C, 67 % ; (g) silice, H_2O, 16 h, 170°C, 31 %

Schéma IV-4 : Synthèse de la β-carboline-1-one IV.3 par Hudlicky et *al.*

La préparation de pyrrolo-quinoléinones **IV.22** a été proposée par Beccalli et *al.*[235] (Schéma IV-5). Les hétéroarylamides **IV.21** ont tout d'abord été obtenus en trois étapes à partir de l'acide méthylpyrrole-2-carboxylique **IV.20**. Une réaction de Heck intramoléculaire, catalysée par $Pd(PPh_3)_4$ en présence d'acétate de potassium, est ensuite intervenue comme étape clé.



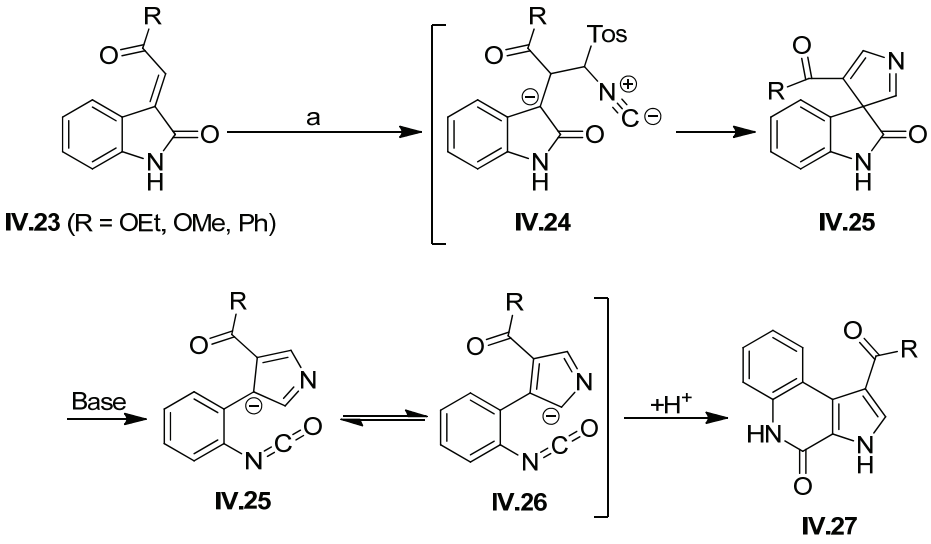
(a) AcOK, 10 % $Pd(PPh_3)_4$, DMA, 120°C, 24 h, 74-89 %

Schéma IV-5 : Synthèse de dérivés pyrrolo-pyridinones IV.22 par Becalli et *al.*

[235] Beccalli, E. M.; Broggini, G.; Martinelli, M.; Paladino, G.; Zoni, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 2091.

2.2.2- *Par construction du pyrrole*

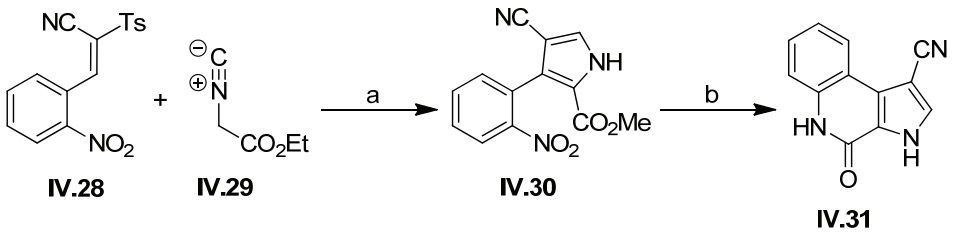
En 2002, Bergman et Rehn[236] ont entrepris la synthèse des pyrrolo-pyridinones **IV.27**, comportant un phényle fusionné au cycle pyridinone et une fonction acyle en position 3 du pyrrole (Schéma IV-6). Une addition de Michael sur le dérivé **IV.23** a formé l'adduit **IV.24** puis, après départ de *p*-toluène sulfinate, une cyclisation a permis d'accéder au composé **IV.25**. Le noyau oxindole, intermédiairement formé, a ensuite été clivé dans les conditions basiques de la réaction pour conduire à la formation de l'anion indole **IV.26** qui a cyclisé en **IV.27**.



(a) TosMic, t-BuOK, THF, reflux, 53-79 %

Schéma IV-6 : Synthèse des dérivés pyrrolo-pyridinones IV.27 par Bergman et *al.*

Par ailleurs, l'équipe de Bergman a réalisé un second exemple de synthèse de composé pyrrolo-pyridinone[236] (Schéma IV-7). Une réaction 1,3-dipolaire entre le sulfone **IV.28** et l'isocyanate d'éthyle **IV.29** a permis la formation de l'intermédiaire pyrrolique **IV.30**. Son groupement nitro a ensuite été réduit par du fer métallique dans des conditions acides, puis une cyclisation intramoléculaire spontanée a généré le composé **IV.21** possédant un nitrile en position 3 du pyrrole.

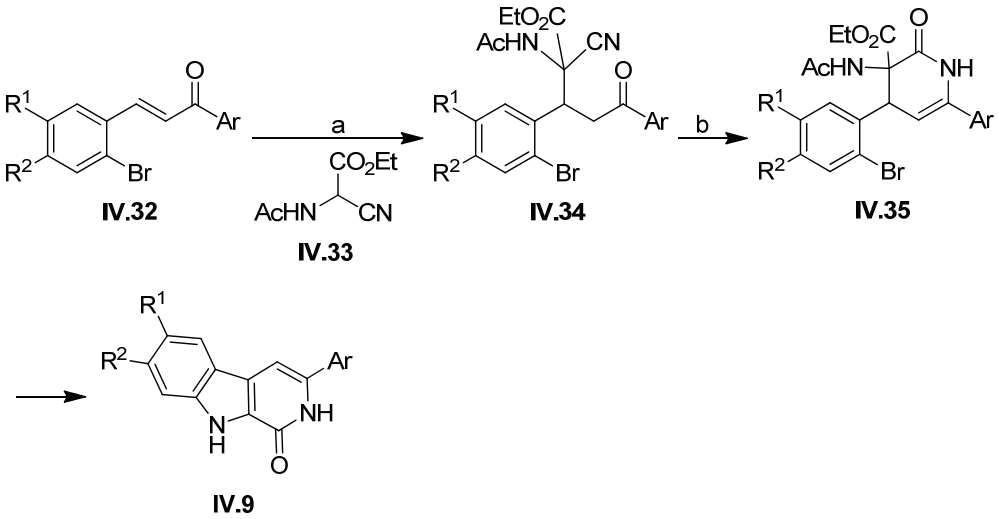


(a) DBU, THF, 0°C, 72 % ; (b) Fe, AcOH, reflux, 65 %

Schéma IV-7 : Synthèse du dérivé pyrrolo-pyridinone IV.31 par Bergman et *al.*

[236] Bergman, J.; Rehn, S. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 9179.

Pour finir, les tricycles **IV.9** ont été préparés par Wang et *al.*[232] (Schéma IV-8). L'acétamidocyanoacétate d'éthyle **IV.33** a d'abord réagi sur le dérivé **IV.32** selon une addition de Michael qui a fourni l'adduit **IV.34**. Une cyclisation intramoléculaire par réaction de la fonction nitrile avec le carbonyle a ensuite conduit, en milieu acide, à la molécule **IV.35**. En présence d'iodure de cuivre et d'hydrure de sodium, au reflux du diméthoxyéthane (DME) et après traitement basique, le tricycle **IV.9** a finalement été isolé.



(a) 10 % mol *t*-BuONa, THF, 5-10°C, 2 h, 76-88 % ; (b) HCl / AcOH, 5-7 h, 67-88 % ;
(c) CuI, NaH, DME, reflux, 7-10 h puis NH_4OH 10 %, 10 h, 60-72 %

Schéma IV-8 : Synthèse du dérivé pyrrolo-pyridinone IV.7

3- Méthodes de synthèse de glycosides α-*C*-acétyléniques

Pour rappel, les précurseurs clés nécessaires à la synthèse de nos composés galactosyl-pyrrolo-pyridinones sont des glycosides α-*C*-acétyléniques présentant une fonction azide ou nitro en position 2 du pyranoside (Figure IV-9).

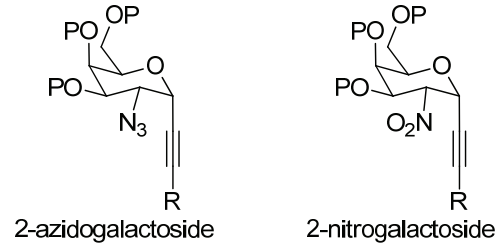


Figure IV-9 : Précurseurs acétyléniques clés de la synthèse des composés galactosyl-pyrrolo-pyridinones

Nous étudierons donc, dans un premier temps, les méthodes de préparation de glycosides α-*C*-acétyléniques comportant, en position 2 du pyranose, un groupement azoture ou une fonction nitro.

3.1- Méthodes de synthèse de 2-azido ou 2-nitroglycosides α-C-acétyléniques

3.1.1- 2-azidoglycosides α-C-acétyléniques

A notre connaissance, peu de méthodes permettant la synthèse de 2-azidoglycosides α-*C*-acétylèniques ont été décrites.

En 1994, l'équipe de Veyrières[237] a introduit le phénylacétylène sur le bromure de 6-*O*-acétyl-2-azido-3,4-di-*O*-benzyl-2-désoxy-α-*D*-galactopyranoside **IV.36** (Schéma IV-9). L'activation de ce bromogalactoside par le tétrafluoroborate d'argent, en présence de phénylacétylène de tributylétain et de tamis moléculaire 3 Å préalablement activé, dans le 1,2-dichloroéthane, et de -30°C à 0°C, a fourni les acétyléniques **IV.37α** et **IV.37β** dans des proportions 6 / 4 et avec des rendements respectifs de 39 % et 26 %.

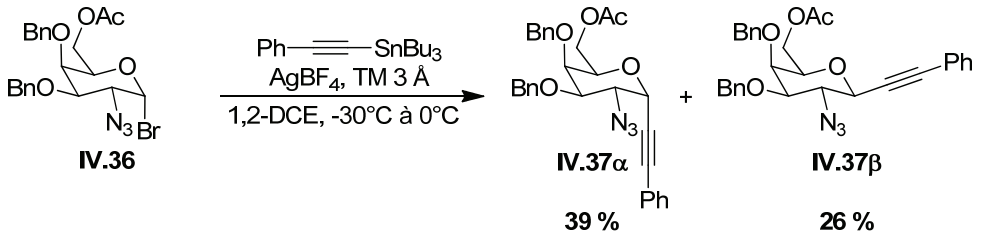


Schéma IV-9 : *C*-alcynylation sur un 2-azidoglycoside selon les conditions de Veyrières et *al.*

Le couplage du 1-*O*-acétyl-2-azido-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-désoxy-αβ-*D*-galactopyranoside **IV.38** avec le triméthylsilylacétylène de tributylétain, en présence de

[237] Leteux, C.; Veyrières, A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1994**, 2647.

TMSOTf dans le dichlorométhane, a été réalisé par Dondoni et *al.*[238] (Schéma IV-10). Le galactoside **IV.39α** a ainsi été isolé avec un bon rendement de 63 %.

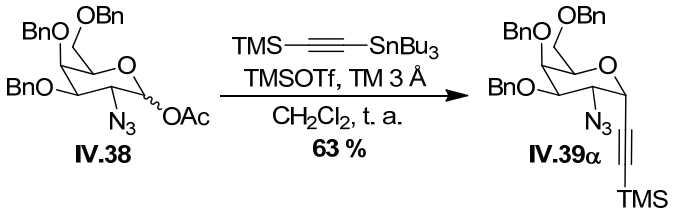


Schéma IV-10 : *C*-alcynylation sur un 2-azidoglycoside selon les conditions de Dondoni et *al.*

3.1.2- 2-nitroglycosides α-C-acétyléniques

Il est décrit dans la littérature que les 2-nitroglycal peuvent être de bons accepteurs de Michael et subir l'attaque de nucléophiles. Les produits obtenus sont alors des 2-nitroglycosides dont le ratio α / β dépend généralement de la base ou du nucléophile employé.[239] Des nucléophiles oxygénés ou carbonés ont été introduits de cette manière, cependant, à notre connaissance aucune *C*-alcynylation selon ce mécanisme n'a été décrite sur un 2-nitroglycal.

Par exemple, Schmidt et *coll.*[240] ont entrepris la préparation, avec un excellent rendement de 97 %, du galactoside **IV.41α** par attaque d'un nucléophile de type sérine sur le 2-nitro-3,4-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphénylsilyl-*D*-galactal **IV.40** (Schéma IV-11).

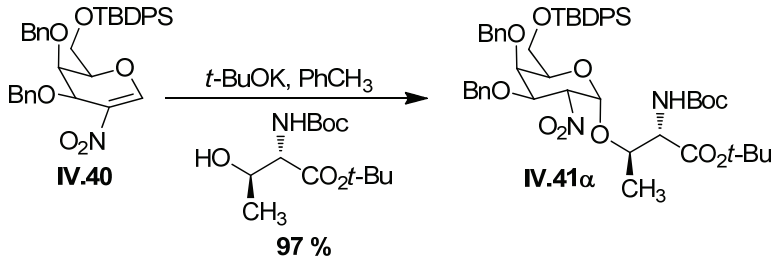


Schéma IV-11 : *O*-glycosylation sur un 2-nitroglycal selon les conditions de Schmidt et *al.*

L'équipe de Vankar[241] a montré que la réaction d'addition du bromure de vinylmagnésium sur le 3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-nitro-*D*-galactal **IV.42**, conduite dans le THF et de -60°C à température ambiante, générait le dérivé **IV.43α** avec un bon rendement de 73 % (Schéma IV-12).

[238] Dondoni, A.; Mariotti, G.; Marra, A. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4475.
[239] Das, J.; Schmidt, R. R. *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1609.
[240] Geiger, J.; Reddy, B. G.; Winterfeld, G. A.; Weber, R.; Przybylski, M.; Schmidt, R. R. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4367.
[241] Reddy, B. G., Vankar, Y. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2001.

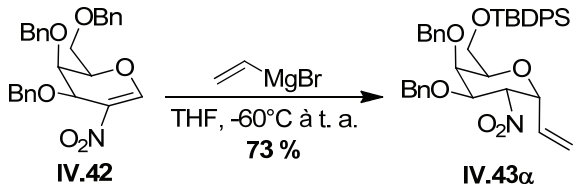


Schéma IV-12 : *C*-glycosylation sur un 2-nitroglycal selon les conditions de Vankar et *al.*

Ces exemples nous laissent présager que la *C*-alcynylation des 2-nitroglycal devrait être possible par addition de Michael d'un ion acétylure. Pour accéder à nos objectifs, on peut envisager la synthèse de nos acétyléniques cibles par addition du lithien d'un acétylénique vrai, sur un 2-nitroglycal. Le ratio α / β resterait alors à déterminer et à optimiser (Schéma IV-13).

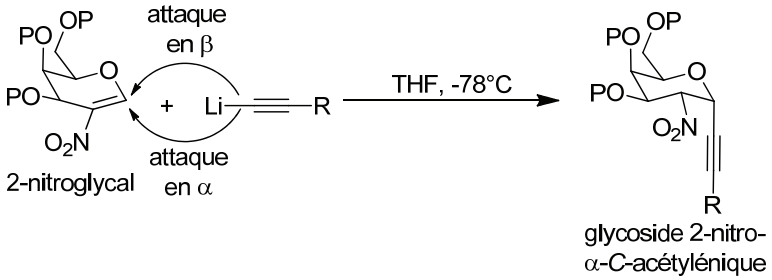


Schéma IV-13 : Addition plausible d'un acétylénique sur un 2-nitroglycal

Au bilan de ce rappel bibliographique, aucun exemple de *C*-alcynylation, selon le mécanisme d'addition de Michael sur un 2-nitroglycal, n'a, à notre connaissance, été étudié. De plus, peu de glycosides α-*C*-acétyléniques fonctionnalisés en position 2 par un azoture ont été décrits dans la littérature. Nous avons donc, dans le cadre de notre projet, envisagé de nous baser également sur les méthodes d'α-*C*-alcynylation utilisées en série oxygénée ou 2-désoxygénée. Ces techniques seront décrites dans le prochain paragraphe.

3.2- Méthodes de synthèse de 2-hydroxy ou 2-désoxyglycosides α-C-acétyléniques

3.2.1- A partir de composés glycosidiques

Williams et *al.*[242] ont proposé la *C*-glycosylation du bromure de perbenzyl-glucopyranosyle **IV.44** par réaction du phénylacétylène de tributylétain en présence de chlorure de zinc et au reflux du tétrachlorure de carbone. Le galactoside α-*C*-acétylénique **IV.45α** a été obtenu avec un rendement de 61 % (Schéma IV-14).

[242] Zhai, D.; Zhai, W.; Williams, R. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2501.

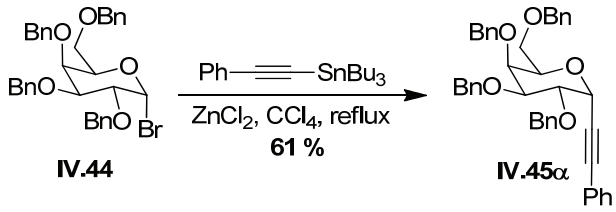


Schéma IV-14 : *C*-alcynylation selon les conditions de Williams et *al.*

Le même acétylénique stannique que celui utilisé par l'équipe de Williams a été employé par Veyrières et *coll.*[243] Cependant, le couplage osidique avec le chlorure de glucopyranosyle **IV.46** a été initié en présence de tétrafluoroborate d'argent dans le 1,2-dichloroéthane à -30°C. L'acétylénique **IV.47α** a été produit avec 73 % de rendement (Schéma IV-15).

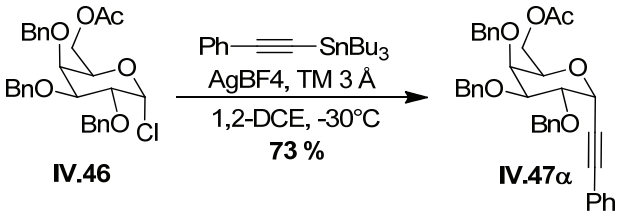


Schéma IV-15 : *C*-alcynylation selon les conditions de Veyrières et *al.*

L'équipe de Dondoni,[238] quant à elle, a réalisé le couplage du 1-*O*-acétyl-perbenzylgalactopyranoside **IV.48** à l'aide de triméthylsilylacétylène de tributylétain et de TMSOTf dans le dichlorométhane, selon les mêmes conditions qu'en série 2-azido et ont isolé le composé **IV.49α** avec un bon rendement de 87 % (Schéma IV-16).

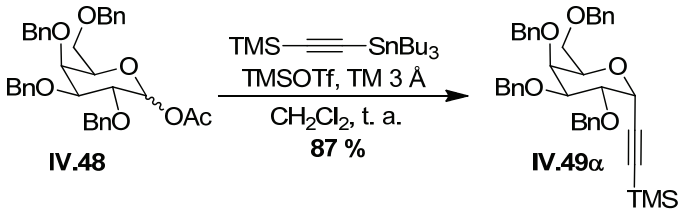


Schéma IV-16 : *C*-alcynylation selon les conditions de Dondoni et *al.*

Enfin, la *C*-alcynylation du pyranose **IV.50**, en présence d'indium et de l'iodure du phénylacétylène, au reflux du dichlorométhane, a été réalisée par Lubin-Germain et *coll.*[244] L'acétylénique **IV.51α** a ainsi été synthétisé avec un rendement de 70 % (Schéma IV-17).

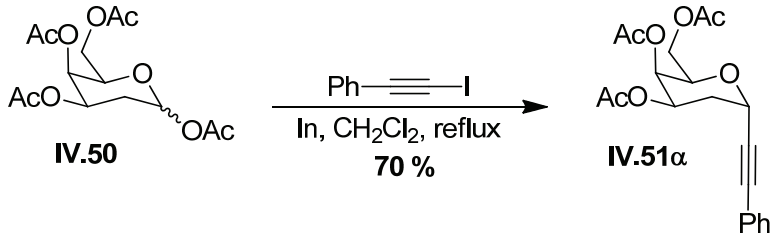


Schéma IV-17 : *C*-alcynylation selon les conditions de Lubin-Germain et *al.*

[243] Désiré, J.; Veyrières, A. *Carbohydrate Res.* **1995**, *268*, 177.
[244] Lubin-Germain, N.; Baltaze, J.-P.; Coste, A.; Hallonet, A.; Lauréano, H.; Legrave, G.; Uziel, J.; Augé, J. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 725.

3.2.2- A partir de glycal, de composés 1,2-anhydro ou 1,6-anhydro

L'équipe de Cossy[245] a décrit la formation du glycoside α-*C*-acétylénique **IV.53α** (Schéma IV-18). Le 3,4,6-tri-*O*-acétyl-*D*-glucal **IV.52** a été mis en réaction avec le *bis*(triméthylsilyl)acétylène en présence d'une quantité catalytique de *bis*(trifluorométhane)sulfonimide pour conduire au glucoside **IV.53α** avec un faible rendement de 36 %.

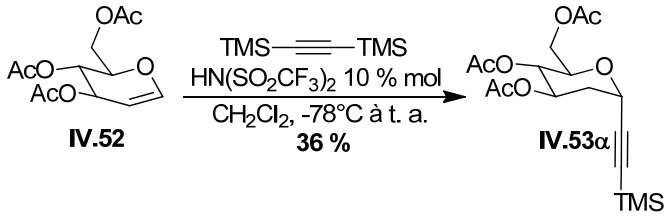


Schéma IV-18 : *C*-alcynylation sur un dérivé glucal selon les conditions de Cossy et *al.*

L'introduction d'un alcyne a également été effectuée par Van Boom et *al.*[246] par ouverture de l'époxyde **IV.54** (Schéma IV-19). La réaction, menée dans le THF en présence d'un organozincique généré *in situ* par réaction du lithien du triméthylsilyl acétylène et du chlorure de zinc, a permis d'accéder au composé **IV.55α** avec un rendement de 51 %.

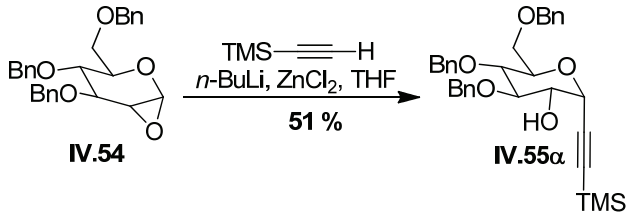


Schéma IV-19 : *C*-alcynylation par ouverture d'un époxyde selon les conditions de Van Boom et *al.*

Finalement, Vasella et *coll.*[247] ont décrit l'ouverture de l'analogue 1,6-anhydro **IV.56** par un organo-aluminate (Schéma IV-20), formé *in situ* à partir du lithien du triméthylsilylacétylène et de trichlorure d'aluminium, dans un mélange toluène / THF à 90°C. L'alcyne **IV.57α** a pu être isolé avec un rendement de 85 %.

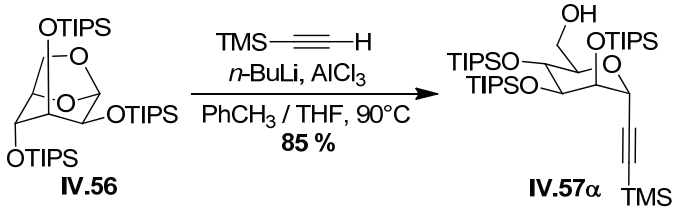


Schéma IV-20 : *C*-alcynylation par ouverture d'un dérivé 1,6-anhydro selon les conditions de Vasella et *al.*

[245] Cossy, J.; Lutz, F.; Alauze, V.; Meyer, C. *Synlett* **2002**, 45.
[246] Leeuwenburgb, M. A.; Timmers, C.-M.; Van der MareI, A.; Van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6251.
[247] Stichler-Bonaparte, J.; Vasella, A. *Helvetica Chim. Acta* **2001**, *84*, 2355.

4- Synthèse des glycosides α-acétyléniques azotés en position 2

4.1- Stratégie de synthèse envisagée

Compte-tenu de la bibliographie présentée, la préparation de nos acétyléniques 2-azido et 2-nitro a été envisagée selon le schéma rétrosynthétique suivant (Schéma IV-21).

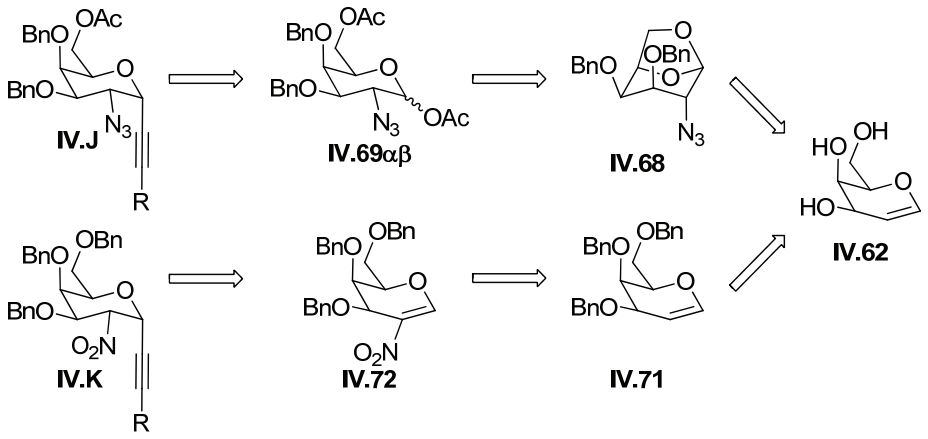


Schéma IV-21 : Rétrosynthèse envisagée pour la préparation des précurseurs acétyléniques clés IV.J et IV.K

Le précurseur 2-azidogalactoside **IV.J** pourrait être préparé selon la stratégie développée par l'équipe de Veyrières,[237] par *C*-alcynylation d'un bromogalactoside issu du 1-*O*-acétylgalactoside **IV.69αβ**. Celui-ci résulterait de l'ouverture du dérivé 1,6-anhydro **IV.68** issu du D-galactal **IV.62**.

La formation de l'acétylénique **IV.J** pourrait également être induite, soit à partir du dérivé 1,6-anhydro **IV.68** selon les conditions de Vasella et *al.*,[247] soit par *C*-alcynylation du composé **IV.69αβ** selon la méthode de Dondoni et *coll.*[238]

Il serait aussi envisageable d'introduire la fonction acétylénique *via* l'addition de Michael d'un acétylure de lithium sur le 3,4,6-tri-*O*-benzyl-*D*-galactal **IV.72** issu de la nitration du D-galactal **IV.62** préalablement benzylé.

Dans les paragraphes suivants, nous présenterons nos résultats en série 2-azido et 2-nitro.

4.2- Préparation du *D*-galactal IV.62

Le *D*-galactal **IV.62**, composé de départ de la séquence réactionnelle, est un composé commercial qui reste très cher. Nous avons donc décidé de le synthétiser. Pour cela, deux voies similaires existent : les méthodes de Kozikowski[248] et de Murphy.[249]

Nous avons d'abord entrepris la préparation du *D*-galactal **IV.62** par la méthode de Kozikowski (Schéma IV-22). Le *D*-galactose **IV.58** est d'abord pentacétylé en présence d'anhydride acétique et d'une quantité catalytique d'acide perchlorique à 70 % pour conduire

[248] Kozikowski, A. P.; Lee, J. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 863.
[249] Pilgrim, W.; Murphy, P. V. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 939.

au pentacétate **IV.59** qui est directement bromé sur sa position anomérique par de l'acide bromhydrique à 30 % dans l'acide acétique glacial. Le dérivé bromé **IV.60** subit une élimination en présence de zinc et d'acide acétique 60 % aqueux à -20°C puis, le 3,4,6-tri-*O*-acétyl-*D*-galactal **IV.61** brut est déprotégé en présence d'une solution méthanolique saturée en ammoniac pour générer le *D*-galactal **IV.62**. Cependant, lors de l'étape finale de cette synthèse, une huile noire très difficilement cristallisable est obtenue. De ce fait, les rendements ne sont pas toujours reproductibles. Le meilleur rendement obtenu a été de 50 % sur quatre étapes.

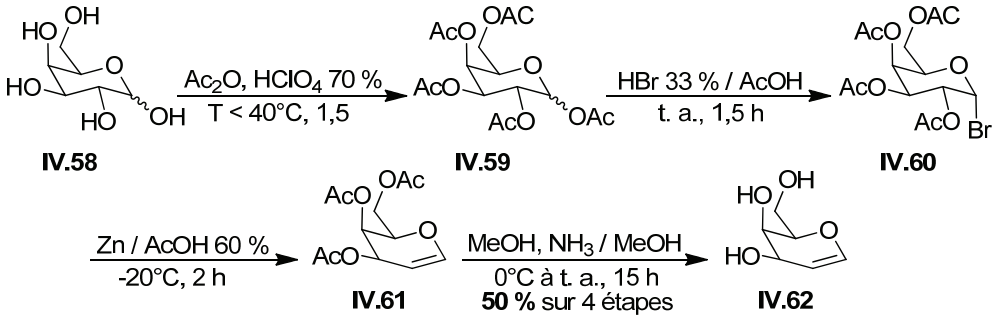


Schéma IV-22 : Préparation du *D*-galactal selon la méthode de Kozikowski

La voie de Murphy a ensuite été testée (Schéma IV-23). L'étape d'acétylation est effectuée en présence d'anhydride acétique dans la pyridine puis, le *D*-galactose pentacétylé **IV.58** est bromé dans les mêmes conditions que précédemment. L'étape d'élimination s'effectue à l'aide de zinc, d'acide acétique, de sulfate de cuivre et d'acétate de sodium dans l'acétate d'éthyle pour conduire au 3,4,6-tri-*O*-acétyl-*D*-galactal **IV.61** qui est isolé avec un bon rendement de 87 % après purification par chromatographie sur gel de silice. Sa désacétylation s'effectue en présence de méthylate de sodium dans le méthanol pour finalement obtenir le *D*-galactal **IV.62** avec un rendement *reproductible* de 50 % sur quatre étapes.

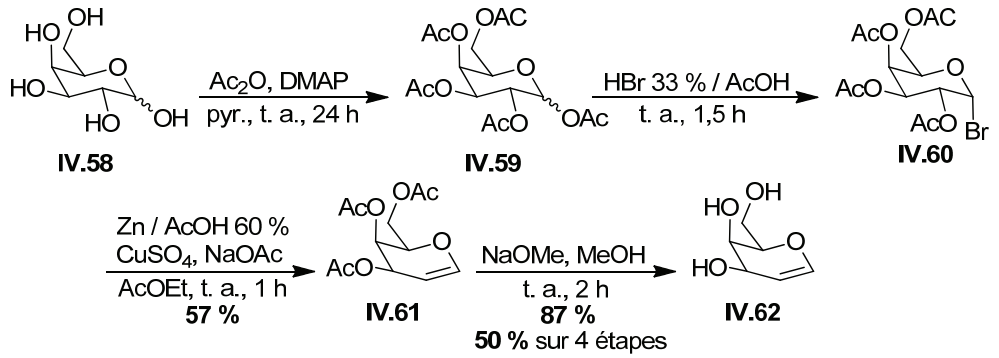


Schéma IV-23 : Préparation du *D*-galactal selon la méthode de Murphy

4.3- Préparation des précurseurs azidos et nitros nécessaires à l'introduction des acétyléniques

4.3.1- *Préparation des précurseurs azides IV.68 et IV.69 αβ*[237]

La préparation des précurseurs nécessaires à l'introduction des acétyléniques en série galactose a été effectuée selon la méthode de Veyrières.[237] La première étape consiste à préparer le 1,6-anhydro-2-désoxy-2-iodo-β-*D*-galactopyranose **IV.63** (Schéma IV-24). Pour cela, le *D*-galactal **IV.62** réagit avec l'oxyde de *bis*(tributylétain), en présence de tamis moléculaire 3 Å, et au reflux de l'acétonitrile. Après réaction avec l'iode à 0°C pendant trente minutes, le composé iodé 1,6-anhydro **IV.63**, ainsi que le produit secondaire 1,4-anhydro **IV.64** sont isolés avec des rendements respectifs de 45 % et 9 %.

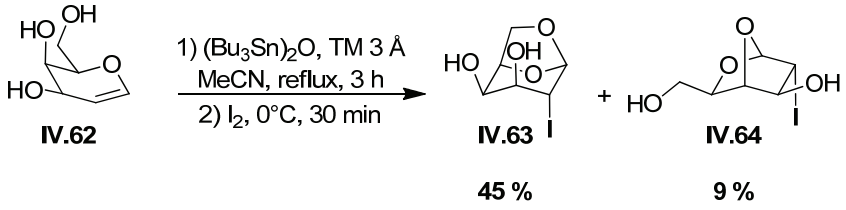


Schéma IV-24 : Préparation du composé iodé 1,6-anhydro IV.63

Le dérivé 1,6-anhydro **IV.63** est ensuite mis en présence d'azoture de lithium au reflux du DMF (Schéma IV-25). Dans ces conditions, il se crée un équilibre entre deux époxydes intermédiaires non isolés qui réagissent avec l'ion azoture pour former les composés azidos **IV.65** et **IV.66** dans des proportions 3 / 1 déterminées par RMN. Ces deux dérivés étant inséparables, une protection sélective du diol 1,3 **IV.65** par un groupement isopropylidène génère la molécule **IV.67**, facilement séparable du diol 1,4 **IV.66**, avec un rendement global de 57 % sur deux étapes.

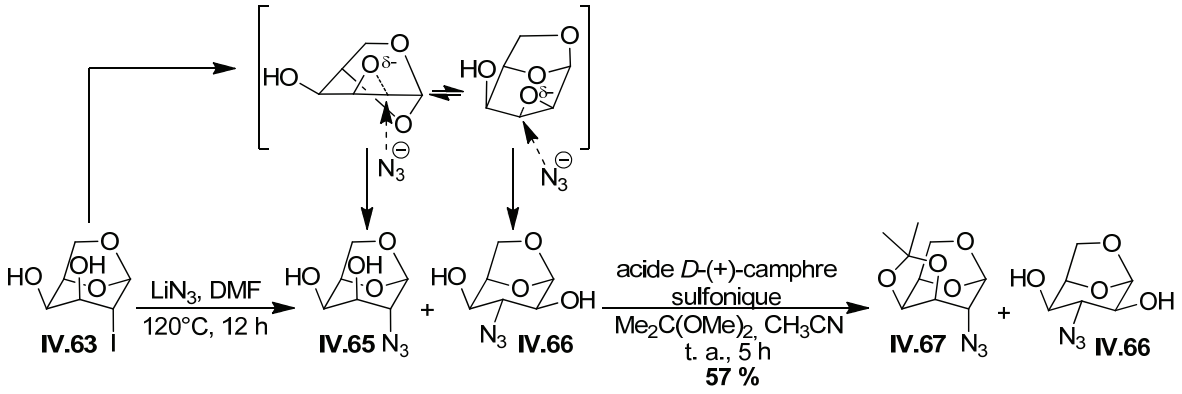


Schéma IV-25 : Préparation du composé azido 1,6-anhydro IV.67

La déprotection du diol 1,3 **IV.67**, effectuée au reflux de l'acide acétique, permet d'accéder au dérivé azide **IV.65** brut qui est directement benzylé dans des conditions classiques pour conduire au composé 1,6-anhydro **IV.68** avec un bon rendement de 90 % sur deux étapes (Schéma IV-26). L'ouverture de la fonction 1,6-anhydro du composé **IV.68** en

milieu anhydride acétique / acide trifluoroacétique aboutit finalement à la formation du galactoside **IV.69αβ** dans des proportions α / β : 6 / 4 et avec un rendement brut de 57 %.

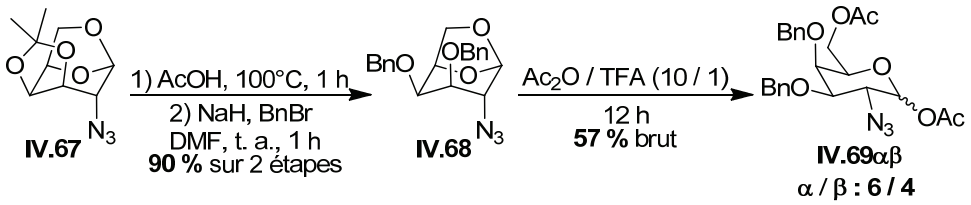


Schéma IV-26 : Préparation du composé 1,6-anhydro benzylé IV.68 et du composé IV.69αβ

La préparation des acétyléniques clés pourra donc être effectuée soit à partir de l'analogue 1,6-anhydro benzylé **IV.68** soit grâce au mélange **IV.69αβ**, respectivement suivant les méthodes des équipes de Vasella[247] et de Veyrières.[237]

4.3.2- Préparation du précurseur nitré IV.72

La préparation du précurseur nitré **IV.72** a également été entreprise à partir du *D*-galactal **IV.62** (Schéma IV-27). Celui-ci est d'abord protégé dans des conditions classiques sous forme de 3,4,6-tri-*O*-benzyl-*D*-galactal **IV.70** avec un excellent rendement de 93 %. Le groupement nitro est ensuite introduit selon des conditions décrites par Schmidt et *coll.*[239] La molécule **IV.70** réagit en présence d'un mélange HNO_3 / Ac_2O et est transformée en 2-désoxy-2-nitrogalactopyranose **IV.71**. Une élimination à l'aide de la triéthylamine dans le dichlorométhane forme le 2-nitrogalactal **IV.72** avec un rendement de 58 % sur deux étapes.

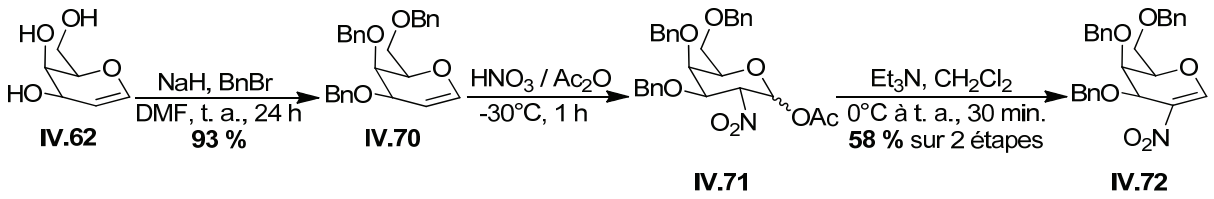


Schéma IV-27 : Préparation du 2-nitrogalactal IV.72

4.4- Préparation des glycosides α-*C*-acétyléniques

4.4.1- Tentative d'accès aux 2-azidogalactosides α-C-acétyléniques

La première tentative de préparation des 2-azidogalactosides α-*C*- acétyléniques a été entreprise à partir du composé benzylé 1,6-anhydro **IV.68** précédemment synthétisé. Nous avons d'abord envisagé d'insérer le phénylacétylène suivant la méthode de Vasella.[247] L'analogue **IV.68** réagit avec un organo-aluminate généré *in situ* par réaction entre le *n*-BuLi et le trichlorure d'aliminium dans un mélange toluène / THF à 90°C (Schéma IV-28). Malheureusement, ce premier essai aboutit à de la dégradation et l'acétylénique **IV.73α** n'est pas observé. Nous avons envisagé de diminuer la température pour conduire cette réaction dans des conditions plus douces. Ainsi, le 1,6-anhydro **IV.68** est mis en réaction avec les

mêmes réactifs mais à température ambiante. Malheureusement, seule de la dégradation est obtenue.

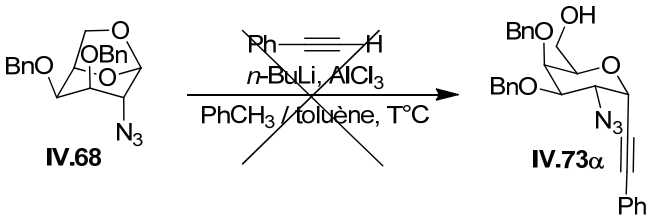


Schéma IV-28 : Tentative de préparation des galactosides α-*C*-acétyléniques selon les conditions de Vasella et *al.*

Face à l'échec de la stratégie employant les conditions de Vasella et *al.*[247] à partir du dérivé 1,6-anhydro **IV.68**, nous avons décidé de tenter la réaction de *C*-alcynylation selon la méthode de Dondoni et *coll.*[238]sur le mélange **IV.69αβ** acétylé en position anomérique. Deux raisons principales nous ont poussés à entreprendre cette réaction :

- L'équipe de Dondoni a réalisé une *C*-alcynylation sur un 2-azidogalactoside avec un bon rendement de 63 % (Chapitre IV, p. 114, Schéma IV-10).
- Dans le cadre de la préparation des composés pyrano-pyrroles précédemment cités, l'équipe du Professeur Didier Dubreuil a utilisé avec succès cette méthode en série oxygénée pour coupler leurs acétyléniques avec les glycosides.[226]

Ainsi, le composé **IV.69αβ** est mis en réaction avec le phénylacétylène de tributylétain en présence de TMSOTf, de tamis moléculaire 3 Å et dans le dichlorométhane à température ambiante (Schéma IV-29). Malheureusement, de la dégradation est observée et la molécule **IV.74α** n'est pas formée. Compte-tenu de ce résultat, il a été entrepris de diminuer la température pour adoucir les conditions. Ainsi, la réaction est conduite de -20°C à 0°C mais seul le produit de départ **IV.69αβ** est isolé.

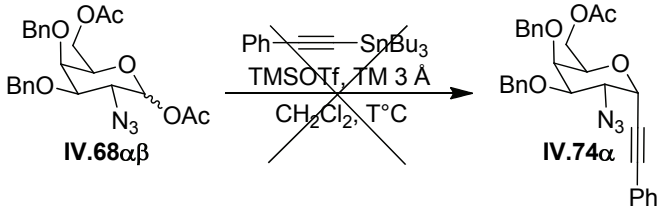


Schéma IV-29 : Tentatives de préparation des galactosides α-*C*-acétyléniques selon les conditions de Dondoni et *al.*

Les différentes tentatives d'introduction d'un acétylénique sur les précurseurs azides ayant échoué, nous nous sommes intéressés à la voie passant par le dérivé nitro.

4.4.2- Tentative d'accès aux 2-nitrogalactosides α-C-acétyléniques

Au cours des rappels bibliographiques précédents, nous avions émis l'hypothèse qu'il serait envisageable de préparer nos galactosides α-*C*-acétyléniques par addition de Michael du lithien d'un acétylénique vrai sur un 2-nitroglycal (Chapitre IV, p. 115, Schéma IV-13).

Nous avons d'abord tenté cette approche en utilisant le phénylacétylène. Le phénylacétylure de lithium est donc généré *in situ* par réaction du phénylacétylène avec le *n*-BuLi de -78°C à 0°C dans le THF. Le précurseur 2-nitrogalactal **IV.72** en solution dans le THF est ensuite ajouté. Après réaction à -78°C, les deux anomères **IV.75α** et **IV.75β**, séparables par chromatographie sur colonne de gel de silice, sont obtenus avec un ratio α / β de 44 / 56, et isolés avec des rendements respectifs de 38 % et 49 % (Schéma IV-30).

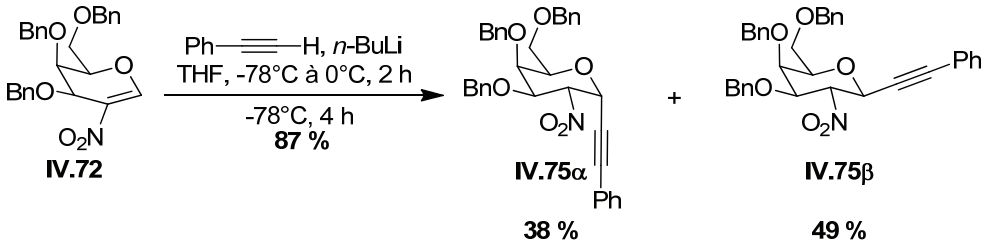


Schéma IV-30 : Préparation des deux anomères IV.75α et IV.75β

Pour préparer par la suite nos composés galactosyl-pyrrolo-pyridinones, nous nous intéressons tout particulièrement à l'anomère α. De plus, nous avons vu que, dans ce type de glycosylation, le ratio α / β dépend généralement de la base ou du nucléophile employé.[239] Nous avons donc envisagé de varier la base utilisée pour vérifier s'il est possible de favoriser la formation de l'anomère α (Tableau IV-1). L'utilisation du di-isopropylamidure de lithium (LDA, générée *in situ* à partir de di-isopropylamine et de *n*-BuLi à 0°C pendant 30 minutes) (Entrée 1) mène à la formation des anomères **IV.75α** et **IV.75β** dans des proportions α / β de 44 / 56 et avec des rendements respectifs de 38 % et 48 %. Ces valeurs s'avèrent quasi-identiques à celles obtenues avec le *n*-BuLi comme base. L'emploi d'amidure de sodium (Entrée 2) conduit aux deux anomères **IV.75α** et **IV.75β** dans des proportions α / β de 45 / 55 mais avec des rendements respectifs de 22 % et 27 %, soit environ la moitié des rendements obtenus précédemment avec le *n*-BuLi ou le LDA.

Entrée	Conditions testées	Ratio α / β	Rdt IV.75α	Rdt IV.75β	Rdt global
1	LDA, THF, -78°C à 0°C, 2 h puis ajout **IV.72**, -78°C, 5 h	44 / 56	38 %	48 %	86 %
2	$NaNH_2$, THF, t. a., 2 h puis ajout **IV.72**, t. a., 5 h	45 / 55	22 %	27 %	49 %

Tableau IV-1 : Tentatives de variation de la base lors de la *C*-alcynylation du 2-nitrogalactal

La variation de la base ne nous a pas permis d'améliorer le ratio α / β dans lequel les dérivés **IV.75α** et **IV.75β** sont fournis. Nous avons donc choisi, par la suite, de conserver l'utilisation du *n*-BuLi car la réaction est plus pratique à mettre en œuvre que celle avec le LDA et donne de meilleurs rendements que celle avec l'amidure de lithium.

De manière à pouvoir fonctionnaliser différemment nos futurs composés pyrrolo-pyridinones, nous avons entrepris d'insérer deux autres chaînes acétyléniques (Schéma IV-31) :

- L'hex-1-yne, qui permettrait l'introduction d'une chaîne butyle sur nos futurs dérivés. Cet alcyne est donc mis en réaction avec le *n*-BuLi puis, après réaction avec le glycal **IV.72**, génère les deux anomères **IV.76α** et **IV.76β** dans des proportions α / β de 65 / 35 et avec des rendements respectifs de 43 % et 23 %.
- Le 3,3-diéthoxyprop-1-yne. Il pourrait être converti en aldéhyde après obtention des composés pyrrolo-pyridinones et constituer un point d'ancrage pour une fonctionnalisation ultérieure. La lithiation du 3,3-diéthoxyprop-1-yne en présence de *n*-BuLi, dans le THF de -78°C à 0°C est donc effectuée puis l'addition de ce lithien sur l'accepteur de Michael **IV.72** dans le THF à -78°C aboutit aux anomères **IV.77α** et **IV.77β** difficilement séparables par chromatographie sur colonne de gel de silice avec un ratio α / β de 63 / 37 et avec des rendements respectifs de 49 % et 29 %.

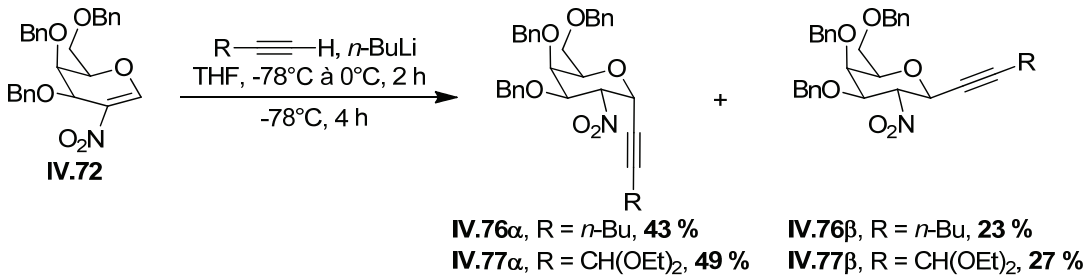


Schéma IV-31 : Préparation de différents galactosides α-C-acétyléniques

4.5- Tentative de préparation des intermédiaires pyridaziniques

Quelques tentatives de cycloaddition entres nos dérivés acétyléniques et la tétrazine diester ont ensuite pu être entreprises.

4.5.1- Préparation de la 1,2,4,5-tétrazine dicarboxylate de méthyl IV.81

Les intermédiaires pyridaziniques peuvent être obtenus par cycloaddition [4+2] entre les précurseurs acétyléniques précédemment préparés et la 1,2,4,5-tétrazine dicarboxylate de méthyle **IV.81**. Cette dernière est synthétisée en quatre étapes à partir du diazoacétate d'éthyle **IV.78**, selon la méthode décrite par l'équipe de Boger[250] (Schéma IV-32). Deux molécules de diazoacétate d'éthyle **IV.78** se condensent entre elles dans une solution d'hydroxyde de sodium afin d'obtenir la dihydro-1,2,4,5-tétrazine dicarboxylate de sodium **IV.79** par réaction 1,3-dipolaire. Le diacide correspondant **IV.80** est ensuite obtenu par ajout d'acide chlorhydrique concentré. Enfin après estérification en présence de chlorure de thionyle dans le

[250] Boger, D. L.; Panek, J. S.; Patel, M. *Org. Synth.* **1992**, *70*, 79.

méthanol et aromatisation par un barbotage d'acide nitreux généré *in situ*, la tétrazine diester **IV.81** est obtenue avec un rendement global de 18 %.

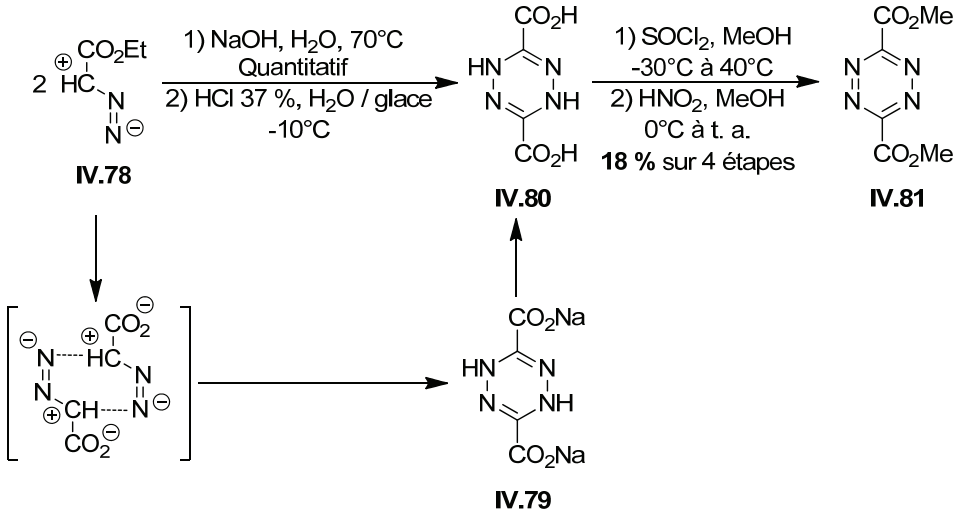


Schéma IV-32 : Préparation de la tétrazine diester IV.81

4.5.2- Tentatives de cycloaddition [4+2] entre les précurseurs acétyléniques et la tétrazine

Comme mentionné plus haut, la préparation des pyridazines requiert une cycloaddition [4+2] à demande inverse entre les précurseurs acétyléniques et la 1,2,4,5-tétrazine dicarboxylate de méthyle **IV.81**. Notons que, la tétrazine pouvant se dégrader facilement à haute température, il est nécessaire de recharger régulièrement le milieu en tétrazine.

Nous avons en premier lieu testé cette réaction en série phényle. Ainsi, la molécule **IV.75α** est mise en réaction avec la tétrazine diester **IV.81** au reflux du toluène pendant une semaine (Schéma IV-33). Malheureusement, aucune trace du produit attendu **IV.82α** n'est observée et seul le composé de départ est récupéré. Nous avons alors entrepris la cycloaddition en série butyle et acétal. Ni l'acétylénique **IV.76α**, ni le composé **IV.77α**, ne réagissent avec la tétrazine et, dans les deux cas, le produit de départ est récupéré.

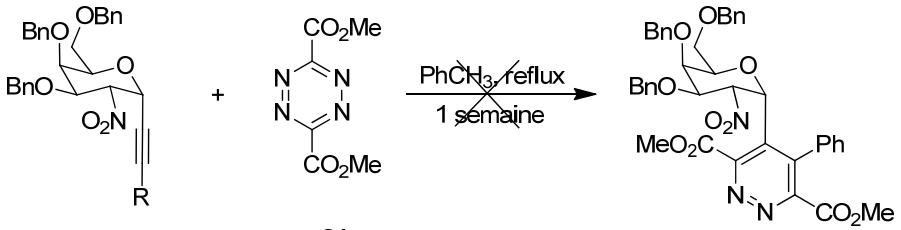


Schéma IV-33 : Tentatives de préparation des pyridazines par cycloaddition [4+2]

Face à ces échecs, nous avons choisi de faire varier les conditions réactionnelles en modifiant le solvant, la température, et éventuellement, en conduisant la réaction sous

pression. Ces tests ont été réalisés en série phényle à partir du dérivé **IV.75α** (Schéma IV-34, Tableau IV-2).

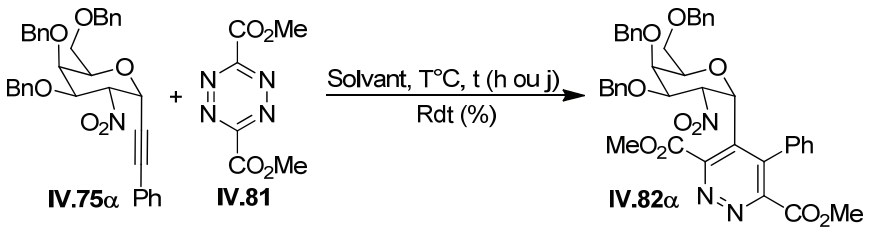


Schéma IV-34 : Autres tentatives de préparation des pyridazines par cycloaddition [4+2]

Entrée	Solvant	T°C	Pression	Temps	Rdt IV.81α	Observation
1	Dioxane	120°C	/	5 jours	/	Produit de départ
2	Benzène	80°C	Tube scellé	7 jours	/	Produit de départ
3	*Dioxane*	*120-150°C*	*Tube scellé*	*10 jours*	*8 %*	*Récupération de 80 % du produit de départ*
4	Dioxane	160°C	Tube scellé	7 jours	/	Dégradation
5	Dioxane	200°C	7 bars	12 heures	/	Dégradation

Tableau IV-2 : Autres tentatives de préparation des pyridazines par cycloaddition [4+2]

En premier lieu, nous avons repris les conditions précédentes mais avons employé le dioxane comme solvant (Entrée 1). Dans ce cas, aucune réaction n'est observée et seul le produit de départ est récupéré. Une autre tentative de cycloaddition est ensuite menée en tube scellé dans du benzène à 80°C mais nous fournit à nouveau uniquement le composé **IV.75α** d'origine (Entrée 2). Le troisième essai, effectué à nouveau dans le dioxane, est conduit sous pression dans un tube scellé à une température de 120°C augmentée progressivement à 150°C pendant les dix jours de réaction (Entrée 3). Sous ces conditions, un nouveau produit semble apparaître lors du contrôle par CCM, malgré la persistance de tâches très intenses correspondant aux produits de départs. La réaction est poursuivie sur dix jours, puis stoppée pour vérifier si la pyridazine attendue est formée. Ainsi, après purification, le cycloadduit **IV.82α** est isolé avec un faible rendement de 8 %. Le produit de départ est également récupéré à hauteur de 80 %. Ce résultat encourageant nous a poussés à entreprendre deux autres essais. Le premier est lancé à nouveau en tube scellé dans le dioxane, à une température de 160°C mais seule de la dégradation est observée (Entrée 4). Finalement, l'emploi de micro-ondes a été envisagé. La cycloaddition est donc menée à 200°C, sous micro-ondes, et à une pression de 7 bars, pendant douze heures, et sans ajout régulier de tétrazine (Entrée 5). Ces conditions ne fournissent à nouveau que de la dégradation.

Même si cette réaction reste à ce jour à optimiser, les 8 % obtenus prouvent sa faisabilité.

5- Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons synthétisé avec succès de nouveaux galactosides α-*C*-acétyléniques, notre objectif étant à court terme l'utilisation de ces structures pour préparer des composés pyrrolo-pyridinones, selon une stratégie développée à Nantes par l'équipe du Professeur Didier Dubreuil lors de la préparation de dérivés pyrano-pyrroles.

L'étape clé d'introduction des acétyléniques a été entreprise *via* trois voies différentes. Même si les deux voies passant par des composés 2-azidogalactosides ont échoué, une méthode bien plus rapide, à savoir l'addition de Michael sur un 2-nitrogalactal, nous a permis de préparer nos acétyléniques (Figure IV-10).

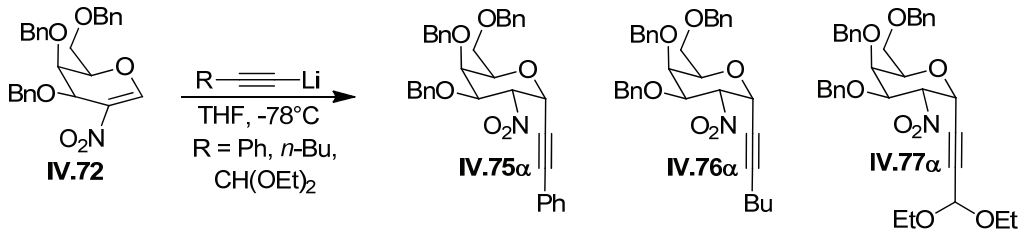


Figure IV-10 :

Nous avons ensuite tenté de mettre au point la cycloaddition permettant d'accéder aux dérivés pyridaziniques. Malgré de multiples échecs, cette réaction a pu être effectuée en série phényle mais avec un faible rendement de 8 % (Schéma IV-35). Le sucre de départ semble très peu réactif avec la tétrazine diester utilisée et la méthode reste donc à optimiser pour être ensuite appliquée à nos autres dérivés acétyléniques.

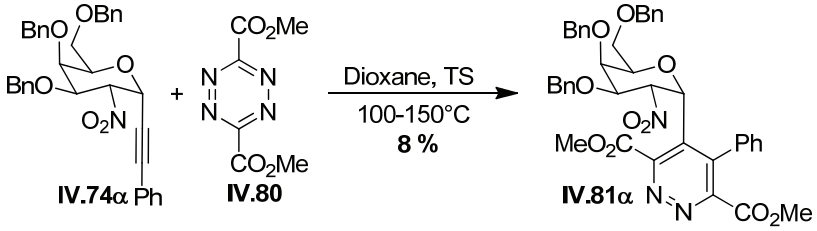


Schéma IV-35 : Cyloaddition [4+2] réalisée

Une fois la cycloaddition optimisée, l'étape de régression de cycle suivie de la lactamisation intramoléculaire devrait nous permettre de synthétiser de nouveaux analogues de pyrrolo-pyridinones diversement substitués (Schéma IV-36).

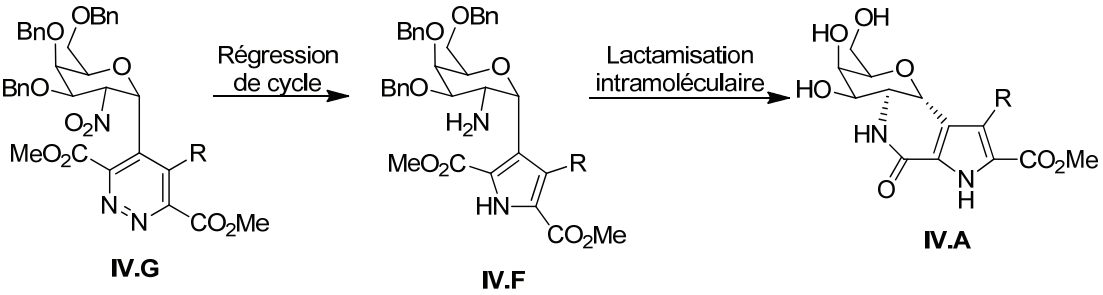


Schéma IV-36 : Synthèse des galactosyl-pyrrolo-pyridinones

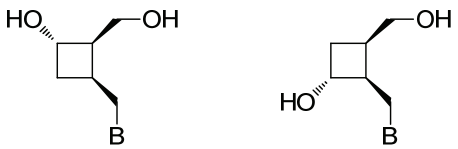
Conclusion générale

Le travail présenté dans cette thèse est axé sur la synthèse de nouveaux analogues de nucléosides en vue de leur incorporation dans un enchaînement oligonucléotidique.

Le projet s'inscrit dans le cadre d'une collaboration entre les laboratoires de synthèse organique du Mans (UCO2M, S. Legoupy) et de Nantes (CEISAM, D. Dubreuil) qui ont associé leurs compétences pour définir plusieurs familles d'analogues nucléosidiques qui ont constitué la cible de ce travail.

Dans le premier chapitre, nous avons rappelé les caractéristiques des nucléosides, des nucléotides et des acides nucléiques et les principales modifications décrites dans la littérature, tant sur la partie sucre que sur les bases nucléiques, ont été rappelées. Nous avons ainsi mis en évidence la place importante qu'occupent les analogues de nucléosides dans les stratégies thérapeutiques actuelles et plus particulièrement comme agents anticancéreux et antiviraux. Malgré leur rôle crucial, l'efficacité de ces molécules de synthèse dépend de problèmes de sélectivité, de toxicité, et de chimiorésistance. Afin de contourner ces inconvénients, l'élaboration de nouveaux analogues de nucléosides présentant des modifications structurales susceptibles d'améliorer leur performance biologique reste d'actualité, par exemple, dans l'optique de les insérer dans un enchaînement oligonucléotidique. En effet, même si l'utilisation des oligonucléotides reste encore marginale dans les traitements thérapeutiques classiques, ces biopolymères s'avèrent très prometteurs dans le cadre de la thérapie génique, notamment pour les stratégies antisens et anti-gène, dont nous avons rappelé les bases. Les scientifiques s'étant penchés sur les squelettes oligonucléotidiques incorporants des acides nucléiques naturels et synthétiques, nous avons exposé les principales modifications entreprises sur ces macromolécules. Pour finir, nous avons clos ce chapitre en décrivant les différentes méthodes de synthèse des oligonucléotides.

La synthèse d'analogues de nucléosides cyclobutaniques optiquement purs, et l'incorporation d'un premier motif sélectionné dans une séquence oligonucléotidique, a fait l'objet du second chapitre. Ainsi, les méthodes de synthèse énantiosélectives d'analogues de nucléosides cyclobutaniques ont tout d'abord été rappelées. Dans notre équipe, les analogues de nucléosides cyclobutaniques dihydroxylés **A** et **B** (Figure B-1) ont déjà été synthétisés *via* une stratégie impliquant l'acétylation énantiosélective d'un diol cyclobuténique *méso*, l'introduction des bases hétérocycliques par une réaction de Mitsunobu, puis une réaction d'hydroboration-oxydation.



A (B = adénine, thymine) **B** (B = adénine, thymine)

Figure B-1 : Analogues de nucléosides cyclobutaniques synthétisés antérieurement au laboratoire

Notre objectif étant l'obtention de nouveaux analogues d'oligonucléotides dont le squelette furanoside est remplacé par un carbacycle cyclobutylique, nous avons envisagé de reprendre cette voie de synthèse, mais en la réadaptant aux contraintes générées par la synthèse d'oligonucléotides (Schéma B-1). En effet, les nucléosides **A** et **B** avaient, à l'époque, été préparés en protégeant l'hydroxyle en position pseudo 5' par un dérivé silylé (TBDPS). La synthèse oligonucléotidique nécessitant la protection de cet hydroxyle par une fonction DMTr, nous avons introduit cette dernière en début de synthèse au lieu du TBDPS.

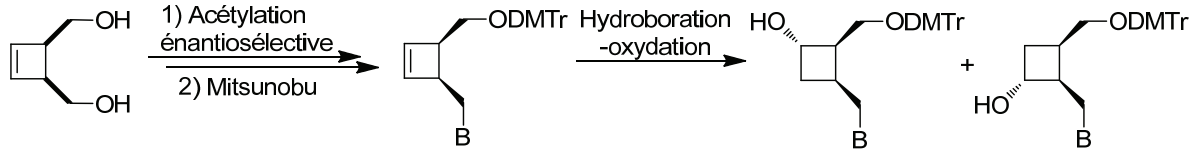


Schéma B-1 : Synthèse envisagée pour la préparation de nos analogues cyclobutaniques

Malheureusement, en présence de ce groupement, l'étape d'hydroboration-oxydation a conduit à un mélange de quatre régioisomères que nous ne sommes pas parvenus à séparer. Face à ces difficultés inattendues et limitantes, la voie développée au laboratoire passant par une protection TBDPS a du être réutilisée, imposant une déprotection de ce groupement seulement en fin de synthèse pour le remplacer par la fonction DMTr indispensable. Même si cette étape s'est avérée plus délicate que prévu, nous avons finalement obtenus trois analogues cyclobutaniques dont 2 en série pyrimidique **C** et **D** et 1 en série purique **E** avec des rendements globaux respectifs de 5,3 %, 5,1 % et 0,5 % sur neuf étapes. Une première approche pour valider l'incorporation de ces motifs dans de nouveaux enchaînements oligonucléotidiques originaux a ainsi pu être entreprise par l'équipe du Dr Rachid Benhida (LCMBA, Université de Nice Sophia-Antipolis). Le motif **C**, après fonctionnalisation de son hydroxyle secondaire par un groupement phosphoramidite, a finalement permis l'obtention de trois premiers enchaînements oligonucléotides originaux : deux 15-mères (**ODN-I** et **ODN-II**) destinés à être testés dans un contexte antisens, et un 18-mère (**ODN-III)**, qui sera testé pour la stratégie anti-gène. Les évaluations sont actuellement en cours.

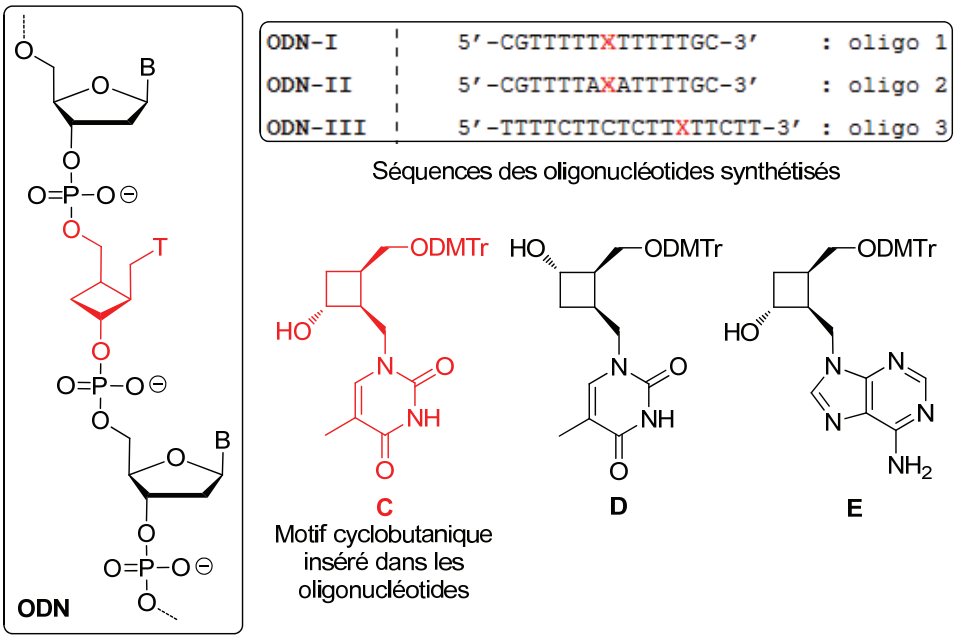


Figure B-2 : Oligonucléotides synthétisés au cours de ce travail

Dans un troisième chapitre, nous avons abordé la préparation de nouveaux analogues de nucléosides cyclohexéniques chiraux non racémiques après avoir rappelé les méthodes de synthèse énantiosélectives des nucléosides cyclohexéniques et cyclohexaniques. L'étape clé de cette cible est une réaction de cycloaddition [4+2] totalement régio et endo-sélective entre un diène (*E*,*E*) et un diénophile portant un inducteur chiral, menant ainsi à un adduit cyclohexénique énantiopur **F** dont la structure a été confirmée par diffraction aux rayons X. Ce composé nous a conduit, après une étape de réduction qu'il nous a fallu optimiser pour obtenir un triol cyclohexénique, et l'introduction des bases nucléiques par des méthodes classiques à partir d'une amine primaire, à deux nouveaux analogues de nucléosides cyclohexéniques **G** et **H** en série adénine et thymine avec des rendements globaux respectifs de 3,0 % sur 10 étapes et de 3,6 % sur 9 étapes (Schéma B-2).

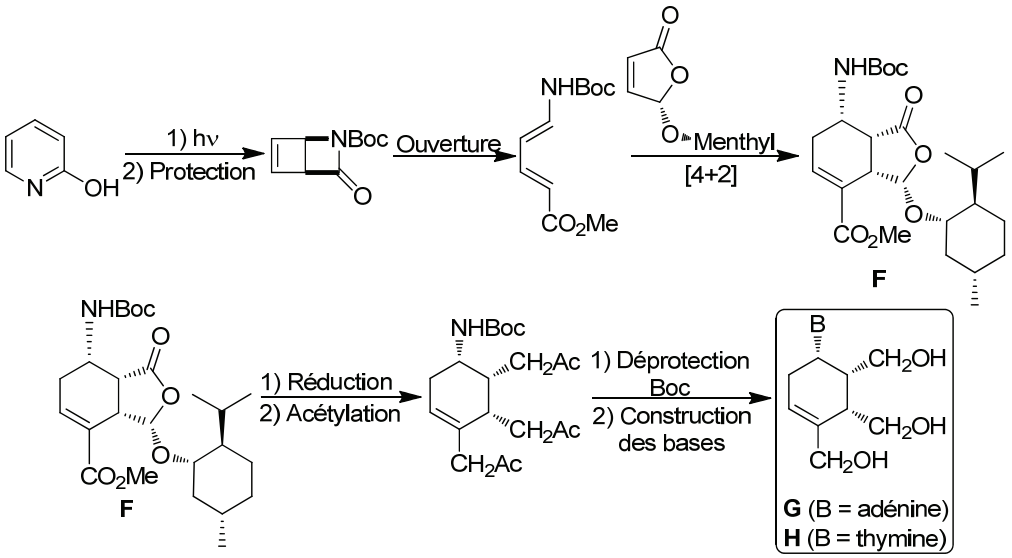


Schéma B-2 : Stratégie employée lors de la synthèse des nucléosides cyclohexéniques

Les résultats des évaluations biologiques de ces composés n'ont pas encore été enregistrés et seront complétés ultérieurement dans le domaine anticancéreux au préalable de leur incorporation dans un enchaînement oligonucléotidique. Dans cette optique, nous avons ainsi initié une étude visant à différencier les trois hydroxyles résultants de notre voie de synthèse *via* l'ouverture de la lactone du cycloadduit **F**.

A terme, notre stratégie de synthèse offre également l'opportunité de reprendre le même schéma de synthèse pour accéder à d'autres analogues **I** et **J** comportant des bases cytosine ou guanine (Schéma B-3).

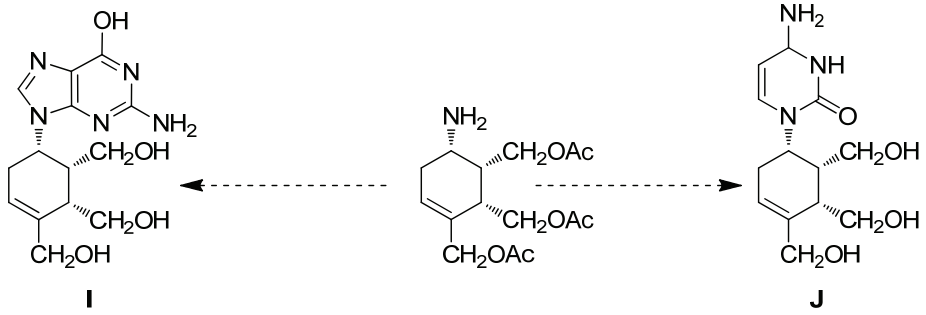


Schéma B-3 : Introduction de la cytosine ou de la guanine

De plus, la structure de nos nucléosides cyclohexéniques préfigure l'accès à de nouveaux analogues cyclohexaniques contraints sur la partie sucre. En effet, la différenciation des hydroxyles de l'intermédiaire **K** pourrait également nous permettre à terme d'accéder aux structures contraintes de type **L** (Schéma B-4). Des essais préliminaires ont été réalisés mais n'ont pour l'instant pas abouti.

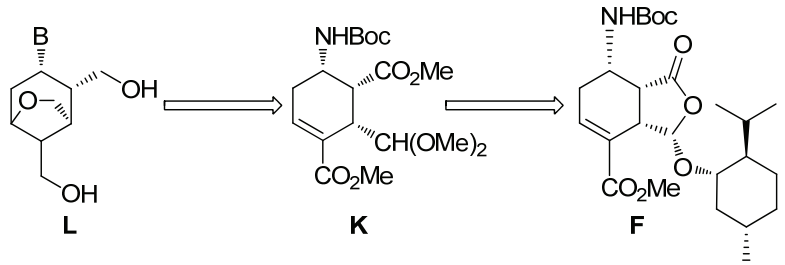


Schéma B- 4 : Stratégie envisagée pour la synthèse de nucléosides cyclohexaniques contraints

Une des perspectives possibles de notre travail serait, à terme, d'incorporer aussi des motifs cyclohexaniques contraints dans des enchaînements oligonucléotidiques (Figure B-3). L'introduction d'un pont anhydro devrait par ailleurs accroitre la rigidité conformationnelle des enchaînements dans lesquels ils seraient introduits et optimiser ainsi les propriétés d'hybridation et de stabilité des complexes entre les brins d'ADN ou d'ARN qui leurs seront complémentaires comme l'ont démontré les travaux d'Herdewijn et *coll*.

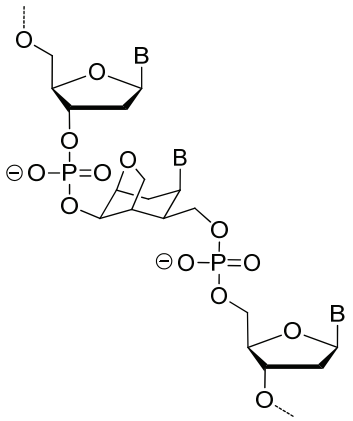


Figure B-3 : Incorporation de nucléosides cyclohexaniques dans un enchaînement oligonucléotidique

Le dernier chapitre de cette thèse s'inscrit dans la continuité d'une thématique à l'interface de la glycochimie et de l'hétérochimie initiée en collaboration entre les laboratoires du Mans et de Nantes depuis quelques années dans le cadre du CPER régional (CPER-Pharmacochimie). Il a porté sur l'accès à des dérivés galactosyl-pyrrolo-pyridinones **O** (X = NH) selon une stratégie développée dans l'équipe du Professeur Didier Dubreuil, qui a permis d'obtenir plusieurs composés pyrano-pyrroles originaux **N**. Cette stratégie implique une séquence rétrosynthétique de lactamisation intramoléculaire-régression de cycle-cycloaddition [4+2] à partir de précurseur α-galactosides 1-*C*-acétyléniques **M** (Schéma B-5).

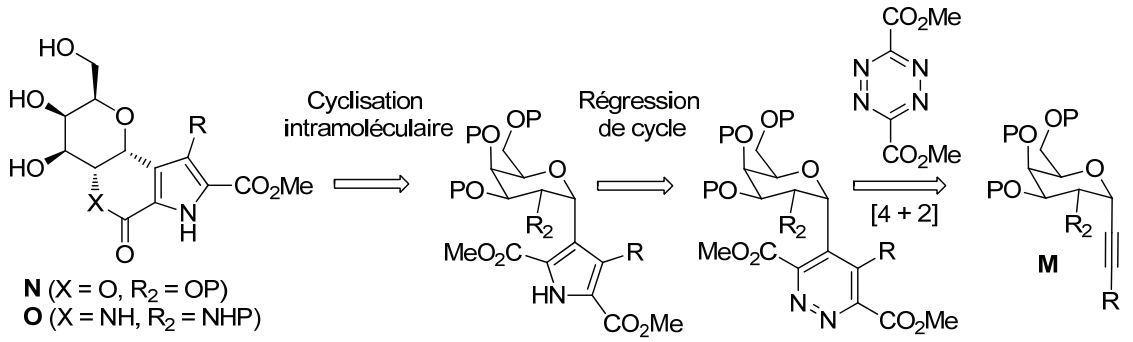


Schéma B-5 : Rétrosynthèse des dérivés pyrrolo-pyridinones

Dans cet objectif, notre contribution s'est porté sur la préparation des précurseurs α-galactosides 1-*C*-acétyléniques **M** portant en position 2 du sucre pyranosyle une fonction amine (ou amine masquée). Cette fonction est destinée à former ultérieurement le cycle lactamique de façon intramoléculaire en présence d'une fonction ester résiduelle qui elle même proviendra de la transformation d'un cycle pyridazinique diester en pyrrole correspondant par régression de cycle.

Après diverses tentatives, la synthèse de 2-nitro-α-galactosides 1-*C*-acétyléniques inconnus à ce jour a ainsi été retenue et entreprise selon une méthode impliquant l'addition de Michael d'un acétylure de lithium sur un 2-nitroglycal protégé par des groupements benzyles. Cette réaction a mené aux α-galactosides **P**, **Q** et **R**, diversement substitués. Ces précurseurs acétyléniques seront employés pour finaliser le projet que nous n'avons pas achevé par manque de temps et obtenir les dérivés galactosyl-pyrrolo-pyridinones (Schéma B-6). Notons

que le composé **S** fonctionnalisé par un acétal pourrait s'avérer très intéressant car la régénération de l'aldéhyde induirait un point d'ancrage permettant la fonctionnalisation ultérieure des dérivés pyrrolo-pyridinones.

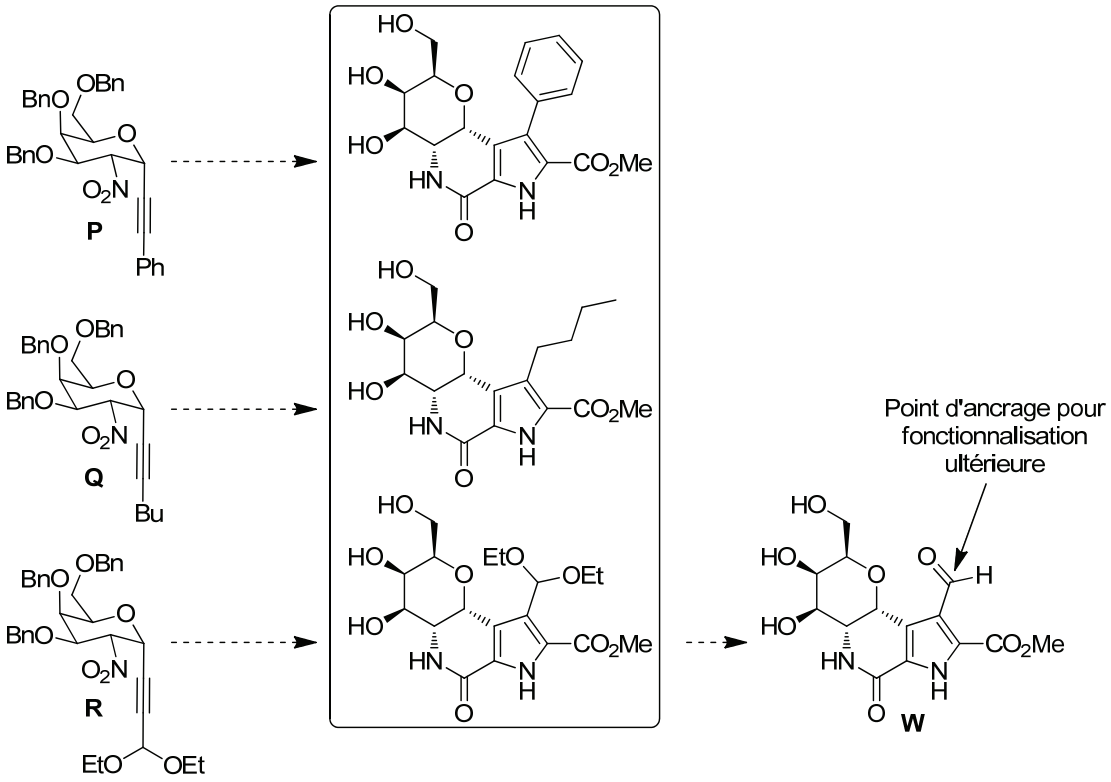


Schéma B-6 : Synthèse envisagée pour les dérivés pyrrolo-pyridinones

Partie expérimentale

Généralités

Les réactions nécessitant des conditions anhydres ont été effectuées dans des pièces de verrerie séchées à l'étuve, puis refroidies sous atmosphère inerte (azote ou argon sec).

Les solvants organiques ont été distillés suivant les méthodes décrites par Perrin,[251] à l'exception du THF, du dichlorométhane et de l'éther diéthylique, qui ont été séchés par passage sur une colonne d'alumine sur un appareil Glass Technology GT S100.

Pour des raisons d'ordre pratique et de meilleure compréhension, la numérotation utilisée lors de la description des spectres RMN n'est pas forcément celle correspondant à la nomenclature systématique.

La partie expérimentale est ici présentée en anglais pour permettre son exploitation directe dans les publications en cours.

Chromatographies sur couche mince (CCM)

L'évolution des réactions est suivie, dans la mesure du possible, par CCM sur des plaques de silice Kiesielgel 60 F_{254} (Merck). La révélation se fait dans un premier temps à l'UV ($\lambda = 254$ nm), puis, lorsque cela est nécessaire, à l'aide de révélateurs chimiques (*vanilline* : 6 g de vanilline, 100 mL d'EtOH 95 %, 1 mL de H_2SO_4 95 % ; *mostaïne* : 250 mL d'H_2O, 10,5 g de $(NH_4)Mo_7O_{24},4H_2O$, 0,5 g de $Ce(SO_4)_2$, 15,5 mL de H_2SO_4 95 %).

Chromatographies sur colonne

Les produits ont été purifiés par chromatographie éclaire sur colonne de gel de silice Kiesielgel 60, 230-400 mesh (Merck) poussée à l'air comprimé.

Résonnance Magnétique Nucléaire (RMN ou NMR)

Les spectres RMN ont été enregistrés sur des spectromètres Bruker Avance 400 (400 MHz pour le ^1H, 100 MHz pour le ^{13}C) à température ambiante à partir d'échantillons en solution dans des solvants appropriés. Le tétraméthylsilane est utilisé comme référence interne. Les valeurs des déplacements chimiques (δ) sont exprimées en partie par million (ppm) et les constantes de couplage (J) en hertz (Hz). La multiplicité des signaux est indiquée à l'aide des abréviations suivantes : s (singulet), br s (singulet large), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet), dd (doublet de doublet), etc.

[251] Perrin, D. D.; Amarego, W. L. F *Purification of Laboratory Chemicals*, Pergamon Press : Oxford, 1988.

Chromatographie en Phase Gazeuse chirale (CPG chirale)

Les chromatogrammes ayant permis la détermination des excès énantiomériques ont été obtenus à l'aide d'un appareil de CPG Hewlett Packard (5890 Series II) équipé d'une colonne chirale Resteck β-DEX Sm (25 m × 0,25 mm). Les conditions d'expériences sont données en annexe.

Polarimétrie

Les pouvoirs rotatoires spécifiques ont été mesurés à l'aide d'un polarimètre JASCO P-2000 (longueur de cuve 10 cm) : $[\alpha]_D^{t°C} = \frac{\alpha\,obs}{c \times l}$

α obs : rotation observée en millidegré

c : concentration en $g.dL^{-1}$

l : longueur de la cellule en cm

Spectroscopie de Masse Haute Résolution (SMHR ou HRMS)

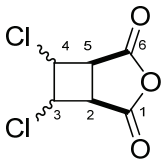
Les spectres de masse haute résolution ont été réalisés par champ de désorption (FD) ou par ionisation chimique (CI) avec NH_3 sur un appareil Waters Micromass GCT Premier, en introduction directe

Température de fusion (mp)

Les points de fusion ont été déterminés en utilisant un appareil Electrothermal IA 9000 Series II et ne sont pas corrigés.

Experimental section – Chapter II

(1*R*,5*S*)-6,7-Dichloro-3-oxabicyclo[3.2.0]heptane-2,4-dione II.63[200]



$C_6H_4Cl_2O_3$
M = 195.00 g.mol^{-1}
Beige powder

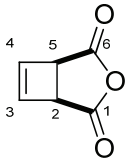
II.63

A solution of freshly recristallised maleic anhydride (51.0 g, 0.52 mol) and (*E*)-1,2-dichloroethene (46.0 mL, 0.59 mol) in EtOAc (900 mL) was irradiated by 400 W lamp during 48 h. The solvent was evaporated, then the residue was taken in Et_2O and filtered to afford 6,7-dichloro-3-oxabicyclo[3.2.0]heptane-2,4-dione **II.63** (55.0 g, 0.28 mol, 54 %) as a beige powder.

^{1}H NMR (400 MHz, acetone-d_6) δ (ppm) : 5.47-5.08 (m, 2H, H-3, H-4), 4.31-3.82 (m, 2H, H-2, H-5).

^{13}C NMR (100 MHz, acetone-d_6) δ (ppm) : : 169.6 (C=O), 169.0 (C=O), 168.4 (C=O), 167.9 (C=O), 59.7/57.0/56.6/54.8 (C-3, C-4), 49.6/47.8/47.2/45.2 (C-2, C-5).

3-Oxabicyclo[3.2.0]hept-6-ene-2,4-dione II.64[200]



$C_6H_4O_3$
M = 124.09 g.mol^{-1}
White powder
mp = 89-91°C, mp (lit.[200]) = 91-92°C

II.64

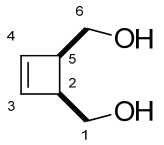
In a 2 L three neck flask under argon, equipped with mechanical stirring bar and containing dry toluene (500 mL), was added a solution of compound **II.63** (30.0 g, 154.0 mmol) in acetic anhydride (175 mL). The mixture was heated to 60°C, then freshly activated zinc powder (260.0 g, 367.0 mmol) (washed with 2 % aqueous solution of HCl (×2), distilled water (×3), 95 % aqueous EtOH solution (×3), absolute EtOH (×1), Et_2O (×1) and dried *in vacuo*) was added. The suspension was heated at 95°C for 48 h, then cooled, filtered through celite and washed with hot toluene. The filtrate was concentrated under reduced pressure and coevaporated with toluene to give black oil which was dried overnight at 40°C *in vacuo*. A distillation without Vigreux neither refrigerant and *in vacuo* was then carried. The distilled fraction (P = 0.1-0.2 mmHg, bp = 80-120°C) was trapped in a cool receptor flask at -

78°C. Trituration of the mixture with Et_2O at -25°C followed by filtration gave 3-oxabicyclo[3.2.0]hept-6-ene-2,4-dione **II.64** (10.2 g, 82.2 mmol, 53 %) as a white powder.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 6.42 (s, 2H, H-3, H-4), 4.02 (s, 2H, H-2, H-5).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 168.3 (C=O), 139.4 (C-3, C-4), 47.9 (C-2, C-5).

Cyclobut-3-ene-1,2-diyldimethanol II.44[199]



II.44

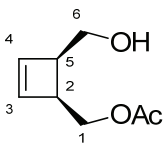
$C_6H_{10}O_2$
M = 114,14 g.mol^{-1}
Pale yellow oil
R_f = 0.20 (CH_2Cl_2 / EtOAc : 1 / 1)

To a cool (0°C) suspension of $LiAlH_4$ (6.45 g, 170.0 mmol) in dry THF (200 mL), was added dropwise a solution of compound **II.64** (5.00 g, 40.3 mmol) in dry THF (50 mL) under argon atmosphere. The reaction was refluxed for 21 h, then cooled to -5°C before addition of a solution of 2 M aqueuse KOH solution (43 mL). After 15 min., 75 mL of Et_2O were added, and the salts were filtered, washed with Et_2O (4x50 mL). The combined filtrates were concentrated, and the residue was poured into CH_2Cl_2 (100 mL). The organic phases were dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated to afford cyclobut-3-ene-1,2-diyldimethanol **II.44** (4.08 g, 35.8 mmol, 89 %) as a pale yellow oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 6.04 (s, 2H, H-3, H-4), 4.02 (s large, 2H, OH), 3.85 (ddd, 2H, H-1a, H-6a, $^3J_{H1a/H2} = {}^3J_{H6a/H5}$ = 3,9 Hz, $^2J_{H1a/H1b} = {}^2J_{H6a/H6b}$ = 11.3 Hz), 3.73 (ddd, 2H, H-1b, H-6b, $^3J_{H1b/H2} = {}^3J_{H6b/H5}$ = 10,8 Hz, $^2J_{H1b/H1a} = {}^2J_{H6b/H6a}$ = 11,3 Hz), 3.28-3.20 (m, 2H, H-2, H-5).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 137.3 (C-3, C-4), 61.8 (C-6, C-1), 48.0 (C-2, C-5).

(-)-((1*S*,4*R*)-4-(Hydroxymethyl)cyclobut-2-enyl)methyl acetate (-)-II.45[199]



(-)-II.45

$C_8H_{12}O_3$
M = 156.18 g.mol^{-1}
Colorless liquid
R_f = 0.50 (CH_2Cl_2 / EtOAc : 1 / 1)
ee ≥ 99 %

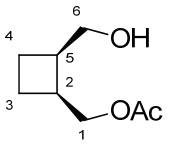
A cool (-25°C) solution of diol **II.44** (2.00 g, 174.5 mmol) and PFL (0.19 g) in freshly distilled vinyl acetate (38 mL) was stirred for 20 h under argon atmosphere. The enzyme was eliminated by filtration and washed with Et_2O (3×30 mL). The filtrate was concentrated, followed by further purification using silica gel column chromatography (CH_2Cl_2 / EtOAc :

9 / 1) to give (-)-((1*S*,4*R*)-4-(hydroxymethyl)cyclobut-2-enyl)methyl acetate **(-)-II.45** (2.36 g, 15.1 mmol, 86 %) as a colorless liquid.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 6.15 (d, 1H, H-4, $^3J_{H4/H3}$ = 3.1 Hz), 6.12 (d, 1H, H-3, $^3J_{H3/H4}$ = 3.1 Hz), 4.35 (dd, 1H, H-6a, $^3J_{H6a/H5}$ = 6.1 Hz, $^2J_{H6a/H6b}$ = 11.3 Hz), 4.18 (dd, 1H, H-6b, $^3J_{H6b/H5}$ = 8.6 Hz, $^2J_{H6b/H6a}$ = 11.3 Hz), 3.76 (d, 2H, H-1, $^3J_{H1/H2}$ = 6.9 Hz), 3.24 (m, 1H, H-2), 3.19 (m, 1H, H-5), 2.33 (br s, 1H, OH), 2.08 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 170.8 (C=O), 138.2 (C-4), 137.4 (C-3), 64.1 (C-1), 62.0 (C-6), 47.8 (C-2), 44.2 (C-5), 20.9 (CH_3).

(+)-((1*S*,2*R*)-2-(Hydroxymethyl)cyclobutyl)methyl acetate (+)-II.65[199]



(+)-II.65

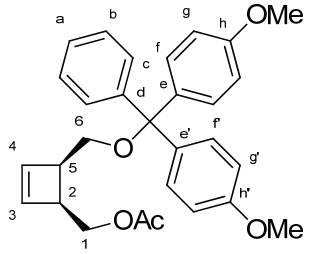
$C_8H_{14}O_3$
M = 158.20 g.mol^{-1}
Colorless liquid
R_f = 0.50 (CH_2Cl_2 / EtOAc : 1 / 1)
ee ≥ 99 %

In a glass bomb containing a solution of monoacetate **(-)-II.45** (30 mg, 0.19 mmol) in EtOAc (5 mL), was added 10 % Pd/C 90 mg), then the suspension was stirred at 20°C for 24 h under a dihydrogen pressure of 3 bars. Filtration using silica gel column chromatography (CH_2Cl_2 / EtOAc : 3 / 1) led to (+)-((1*S*,2*R*)-2-(hydroxymethyl) cyclobutyl)methyl acetate **(+)-II.65** (30 mg, 0.19 mmol, quantitative yield) as a colorless liquid.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 4.23 (dd, 1H, H-6a, $^3J_{H6a/H5}$ = 3.1 Hz, $^2J_{H6a/H6b}$ = 17.3 Hz), 4.20 (dd, 1H, H-6b, $^3J_{H6b/H5}$ = 6.4 Hz, $^2J_{H6b/H6a}$ = 17.3 Hz), 3.77 (dd, 2H, H-1, $^3J_{H1/H2}$ = 8.5 Hz, $^2J_{H1a/H1b}$ = 11.3 Hz) ; 2.80-2.64 (m, 2H, H-2, H-5), 2.06 (s, 3H, CH_3), 2.17-2.01 (m, 2H, H-4), 1.76-1.63 (m, 3H, H-3, OH).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 170.9 (C=O), 64.7 (C-1, C-6), 37.9 (C-2), 34.5 (C-5), 21.1 (C-3), 21.0 (CH_3), 20.7 (C-4).

(+)-((1*S*,4*R*)-4-((Bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methyl acetate (+)-II.66



(+)-II.66

$C_{29}H_{30}O_5$
M = 458.54 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.83 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)
$[a]_D^{25°C}$ + 1 (c = 1.185 $CHCl_3$)

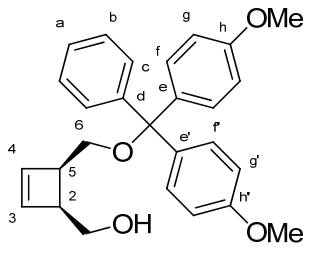
A solution of monoacetate **(-)-II.45** (2.16 g, 13.8 mmol) and DMTrCl (6.00 g, 17.7 mmol) in dry pyridine (100 mL) was stirred for 12 h at rt. The solvent was evaporated under reduced pressure. Further purification by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 95 / 5, 1 % of Et_3N) gave (+)-((1*S*,4*R*)-4-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methyl acetate **(+)-II.66** (6.30 g, 13.7 mmol, 99 %) as a colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.43 (d, 2H, H-c, $^3J_{c\text{-}b}$ = 8.6 Hz), 7.32 (d, 4H, H-f and H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 8.7 Hz, $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 8.7 Hz), 7.28-7.16 (m, 3H, H-a and H-b), 6.82 (d, 2H, H-g, $^3J_{g\text{-}f}$ = 8.7 Hz), 6.81 (d, 2H, H-g', $^3J_{g'\text{-}f'}$ = 8.7 Hz), 6.18 (d, 1H, H-4, $^3J_{4\text{-}3}$ = 2,7 Hz), 6.08 (d, 1H, H-3, $^3J_{3\text{-}4}$ = 2,7 Hz), 4.14 (dd, 1H, H-1a, $^3J_{1a\text{-}2}$ = 7.2 Hz, $^2J_{1a\text{-}1b}$ = 18.3 Hz), 3.99 (dd, 1H, H-1b, $^3J_{1b\text{-}2}$ = 7.0 Hz, $^2J_{1b\text{-}1a}$ = 18.3 Hz), 3,78 (s, 6H, OCH_3), 3.31-3.04 (m, 4H, H-2, H-5, H-6), 1.89 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 170.9 (C=O), 158.4 (C-h and C-h'), 145.2 (C-d), 138.8 (C-4), 137.6 (C-3), 136.5 (C-e or C-e'), 136.3 (C-e or C-e'), 130.0 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 128.2 (C-c), 127.8 (C-b), 126.7 (C-a), 113.0 (C-f or C-f' and C-g or C-g') ; 85.9 (C(PhOMe)$_2$Ph), 64.5 (C-1), 63.1 (C-6), 55.1 (OCH_3), 45.7 (C-2 or C-5), 44.5 (C-2 or C-5), 21.0 (CH_3).

HRMS Calculated for $C_{29}H_{30}O_5$ $[M]^+$: 458.2093. Found : 458.2081.

(+)-((1*S*,4*R*)-4-((Bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methanol (+)-II.67



$C_{27}H_{28}O_4$
M = 416.51 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.63 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)
$[a]_D^{25°C}$ + 69 (c = 0.98 $CHCl_3$)

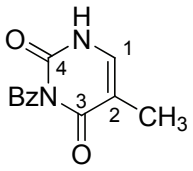
To a stirred, cool (0°C) solution of compound **(+)-II.66** (6.30 g, 13.7 mmol) in dry MeOH (50 mL), was added a saturated methanolic ammonia solution (200 mL) under argon atmosphere. The reaction was stirred at rt for 48 h, and the solvent was evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 9 / 1, 1 % of Et_3N) to furnish (+)-((1*S*,4*R*)-4-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methanol **(+)-II.67** (5.20 g, 12.5 mmol, 91 %) as colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.43 (d, 2H, H-c, $^3J_{c\text{-}b}$ = 8.1 Hz), 7.34 (d, 4H, H-f and H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 8.9 Hz, $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 8.9 Hz), 7.32-7.28 (m, 2H, H-b), 7.22-7.19 (m, 1H , H-a) ; 6.87-6.82 (d, 4H, H-g and H-g', $^3J_{g\text{-}f}$ = 8.9 Hz, $^3J_{g'\text{-}f'}$ = 8.9 Hz), 5.96 (d, 1H, H-4, $^3J_{4\text{-}3}$ = 2.9 Hz), 5.90 (d, 1H, H-3, $^3J_{3\text{-}4}$ = 2.9 Hz), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.65-3.26 (m, 6H, H-1, H-2, H-5, H-6), 2.84 (t, 1H, OH).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 158.6 (C-h and C-h'), 144.6 (C-d), 138.0 (C-4), 136.7 (C-3), 136.2 (C-e or C-e'), 135.4 (C-e or C-e'), 129.8, 129.7 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 128.2 (C-b), 127.7 (C-c), 127.0 (C-a), 113.4 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 87.1 (C(PhOMe)$_2$Ph), 63.6 (C-1), 61.7 (C-6), 55.2 (2×OCH_3), 49.0 (C-2 or C-5), 45.5 (C-2 or C-5).

HRMS Calculated for $C_{27}H_{28}O_4$ $[M]^+$: 416.1988. Found : 416.1971.

3-Benzoyl-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione II.70



II.70

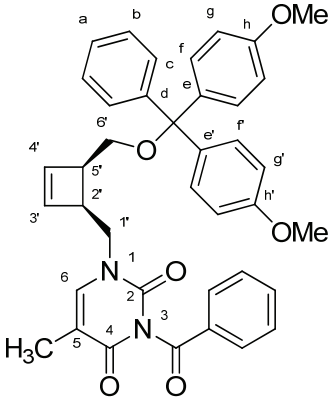
$C_{12}H_{10}N_2O_3$
M = 230.22 g.mol^{-1}
White powder

To a solution of thymine (3.78 g, 30.0 mmol) in a mixture of CH_3CN (48 mL) and pyridine (20 mL), was slowly added BzCl (13.8 mL, 119.0 mmol). The reaction was stirred for 4 h at rt, then the solvents were evaporated. The residue was dissolved in a 1/1 mixture of water / dioxane (90 mL), and K_2CO_3 (6.24 g, 45.0 mmol) was added. After stirring for 12 h at the temperature, the mixture was acidified using 1 M aqueous HCl solution (until pH = 3). The suspension was filtered, and the solid was washed with EtOH. Further recrystallisation in EtOH afforded 3-benzoyl-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione **II.70** (5.24 g, 22.8 mmol, 76 %) as a white powder.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 9.57 (br s, 1H, NH), 7.95 (d, 2H, Bz), 7.68 (t, 1H, Bz), 7.50 (m, 2H, Bz), 7.12 (s, 1H, H-1), 1.95 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 167.7, 162.1, 151.1, 142.1, 135.8, 132.1, 131.0, 129.9, 110.2, 18.7.

(+)-3-Benzoyl-1-(((1*S*,4*R*)-4-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl) cyclobut-2-enyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione (+)-II.71



(+)-II.71

$C_{39}H_{36}N_2O_6$
M = 628.71 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.46 (cyclohexane / EtOAc : 3 / 2)
$[a]_D^{25°C}$ + 9 (c = 1.62 $CHCl_3$)

To a solution of alcohol **(+)-II.67** (1.2 g, 2.88 mmol) in dry THF (40 mL), were added PPh_3 (1.5 g, 5.72 mmol) and N^3-benzoylthymine **II.70** (1.4 g, 6.08 mmol) in the dark and under argon atmosphere. A solution of DIAD (1.2 mL, 6.05 mmol) in THF (20 mL) was then added dropwise, and the reaction was stirred for 48 h at rt. The solvent was evaporated, and the residue was purified by silica gel column chromatography (toluene with 1 % of Et_3N) to obtain (+)-3-benzoyl-1-(((1*S*,4*R*)-4-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl) cyclobut-2-enyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione **(+)-II.71** (1.5 g, 2.39 mmol, 83 %) as a white foam.

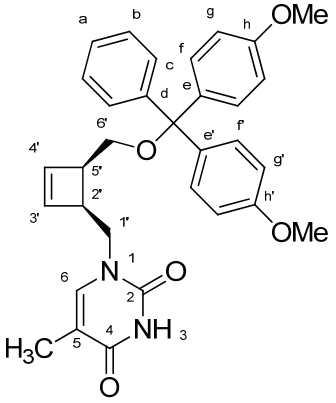
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.90 (2H, $H_{orthoC=O}$, $J_{HorthoC=O/HparaC=O}$ = 1.0 Hz, $J_{HorthoC=O/HmetaC=O}$ = 8.3 Hz), 7.65-7.61 (m, 1H, $H_{paraC=O}$), 7.50-7.43 (m, 4H, H-c and $H_{metaC=O}$), 7.32 (d, 2H, H-f or H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 8.5 Hz or $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 8.5 Hz), 7.31 (d, 2H, H-f or H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 8.5 Hz or $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 8.5 Hz), 7.29-7.27 (m, 2H, H-b), 7.23-7.19 (m, 1H, H-a), 6.95 (d, 1H, H-6, $^4J_{H6/CH3}$ = 1.0 Hz), 6.83 (d, 2H, H-g or H-g', $^3J_{g\text{-}f}$ = 8.5 Hz or $^3J_{g'\text{-}f'}$ = 8.5 Hz), 6.82 (d, 2H, H-g or H-g', $^3J_{g\text{-}f}$ = 8.5 Hz or $^3J_{g'\text{-}f'}$ = 8.5 Hz), 6.15 (d, 1H, H-4', $^3J_{H4'/H3'}$ = 2.9 Hz), 6.13 (d, 1H, H-3', $^3J_{H3'/H4'}$ = 2.9 Hz), 3.98 (dd, 1H, H-1'a, $^3J_{H1'a/H2'}$ = 4.8 Hz, $^2J_{H1'a/H1'b}$ = 13.7 Hz), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.51 (dd, 1H, H-1'b, $^3J_{H1'b/H2'}$ = 10.2 Hz, $^2J_{H1'b/H1'a}$ = 13.7 Hz), 3.36-3.31 (m, 3H, H-2' or H-5', H-6'), 3.07-3.02 (m, 1H, H-2' or H-5'), 1.89 (d, 3H, CH_3, $^4J_{CH3/H6}$ = 1.0 Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 169.2 (C=O, Bz), 163.2 (C-2), 158.5 (C-h and C-h'), 149.7 (C-4), 144.9 (C-d), 140.6 (C-6), 138.3 (C-4'), 138.0 (C-3'), 136.1 (C-e or C-e'), 135.9 (C-e or C-e'), 134.9 ($C_{paraC=O}$), 131.7 ($C_{quat\ Bz}$), 130.4 ($_{CorthoC=O}$), 129.9 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 129.1 ($C_{metaC=O}$), 128.0 (C-c), 127.9 (C-b), 126.8 (C-

a), 113.2 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 110.3 (C-5), 86.1 (C(PhOMe)$_2$Ph), 62.8 (C-1'), 55.2 (OCH_3), 49.7 (C-6'), 45.7 (C-2' or C-5'), 44.6 (C-2' or C-5'), 12.4 (CH_3).

HRMS Calculated for $C_{39}H_{36}N_2O_6$ $[M]^+$: 628.2573. Found : 628.2582.

(+)-1-(((1*S*,4*R*)-4-((Bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione (+)-II.72



(+)-II.72

$C_{32}H_{32}N_2O_5$
M = 524.61 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.46 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)
$[a]_D^{25°C}$ + 12 (c = 0.925 $CHCl_3$)

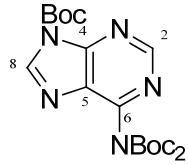
To a stirred, cool (0°C) solution of compound **(+)-II.71** (1.50 g, 2.39 mmol) in dry MeOH (20 mL), was added a saturated methanolic ammonia solution (60 mL) under argon atmosphere. After stirring for 48 h at rt, the solvent was evaporated, and the residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 8 / 2 with 1 % of Et_3N) to give (+)-1-(((1*S*,4*R*)-4-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione **(+)-II.72** (1.20 g, 2.29 mmol, 96 %) as a white foam.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.44 (d, 2H, H-c, $^3J_{c\text{-}b}$ = 8.7 Hz), 7.33 (d, 2H, H-f or H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 8.8 Hz or $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 8.8 Hz), 7.32 (d, 2H, H-f or H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 8.8 Hz or $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 8.8 Hz), 7.29-7.27 (m, 2H, H-b), 7.23-7.19 (m, 1H, H-a), 6.85-6.82 (m, 5H, H-6, H-g and H-g'), 6.16 (d, 1H, H-4', $^3J_{H4'/H3'}$ = 2.9 Hz), 6.11 (d, 1H, H-3', $^3J_{H3'/H4'}$ = 2.9 Hz), 3.97 (dd, 1H, H-1'a, $^3J_{H1'a/H2'}$ = 4.8 Hz, $^2J_{H1'a/H1'b}$ = 13.7 Hz), 3.79 (s, 6H, OCH_3), 3.46 (dd, 1H, H-1'b, $^3J_{H1'b/H2'}$ = 10.2 Hz, $^2J_{H1'b/H1'a}$ = 13.7 Hz), 3.35-3.28 (m, 3H, H-2' or H-5', H-6'), 3.09-3.03 (m, 1H, H-2' or H-5'), 1.86 (d, 3H, CH_3, $^4J_{CH3/H6}$ = 1.0 Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 164.0 (C-2), 158.5 (C-h and C-h'), 150.6 (C-4), 144.9 (C-d), 140.6 (C-6), 138.4 (C-4'), 138.1 (C-3'), 136.2 (C-e or C-e'), 136.0 (C-e or C-e'), 129.9 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 128.0 (C-c), 127.9 (C-b), 126.8 (C-a), 113.2 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 110.3 (C-5), 86,1 (C(PhOMe)$_2$Ph), 62.8 (C-1'), 55.2 (OCH_3), 49.4 (C-6'), 45.7 (C-2' or C-5'), 44.6 (C-2' or C-5'), 13.3 (CH_3).

HRMS Calculated for $C_{32}H_{32}N_2O_5$ $[M]^+$: 524.2311. Found : 524.2360.

Tert-butyl 6-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)-9*H*-purine-9-carboxylate II.78[204a]



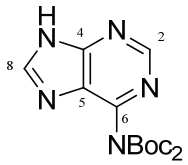
II.78

$C_{20}H_{29}N_5O_6$
M = 435.47 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.48 (cyclohexane / EtOAc : 7 / 3)

To a suspension of adenine (3.00 g, 22.2 mmol) and DMAP (0.82 g, 6.72 mmol) in dry THF (110 mL), was added Boc_2O (20.00 g, 91.6 mmol). After stirring for 12 h at rt, the solvent was evaporated to obtain *tert*-butyl 6-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)-9*H*-purine-9-carboxylate **II.78** (7.00 g, 16.0 mmol, 72 %) as a colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.94 (s, 1H, H-2), 8.46 (s, 1H, H-8), 1.65 (s, 9H, N^9 Boc), 1.36 (s, 18H, N^6 Boc).

6-(Bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)-9*H*-purine II.79[204a]



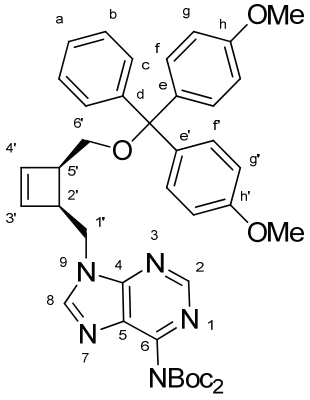
II.79

$C_{15}H_{21}N_5O_4$
M = 335.36 g.mol^{-1}
White powder
R_f = 0.48 (EtOAc)
mp = 149-150°C, mp (lit.[204a]) = 148-149°C

A suspension of compound **II.78** (6.6 g, 15.2 mmol) in a mixture of MeOH (140 mL) and saturated aqueuse $NaHCO_3$ solution (70 mL) was stirred at 50°C for 1 h. The solvent was evaporated, and the residue was taken in water (140 mL). The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2, dried over $MgSO_4$ and filtered. Evaporation of the filtrate followed by further purification using silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 1 / 4) led to 6-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)-9*H*-purine **II.79** (3.7 g, 11.0 mmol, 72 %) as a white powder.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 13.68 (br s, 1H, NH), 8.81 (s, 1H, H-2), 8.63 (s, 1H, H-8), 1.36 (s, 18H, N-6 Boc_2).

(-)-di-*Tert*-butyl(9-(((1*S*,4*R*)-4-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl) cyclobut-2-en-1-yl)methyl)-9*H*-purin-6-yl)di-carbamate (-)-II.80



(-)-II.80

$C_{42}H_{47}N_5O_7$
M = 733.85 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.26 (cyclohexane / EtOAc : 75 / 25)
$[a]_D^{25°C}$ − 8 (c = 0.215 $CHCl_3$)

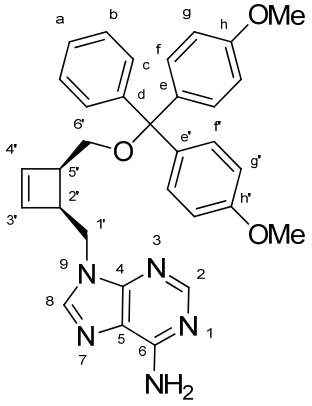
To a solution of alcohol **(+)-II.67** (1.20 g, 2.88 mmol) in dry THF (40 mL), were added PPh_3 (1.50 g, 5.72 mmol) and protected adenine **II.79** (2.00 g, 5.96 mmol) in the dark and under argon atmosphere. DIAD (1.2 mL, 6.05 mmol) was then added dropwise, and the reaction was stirred at rt for one week. The THF was evaporated, and the residue was purified by silica gel column chromatography (toluene with 1 % of Et_3N) to give (-)-di-*tert*-butyl (9-(((1*S*,4*R*)-4-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl) cyclobut-2-en-1-yl)methyl)-9*H*-purin-6-yl)carbamate **(-)-II.80** (1.45 g, 1.98 mmol, 69 %) as a white foam.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.85 (s, 1H, H-2), 7.89 (s, 1H, H-8), 7.49-7.46 (m, 2H, H-c), 7.36 (d, 4H, H-f and H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 8.9 Hz, $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 8.9 Hz), 7.33-7.29 (m, 2H, H-b), 7.25-7.21 (m, 1H, H-a), 6.85 (d, 4H, H-g and H-g', $^3J_{g\text{-}f}$ = 8.9 Hz, $^3J_{g'\text{-}f'}$ = 8.9 Hz), 6.20 (d, 1H, H-4', $^3J_{H4'/H3'}$ = 2.9 Hz), 6.01 (d, 1H, H-3', $^3J_{H3'/H4'}$ = 2.9 Hz), 4.50 (dd, 1H, H-1'a, $^3J_{H1'a/H2}$ = 5.3 Hz, $^2J_{H1'a/H1'b}$ = 14.0 Hz), 4.11 (dd, 1H, H-1'b, $^3J_{H1'b/H2'}$ = 10.5 Hz, $^2J_{H1'b/H1'a}$ = 14.0 Hz), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 3.53-3.38 (m, 3H, H-2' and H-5', H-6'a or H-6'b), 3.21-3.14 (m, 1H, H-6'a or H-6'b), 1.45 (s, 18H, Boc).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 158.5 (C-h and C-h'), 153.4 (C_{quat} adenine), 151.9 (C-2), 150.6 (C_{quat} adenine), 150.2 (C_{quat} adenine), 144.9 (C-8 and C-d), 138.8 (C-4'), 138.0 (C-3'), 136.2 (C-e or C-e'), 136.0 (C-e or C-e'), 129.9 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 128.0 (C-c), 127.9 (C-b), 126.9 (C-a), 113.2 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 86.2 ($\underline{C}(PhOMe)_2Ph$), 62.7 (C-6'), 55.2 (OCH_3), 45.7 (C-2' or C-5'), 45.3 (C-2' or C-5'), 44.8 (C-1'), 27.8 (Boc).

HRMS Calculated for $C_{42}H_{47}N_5O_7$ $[M]^+$: 733.3475. Found : 733,3481.

(-)-9-(((1*S*,4*R*)-4-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methyl)-9*H*-purin-6-amine (-)-II.73a



(-)-II.73a

$C_{32}H_{31}N_5O_3$
M = 533.62 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.63 (EtOAc / MeOH : 95 / 5)
$[a]_D^{25°C}$ − 9 (c = 0,4 $CHCl_3$)

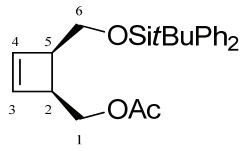
To a solution of compound **(-)-II.80** (2.10 g, 2.86 mmol) in dry MeOH (30 mL), was added KOH (3.70 g, 66.10 mmol). The reaction was stirred for 48 h at 50°C, followed by extraction with CH_2Cl_2. The organic phases were dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc with 1 % de Et_3N) to furnish (-)-9-(((1*S*,4*R*)-4-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl) cyclobut-2-enyl)methyl)-9*H*-purin-6-amine **(-)-II.73a** (1.09 g, 2.04 mmol, 71 %) as a white foam.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.34 (s, 1H, H-2), 7.60 (s, 1H, H-8), 7.46 (d, 2H, H-c, $^3J_{c\text{-}b}$ = 8.3 Hz), 7.35 (d, 2H, H-f or H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 8.8 Hz or $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 8.8 Hz), 7.34 (d, 2H, H-f or H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 8.8 Hz or $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 8.8 Hz), 7.33-7.28 (m, 2H, H-b), 7.25-7.20 (m, 1H, H-a), 6.84 (d, 2H, H-g or H-g', $^3J_{g\text{-}f}$ = 8.8 Hz or $^3J_{g'\text{-}f'}$ = 8.8 Hz), 6.83 (d, 2H, H-g or H-g', $^3J_{g\text{-}f}$ = 8.8 Hz or $^3J_{g'\text{-}f'}$ = 8.8 Hz), 6.21 (d, 1H, H-4', $^3J_{H4'/H3'}$ = 2.9 Hz), 6.04 (d, 1H, H-3', $^3J_{H3'/H4'}$ = 2.9 Hz), 4.40 (dd, 1H, H-1'a, $^3J_{H1'a/H2}$ = 5.6 Hz, $^2J_{H1'a/H1'b}$ = 14.0 Hz), 4.03 (dd, 1H, H-1'b, $^3J_{H1'b/H2'}$ = 10.3 Hz, $^2J_{H1'b/H1'a}$ = 14.0 Hz), 3.79 (2×s, 6H, OCH_3), 3.55-3.48 (m, 1H), 3.43-3.33 (m, 2H), 3.20-3.13 (m, 1H).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 158.5 (C-h and C-h'), 155.5 (C-6), 152.9 (C-2), 150.1 (C-4), 145.0 (C-d), 140.6 (C-8), 138.8 (C-4'), 138.2 (C-3'), 136.2 (C-e or C-e'), 136.1 (C-e or C-e'), 129,9 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 128.1 (C-c), 127.9 (C-b), 126.8 (C-a), 119.8 (C-5), 113.2 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 86.2 (C(PhOMe)$_2$Ph), 62.7 (C-6'), 55.3 (OCH_3), 45.7 (C-2' or C-5'), 45.5 (C-2' or C-5'), 44.6 (C-1').

HRMS Calculated for $C_{32}H_{31}N_5O_3$ $[M]^+$: 533.2427. Found : 533.2413.

(-)-((1*S*,4*R*)-4-(*Tert*-butyldiphenylsilyloxymethyl)cyclobut-2-enyl)methyl acetate (-)-II.85[95]



(-)-II.85

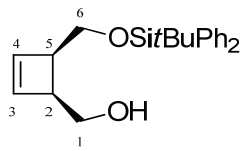
$C_{24}H_{30}O_3Si$
M = 394.58 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.42 (cyclohexane / EtOAc : 5 / 1)

To a solution of compound **(-)-II.45** (2.01 g, 12.9 mmol) in dry DMF (6.5 mL), were added TBDPSCl (4.1 mL, 15.8 mmol) and imidazole (1.10 g, 16.2 mmol). The mixture was stirred at rt for 2 days, then poured into water (7 mL). The aqueous layer was extracted with Et_2O (4x15 mL), and the organic phases were dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated. Purification by silica gel column chromatography (cyclohexane / CH_2Cl_2 : 8 / 2) led to (-)-((1*S*,4*R*)-4-(*tert*-butyldiphenylsilyloxymethyl)cyclobut-2-enyl)methyl acetate **(-)-II.85** (4.68 g, 11.9 mmol, 92 %) as a colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.69-7.63 (m, 4H, $H_{orthoSi}$), 7.44-7.34 (m, 6H, $4H_{metaSi}$, $2H_{paraSi}$), 6.19 (d, 1H, H-4, $J_{H4/H3}$ = 2.5 Hz), 6.09 (d, 1H, H-3, $J_{H3/H4}$ = 2.5 Hz), 4.35 (dd, 1H, H-1_a, $J_{H1a/H2}$ = 6.7 Hz, $J_{H1a/H1b}$ = 11.0 Hz), 4.21 (dd, 1H, H-1_b, $J_{H1b/H2}$ = 7.3 Hz, $J_{H1b/H1a}$ = 11.0 Hz), 3.85 (d, 2H, H-6, $J_{H6/H5}$ = 6.8 Hz), 3.27-3.11 (m, 2H, H-2 and H-5), 1.98 (CH_3, Ac), 1.04 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 171.0 (C=O), 138.6 (C-4), 137.9 (C-3), 135.7 ($C_{orthoSi}$), 133.7 (C_{quat} arom), 129.7 (C_{paraSi}), 127.8 (C_{metaSi}), 64.8 (C-1), 63.9 (C-6), 47.8 (C-2), 44.4 (C-5), 27.0 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 20.9 (CH_3, Ac), 19.2 ($\underline{C}(CH_3)_3$).

(-)-((1*S*,4*R*)-4-(*Tert*-butyldiphenylsilyloxymethyl)cyclobut-2-enyl)methanol (-)-II.46[95]



(-)-II.46

$C_{22}H_{28}O_2Si$
M = 352.54 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.33 (cyclohexane / EtOAc : 5 / 1)

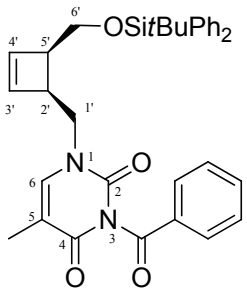
To a stirred, cool (0°C) solution of **(-)-II.85** (4.30 g, 10.9 mmol) in dry MeOH (30 mL), was added a saturated methanolic ammonia solution (200 mL) under argon atmosphere. After stirring for 48 h at rt, MeOH was evaporated. Further purification of the residue by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 7 / 1) led to (-)-((1*S*,4*R*)-4-(*tert*-butyldiphenylsilyloxymethyl)cyclobut-2-enyl)methanol **(-)-II.46** (3.35 g, 9.5 mmol, 87 %) as a colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.67 (dd, 4H, $H_{orthoSi}$, $J_{Hortho/Hpara}$ = 1.5 Hz, $J_{Hortho/Hmeta}$ = 7.8 Hz), 7.47-7.35 (m, 6H, $4H_{metaSi}$, $2H_{paraSi}$), 6.01 (d, 1H, H-4,

$J_{H4/H3}$ = 2.8 Hz), 5.84 (d, 1H, H-3, $J_{H3/H4}$ = 2.8 Hz), 3.81-3.75 (m, 5H, H-1, H-6, OH), 3.31 (ddd, 1H, H-2, $J_{H2/H5}$ = 3.8 Hz, $J_{H2/H1a}$ = 7.8 Hz, $J_{H2/H1b}$ = 9.2 Hz), 3.15 (ddd, 1H, H-5, $J_{H5/H2}$ = 3.8 Hz, $J_{H5/H6a}$ = 5.4 Hz, $J_{H5/H6b}$ = 6.6 Hz), 1.04 (s, 9H, $C(\underline{C}H_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 138.0 (C-4), 136.6 (C-3), 135.6 ($C_{orthoSi}$), 132.7 (C_{quat} arom), 129.9 (C_{paraSi}), 127.9 (C_{metaSi}), 63.9 (C-6), 62.2 (C-1), 48.8 (C-5), 47.7 (C-2), 26.9 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 19.1 ($\underline{C}(CH_3)_3$).

(+)-3-Benzoyl-1-(((1*S*,4*R*)-4-((*tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione (+)-II.86[95]



(+)-II.86

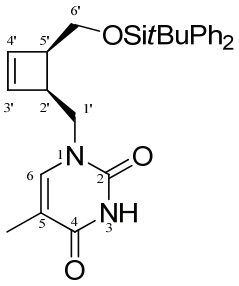
$C_{34}H_{36}N_2O_4Si$
M = 564.75 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.60 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)

To a solution of alcohol **(-)-II.46** (3.22 g, 9.13 mmol) in dry THF (65 mL), were added PPh_3 (5.30 g, 20.20 mmol) and N^3-benzoylthymine **II.70** (4.55 g, 19.80 mmol) in the dark and under argon atmosphere. A solution of DIAD (4 mL, 6.05 mmol) in THF (60 mL) was then added dropwise, and the reaction was stirred for 48 h at rt. The THF was evaporated, and the residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 5 / 1 → 4 / 1) to furnish (+)-3-benzoyl-1-(((1*S*,4*R*)-4-((*tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione **(+)-II.86** (4.10 g, 7.26 mmol, 80 %) as a white foam.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.93 (dd, 2H, $H_{orthoC=O}$, $J_{HorthoC=O/HparaC=O}$ = 0.9 Hz, $J_{HorthoC=O/HmetaC=O}$ = 8.1 Hz), 7.68-7.63 (m, 5H, $4H_{orthoSi}$, $1H_{paraC=O}$), 7.62 (dd, 2H, $H_{metaC=O}$, $J_{HmetaC=O/HparaC=O}$ = 1.2 Hz, $J_{HmetaC=O/HorthoC=O}$ = 8.1 Hz), 7.52-7.35 (m, 6H, $2H_{paraSi}$, $4H_{metaSi}$), 7.07 (d, 1H, H-6, $J_{H6/CH3thymine}$ = 1.1 Hz), 6.16 (d, 1H, H-4', $J_{H4'/H3'}$ = 2.4 Hz), 6.05 (d, 1H, H-3', $J_{H3'/H4'}$ = 2.4 Hz), 4.23 (dd, 1H, H-1'$_a$, $J_{H1'a/H2'}$ = 4.8 Hz, $J_{H1'a/H1'b}$ = 13.6 Hz), 3.87 (dd, 1H, H-1'$_b$, $J_{H1'b/H2'}$ = 10.3 Hz, $J_{H1'a/H1'b}$ = 13.6 Hz), 3.85 (dd, 1H, H-6'$_a$, $J_{H6'a/H5'}$ = 4.8 Hz, $J_{H6'a/H6'b}$ = 11.1 Hz) ; 3.77 (dd, 1H, H-6'$_b$, $J_{H6'b/H5'}$ = 7.6 Hz, $J_{H6'b/H6'a}$ = 11.1 Hz), 3.33 (ddd, 1H, H-2', $J_{H2'/H5'}$ = 4.3 Hz, $J_{H2'/H1'a}$ = 4.8 Hz, $J_{H2/H1'b}$ = 10.3 Hz), 3.20 (ddd, 1H, H-5', $J_{H5'/H2'}$ = 4.3 Hz, $J_{H5'/H6'a}$ = 4.8 Hz, $J_{H5'/H6'b}$ = 7.6 Hz), 1,92 (d, 3H, CH_3, $J_{CH3thymine/H6}$ = 1.1 Hz), 1.07 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 168.5 (C=O, Bz), 162.6 (C-2), 149.2 (C-4), 140.8 (C-6), 138.5 (C-4'), 138.3 (C-3'), 135.8 ($C_{orthoSi}$), 135.1 ($C_{paraC=O}$), 133.5-131.9 (C_{quat} arom), 130.7 (C_{paraSi}), 130.1 ($C_{orthoC=O}$), 129.3 (C_{metaSi}), 128.0 ($C_{metaC=O}$), 110.8 (C-5), 63.8 (C-6'), 50.2 (C-1'), 47.2 (C-5'), 44.9 (C-2'), 27.2 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 19.5 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 12.7 ($CH_{3thymine}$).

(+)-1-(((1*S*,4*R*)-4-(*Tert*-butyldiphenylsilyloxymethyl)cyclobut-2-enyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4-(1*H*,3*H*)-dione (+)-II.47[95]



(+)-II.47

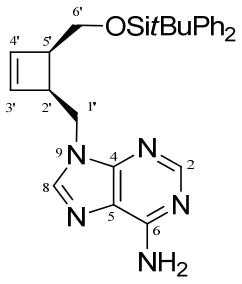
$C_{27}H_{32}N_2O_3Si$
M = 460.64 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.40 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)

To a stirred, cool (0°C) solution of compound **(+)-II.85** (4.00 g, 7.08 mmol) in dry MeOH (30 mL), was added a saturated methanolic ammonia solution (200 m) under argon atmosphere. After stirring for 48 h at rt, the MeOH was evaporated, and the residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 8 / 2) to afford (+)-1-(((1*S*,4*R*)-4-(*tert*-butyldiphenylsilyloxymethyl)cyclobut-2-enyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4-(1*H*,3*H*)-dione **(+)-II.47** (3.10 g, 6.73 mmol, 95 %) as a white foam.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 9.42 (br s, 1H, NH), 7.71-7.65 (m, 4H, $4H_{orthoSi}$), 7.48-7.36 (m, 6H, $2H_{paraSi}$, $4H_{metaSi}$), 6.97 (d, 1H, H-6, $J_{H6/CH3thymine}$ = 1.2 Hz), 6.14 (d, 1H, H-4', $J_{H4'/H3'}$ = 2.8 Hz), 6.05 (d, 1H, H-3', $J_{H3'/H4'}$ = 2.8 Hz), 4.20 (dd, 1H, H-1'$_a$, $J_{H1'a/H2'}$ = 4.8 Hz, $J_{H1'a/H1'b}$ = 13.6 Hz), 3.86 (dd, 1H, H-6'a, $J_{H6'a/H5'}$ = 5.0 Hz, $J_{H6'a/H6'b}$ = 11.0 Hz), 3.79 (dd, 1H, H-1'b, $J_{H1'b/H2'}$ = 10.5 Hz, $J_{H1'a/H1'b}$ = 13.6 Hz), 3.78 (dd, 1H, H-6'b, $J_{H6'b/H5'}$ = 7.9 Hz, $J_{H6'b/H6'a}$ = 11.0 Hz), 3.31 (ddd, 1H, H-2', $J_{H2'/H5'}$ = 4.5 Hz, $J_{H2'/H1'a}$ = 4.8 Hz, $J_{H2/H1'b}$ = 10.5 Hz), 3.19 (ddd, 1H, H-5', $J_{H5'/H2'}$ = 4.5 Hz, $J_{H5'/H6'a}$ = 5.0 Hz, $J_{H5'/H6'b}$ = 7.9 Hz), 1.89 (d, 3H, $CH_{3thymine}$, $J_{CH3thymine/H6}$ = 1.2 Hz), 1.08 (s, 9H, $C(C\underline{H}_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 164.8 (C-2), 151.3 (C-4), 141.1 (C-6), 138.6 (C-4'), 138.5 (C-3'), 135.9 ($C_{orthoSi}$), 133.8 (C_{quat} arom), 130.2 (C_{paraSi}), 128.1 (C_{metaSi}), 110.8 (C-5), 63.8 (C-6'), 49.9 (C-1'), 48.0 (C-5'), 44.9 (C-2'), 27.3 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 19.6 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 12.7 ($CH_{3thymine}$).

(+)-9-(((1*S*,4*R*)-4-(*Tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methyl-9*H*-purin-6-amine (+)-II.48[95]



(+)-II.48

$C_{27}H_{31}N_5OSi$
M = 469.65 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.61 (EtOAc / MeOH : 3 / 1)

To a solution of alcohol **(+)-II.67** (3.44 g, 9.64 mmol) in dry THF (60 mL), were added PPh_3 (5.30 g, 20.20 mmol) and adenine **II.79** (4.55 g, 19.80 mmol) in the dark and under argon atmosphere. A solution of DIAD (4 mL, 25.00 mmol) in dry THF (60 mL) was added dropwise, and the mixture was stirred at rt for one week. The THF was removed, and the residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc) to give (+)-9-(((1*S*,4*R*)-4-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclobut-2-enyl)methyl-9*H*-purin-6-amine **(+)-II.48** (2.08 g, 4.43 mmol, 46 %) as a white foam.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.38 (s, 1H, H-2), 7.80 (s, 1H, H-8), 7.67 (m, 4H, H_{meta}), 7.47-7.37 (m, 6H, $4H_{ortho}$, $2H_{para}$), 6.14 (s, 2H, NH_2), 6.09 (d, 1H, H-4', $J_{H4'/H3'}$ = 2.9 Hz), 6.08 (d, 1H, H-3', $J_{H3'/H4'}$ = 2.9 Hz), 4.63 (dd, 1H, H-1'a, $J_{H1'a/H2'}$ = 5.9 Hz, $J_{H1'a/H1'b}$ = 13.8 Hz), 4.32 (dd, 1H, H-1'b, $J_{H1'b/H2'}$ = 10.3 Hz, $J_{H1'b/H1'a}$ = 13.8 Hz), 3.90 (dd, 1H, H-6'a, $J_{H6'a/H5'}$ = 5.4 Hz, $J_{H6'a/H6'b}$ = 11.0 Hz), 3.85 (dd, 1H, H-6'b, $J_{H6'b/H5'}$ = 7.9 Hz, $J_{H6'b/H6'a}$ = 11.0 Hz), 3.51 (m, 1H, H-2'), 3.24 (m, 1H, H-5'), 1.10 (s, 9H, $C(C\underline{H}_3)_3$).

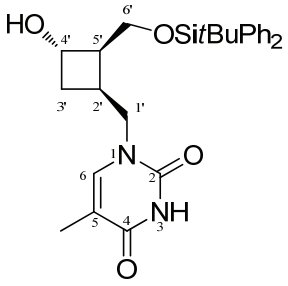
^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 155.5 (C-4), 152.9 (C-2), 150.1 (C-6), 140.5 (C-8), 138.7 (C-4'), 138.6 (C-3'), 135.6-135.5 (C_{meta}), 133.4-133.3 (C_{quat}), 129.8-129.7 (C_{para}), 127.7 (C_{ortho}), 119.7 (C-5), 63.4 (C-6'), 47.5 (C-1'), 45.4 (C-5'), 44.5 (C-2'), 26.9 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 19.2 ($\underline{C}(CH_3)_3$).

(+)-1-(((1*S*,2*R*,3*S*)-2-(*Tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)-3-hydroxycyclobutyl) methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione (+)-II.49a and (-)-1-(((1*S*,2*R*,4*R*)-2-((*Tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)-4-hydroxycyclobutyl) methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione (-)-II.51a[95]

To a cool (0°C) solution of compound **(+)-II.47** (1.200 g, 2.605 mmol) in dry THF (5 mL), was added dropwise a solution of BH_3.THF (1 M in THF, 2.6 mL, 2.600 mmol) in dry THF (7 mL) under argon atmosphere. After stirring for 3 h at rt, the reaction was cooled to 0°C, and 3 M aqueous NaOH solution (0.9 mL), then 30-35 % aqueous H_2O_2 solution (0.3 mL) were added. The mixture was stirred for 1 h at rt, and the THF was removed. The aqueous layer was extracted with Et_2O (5x20 mL). The Et_2O layer was washed with brine

(30 mL), dried over $MgSO_4$ and concentrated. Further purification by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 2 / 1) afforded a mixture of two regioisomers *cis* and two regioisomers *trans* **(+)-II.49a** (0.420 g, 0.877 mmol) and **(-)-II.51a** (0.384 g, 0.802 mmol) with a global yield of 72 %.

(+)-1-(((1S,2R,3S)-2-((Tert-butyldiphenylsilyloxy)methyl)-3-hydroxycyclobutyl) methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1H,3H)-dione (+)-II.49a



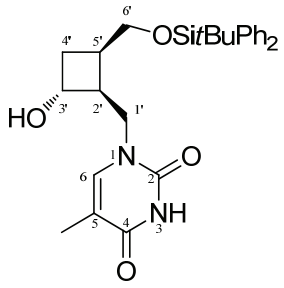
(+)-II.49a

$C_{27}H_{34}N_2O_4Si$
M = 478.66 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.28 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 9.57 (br s, 1H, NH), 7.68-7.63 (m, 4H, $4H_{orthoSi}$), 7.45-7.37 (m, 6H, $2H_{paraSi}$, $4H_{metaSi}$), 6.91 (d, 1H, H-6, $J_{H6/CH3thymine}$ = 1.2 Hz), 4.32 (ddd, 1H, H-4', $J_{H4'/H3'a} = J_{H4'/H3'b} = J_{H4'/H5'}$ = 7.4 Hz), 4.02 (dd, 1H, H-1'a, $J_{H1'a/H2'}$ = 11.3 Hz, $J_{H1'a/H1'b}$ = 13.8 Hz), 3.84 (dd, 1H, H-6'a, $J_{H6'a/H5'}$ = 4.9 Hz, $J_{H6'a/H6'b}$ = 11.3 Hz), 3.78 (dd, 1H, H-6'b, $J_{H6'b/H5'}$ = 6.9 Hz, $J_{H6'b/H6'a}$ = 11.3 Hz), 3.75 (dd, 1H, H-1'b, $J_{H1'b/H2'}$ = 4.9 Hz, $J_{H1'b/H1'a}$ = 13.8 Hz), 3.65-3.61 (m, 1H, OH), 2.68-2.58 (m, 1H, H-2'), 2.57-2.50 (m, 1H, H-5'), 2.13 (ddd, 1H, H-3'a, $J_{H3'a/H2'}$ = 2.9 Hz, $J_{H3'a/H4'}$ = 7.4 Hz, $J_{H3'a/H3'b}$ = 11.3 Hz), 1.92-1.82 (m, 4H, CH_3, H-3'b), 1.07 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) :164.4 (C-2), 151.3 (C-4), 140.2 (C-6), 135.5 ($C_{orthoSi}$), 133.2 (C_{quat} arom), 129.9 (C_{paraSi}), 127.8 (C_{metaSi}), 110.7 (C-5), 66.7 (C-4'), 61,8 (C-6'), 49.0 (C-1'), 48.7 (C-5'), 32.7 (C-3'), 28.9 (C-2'), 27.0 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 19.2 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 12.3 ($CH_{3thymine}$).

(-)-1-(((1S,2R,4R)-2-((Tert-butyldiphenylsilyloxy)methyl)-4-hydroxycyclobutyl) methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1H,3H)-dione (-)-II.51a



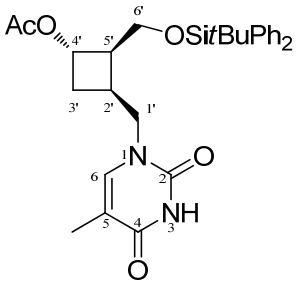
(-)-II.51a

$C_{27}H_{34}N_2O_4Si$
M = 478.66 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.20 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 10.1 (br s, 1H, NH), 7.67-7.64 (m, 4H, $4H_{orthoSi}$), 7.46-7.37 (m, 6H, $2H_{paraSi}$, $4H_{metaSi}$), 6.97 (d, 1H, H-6, $J_{H6/CH3thymine}$ = 1.2 Hz), 4.37 (ddd, 1H, H-3', $J_{H3'/H4'a} = J_{H3'/H4'b} = J_{H3'/H2'}$ = 7.9 Hz), 4.15 (dd, 1H, H-1'a, $J_{H1'a/H2'}$ = 9.8 Hz, $J_{H1'a/H1'b}$ = 14.3 Hz), 3.80 (dd, 1H, H-1'b, $J_{H1'b/H2'}$ = 4.4 Hz, $J_{H1'b/H1'a}$ = 14.3 Hz), 3.78 (dd, 1H, H-6'a, $J_{H6'a/H5'}$ = 7.4 Hz, $J_{H6'a/H6'b}$ = 10.8 Hz), 3.71 (dd, 1H, H-6'b, $J_{H6'b/H5'}$ = 4.4 Hz, $J_{H6'b/H6'a}$ = 10.8 Hz), 3.66-3.62 (m, 1H, OH), 2.67-2.59 (m, 1H, H-2'), 2.47-2.37 (m, 1H, H-5'), 2.05-1.91 (m, 2H, H-4'), 1.81 (d, 3H, CH_3, $J_{CH3thymine/H6}$ = 1.2 Hz), 1.08 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 163.8 (C-2), 150.9 (C-4), 140.1 (C-6), 134.6 ($C_{orthoSi}$), 132.1 (C_{quat} arom), 128.8 (C_{paraSi}), 126.8 (C_{metaSi}), 109.8 (C-5), 69.1 (C-3'), 63.3 (C-6'), 48.3 (C-1'), 45.9 (C-2'), 30.8 (C-4'), 30.1 (C-5'), 25.9 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 18.2 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 11.2 ($CH_{3thymine}$).

(+)-(1*S*,2*R*,3*S*)-2-((*Tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)-3-((5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl)methyl)cyclobutyl acetate (+)-II.87



(+)-II.87

$C_{29}H_{36}N_2O_5Si$
M = 520.69 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.29 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)
$[a]_D^{25°C}$ + 30 (c = 1.3 $CHCl_3$)

To a cool (0°C) solution of **(+)-II.49a** (760 mg, 1.59 mmol) in dry pyridine (6.4 mL), was added dropwise acetic anhydride (4.8 mL) under argon atmosphere. The reaction was stirred at 0°C for 30 min. and at rt for 24 h. After cooling to 0°C, MeOH was added, and the solution was concentrated under reduced pressure. Further purification by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 4 / 1) gave (+)-(1*S*,2*R*,3*S*)-2-((*Tert*-

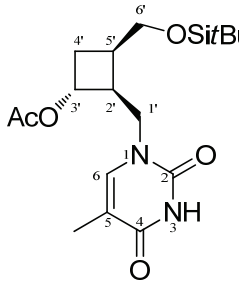
butyldiphenylsilyloxy)methyl)-3-((5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl)methyl)cyclobutyl acetate **(+)-II.87** (656 mg, 1.26 mmol, 79 %) as a colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.91 (br s, 1H, NH), 7.68-7.63 (m, 4H, $4H_{orthoSi}$), 7.45-7.37 (m, 6H, $2H_{paraSi}$, $4H_{metaSi}$), 6.92 (d, 1H, H-6, $J_{H6/CH3thymine}$ = 1.2 Hz), 5.12-5.07 (m, 1H, H-4'), 3.99 (dd, 1H, H-6'a, $J_{H6'a/H5'}$ = 5.0 Hz, $J_{H6'a/H6'b}$ = 13.8 Hz), 3.89 (dd, 1H, H-1'a, $J_{H1'a/H2'}$ = 10.7 Hz, $J_{H1'a/H1'b}$ = 13.8 Hz), 3.84-3.82 (m, 2H, H-6'b, H-1'b), 2.86-2.77 (m, 1H, H-2'), 2.73-2.66 (m, 1H, H-5'), 2.30-2.24 (m, 1H, H-3'a), 2.07-2.00 (m, 4H, OAc, H-3'b), 1.88 (d, 3H, $CH_{3thymine}$, $J_{CH3thymine/H6}$ = 1.2 Hz), 1.08 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 170.1 (OAc), 164.2 (C-2), 150.9 (C-4), 140.5 (C-6), 135.5 ($C_{orthoSi}$), 133.2 (C_{quat} arom), 129.9 (C_{paraSi}), 127.8 (C_{metaSi}), 110.6 (C-5), 68.4 (C-4'), 61.6 (C-6'), 49.7 (C-1'), 45.6 (C-5'), 30.5 (C-3'), 29.9 (C-2'), 27.0 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 20.0 (CH_3 OAc), 19.2 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 12.4 ($CH_{3thymine}$).

HRMS Calculated for $C_{29}H_{37}N_2O_5Si$ $[M+H]^+$: 521.2472. Found : 521.2506.

(+)-(1*R*,2*S*,3*R*)-3-((*Tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)-2-((5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl)methyl)cyclobutyl acetate (+)-II.88



(+)-II.88

$C_{29}H_{36}N_2O_5Si$
M = 520.69 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.29 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)
$[a]_D^{25°C}$ + 20 (c = 1.05 $CHCl_3$)

To a cool (0°C) solution of **(-)-II.51a** (336 mg, 0.647 mmol) in dry pyridine (2.6 mL), was added dropwise acetic anhydride (2 mL) under argon atmosphere. The mixture was stirred at 0°C for 30 min. and at rt for 24 h. After cooling to 0°C, MeOH was added, and the solution was concentrated under reduced pressure. Further purification by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 4 / 1) afforded (+)-(1*R*,2*S*,3*R*)-3-((*tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)-2-((5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl)methyl)cyclobutyl acetate **(+)-II.88** (264 mg, 0.507 mmol, 78 %) as a colorless oil.

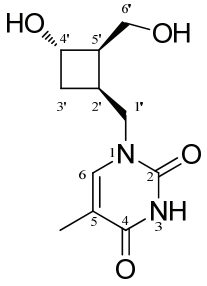
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.80 (br s, 1H, NH), 7.69-7.64 (m, 4H, $4H_{orthoSi}$), 7.46-7.39 (m, 6H, $2H_{paraSi}$, $4H_{metaSi}$), 6.88 (d, 1H, H-6, $J_{H6/CH3thymine}$ = 1.2 Hz), 5.22 (ddd, 1H, H-3', $J_{H3'/H4'a}$ = $J_{H3'/H4'b}$ = $J_{H3'/H2'}$ = 7.9 Hz), 4.10 (dd, 1H, H-6'a, $J_{H6'a/H5'}$ = 5.8 Hz, $J_{H6'a/H6'b}$ = 14.1 Hz), 3.89-3.76 (m, 3H, H-1'a, H-1'b, H-6'b), 2.92-2.84 (m, 1H, H-2'), 2.53-2.45 (m, 1H, H-5'), 2.25-2.19 (m, 1H, H-4'a), 2.10-

2.02 (m, 1H, H-4'b), 2.00 (s, 3H, OAc), 1.83 (d, 3H, $CH_{3thymine}$, $J_{CH3thymine/H6}$ = 1.2 Hz), 1.08 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 170.1 (OAc), 164.2 (C-2), 150.9 (C-4), 141.1 (C-6), 135.8 ($C_{orthoSi}$), 133.2 (C_{quat} arom) ; 129.9 (C_{paraSi}), 127.8 (C_{metaSi}), 110.6 (C-5), 70.7 (C-3'), 63.2 (C-6'), 48.2 (C-1'), 43.8 (C-2'), 32.0 (C-5'), 29.9 (C-4'), 27.0 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 20.6 ($CH_{3acetate}$), 19.2 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 11.9 ($CH_{3thymine}$).

HRMS Calculated for $C_{29}H_{37}N_2O_5Si$ $[M+H]^+$: 521.2472. Found : 521.2463.

(+)-1-(((1*S*,2*R*,3*S*)-3-Hydroxy-2-(hydroxymethyl)cyclobutyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione (+)-II.53



(+)-II.53

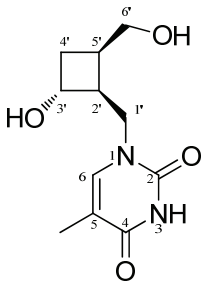
$C_{11}H_{16}N_2O_4$
M = 240.26 g.mol^{-1}
White paste
R_f = 0.12 (EtOAc / MeOH : 5 / 1)

To a cool (0°C) solution of compound **(+)-II.87** (0.612 g, 1.18 mmol) in CH_2Cl_2 (8 mL), was added dropwise HF·pyridine (70/30 %, 0.130 mL, 5.00 mmol) under argon atmosphere. The reaction was stirred for 30 min. at 0°C and for 5 days at rt. The solvents were evaporated, and further purification of residue by silica gel column chromatography (EtOAc / MeOH : 95 / 5) gave starting material **(+)-II.87** (0.080 g, 0.15 mmol) and compound **(+)-II.53** (0.154 g, 0.64 mmol, 62 % caculated on the consumed starting material) as a white paste.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 7.45 (d, 1H, H-6, $J_{H6/CH3thymine}$ = 0.8 Hz), 4.16 (ddd, 1H, H-4', $J_{H4'/H3'a} = J_{H4'/H3'b} = J_{H4'/H5'}$ = 7.4 Hz), 3.93 (dd, 1H, H-1'a, $J_{H1'a/H2'}$ = 10.6 Hz, $J_{H1'a/H1'b}$ = 13.6 Hz), 3.88 (dd, 1H, H-1'b, $J_{H1'b/H2'}$ = 6.0 Hz, $J_{H1'b/H1'a}$ = 13.6 Hz), 3.72 (dd, 1H, H-6'a, $J_{H6'a/H5'}$ = 6.0 Hz, $J_{H6'a/H6'b}$ = 11.0 Hz), 3.67 (dd, 1H, H-6'b, $J_{H6'b/H5'}$ = 8.0 Hz, $J_{H6'b/H6'a}$ = 11.0 Hz), 2.70-2.60 (m, 1H, H-2'), 2.53-2.45 (m, 1H, H-5'), 2.11 (ddd, 1H, H-3'a, $J_{H3'a/H2'}$ = 2.4 Hz, $J_{H3'a/H4'}$ = 7.4 Hz, $J_{H3'a/H3'b}$ = 11.2 Hz), 1.86 (m, 4H, H-3'b or CH_3).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 168.5 (C-2), 154.9 (C-4), 144.7 (C-6), 112.7 (C-5), 69.4 (C-4'), 62.4 (C-6'), 51.8 (C-5'), 51.1 (C-1'), 34.7 (C-3'), 31.2 (C-2'), 13.8 (CH_3).

(-)-1-(((1*S*,2*R*,4*R*)-2-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)cyclobutyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione (-)-II.55



$C_{11}H_{16}N_2O_4$
M = 240.26 g.mol^{-1}
White sticky oil
R_f = 0.08 (EtOAc / MeOH : 9 / 1)

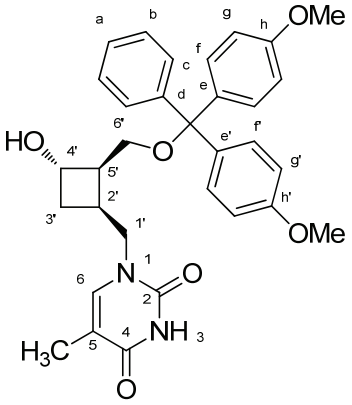
(-)-II.55

To a cool (0°C) solution of compound **(+)-II.88** (0.240 g, 0.46 mmol) in CH_2Cl_2 (4 mL), was added dropwise HF·pyridine (70/30 %, 0.130 mL, 5.00 mmol) under argon atmosphere. The reaction was stirred for 30 min. at 0°C and for 5 days at rt. The solvents were evaporated, and further purification by silica gel column chromatography (EtOAc / MeOH : 95 / 5) gave starting material **(+)-II.87** (0.030 g, 0.06 mmol) and (-)-1-(((1*S*,2*R*,4*R*)-2-hydroxy-4-(hydroxymethyl)cyclobutyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione **(-)-II.55** (0.060 g, 0.25 mmol, 60 % caculated on the consumed starting material) as a white sticky oil.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO d_6) δ (ppm) : 7.53 (d, 1H, H-6, $J_{H6/CH3thymine}$ = 1.0 Hz), 4.92 (d, 1H, 3'-OH, $J_{OH/H3'}$ = 7.4 Hz), 4.61 (dd, 1H, 6'-OH, $J_{OH/H6'a}$ = 4.7 Hz, $J_{OH/H6'b}$ = 5.3 Hz), 3.99 (ddd, 1H, H-3', $J_{H3'/H4'a} = J_{H3'/H4'b} = J_{H3'/H2'}$ = 7.6 Hz), 3.78-3.71 (m, 2H, H-1'), 3.57-3.41 (m, 2H, H-6'), 2.47-2.39 (m, 1H, H-2'), 2.20-2.12 (m, 1H, H-5'), 1.88 (ddd, 1H, H-4'$_a$, $J_{H4'a/H5'}$ = 2.0 Hz, $J_{H4'a/H3'}$ = 7.6 Hz, $J_{H4'a/H4'b}$ = 10.3 Hz), 1.74-1.66 (m, 4H, H-4'b and CH_3).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO d_6) δ (ppm) : 168.4 (C-2), 155.0 (C-4), 141.7 (C-6), 112.7 (C-5), 68.2 (C-3'), 61.4 (C-6'), 46.7 (C-1'), 45.9 (C-2'), 32.5 (C-4'), 30.5 (C-5'), 12.2 (CH_3).

(+)-1-(((1*S*,2*R*,3*S*)-2-((Bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-3-hydroxycyclobutyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione (+)-II.81a



(+)-II.81a

$C_{32}H_{34}N_2O_6$
M = 542.62 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.51 (cyclohexane / EtOAc : 3 / 7)
$[a]_D^{20°C}$ + 9 (c = 0.75 $CHCl_3$)

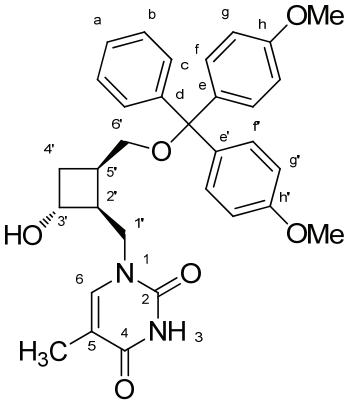
To a solution of compound **(+)-II.53** (0.095 g, 0.395 mmol) in dry pyridine (1 mL), were added DMAP (0.050 g, 0.409 mmol) and DMTrCl (0.150 g, 0.442 mmol) at rt. The reaction was stirred for 5 days at 80°C, and the solvent was evaporated. Further purification of the residue by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 4 / 6 with 1 % of Et_3N) led to (+)-1-(((1*S*,2*R*,3*S*)-2-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-3-hydroxycyclobutyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione **(+)-II.81a** (0.131 g, 0.241 mmol, 61 %) as a white foam.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.99 (br s, 1H, NH), 7.42 (d, 2H, H-c, $^3J_{c\text{-}b}$ = 8.7 Hz), 7.32 (d, 2H, H-f or H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 7.5 Hz or $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 7.5 Hz), 7.31 (d, 2H, H-f or H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 7.5 Hz or $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 7.5 Hz), 7.29-7.27 (m, 2H, H-b), 7.23-7.18 (m, 1H, H-a), 6.85-6.80 (m, 5H, H-g, H-g', H-6), 4.33-4.25 (m, 1H, H-4'), 3.85-3.78 (m, 7H, OCH_3, H-1'a), 3.52 (dd, 1H, H-1'b, $^3J_{H1'b/H2'}$ = 5.0 Hz, $^2J_{H1'b/H1'a}$ = 14.8 Hz), 3.27 (dd, 1H, H-6'a, $^3J_{H6'a/H5'}$ = 5.3 Hz, $^2J_{H6'a/H6'b}$ = 9.9 Hz), 3.13 (dd, 1H, H-6'b, $^3J_{H6'b/H5'}$ = 7.3 Hz, $^2J_{H6'b/H6'a}$ = 9.9 Hz), 2.72-2.57 (m, 2H, H-2' and H-5'), 2.19-2.12 (m, 1H, H-4'a), 1.93-1.85 (m, 4H, H-4'b and $CH_{3thymine}$, $^4J_{CH3thymine/H6}$ = 1.4 Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 164.0 (C-2), 158.5 (C-h and C-h'), 151.1 (C-4), 144.9 (C-d), 140.1 (C-6), 136.0 (C-e or C-e'), 135.9 (C-e or C-e'), 129.9 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 128.0 (C-c), 127.9 (C-b), 126.9 (C-a), 113.2 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 110.7 (C-5), 86.2 (C(PhOMe)$_2$Ph), 67.9 (C-4'), 61.4 (C-6'), 55.2 (OCH_3), 48.8 (C-1'), 47.1 (C-5'), 33.0 (C-3'), 28.7 (C-2'), 12.3 (CH_3).

HRMS Calculated for $C_{32}H_{34}N_2O_6$ $[M]^+$: 542.2417. Found : 542.2421.

(-)-1-(((1*S*,2*R*,4*R*)-2-((Bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-4-hydroxycyclobut)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione (-)-II.82a



(-)-II.82a

$C_{32}H_{34}N_2O_6$
M = 542.62 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.51 (cyclohexane / EtOAc : 3 / 7)
$[a]_D^{20°C}$ − 13 (c = 0,36 $CHCl_3$)

To a solution of compound **(-)-II.55** (0.060 g, 0.250 mmol) in dry pyridine (0.5 mL), were added DMAP (0.030 g, 0.246 mmol) and DMTrCl (0.100 g, 0.295 mmol) at rt. The reaction was stirred for 5 days at 80°C, and pyridine was evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 4 / 6 with 1 % of Et_3N) to afford (-)-1-(((1*S*,2*R*,4*R*)-2-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-4-hydroxycyclobut)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione **(-)-II.82a** (0.080 g, 0.148 mmol, 59 %) as a white foam.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 9.68 (br s, 1H, NH), 7.44 (d, 2H, H-c, $^3J_{c\text{-}b}$ = 8.7 Hz), 7.33 (d, 2H, H-f or H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 7.5 Hz or $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 7.5 Hz), 7.32 (d, 2H, H-f or H-f' or $^3J_{f\text{-}g}$ = 7.5 Hz, $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 7.5 Hz), 7.29-7.27 (m, 2H, H-b), 7.23-7.19 (m, 1H, H-a), 6.84 (d, 2H, H-g or H-g', $^3J_{g\text{-}f}$ = 7.5 Hz or $^3J_{g'\text{-}f'}$ = 7.5 Hz), 6.84 (d, 2H, H-g or H-g', $^3J_{g\text{-}f}$ = 7.5 Hz or $^3J_{g'\text{-}f'}$ = 7.5 Hz), 6.78 (d, 1H, H-6, $^4J_{H6/CH3thymine}$ = 1.4 Hz), 4.27-4.21 (m, 1H, H-3'), 3.79-3.74 (m, 7H, OCH_3, H-1'a), 3,63 (dd, 1H, H-1'b, $^3J_{H1'b/H2'}$ = 4.5 Hz, $^2J_{H1'b/H1'a}$ = 14.1 Hz), 3.22 (dd, 1H, H-6'a, $^3J_{H6'a/H5'}$ = 4.5 Hz, $^2J_{H6'a/H6'b}$ = 10.0 Hz), 3.12 (dd, 1H, H-6'b, $^3J_{H6'b/H5'}$ = 4.0 Hz, $^2J_{H6'b/H6'a}$ = 10.0 Hz) ; 2.63-2.49 (m, 2H, H-2' and H-5'), 2.09-1.94 (m, 2H, H-4'a and H-4'b), 1.80 (d, 3H, $CH_{3thymine}$, $^4J_{CH3thymine/H6}$ = 1.4 Hz).

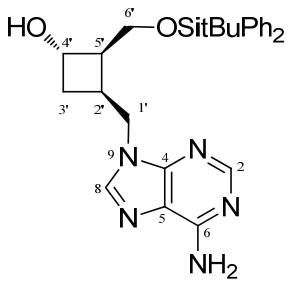
^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 164.6 (C-2), 158,5 (C-h and C-h'), 151.7 (C-4), 144.8 (C-d), 141.1 (C-6), 136.0 (C-e and C-e'), 130.0 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 128.0 (C-c), 127.9 (C-b), 126.8 (C-a), 113.2 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 110.6 (C-5), 86.5 (C(PhOMe)$_2$Ph), 70.1 (C-3'), 63.6 (C-6'), 55.2 (OCH_3), 49.5 (C-1'), 46.9 (C-2'), 32.1 (C-4'), 29.1 (C-5'), 12.2 (CH_3).

HRMS Calculated for $C_{32}H_{34}N_2O_6$ $[M]^+$: 542.2417. Found : 542.2458.

(+)-(1*S*,2*R*,3*S*)-3-((6-Amino-9*H*-purin-9-yl)methyl-2-((*tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclobutanol (+)-II.50a, (-)-(1*R*,2*S*,3*R*)-2-((6-Amino-9*H*-purin-9-yl)methyl)-3-((*tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclobutanol (-)-II.52a[95]

To a stirred, cool (0°C) solution of compound **(+)-II.48** (0.980 g, 2.086 mmol) in dry THF (26 mL), was added dropwise BH_3.THF (1 M in THF, 9.5 mL, 9.500 mmol) under argon atmosphere. After stirring for 13 h at rt, the reaction was cooled to 0°C, and a 3M aqueous NaOH solution (15 mL), then 30-35 % aqueous H_2O_2 solution (20 mL) were added. The mixture was stirred for 3 h at rt, and the solvent was evaporated. The aqueous layer was extracted with Et_2O (4x20 mL). The Et_2O layer was washed with brine (30 mL), dried over $MgSO_4$ and concentrated. Further purification by silica gel column chromatography (EtOAc) afforded mixture of two inseparable regioisomers *cis* **II.50b** and **II.52b** (0.146 g, 0.299 mmol) as a white foam and two separable regioisomers *trans* **(+)-II.50a** (0.269 g, 0.551 mmol) and **(-)-II.52a** (0.337 g, 0.691 mmol) as a white foam with a global yield of 74 %.

(+)-(1S,2R,3S)-3-((6-Amino-9H-purin-9-yl)methyl-2-((tert-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclobutanol (+)-50a



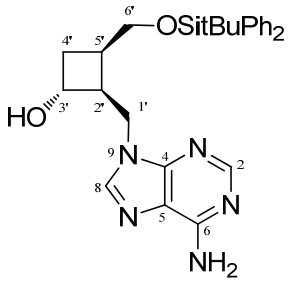
(+)-II.50a

$C_{27}H_{33}N_5O_2Si$
M = 487.67 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.08 (EtOAc)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.34 (s, 1H, H-2), 7.75 (s, 1H, H-8), 7.68-7.65 (m, 4H, H_{meta}), 7.47-7.38 (m, 6H, $4H_{ortho}$, $2H_{para}$), 5.63 (br s, 2H, NH_2), 4.45-4.39 (m, 2H, H-4', H-1'a), 4.29 (dd, 1H, H-1'b, $J_{H1'b/H2'}$ = 10.8 Hz, $J_{H1'b/H1'a}$ = 13.8 Hz), 3.88 (dd, 1H, H-6'a, $J_{H6'a/H5'}$ = 5.2 Hz, $J_{H6'a/H6'b}$ = 11.2 Hz), 3.83 (dd, 1H, H-6'b, $J_{H6'b/H5'}$ = 6.4 Hz, $J_{H6'b/H6'a}$ = 11.2 Hz), 2.94-2.84 (m, 1H, H-2'), 2.58-2.51 (m, 1H, H-5'), 2.13 (ddd, 1H, H-3'a, $J_{H3'a/H2'}$ = 2.9 Hz, $J_{H3'a/H4'}$ = 8.4 Hz, $J_{H3'a/H3'b}$ = 11.7 Hz), 1.90 (ddd, 1H, H-3'b, $J_{H3'b/H2'}$ = 7.4 Hz, $J_{H3'b/H4'}$ = 8.7 Hz, $J_{H3'b/H3'a}$ = 11.7 Hz), 1.08 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 155.4 (C-4), 152.8 (C-2), 150.1 (C-6), 140,1 (C-8), 135.6-135.5 (C_{meta}), 133.4-133.2 (C_{quat}), 129.9 (C_{para}), 127.8 (C_{ortho}), 119.4 (C-5), 66.8 (C-4'), 61.8 (C-6'), 60.4 (C-1'), 48.8 (C-5'), 45.3 (C-3'), 33.3 (C-2'), 26.9 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 19.2 ($\underline{C}(CH_3)_3$).

(-)-(1R,2S,3R)-2-((6-Amino-9H-purin-9-yl)methyl)-3-((tert-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclobutanol (-)-II.52a



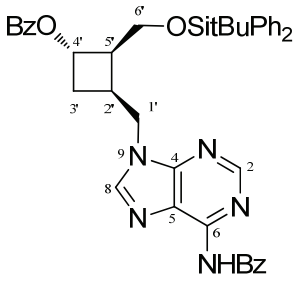
(-)-II.52a

$C_{27}H_{33}N_5O_2Si$
M = 487.67 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.04 (EtOAc)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.28 (s, 1H, H-2), 7.70-7.67 (m, 4H, H_{meta}), 7.65 (s, 1H, H-8), 7.48-7.38 (m, 6H, $4H_{ortho}$, $2H_{para}$), 5.85 (br s, 2H, NH_2), 4.51 (ddd, 1H, H-3', $J_{H3'/H4'a} = J_{H3'/H4'b} = J_{H3'/H2'} = 8.0$ Hz), 4.47 (dd, 1H, H-1'a, $J_{H1'a/H2'} = 4.4$ Hz, $J_{H1'a/H1'b} = 14.3$ Hz), 4.37 (dd, 1H, H-1'b, $J_{H1'b/H2'} = 9.5$ Hz, $J_{H1'b/H1'a} = 14.3$ Hz), 3.86 (dd, 1H, H-6'a, $J_{H6'a/H5'} = 6.9$ Hz, $J_{H6'a/H6'b} = 10.8$ Hz), 3.81 (dd, 1H, H-6'b, $J_{H6'b/H5'} = 4.9$ Hz, $J_{H6'b/H6'a} = 10.8$ Hz), 2.83-2.75 (m, 1H, H-2'), 2.55-2.47 (m, 1H, H-5'), 2.15 (ddd, 1H, H-4'a, $J_{H4'a/H5'} = 2.5$ Hz, $J_{H4'a/H3'} = 8.0$ Hz, $J_{H4'a/H4'b} = 11.3$ Hz), 1.90 (ddd, 1H, H-4'b, $J_{H4'b/H3'} = 8,0$ Hz, $J_{H4'b/H5'} = 9.8$ Hz, $J_{H4'b/H4'a} = 11.3$ Hz), 1.11 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 155.4 (C-4), 152.6 (C-2), 149.7 (C-6), 140.3 (C-8), 135.7-135.6 (C_{meta}), 133.3-133.2 (C_{quat}), 129.9 (C_{para}), 127.8 (C_{ortho}), 119.3 (C-5), 69.7 (C-3'), 64.2 (C-6'), 47.5 (C-2'), 44.7 (C-1'), 31.5 (C-4'), 31.2 (C-5'), 27.0 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 19.2 ($\underline{C}(CH_3)_3$).

(+)-(1S,2R,3S)-3-((6-Benzamido-9*H*-purin-9-yl)methyl)-2-((*tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclobutyl benzoate (+)-II.89



(+)-II.89

$C_{41}H_{41}N_5O_4Si$
M = 695.88 g.mol^{-1}
Yellow sticky oil
R_f = 0.93 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)
$[a]_D^{20°C}$ + 19 (c = 0.51 $CHCl_3$)

To a solution of **(+)-II.50a** (0.065 g, 0.133 mmol) in dry pyridine (3 mL), was added BzCl (50 µL, 0.400 mmol). The reaction was stirred for 24 h at rt, and pyridine was evaporated. Further purification by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 7 / 3) gave (+)-(1*S*,2*R*,3*S*)-3-((6-benzamido-9*H*-purin-9-yl)methyl)-2-

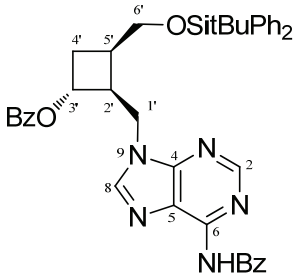
((*tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclobutyl benzoate **(+)-II.89** (0.070 g, 0.101 mmol, 76 %) as a yellow sticky oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.66 (s, 1H, H-2), 8.04 (s, 1H, H-8), 8.02-7.98 (m, 2H, H-arom), 7.88-7.83 (m, 4H, H-arom), 7.70-7.65 (m, 4H, H-arom), 7.62-7.51 (m, 4H, H-arom), 7.48-7.38 (m, 6H, H-arom), 5.48-5.40 (m, 1H, H-4'), 4.63 (dd, 1H, H-1'a, $J_{H1'a/H2'}$ = 5.3 Hz, $J_{H1'a/H1'b}$ = 14.0 Hz), 4.50 (dd, 1H, H-1'b, $J_{H1'b/H2'}$ = 11.0 Hz, $J_{H1'a/H1'b}$ = 14.0 Hz), 3.98 (m, 2H, H-6'a, H-6'b), 3.20-3.01 (m, 1H, H-5'), 2.99-2.74 (m, 1H, H-2'), 2.46-2.31 (m, 2H, H-3'a, H-3'b), 1.10 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 172.4 (C=O), 171.2 (C=O), 153.4 (C-4), 152.1 (C-2), 151.6 (C-6), 144.6 (C-8), 135.7-135.6 (C-arom), 134.1 (C-arom), 133.1-133.0 (C-arom), 132.9-132.8 (C-arom) ; 129.9 (C-arom), 129.6-129.5 (C-arom), 128.7 (C-arom), 128.3 (C-arom), 127.8 (C-arom), 68.7 (C-4'), 61.5 (C-6'), 45.7 (C-1'), 45.4 (C-2'), 32.3 (C-5'), 31.5 (C-3'), 27.0 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 19.3 ($\underline{C}(CH_3)_3$).

HRMS Calculated for $C_{41}H_{42}N_5O_4Si$ $[M+H]^+$: 696.3006. Found : 696.3037.

(-)-(1*R*,2*S*,3*R*)-2-((6-Benzamido-9*H*-purin-9-yl)methyl)-3-((*tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclobutyl benzoate (-)-II.90



(-)-II.90

$C_{41}H_{41}N_5O_4Si$
M = 695.88 g.mol^{-1}
Yellow sticky oil
R_f = 0.88 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)
$[a]_D^{20°C}$ − 1 (c = 0.94 $CHCl_3$)

To a solution of **(-)-II.52a** (0.100 g, 0.205 mmol) in dry pyridine (5 mL), was added BzCl (72 µL, 0.615 mmol) at rt. After stirring for 24 h at the temperature, pyridine was evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 7 / 3) to produce (-)-(1*R*,2*S*,3*R*)-2-((6-benzamido-9*H*-purin-9-yl)methyl)-3-((*tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclobutyl benzoate **(-)-II.90** (0.113 g, 0.162 mmol, 79 %) as a yellow sticky oil.

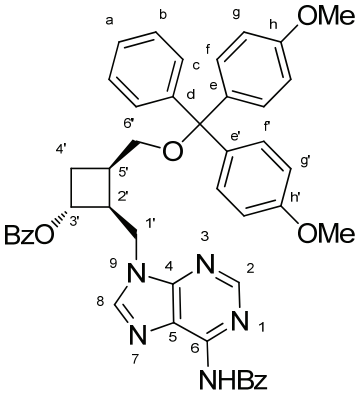
RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.50 (s, 1H, H-2), 8.10-8.04 (m, 5H, H-8, H-arom), 7.90-7.86 (m, 2H, H-arom), 7.84-7.80 (m, 4H, H-arom), 7.75-7.69 (m, 4H, H-arom), 7.62-7.50 (m, 4H, H-arom), 7.48-7.38 (m, 6H, H-arom), 5.49-5.40 (m, 1H, H-3'), 4.70 (m, 2H, H-1'), 3.96 (dd, 1H, H-6'a, $J_{H6'a/H5'}$ = 3.9 Hz, $J_{H6'a/H6'b}$ = 11.2 Hz), 3.88 (dd, 1H, H-6'b, $J_{H6'b/H5'}$ = 5.6 Hz, $J_{H6'b/H6'a}$ = 11.2 Hz),

3.29-3.19 (m, 1H, H-2'), 2.65-2.53 (m, 1H, H-5'), 2.48-2.39 (m, 1H, H-4'a), 2.30-2.20 (m, 1H, H-4'b), 1.16 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 172.4 (C=O), 171.2 (C=O), 153.4 (C-4), 152.1 (C-2), 151.6 (C-6), 144.6 (C-8), 135.7-135.6 (C-arom), 134.1 (C-arom), 133.1-133.0 (C-arom), 132.9-132.8 (C-arom), 129.9 (C-arom), 129.6-129.5 (C-arom), 128.7 (C-arom), 128.3 (C-arom), 127.8 (C-arom), 68.7 (C-3‘), 61.5 (C-6’), 45.7 (C-1’), 45.4 (C-5’), 32.3 (C-2’), 31.5 (C-4’), 27,0 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 19.3 ($\underline{C}(CH_3)_3$).

HRMS Calculated for $C_{41}H_{42}N_5O_4Si$ $[M+H]^+$: 696.3006. Found : 696.3050.

(-)-(1*R*,2*S*,3*R*)-2-((6-Benzamido-9*H*-purin-9-yl)methyl)-3-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)cyclobutyl benzoate (-)-II.94



(-)-II.94

$C_{46}H_{41}N_5O_6$
M = 759.85 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.2 (cyclohexane / EtOAc : 3 / 7)
$[a]_D^{20°C}$ − 6 (c = 0.6 $CHCl_3$)

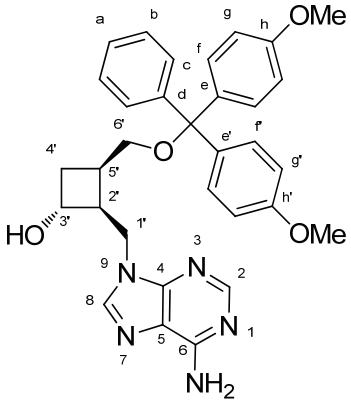
To a solution of compound **(-)-II.92** (0.100 g, 0.218 mmmol) in dry pyridine (1 mL), were added DMAP (0.030 g, 0.246 mmol) and DMTrCl (100 mg, 0.295 mmol). The reaction was stirred at 80°C for 5 days, and pyridine was evaporated. Further purification by silica gel column chromatography (EtOAc with 1 % de Et_3N) led to (-)-(1*R*,2*S*,3*R*)-2-((6-benzamido-9*H*-purin-9-yl)methyl)-3-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)cyclobutyl benzoate **(-)-II.94** (0.067 g, 0.088 mmol, 40 %) as a white foam.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 9.00 (br s, 1H, NHBz), 8.74 (s, 1H, H-2), 7.97 (d, 2H, Bz, J = 7.7 Hz), 7.70 (dd, 2H, Bz, J = 8.4 Hz, J = 1.2 Hz), 7.68 (s, 1H, H-8), 7.61-7.56 (m, 1H, Bz), 7.53-7.44 (m, 5H, H-c, Bz), 7.38 (d, 2H, H-f or H-f’, $^3J_{f-g}$ = 8.9 Hz or $^3J_{f'-g'}$ = 8.9 Hz), 7.37 (d, 2H, H-f or H-f’, $^3J_{f-g}$ = 8.9 Hz or $^3J_{f'-g'}$ = 8.9 Hz), 7.36-7.30 (m, 4H, H-b, Bz), 6.87 (d, 2H, H-g or H-g’, $^3J_{g-f}$ = 8.9 Hz or $^3J_{g'-f'}$ = 8.9 Hz), 6.86 (d, 2H, H-g or H-g’, $^3J_{g-f}$ = 8.9 Hz or $^3J_{g'-f'}$ = 8.9 Hz), 5.35-5.25 (m, 1H, H-3‘), 4.45 (dd, 1H, H-1’a, $^3J_{H1'a/H2}$ = 6.9 Hz, $^2J_{H1'a/H1'b}$ = 14.4 Hz), 4.32 (dd, 1H, H-1’b, $^3J_{H1'b/H2'}$ = 8.6 Hz, $^2J_{H1'b/H1'a}$ = 14.4 Hz), 3.86 (dd, 1H, H-6’a, $^3J_{H6'a/H5'}$ = 7.2 Hz, $^2J_{H6'a/H6'b}$ = 10.1 Hz), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 3.61 (dd, 1H, H-6’b, $^3J_{H6'b/H5'}$ = 7.1 Hz, $^2J_{H6'b/H6'a}$ = 10.1 Hz), 3.42-3.33 (m, 1H, H-2’), 2.81-2.69 (m, 1H, H-5’), 2.43-2.35 (m, 1H, H-4’a), 2.31-2.22 (m, 1H, H-4’b).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 165.7 (C=O), 158.6, 151.9 (C-2), 149.2 (C_{quat}), 144.5 (C_{quat}), 142.9 (C-8), 135.8 (C_{quat}), 135.7 (C_{quat}), 133.8 (C_{quat}), 133.0, 132.6, 130.0, 129.9, 129.4 (C_{quat}), 129.3 (C-arom), 128.7 (C-arom), 128.3 (C-arom), 128.1 (C-arom), 127.9 (C-arom), 127.8 (C-arom), 126.9 (C-arom), 113.3 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 86.7 (C(PhOMe)$_2$Ph), 71.1 (C-3'), 63.8 (C-6'), 55.2 (OCH_3), 43.9 (C-1'), 43.6 (C-2'), 30.4 (C-5'), 29.9 (C-4').

HRMS Calculated for $C_{46}H_{41}N_5O_6$ $[M]^+$: 759.3057. Found : 759.3016.

(-)-(1*R*,2*S*,3*R*)-2-((6-Amino-9*H*-purin-9-yl)methyl)-3-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)cyclobutanol (-)-II.84a



(-)-II.84a

$C_{32}H_{33}N_5O_4$
M = 551.64 g.mol^{-1}
White foam
R_f = 0.2 (cyclohexane / EtOAc : 3 / 7)
$[a]_D^{20°C}$ − 20 (c = 1.55 $CHCl_3$)

To a stirred, cool (0°C) solution of compound **(-)-II.94** (0.050 g, 0.066 mmol) in dry MeOH (1 mL), was added a saturated methanolic ammonia solution (5 mL) under argon atmosphere. After stirring for 48 h at rt, MeOH was evaporated, and the residue was purified by silica gel column chromatography to provide (-)-(1*R*,2*S*,3*R*)-2-((6-amino-9*H*-purin-9-yl)methyl)-3-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)cyclobutanol **(-)-II.84a** (0.029 g, 0.053 mmol, 80 %) as a white foam.

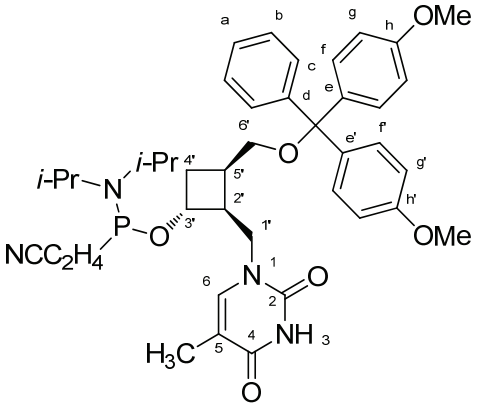
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.22 (s, 1H, H-2), 7.49 (s, 1H, H-8), 7.46 (d, 2H, H-c, $^3J_{c\text{-}b}$ = 8.5 Hz), 7.36 (d, 2H, H-f or H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 8.8 Hz or $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 8.8 Hz), 7.35 (d, 2H, H-f or H-f', $^3J_{f\text{-}g}$ = 8.8 Hz or $^3J_{f'\text{-}g'}$ = 8.8 Hz), 7.33-7.27 (m, 2H, H-b), 7.25-7.19 (m, 1H, H-a), 6.84 (d, 2H, H-g or H-g', $^3J_{g\text{-}f}$ = 8.8 Hz or $^3J_{g'\text{-}f'}$ = 8.8 Hz), 6.83 (d, 2H, H-g or H-g', $^3J_{g\text{-}f}$ = 8.8 Hz or $^3J_{g'\text{-}f'}$ = 8.8 Hz), 5.99 (br s, 2H, NH_2), 4.41-4.32 (m, 1H, H-3'), 4.26 (dd, 1H, H-1'a, $^3J_{H1'a/H2'}$ = 5.1 Hz, $^2J_{H1'a/H1'b}$ = 14.6 Hz), 4.04 (dd, 1H, H-1'b, $^3J_{H1'b/H2'}$ = 9.2 Hz, $^2J_{H1'b/H1'a}$ = 14.6 Hz), 3.79 (s, 6H, OCH_3), 3.33-3.21 (m, 2H, H-6'), 2.84-2.74 (m, 1H, H-2'), 2.67-2.56 (m, 1H, H-5'), 2.20-2.12 (m, 1H, H-4'a), 2.09-2.02 (m, 1H, H-4'b).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 158.5 (C-h and C-h'), 155.4 (C-6), 152.6 (C-2), 149.7 (C-4), 144.8 (C-d), 140.6 (C-8), 136.0 (C-e or C-e'), 135.9 (C-e or C-e'), 130.0 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 128.1 (C-c), 127.9 (C-b), 126.8 (C-a), 119.5

(C-5), 113.2 (C-f or C-f' and C-g or C-g'), 86.5 (C(PhOMe)$_2$Ph), 69.9 (C-3'), 63.3 (C-6'), 55.2 (OCH_3), 47.1 (C-2'), 44.7 (C-1'), 31.6 (C-4'), 29.3 (C-5').

HRMS Calculated for $C_{32}H_{33}N_5O_4$ $[M]^+$: 551.2533. Found : 551.2517.

3-(((1R,2S,3R)-3-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-2-((5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)methyl)cyclobutoxy)(diisopropylamino)phosphino) propanenitrile



II.95

$C_{41}H_{51}N_4O_6P$
M = 726.44 g.mol^{-1}
Yellow foam
R_f = 0.45 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)

To a solution of compound **1** (130 mg, 0.245 mmol) in CH_2Cl_2 (4 mL), were successively added *N*,*N*-diisopropylethylamine (86 µL, 0.490 mmol) and 2-cyanoethyl-*N*,*N*-diisopropylchlorophosphoramidite (66 µL, 0.294 mmol). After stirring for 30 min. at rt, the mixture was poured into a saturated aqueous $NaHCO_3$ solution (10 mL), followed by extraction with CH_2Cl_2 (x2). The solvent was removed under reduced pression, and the obtained oil was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 9 / 1 → 5 / 5 , with 1% Et_3N) to give two diastereoisomers (120 mg, 0.165 mmol, 73%) as a yellow foam.

^{31}P RMN ($CDCl_3$, 200 MHz) δ (ppm) : 145.8, 146.7.

Preparation of the oligonucleotides

Synthesis of oligonucleotides

The oligonucleotides were synthesized on a synthesizer Expedite 8900, using columns at 0,2 µmol and commercial phosphoramidites. The phosphoramidite **II.95** was lyophilized in cool crystallized benzene, dried *in vacuo* for 24 h, then dissolved in CH_3CN to obtain a 0.1 M solution just before used in coupling reaction. After solid-phase synthesis, the oligonucleotides were cleaved from their support by treatment with a 32% aqueous ammonia solution for 24 h at 50° C. The oligonucleotides were then dried in lyophilised for 24 h.

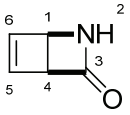
Purification of oligonucleotides by HPLC and deprotection

The oligonucleotides protected at 5' position by a DMT group were purified by reverse phase HPLC (Waters Delta 600 Column BIO Wide Pore C8, 5 µm, 25 cm x 10 mm) using a linear gradient elution of solvent A (0.1 M solution of triethylammonium acetate (pH=7)) and solvent B (CH_3CN) (95 / 5 $\rightarrow$ 70 / 30) over 30 min. at a rate of 4 mL/min (detection at 260 nm). In the case of oligonucleotides CGTTTTAXATTTTGC, the DMTr protecting group was cleaved by stirring for 2 h at rt with a 50% aqueous acetic acid solution.

The purity of the deprotected oligonucleotides was checked by analytical HPLC (Waters Delta 600 column BIO Wide Pore C8, 5 µm, 25 cm x 4.6 mm).

Experimental section – Chapter III

(1*R*,4*S*)-2-Azabicyclo[2.2.0]hex-5-en-3-one III.49[208]



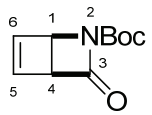
III.49

$C_5H_5N_5O$
M = 95.10 g.mol^{-1}
White powder
mp = 65-67°C, mp (lit.[208]) = 68-69°C

A solution of 2-pyridinol **III.48** (3.95 g, 41.51 mmol) in water (2.9 L) was irradiated by a 400 W lamp at rt during 48 h under argon atmosphere. Water was evaporated, and the residue was taken in THF (20 mL) before being filtered. The filtrate was concentrated under reduced pressure, then sublimed (P=0.1 mmHg, t=75°C) to afford (1*R*,4*S*)-2-azabicyclo[2.2.0]hex-5-en-3-one **III.49** (1.90 g, 19.91 mmol, 48 %) as a white powder.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 6.65 (dd, 1H, H-6, $^3J_{H6/H5} = {}^3J_{H6/H1} = 2.5$ Hz), 6.54 (dd, 1H, H-5, $^3J_{H5/H6} = 2.5$ Hz, $^3J_{H5/H4} = 1.0$ Hz), 6.35 (br s, 1H, NH), 4.44 (dd, 1H, H-1, $^3J_{H1/H4} = {}^3J_{H1/H6} = 2.5$ Hz), 4.17 (m, 1H, H-4, $^3J_{H4/H1} = 2.5$ Hz, $^3J_{H4/H5} = 1.0$ Hz)

(1*R*,4*S*)-*Tert*-butyl 3-oxo-2-azabicyclo[2.2.0]hex-5-ene-2-carboxylate III.50[209b]



III.50

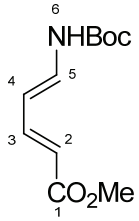
$C_{10}H_{13}NO_3$
M = 195.22 g.mol^{-1}
Yellow oil

To a stirred, cool (0°C) solution of compound **III.49** (1.05 g, 11.01 mmol) in dry CH_2Cl_2 (22 mL), was added Et_3N (1 mL, 7.12 mmol), DMAP (0.84 g, 6.83 mmol) and di-*tert*-butyle dicarbonate (3.04 g, 13.94 mmol) under argon atmosphere. The reaction was stirred for 2 h before addition of CH_2Cl_2 (8 mL). The CH_2Cl_2 layer was washed with cool 1 M aqueous HCl solution (2×8 mL), water (until pH=7) and brine (2×8 mL), then dried over $MgSO_4$, filtered and evaporated to furnish (1*R*,4*S*)-*tert*-butyl 3-oxo-2-azabicyclo[2.2.0]hex-5-ene-2-carboxylate **III.50** (2.16 g, 11.01 mmol, quantitative) as a yellow oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 6.65 (dd, 1H, H-5, $^3J_{H5/H6} = 2.5$ Hz, $^3J_{H5/H4} = 1.5$ Hz), 6.60 (ddd, 1H, H-6, $^3J_{H6/H5} = {}^3J_{H6/H1} = 2.5$ Hz, $^3J_{H6/H4} = 1.0$ Hz), 4.65 (dd, 1H, H-1, $^3J_{H1/H4} = 2.7$ Hz, $^3J_{H1/H6} = 2.5$ Hz), 4.15 (ddd, 1H, H-4, $^3J_{H4/H1} = 2.7$ Hz, $^3J_{H4/H5} = 1.5$ Hz, $^3J_{H4/H6} = 1.0$ Hz), 1.46 (s, 9H, C(C$\underline{H}_3$)$_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 165.9 (C=O), 149.0 (C=O), 141.7 (C-5 or C-6), 140.3 (C-5 or C-6), 83.0 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 56.8 (C-1 or C-4), 52.5 (C-1 or C-4), 27.8 ($C(\underline{C}H_3)_3$).

(2*E*,4*E*)-Methyl 5-(*tert*-butoxycarbonylamino)penta-2,4-dienoate III.51[209b]



III.51

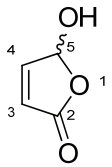
$C_{11}H_{17}NO_4$
M = 227.26 g.mol^{-1}
Yellow powder
mp = 121-124°C, mp (lit.[209b]) = 123-124°C

To a solution of compound **III.50** (0.300 g, 1.53 mmol) in dry MeOH (15 mL), was added LiOH (0.110 g, 4.58 mmol) under argon atmosphere. The reaction was stirred for 3 h at rt, then concentrated. EtOAc (10 mL) was added, and the organic layer was washed with water (pH=7) and brine (2×4 mL). The EtOAc phase was dried over $MgSO_4$, filtered and evaporated under reduced pressure to give (2*E*,4*E*)-methyl 5-(*tert*-butoxycarbonylamino)penta-2,4-dienoate **III.51** (0.280 g, 1.23 mmol, 80 %) as a yellow powder.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.29 (dd, 1H, H-3, $^3J_{H3/H2}$ = 15.2 Hz, $^3J_{H3/H2}$ = 11.8 Hz), 7.05 (dd, 1H, H-5, $^3J_{H5/H4} = {}^3J_{H5/NH}$ = 11.8 Hz), 6.62 (d, 1H, NH, $^3J_{NH/H5}$ = 11.8 Hz), 5.73 (dd, 1H, H-4, $^3J_{H4/H3} = {}^3J_{H4/H5}$ = 11.8 Hz), 5.71 (d, 1H, H-2, $^3J_{H2/H3}$ = 15.2 Hz), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 1.49 (s, 9H, $C(C\underline{H}_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 167.9 (C=O), 152.0 (C=O), 144.2 (C-3), 135.0 (C-5), 115.8 (C-2), 107.6 (C-4), 81.7 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 51.3 (OCH_3), 28.1 ($C(\underline{C}H_3)_3$).

5-Hydroxyfuran-2(5*H*)-one III.53[210]



III.53

$C_4H_4O_3$
M = 100.07 g.mol^{-1}
Orange powder
mp = 51-53°C, mp (lit.[210]) = 52°C

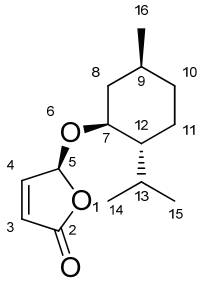
To a solution of 2-furfuraldehyde (80 mL, 0.96 mol) in dry MeOH (600 mL), was added Bengale rose (1.90 g, 1.86 mmmol). The solution was irradiated by a 400 W lamp under dioxygen atmosphere at 36°C for 30 h. The solvent was removed. The residue was taken in $CHCl_3$ (80 mL), cooled to -30°C and stirred during one night. The orange solid was

filtered and washed with $CHCl_3$ (70 mL) to afford 5-hydroxyfuran-2(5*H*)-one **III.53** (82.00 g, 0.66 mol, 86 %) as an orange powder.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.31 (dd, 1H, H-4, $^3J_{H4/H5}$ = 5.8 Hz, $^3J_{H4/H3}$ = 1.2 Hz), 6.25 (m, 1H, H-5), 6.21 (d, 1H, H-3, $^4J_{H3/H5}$ = 1.0 Hz, $^3J_{H3/H4}$ = 1.2 Hz), 5.51 (br s, 1H, OH).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 172.0 (C=O), 152.4 (C-4), 127.5 (C-3), 99.4 (C-5).

(*S*)-5-((1*S*,2*R*,5*S*)-2-Isopropyl-5-methylcyclohexyloxy)furan-2(5*H*)-one (+)-III.54[210]



(+)-III.54

$C_{14}H_{22}O_3$
M = 238.32 g.mol^{-1}
Pale pink powder
mp = 77-79°C°C, mp (lit.[210]) = 79-80°C
$[a]_D^{20°C} + 141$ (c = 1 EtOH)

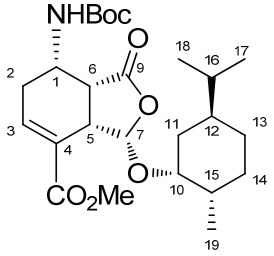
To a solution of compound **III.53** (37.0 g, 370.0 mmol) in dry toluene (190 mL), were added *D*-(+)-menthol (52.0 g, 330.0 mmol) and *D*-(+)-camphorsulfonic acid (4.0 g, 170.0 mmol) at rt under argon atmosphere. The reaction was refluxed for 2 h, then cooled to 0°C before addition of a saturated aqueous $NaHCO_3$ solution (100 mL). After stirring for 1.5 h at rt, two phases were separated. The organic layer was washed with brine (70 mL), dried over $MgSO_4$ and concentrated to afford a 1 / 1 mixture of two diastereoisomers as a red oil. Crystallisation in petroleum ether at -30°C gave (*S*)-5-((1*S*,2*R*,5*S*)-2-isopropyl-5-methylcyclohexyloxy)furan-2(5*H*)-one **(+)-III.54** (17.6 g, 74.0 mmol, 20 %) as a pale pink powder.

The filtrate obtained above from crystallisation was coevaporated in toluene (50 mL) and dissolved in CH_2Cl_2 (150 mL) before addition of *D*-(+)-camphorsulfonic acid (2.0 g, 85.0 mmol). The mixture was refluxed for 19 h, then treated with a saturated aqueous $NaHCO_3$ solution (100 mL) at 0°C. After stirring for 2 h at rt, the CH_2Cl_2 layer was washed with water (50 mL), dried over $MgSO_4$ and concentrated under reduced pression. Crystallisation in petroleum ether at -30°C gave additional compound **(+)-III.54** (34.3 g, 144.0 mmol, 38 %) as pale pink powder.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.17 (dd, 1H, H-4, $^3J_{H4/H5}$ = 4.4 Hz, $^3J_{H4/H3}$ = 1.2 Hz), 6.20 (dd, 1H, H-5, $^3J_{H5/H4}$ = 4.4 Hz, $^4J_{H5/H3}$ = 1.0 Hz), 6.08 (dd, 1H, H-3, $^3J_{H3/H4}$ = 1.2 Hz, $^4J_{H3/H5}$ = 1.0 Hz), 3.65 (dd, 1H, menthyl, J = 10.4 Hz, J = 4.1 Hz), 2.23-2.04 (m, 2H, menthyl), 1.74-1.62 (m, 2H, menthyl), 1.48-0.78 (m, 12H, menthyl).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 170.7 (C=O), 150.9 (C-4), 124.7 (C-3), 100.4 (C-5), 79.1 (C-7), 47.7 (C-12), 40.3 (C-8), 34.2 (C-10), 31.4 (C-9), 25.3 (C-13), 23.1 (C-11), 22.2 (C-14), 20.8 (C-15), 15.7 (C-16).

(3*S*,3a*S*,7*S*,7a*R*)-Methyl 7-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-5-*iso*-propyl-2-methylcyclohexyloxy)-1-oxo-1,3,3a,6,7,7a-hexahydroisobenzofuran-4-carboxylate (+)-III.56



(+)-III.56

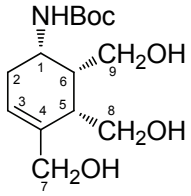
$C_{25}H_{39}NO_7$
M = 465.58 g.mol^{-1}
White powder
mp = 152-154°C
$[a]_D^{20°C}$ + 85 (c = 1 MeOH)

A solution of compounds **III.51** (0.95 g, 4.15 mmol), **(+)-III.54** (1.00 g, 4.15 mmol) and LiOH (0.02 g, 0.84 mmol) in toluene (10 mL) was heated at 120°C in a sealed tube during 5 days. The mixture was concentrated and filtered through silica gel (EtOAc / CH_2Cl_2 : 1 / 1). The yellow oil was then recrystallised in petroleum ether to afford (3*S*,3a*S*,7*S*,7a*R*)-methyl 7-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-5-*iso*-propyl-2-methylcyclohexyloxy)-1-oxo-1,3,3a,6,7,7a-hexahydroisobenzofuran-4-carboxylate **(+)-III.56** (1.37 g, 2.95 mmol, 72 %) as a white powder.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.11 (m, 1H, H-3), 6.05 (d, 1H, NH, $^3J_{NH/H1}$ = 9.6 Hz), 5.53 (s, 1H, H-7), 4.02 (m, 1H, H-1), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 3.45 (m, 2H, H-5, H-10), 3.32 (m, 1H, H-6), 2.56 (m, 1H, H-2a), 2.22-2.08 (m, 2H, menthyl), 2.03 (m, 1H, H-2b), 1.72-1.59 (m, 3H, menthyl), 1.40-1.22 (m, 2H, menthyl), 1.45 (s, 9H, $C(C\underline{H}_3)_3$), 1.04-0.97 (m, 3H, menthyl), 0.95 (d, 3H, menthyl, J = 6.5 Hz), 0.89 (d, 3H, menthyl, J = 6.5 Hz), 0.76 (d, 3H, menthyl, J = 6.8 Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 177.7 (C=O), 165.6 (C=O), 155.2 (C=O), 141.7 (C-3), 126.3 (C-4), 103.2 (C-7), 79.7 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 52.0 (OCH_3), 47.6 (C-10), 44.7 (C-5), 43.5 (C-1), 40.8 (C-6), 39.5 (C-11), 34.2 (C-13), 31.3 (C-12), 28.9 (C-2), 28.3 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 25.5 (C-15), 23.0 (C-14), 22.2 (C-16), 20.8 ($CH(\underline{C}H_3)_2$), 15.9 (C-19).

Tert-butyl (1*S*,5*S*,6*R*)-4,5,6-tris(hydroxymethyl)cyclohex-3-enylcarbamate III.58



$C_{14}H_{25}NO_5$
M = 287.35 g.mol^{-1}
Colorless oil

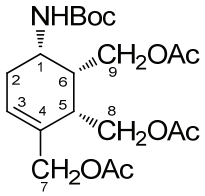
III.58

To a stirred, cold (-78°C) solution of adduct **(+)-III.56** (1.56 g, 3.35 mmol) in dry toluene (8 mL), was added dropwise DIBAL-H (1 M in toluene, 29 mL, 29.00 mmol) under argon atmosphere. The reaction was stirred for 3 h at the temperature, warmed to rt for 24 h, then treated with a 1.2 M aqueous solution of Rochelle's salts (60 mL). After vigorously stirring for 3 h, the toluene layer was removed, then the residue was taken in water. The aqueous layer was extracted with cyclohexane (3×50 mL), then continuously extracted with EtOAc. The combinated organic layers were dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated to give *tert*-butyl (1*S*,5*S*,6*R*)-4,5,6-tris(hydroxymethyl)cyclohex-3-enylcarbamate **III.58** (546.00 mg, 1.91 mmol, 57 % crude).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 5.89 (s, 1H, NH), 5.80 (m, 1H, H-3), 4.16-3.66 (m, 10H, H-7, H-8, H-9, 3×OH, H-1), 2.61-2.55 (m, 1H, H-6), 2.44-2.31 (m, 1H, H-2), 2.28-2.19 (m, 1H, H-5), 2.10-1.98 (m, 1H, H-2'), 1.43 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 156.5 (C=O), 136.2 (C-4), 126.7 (C-3), 79.4 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 66.0 (C-7), 60.4 (C-8 or C-9), 60.2 (C-8 or C-9), 45.9 (C-1), 42.4 (C-5), 41.3 (C-6), 30.7 (C-5), 28.4 ($C(\underline{C}H_3)_3$)

(+)-((1*R*,2*S*,6*S*)-6-(*Tert*-butoxycarbonylamino)cyclohex-3-ene-1,2,3-triyl)tris(methylene)triacetate (+)-III.59



$C_{20}H_{31}NO_8$
M = 413.46 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.1 (cyclohexane / EtOAc : 8 / 2)
$[a]_D^{20°C}$ + 22 (c = 1.75 $CHCl_3$)

(+)-III.59

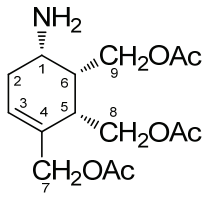
A solution of crude **III.58** (546 mg, 1.91 mmol), acetic anhydride (30 mL) and DMAP (100 mg, 0.82 mmol) in pyridine (15 mL) was stirred for 24 h at rt under argon atmosphere. Evaporation of the solvents followed by purification using silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 8 / 2) afforded (+)-((1*R*,2*S*,6*S*)-6-(*tert*-butoxycarbonylamino)cyclohex-3-ene-1,2,3-triyl)tris(methylene)triacetate **(+)-III.59** (705 mg, 1.70 mmol, 90 %, 51 % from **(+)-III.56**) as a colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 5.89-5,85 (m, 1H, H-3), 5.50 (d, 1H, NH, $^3J_{NH/H1}$ = 8.5 Hz), 4.56 (d, 1H, H-7a, $^2J_{H7a/H7b}$ = 12.6 Hz), 4.49 (d, 1H, H-7b, $^3J_{H7b/H7a}$ = 12.6 Hz), 4.35 (dd, 1H, H-8a, $^3J_{H8a/H5}$ = 6.2 Hz, $^2J_{H8a/H8b}$ = 12.2 Hz), 4.21 (dd, 1H, H-9a, $^3J_{H9a/H6}$ = 6.7 Hz, $^2J_{H9a/H9b}$ = 11.2 Hz), 4.16-4.06 (m, 2H, H-8a, H-9a), 4.05-3.95 (m, 1H, H-1), 2.89-2.81 (m, 1H, H-5), 2.54-2.37 (m, 2H, H-6, H-2a), 2.16-2.03 (m, 1H, H-2b), 2.11 (s, 3H, OAc), 2.07 (s, 3H, OAc), 2.05 (s, 3H, OAc).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 170.8 (C=O OAc), 170.6 (C=O OAc), 170.2 (C=O OAc), 155.4 (C=O Boc), 130.9 (C-4), 128.4 (C-3), 79.4 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 66.5 (C-7), 62.6 (C-9), 61.8 (C-8), 45.2 (C-1), 38.1 (C-6), 36.8 (C-5), 31.0 (C-2), 28.4 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 20.9 (3×CH_3 OAc).

HRMS Calculated for $C_{20}H_{32}NO_8$ $[M+H]^+$: 414.2128. Found : 414.2133.

((1*R*,2*S*,6*S*)-6-Aminocyclohex-3-ene-1,2,3-triyl)tris(methylene)triacetate III.77



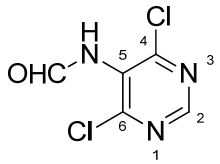
$C_{15}H_{23}NO_6$
M = 313.35 g.mol^{-1}
Pale yellow oil

III.77

To a stirred, cool (0°C) solution of compound **III.59** (801 mg, 1.94 mmol) in dry CH_2Cl_2 (10 mL), was added TMSOTf (0.70 mL, 3.87 mmol) under argon atmosphere. The reaction was stirred at the temperature for 4 h, then treated with a saturated aqueous $NaHCO_3$ solution (35 mL). The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2. The CH_2Cl_2 layer was dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated to afford ((1*R*,2*S*,6*S*)-6-aminocyclohex-3-ene-1,2,3-triyl)tris(methylene)triacetate **III.77** (580 mg, 1.85 mmol, 95 % crude) as a pale yellow oil.

^{1}H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 5.81-5.69 (m, 1H, H-3), 4.48 (m, 2H, H-7), 4.31 (dd, 1H, H-8a, $^3J_{H8a/H5}$ = 5.2 Hz, $^2J_{H8a/H8b}$ = 11.4 Hz), 4.22 (d, 2H, H-9, $^3J_{H9/H6}$ = 6.5 Hz), 4.05 (dd, 1H, H-8b, $^3J_{H8b/H5}$ = 7.5 Hz, $^2J_{H8b/H8a}$ = 11.4 Hz), 3.27-3.07 (m, 1H, H-1), 2.82-2.64 (m, 1H, H-5), 2.41-2.09 (m, 3H, H-6, H-2), 2.01 (s, 3H, OAc), 1.99 (s, 3H, OAc), 1.98 (s, 3H, OAc).

N-(4,6-Dichloropyrimidin-5-yl)formamide III.71



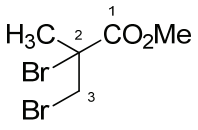
III.71

$C_5H_3Cl_2N_3O$
M = 192.00 g.mol^{-1}
Beige powder

To a stirred, cool (0°C) solution of 5-amino-4,6-dichloropyrimidine (500 mg, 3.05 mmol) in formic acid (6 mL), was added dropwise acetic anhydride (2.4 mL) under argon atmosphere. The reaction was stirred for 4 h at rt, then concentrated and coevaporated with toluene (3×5 mL) to give *N*-(4,6-dichloropyrimidin-5-yl)formamide **III.71** (550 mg, 95 %) as a beige powder.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) : 10.52 (br s, 1H, NH), 8.87 (s, 1H, CHO), 8.36 (s, 1H, H-2).

Methyl 2,3-dibromo-2-methylpropanoate III.83



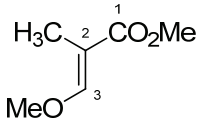
III.83

$C_5H_8Br_2O_2$
M = 259.92 g.mol^{-1}
Colorless liquid
bp = 112-114°C (20 mmHg)

To a stirred, cool (0°C) solution of methyl methacrylate (3.88 g, 38.80 mmol) in chloroform (10 mL), was added dropwise a solution of bromide (2.00 mL, 38.80 mmol) in $CHCl_3$ (4 mL) under argon atmosphere. After 2 h at 0°C, the reaction was stirred for an additional 2 h at rt. Distillation at atmospheric pressure, then under reduce pressure (P = 20 mmHg, bp = 112-114°C) purnished methyl 2,3-dibromo-2-methylpropanoate **III.83** (9.11 g, 90 %) as a colorless liquid.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 4.25 (d, 1H, H-2, $^3J_{H2/H3}$ = 10.0 Hz), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 3.74 (d, 1H, H-3, $^3J_{H3/H2}$ = 10.0 Hz).

(*E*)-Methyl-3-methoxy-2-methylacrylate III.84



III.84

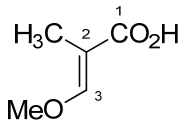
$C_6H_{10}O_3$
M = 130.14 g.mol^{-1}
Colorless liquid

To a refluxing methalic solution of sodium methoxide (prepared from sodium (1.6 g, 69.6 mmol) and dry MeOH (20 mL)), was added a solution of **III.83** (9.0 g, 34.6 mmol) in

dry MeOH (10 mL). After stirring for 16 h, the mixture was filtered, concentrated to half of its volume, then refiltered and reconcentrated under reduced pression. The residue was poured into water (10 mL) followed by extraction with Et_2O (3×15 mL). The combinated organic phases were washed with brine (10 mL), dried over $MgSO_4$ and concentrated. The MeOH was removed completely by distillation of the crude product at 170°C and in presence of freshly fused $NaHSO_4$ (40.0 mg, heated at 180°C *in vacuo* for 30 min.) through a small Vigreux column. The residue was then distilled under reduce pressure (P = 45 mmHg, bp = 93-94°C) to give (*E*)-methyl-3-methoxy-2-methylacrylate **III.84** (2.8 g, 21.5 mmol, 46 %) as a colorless liquid.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.28 (br s, 1H, H-3), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 1.72 (s, 3H, CH_3).

(*E*)-3-Methoxy-2-methylacrylic acid III.85



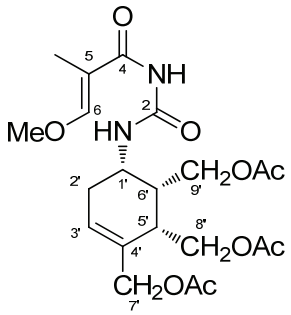
III.85

$C_5H_8O_3$
M = 116.12 g.mol^{-1}
Colorless liquid

A solution of ester **III.85** (2.70 g, 20.7 mmol) in 2 M aqueous NaOH solution (15 mL) was heated at 70°C during 4 h, then treated with a 2 M aqueous HCl solution (until pH=2). The suspension was filtered to obtain (*E*)-3-methoxy-2-methylacrylic acid **III.85** (2.17 g, 18.7 mmol, 90 %) as a colorless liquid.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) : 11.73 (br s, 1H, CO_2H), 7.30 (br s, 1H, H-3), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 1.58 (s, 3H, CH_3).

(+)-((1*R*,2*S*,6*S*)-6-(3-((*E*)-3-Methoxy-2-methylacryloyl)ureido)cyclohex-3-ene-1,2,3-triyl)tris(methylene)triacetate (+)-III.85



(+)-III.85

$C_{21}H_{30}N_2O_9$
M = 454.47 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.16 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1)
$[a]_D^{20°C}$ + 9 (c = 2.7 $CHCl_3$)

To a solution of 3-methoxyacrylic acid (0.360 g, 3.1 mmol) in dry CH_2Cl_2 (1 mL), was added freshly distilled thionyl chloride (0.4 mL, 5.500 mmol) at rt. The reaction was refluxed

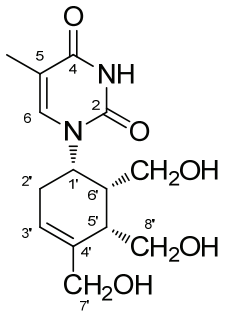
for 3 h, then concentrated. The residue was dissolved in dry benzene (3.3 mL), and AgOCN (0.800 g, 5.300 mmol, dried *in vacuo* over P_2O_5 at 100°C for 3 h in the dark) was added. The suspension was refluxed for 30 min., then cooled to 0°C. The supernatant liquor was added dropwise to a solution of amine **III.77** (0.360 g, 1.100 mmol) in dry DMF (4 mL) at -15°C. The reaction was stirred at -15°C for 2 h, then at rt overnight. The solvents were removed, and the residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 1 / 1) to produce (+)-((1*R*,2*S*,6*S*)-6-(3-((*E*)-3-methoxy-2-methylacryloyl)ureido)cyclohex-3-ene-1,2,3-triyl)tris(methylene)triacetate **(+)-II.85** (0.240 g, 0.539 mmol, 49 %) as a colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 9.08 (d, 1H, NH, $^3J_{NH/H1'}$ = 8.3 Hz), 7.79 (br s, 1H, (CO)N<u>H</u>(CO)), 7.31 (d, 1H, H-6, $^4J_{H6/CH3thym}$ = 1.3 Hz), 5.87-5.83 (m, 1H, H-3'), 4.52 (br s, 2H, H-7'), 4.35-4.08 (m, 5H, H-1', H-8', H-9'), 3.86 (s, 1H, OCH_3), 3.04-2.95 (m, 1H, H-5' or H-6'), 2.62-2.56 (m, 1H, H-5' or H-6'), 2.55-2.45 (m, 1H, H-2'a), 2.18-2.03 (m, 1H, H2'b), 2.12 (m, 3H, OAc), 2.07 (m, 3H, OAc), 2.05 (m, 3H, OAc), 1.77 (d, 3H, $CH_{3thymine}$, $^4J_{CH3thym/H6}$ = 1.3 Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 171.2 (O<u>C</u>OCH$_3$), 170.7 (O<u>C</u>OCH$_3$), 170.6 (O<u>C</u>OCH$_3$), 169.3 (C-2), 158.5 (C-6), 154.1 (C-4), 131.5 (C-4'), 127.9 (C-3'), 107.3 (C-5), 66.4 (C-7'), 63.2 (C-8' or C-9'), 61.5 (C-8' or C-9', O<u>C</u>H$_3$), 47.3 (C-1'), 38.9 (C-5' or C-6'), 37.5 (C-5' or C-6'), 29.3 (C-2'), 20.9 (OCO<u>C</u>H$_3$), 8.8 ($CH_{3thymine}$).

HRMS Calculated for $C_{21}H_{31}N_2O_9$ $[M+H]^+$: 455.2033. Found : 455.2030.

(+)-5-Methyl-1-((1*S*,5*S*,6*R*)-4,5,6-tris(hydroxymethyl)cyclohex-3-enyl)pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione (+)-III.86



(+)-III.86

$C_{14}H_{20}N_2O_5$
M = 296.32 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.20 (EtOAc / MeOH : 9 / 1)
$[a]_D^{20°C}$ + 70 (c = 0.55 MeOH)

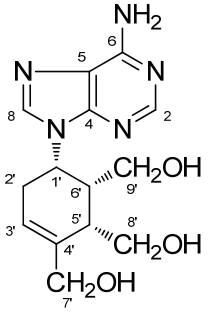
A solution of urea **(+)-III.85** (0.170 g, 0.397 mmol) in a 1/1 mixture of 30 % aqueous NH_4OH solution and MeOH (30 mL) was heated at 100°C in a sealed tube for 24 h. After evaporation of the solvents, further purification by silica gel column chromatography (CH_2Cl_2 / MeOH : 95 / 5 → 85 / 15) led to (+)-5-methyl-1-((1*S*,5*S*,6*R*)-4,5,6-tris(hydroxymethyl)cyclohex-3-enyl)pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione **(+)-III.86** (0.059 g, 0.199 mmol, 50 %) as a colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 7.51 (d, 1H, H-6, $^4J_{H6/CH3thym}$ = 1.2 Hz), 5.85 (m, 1H, H-3'), 4.66 (m, 1H, H-1'), 4.15 (d, 1H, H-7'a, $^2J_{H7'a/H7'b}$ = 12.7 Hz), 4.03 (d, 1H, H-7'b, $^2J_{H7'b/H7'a}$ = 12.7 Hz), 3.84 (dd, 1H, H-8'a, $^2J_{H8'a/H8'b}$ = 11.6 Hz, $^3J_{H8'a/H5'}$ = 5.3 Hz), 3.76 (dd, 1H, H-8'b, $^2J_{H8'b/H8'a}$ = 11.6 Hz, $^3J_{H8'b/H5'}$ = 7.1 Hz), 3.70 (dd, 1H, H-9'a, $^2J_{H9'a/H9'b}$ = 11.6 Hz, $^3J_{H9'a/H6'}$ = 7.2 Hz), 3.63 (dd, 1H, H-9'b, $^2J_{H9'b/H9'a}$ = 11.6 Hz, $^3J_{H9'b/H6'}$ = 5.3 Hz), 2.94-2.87 (m, 1H, H-5'), 2.78-2.67 (m, 1H, H-2'a), 2.52-2.46 (m, 1H, H-6'), 2.32-2.22 (m, 1H, H-2'b), 1.89 (d, 3H, CH_{3thym}, $^4J_{CH3thym/H6}$ = 1.2 Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 167.9 (C-2), 154.8 (C-4), 142.0 (C-6), 140.4 (C-4'), 125.2 (C-3'), 111.5 (C-5), 66.9 (C-7'), 63.6 (C-8'), 60.5 (C-9'), 57.9 (C-1'), 45.4 (C-5'), 43.4 (C-6'), 28.3 (C-2'), 13.9 (CH_{3thym}).

HRMS Calculated for $C_{14}H_{21}N_2O_5$ $[M+H]^+$: 297.1450. Found : 297.1466.

(+)-((1*R*,2*S*,6*S*)-6-(6-Amino-9*H*-purin-9-yl)cyclohex-3-ene-1,2,3-triyl)trimethanol (+)-III.81



(+)-III.80

$C_{14}H_{19}N_5O_3$
M = 305.33 g.mol^{-1}
Pale yellow powder
R_f = 0.09 (EtOAc / MeOH : 9 / 1)
$[a]_D^{20°C}$ + 60 (c = 0.64 MeOH)

A solution of amine **III.77** (0.305 g, 0.974 mmol), *N*-(2,6-dichlorophenyl)formamide **III.71** (0.380 g, 1.999 mmol) and of Et_3N (0.8 mL, 5.730 mmol) in dry dioxane (6 mL) was refluxed for 12 h under argon atmosphere. After evaporation of the solvent, the mixture was dissolved in diethoxymethyl acetate (10 mL) and heated at 120°C for 24 h, then concentrated. The residue was dissolved in MeOH (6 mL), then 30 % aqueous NH_4OH solution (0.6 mL) was added. After stirring for 1 h, the mixture was concentrated. The crude product was taken in a saturated methanolic ammonia solution (40 mL), and the mixture was heated at 80°C for 24 h in steel bomb at the pressure of 11 bars. Evaporation of the solvent, then further purification by silica gel column chromatography (EtOAc / MeOH : 90 / 10 → 80 / 20) afforded (+)-((1*R*,2*S*,6*S*)-6-(6-amino-9*H*-purin-9-yl)cyclohex-3-ene-1,2,3-triyl)trimethanol **(+)-III.81** (0.060 g, 0.197 mmol, 20 %) as a pale yellow solid.

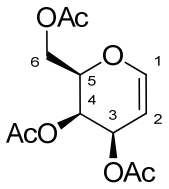
^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 8.22 (s, 1H, H-2 or H-8), 8.21 (s, 1H, H-2 or H-8), 5.95-5.91 (m, 1H, H-3'), 4.94-4.86 (m, 1H, H-1'), 4.21 (d, 1H, H-7'a, $^2J_{H7'a/H7'b}$ = 13.0 Hz), 4.11 (d, 1H, H-7'b, $^2J_{H7'b/H7'a}$ = 13.0 Hz), 3.79 (dd, 1H, H-8' or H-9'), 3.72 (dd, 1H, H-8' or H-9'), 3.69 (dd, 1H, H-8' or H-9'), 3.58 (dd, 1H, H-8' or H-9'), 3.04-2.89 (m, 2H, H-5', H-6'), 2.71-2.58 (m, 2H, H-2'a, H-2'b).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 158.8 (C-6), 155.1 (C-2), 152.4 (C-4), 142.8 (C-8), 140.8 (C-4'), 124.9 (C-3'), 121.7 (C-5), 66.9 (C-7'), 63.4 (C-8' or C-9'), 60.6 (C-8' or C-9'), 56.0 (C-1'), 44.9 (C-5' or C-6'), 44.6 (C-5' or C-6'), 29.6 (C-2').

HRMS Calculated for $C_{14}H_{20}N_5O_3$ $[M+H]^+$: 306.1566. Found : 306.1578.

Experimental section : Chapter IV

3,4,6-Tri-*O*-acetyl-*D*-galactal (IV.61)[249]



IV.61

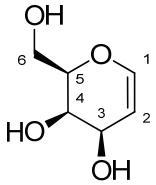
$C_{12}H_{16}O_7$
M = 272.25 g.mol^{-1}
Colorless oil

To a stirred, cool (0°C) solution of *D*-galactose (40.0 g, 222.0 mmol) in dry pyridine (200 mL), were added dropwise acetic anhydride (120 mL) and DMAP (2.43 g, 11.0 mmol) under argon atmosphere. After stirring for 24 h at rt, the mixture was diluted with CH_2Cl_2 (400 mL). The organic layer was washed with saturated aqueous $NaHCO_3$ solution, water and brine, then dried over $MgSO_4$. After filtration, the filtrate was concentrated to afford the crude 1,2,3,4,6-tri-*O*-acetyl-*D*-galactose which was used for further reaction without any purification.

To a stirred, cool (0°C) solution of 1,2,3,4,6-tri-*O*-acetyl-*D*-galactose in CH_2Cl_2 (400 mL), was added a 33 % solution of bromhydric acid in glacial acetic acid (160 mL). After stirring for 2 h at rt, the solution was poured into a 1/1 mixture of ice-water (200 g). The aqueous phase was extracted with EtOAc. The combinated organic phases were washed with saturated aqueous $NaHCO_3$ solution, water, and brine. The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated to 200 mL under reduced pressure. To this solution, was added a mixture of zinc dust (46.0 g, 708.00 mmol), $CuSO_4$ (1.0 g, 6.28 mmol) and NaOAc (50.0 g, 610.0 mmol) in a 60% aqueous AcOH solution (200 mL), and the reaction was stirred for 1 h at rt. The mixture was filtered through celite, and rinsed with EtOAc. The filtrate was washed with saturated aqueous $NaHCO_3$ solution, water, brine, dried over $MgSO_4$ and concentrated. Purification by flash chromatography (cyclohexane / EtOAc : 4 / 1) gave the 3,4,6-tri-*O*-acetyl-*D*-galactal **IV.61** (34.0 g, 125.0 mmol, 57 %) as a colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 6.47 (dd, 1H, H-1, $^3J_{H1/H2}$ = 6.3 Hz, $^4J_{H1-H3}$ = 1.7 Hz), 5.61-5.51 (m, 1H, H-3), 5.48-5.40 (m, 1H, H-4), 4.78-4.70 (m, 1H, H-2), 4.38-4.18 (m, 3H, H-5, H-6a, H-6b), 2.14 (s, 3H, OAc), 2.09 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 3H, OAc).

D-Galactal (IV.62)[249]



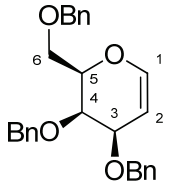
IV.62

$C_6H_{10}O_4$
M = 146.14 g.mol^{-1}
White powder
mp = 95-97°C, mp (lit.[252]) = 100°C

To a solution of compound **IV.61** (6.71 g, 24.6 mmol) in dry MeOH (100 mL), was added NaOMe (1 M solution in MeOH, 0.75 mL, 0.75 mmol). The reaction was stirred at rt during 2 h, before being neutralized by addition of $CO_{2(s)}$ (7.00 g). The solvent was removed to afford *D*-galactal **IV.62** (3.13 g, 21.4 mmol, 87 %) as a white solid.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) : 6.25 (dd, 1H, H-1, $^3J_{H1/H2}$ = 6.2 Hz, $^4J_{H1\text{-}H3}$ = 1.8 Hz), 4.72 (t, 1H, OH, $^3J_{OH/H6}$ = 5.5 Hz), 4.60 (dd, 1H, H-2, $^3J_{H2/H1}$ = 6.2 Hz, $^4J_{H2\text{-}H3}$ = 4.7 Hz), 4.40 (m, 1H, H-3), 4.35 (m, 1H, H-5), 4.19 (br s, 1H, OH), 3.73 (m, 1H, H-4), 3.56 (m, 2H, H-6^a, H-6b), 3.72 (br s, 1H, OH).

3,4,6-Tri-*O*-benzyl-*D*-galactal IV.70[249]



IV.70

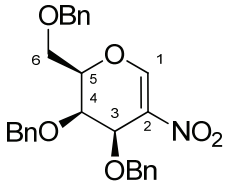
$C_{27}H_{28}O_4$
M = 416.51 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.24 (cyclohexane / EtOAc : 1 / 9)

To a stirred, cool (0°C) solution of *D*-galactal **IV.62** (3.13 g, 21.4 mmol) in dry DMF (110 mL), was added sodium hydride (60% dispersion in mineral oil, 5.50 g, 22.9 mmol) under argon atmosphere. The suspension was stirred for 30 min., and benzyl bromide (15.0 mL, 126.0 mmol) was added. After stirring for 24 h at rt, a 4 / 1 mixture of EtOAc / water (500 mL) was added. The organic layer was washed with water, saturated aqueous NH_4Cl solution and brine. The organic phases were dried over $MgSO_4$, filtered to afford, after purification by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 95 / 5), 3,4,6-tri-*O*-benzyl-*D*-galactal **IV.70** (8.20 g, 19.7 mmol, 92 %) as a colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.33 (m, 15H, Bn), 6.36 (dd, 1H, H-1, $^3J_{H1/H2}$ = 6.2 Hz, $^4J_{H1\text{-}H3}$ = 1.0 Hz), 4.87-4.40 (m, 7H, CH_{2Bn}, H-2), 4.18 (m, 2H, H-3, H-5), 3.94 (m, 1H, H-4), 3.65 (m, 2H, H-6a, H-6b).

[252] Hamada, Y.; Kato, S.; Shioiri, T. Tetrahedron Lett. **1985**, *26*, 3223.

2-Nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-*D*-galactal IV.72[239]



IV.72

$C_{27}H_{27}NO_6$
M = 461.51 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.65 (toluene / EtOAc : 9 / 1)

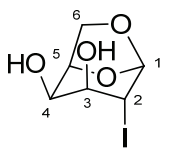
Concentrated solution of HNO_3 (1.2 mL) was added dropwise to Ac_2O (50 mL) at 10°C under argon atmosphere. To this solution, was added a solution of **IV.70** (2.00 g, 6.40 mmol) in Ac_2O (2.5 mL) at -30°C. The mixture was stirred for 1 h at the temperature before quenched with water (35 mL) and brine (25 mL). The aqueous layer was extracted with Et_2O (3×35 mL). The combinated organic phases were dried over $MgSO_4$, filtered, concentrated, and coevaporated with toluene. The residue was dissolved in CH_2Cl_2 (2.5 mL), then added to a mixture of Et_3N (0.9 mL) and CH_2Cl_2 (2.5 mL) at 0°C. After stirring for 30 min. at rt, the mixture was washed with a 1 M aqueous HCl solution, water, and brine. The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered, and purified by silica gel column chromatography (toluene / EtOAc : 98 / 2) to afford 2-nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-*D*-galactal **IV.72** (1.32 g, 2.86 mmol, 58 %) as a colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 8.08 (s, 1H, H-1), 7.30 (m, 15H, Bn), 4.95-4.35 (m, 8H, CH_{2Bn}, H-3, H-5), 3.92 (m, 3H, H-6a, H-6b, H-4).

1,6-Anhydro-2-deoxy-2-iodo-β-*D*-galactopyranose IV.63 and 1,4-Anhydro-2-deoxy-2-iodo-β-*D*-galactopyranose IV.64[237]

A mixture of *D*-galactal **IV.62** (1.460 g, 10.00 mmol), bis(tributyltin) oxide (4.770 g, 8.00 mmol) and 3 Å molecular sieves (3.000 g) in dry CH_3CN (60 mL) was heated at reflux for 3 h under argon atmosphere. The solvent was removed under reduced pressure, and the residue was dried *in vacuo* (P = 0.1 mmHg) overnight before addition of dry CH_2Cl_2 (60 mL) under argon atmosphere. The mixture was trapped with iodine (3.050 g, 12.00 mmol) at 0°C, and stirred for 30 min. The dark brown solution was filtered through celite, concentrated before being taken in a mixture of saturated $Na_2S_2O_3$ aqueous solution (50 mL) and *n*-hexane (50 mL), and vigorously stirred for 3 h. The aqueous layer was then extracted continuously with EtOAc overnight. After removal of the solvent, purification by silica gel column chromatography (cyclohexane / acetone : 4 / 1) gave 1,6-anhydro-2-deoxy-2-iodo-β-*D*-galactopyranose **IV.63** (1.470 g, 5.40 mmol, 54 %) as a white powder and 1,4-anhydro-2-deoxy-2-iodo-β-*D*-galactopyranose **IV.64** (0.252 g, 0.93 mmol, 9 %) as a white powder.

1,6-Anhydro-2-deoxy-2-iodo-β-D-galactopyranose IV.63

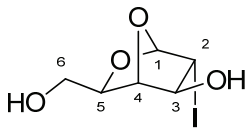


IV.63

$C_6H_9IO_4$
M = 272.04 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.38 (toluene / acetone : 1 / 1)
mp = 86-89°C, mp (lit.[237]) = 87-88°C

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) : 5.48 (br s, 1H, H-1), 5.40 (d, 1H, 3-OH, $^3J_{OH/H3}$ = 7.2 Hz), 5.05 (d, 1H, 4-OH, $^3J_{OH/H4}$ = 7.2 Hz), 4.38 (m, 1H, H-6b, $^3J_{H6a/H5}$ = 5.8 Hz, $^2J_{H6a/H6b}$ = 7.3 Hz), 4.31-4.25 (m, 1H, H-5), 4.19-4.13 (m, 1H, H-3), 4.13-4.09 (m, 1H, H-2), 4.09-3.97 (m, 1H, H-4), 3.50 (m, 1H, H-6b).

1,4-Anhydro-2-deoxy-2-iodo-β-D-galactopyranose IV.64



IV.64

$C_6H_9IO_4$
M = 272.04 g.mol^{-1}
White powder
R_f = 0.27 (toluene / acetone : 1 / 1)
mp = 82-85°C, mp (lit.[237]) = 83-84°C

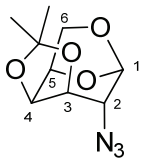
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) : 5.75 (d, 1H, 3-OH, $^3J_{OH/H3}$ = 5.0 Hz), 5.55 (m, 1H, H-1), 4.82 (dd, 1H, 6-OH, $^3J_{OH/H6a}$ = $^3J_{OH/H6b}$ = 6.0 Hz), 4.37 (m, 1H, H-4), 4.00 (m, 1H, H-2), 3.58 (m, 1H, H-3), 3.48 (m, 1H, H-5), 3.22-3.13 (m, 2H, H-6a, H-6b).

1,6-Anhydro-2-azido-2-deoxy-3,4-*O*-isopropylidene-β-*D*-galactopyranose IV.67 and 1,6-anhydro-3-azido-3-deoxy-β-*D*-galactopyranose IV.66[237]

A mixture of compound **IV.63** (2.72 g, 10.0 mmol) and freshly dried lithium azide (1.47 g, 30.0 mmol) in dry DMF (30 mL) was heated at reflux for 12 h under argon atmosphere. After removal of the solvent, the residue was dissolved in water. The aqueous layer was continuously extracted with EtOAc overnight, and the solvent was evaporated to give a mixture of two isomers azides which were used for further reaction without any purification.

To a solution of the crude reaction in dry CH_3CN (10 mL), were added 2,2-dimethoxypropane (5.20 g, 50.0 mmol), and camphorsulfonic acid (25.0 mg, 0.11 mmol). The reaction was stirred for 5 h at rt, then neutralized with Et_3N (2.5 mL). After concentration, the residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 9 / 1 → 0 / 1) to furnish 1,6-anhydro-2-azido-2-deoxy-3,4-*O*-isopropylidene-β-*D*-galactopyranose **IV.67** (1.74 g, 7.7 mmol, 77 %) as a colorless oil and unchanged diol 1,6-anhydro-3-azido-3-deoxy-β-*D*-galactopyranose **IV.66** (302.0 mg, 1.6 mmol, 16 %) as a colorless oil.

1,6-Anhydro-2-azido-2-deoxy-3,4-O-isopropylidene-β-D-galactopyranose IV.67

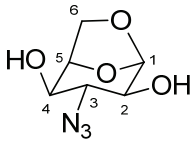


IV.67

$C_9H_{13}N_3O_4$
M = 227.22 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.77 (Et_2O)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 5.45 (br s, 1H, H-1), 4.53 (m, 1H, H-5), 4.41 (m, 1H, H-4), 4.25 (d, 1H, H-3, $^3J_{H3/H4}$ = 7.0 Hz), 4.15 (d, 1H, H-6a, $^2J_{H6a/H6b}$ = 7.6 Hz), 3.61 (dd, 1H, H-6b, $^2J_{H6b/H5}$ = 5.3 Hz, $^2J_{H6b/H6a}$ = 7.6 Hz), 3.54 (br s, 1H, H-2), 1.53 (s, 3H, CH_3), 1.37 (s, 3H, CH_3).

1,6-Anhydro-3-azido-3-deoxy-β-D-galactopyranose IV.66

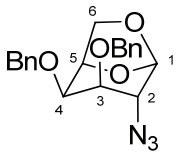


IV.66

$C_6H_9N_3O_4$
M = 187.15 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.46 (Et_2O)

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO d_6) δ (ppm) : 5.71 (d, 1H, OH, ^3J = 5.5 Hz), 5.56 (d, 1H, OH, ^3J = 6.0 Hz), 5.14 (br s, 1H, H-1), 4.32 (dd, 1H, H-5, $^3J_{H5/H4}$ = 4.5 Hz, $^3J_{H5/H6a}$ = 5.0 Hz), 3.99 (dd, 1H, H-6a, $^2J_{H6a/H6b}$ = 7.5 Hz, $^3J_{H6a\ /H5}$ = 5.0 Hz), 3.58 (m, 1H, H-6b), 3.49 (m, 1H, H-4), 3.26 (m, 2H, H-2, H-3).

1,6-Anhydro-2-azido-2-deoxy-3,4-*O*-benzyl-β-*D*-galactopyranose IV.68[237]



IV.68

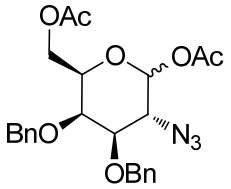
$C_{20}H_{21}N_3O_4$
M = 367.40 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.47 (cyclohexane / EtOAc : 4 / 1)

A solution of compound **IV.67** (2.27 g, 10.00 mmol) in 60 % aqueous AcOH solution (35 mL) was heated at 100°C for 1 h. The solvent was concentrated under reduced pressure, and the residue was dried by several coevaporation with toluene. The crude product was dissolved in dry DMF (40 mL) under argon atmosphere, and sodium hydride (60% dispersion in mineral oil, 1.81 g, 12.60 mmol) was added at 0°C. After stirring for 30 min., benzyl bromide (2.9 mL, 24.00 mmol) was added, the reaction was allowed to warm to rt and stirred for 1 h, then cooled to 0°C. MeOH (13 mL) was added to decompose sodium hydride in excess following by addition of CH_2Cl_2 (300 mL). The organic layer was washed with brine,

dried over $MgSO_4$ and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 9 / 1) to give 1,6-anhydro-2-azido-2-deoxy-3,4-*O*-benzyl-β-*D*-galactopyranose **IV.68** (3.17 g, 8.66 mmol, 87 %) as a colorless oil.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.35 (m, 10H, Bn), 5.43 (br s, 1H, H-1), 4.68 (br s, 2H, CH_{2Bn}), 4.54-4.37 (m, 4H, H-5, H-6a, CH_2 Bn), 3.87 (m, 1H, H-3), 3.83 (m, 1H, H-4), 3.68 (m, 1H, H-6b), 3.56 (m, 1H, H-2).

6-*O*-Acetyl-2-azido-3,4-di-*O*-benzyl-2-deoxy-αβ-*D*-galactopyranosyl peracetyl IV.69αβ[237]



$C_{24}H_{27}N_3O_7$
M = 469.49 g.mol^{-1}
Colorless oil

IV.69αβ

A solution of compound **IV.68** (0.15 g, 0.41 mmol) in a 10 / 1 mixture of acetic anhydride / TFA (2.2 mL) was stirred for 12 h at rt under argon atmosphere. Concentration of the solvent and coevaporation with toluene afforded an inseparable mixture of two compounds **IV.69α** and **IV.69β** (α / β = 58 / 42, 0.12 g, 0.26 mmol, 63 %). As the two anomers were not separated, their NMR spectrum couldn't be completely attributed, and only the most important chemical shifts were listed.

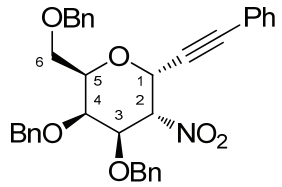
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 6.26 (d, 1H, H-1α, $^3J_{H1\alpha/H2}$ = 4.3 Hz), 5.41 (d, 1H, H-1β, $^3J_{H1\beta/H2}$ = 8.3 Hz), 2.16 (s, 3H, OAc), 2.12 (s, 3H, OAc), 2.00 (s, 3H, OAc), 1.97 (s, 3H, OAc).

(+)-(2-Nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-α-*D*-galactopyranosyl)phenylacetylene (+)-IV.75α and (+)-(2-Nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-β-*D*-galactopyranosyl) phenylacetylene (+)-IV.75β

To a stirred, cold (-78°C) solution of phenylacetylene (0.72 mL, 6.510 mmol) in dry THF (15 mL), was added dropwise *n*-BuLi (1.4 M in hexanes, 4.70 mL, 6.510 mmol) under argon atmosphere. The reaction was allowed to warm to 0°C, and stirred for 2 h before being cooled to -78°C. A solution of compound **IV.72** (1.000 g, 2.170 mmol) in dry THF (10 mL) was added dropwise, and the mixture was stirred for 5 h. The reaction was quenched with saturated aqueous NH_4Cl solution (25 mL), and the organic layer was separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3×50 mL). The combined organic layers were washed with brine (25 mL) and dried over $MgSO_4$. After removal of the solvent, the residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 95 / 5 → 9 / 1) to furnish (2-nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-α-*D*-galactopyranosyl)phenylacetylene **(+)-IV.75α** (0.460 g,

0.816 mmol, 38 %) as a white powder and (2-nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-β-*D*-galactopyranosyl)phenylacetylene **(+)-IV.75β** (0.593 g, 1.050 mmol, 49 %) as a sticky colorless oil.

(+)-(2-Nitro-3,4,6-tri-O-benzyl-2-deoxy-α-D-galactopyranosyl)phenylacetylene (+)-IV.75α



(+)-IV.75α

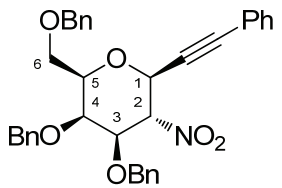
$C_{35}H_{33}NO_6$
M = 563.64 g.mol^{-1}
White powder
R_f = 0.69 (cyclohexane / EtOAc : 7 / 3)
mp = 106-109°C
$[a]_D^{20°C}$ + 124 (c = 1.00 $CHCl_3$)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.46-7.41 (m, 2H, H-Ar), 7.37-7.22 (m, 18H, H-Ar), 5.46 (d, 1H, H-1, $^3J_{H1/H2}$ = 5.5 Hz), 5.21 (dd, 1H, H-2, $^3J_{H2/H1}$ = 5.5 Hz, $^3J_{H2/H3}$ = 10.7 Hz), 4.86 (d, 1H, CH_{2Bn}, ^2J = 11.5 Hz), 4.74 (br s, 2H, CH_{2Bn}), 4.53-4.41 (m, 4H, H-3, CH_{2Bn}), 4.26-4.21 (m, 1H, H-5), 4.08-4.06 (m, 1H, H-4), 3.61 (m, 2H, H-6a, H-6b).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 138.0 (C_{quat} Ar), 137.7 (C_{quat} Ar), 137.2 (C_{quat} Ar), 132.1 (CH Ar), 129.4 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 121.3 (C_{quat} Ar), 90.9 (C_{alkyne}), 84.1 (C-2), 80.2 (C_{alkyne}), 76.4 (C-3), 75.3 (CH_2 Bn), 73.7 (CH_2 Bn), 73.3 (C-4), 73.1 (CH_{2Bn}), 73.0 (C-5), 68.2 (C-6), 67.1 (C-1).

HRMS Calculated for $C_{35}H_{34}NO_6$ $[M+H]^+$: 564.2386. Found : 564.2389.

(+)-(2-Nitro-3,4,6-tri-O-benzyl-2-deoxy-β-D-galactopyranosyl)phenylacetylene (+)-IV.75β



(+)-IV.75β

$C_{35}H_{33}NO_6$
M = 563.64 g.mol^{-1}
Sticky colorless oil
R_f = 0.60 (cyclohexane / EtOAc : 7 / 3)
mp = 123-126°C
$[a]_D^{20°C}$ + 8 (c = 1.07 $CHCl_3$)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.43-7.38 (m, 2H, H-Ar), 7.38-7.23 (m, 18H, H-Ar), 5.09 (dd, 1H, H-2, $^3J_{H2/H1}$ = $^3J_{H3/H2}$ = 10.6 Hz), 4.68 (d, 1H, H-1, $^3J_{H1/H2}$ = 10.0 Hz), 4.87 (d, 1H, CH_{2Bn}, ^2J = 10.8 Hz), 4.73-4.40 (m, 5H, CH_{2Bn}), 4.12 (dd, 1H, H-3, $^3J_{H3/H2}$ = 10.6 Hz, $^3J_{H3/H4}$ = 3.0 Hz), 4.04 (d, 1H, H-4, $^3J_{H4/H3}$ = 3.0 Hz), 3.74-3.68 (m, 1H, H-5), 3.66-3.57 (m, 2H, H-6a, H-6b).

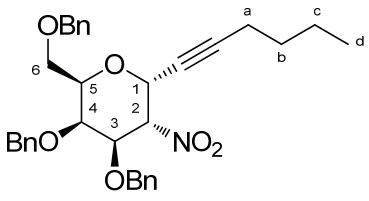
^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 137.9 (C_{quat} Ar), 137.6 (C_{quat} Ar), 136.7 (C_{quat} Ar), 132.2 (CH Ar), 129.2 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 121.3 (C_{quat} Ar), 88.5 (C_{alkyne}), 87.8 (C-2), 81.5 (C_{alkyne}), 80.1 (C-3), 77.7 (C-5), 75.0 (CH_2 Bn), 73.7 (CH_2 Bn), 72.5 (CH_2 Bn), 72.1 (C-4), 69.2 (C-1), 68.1 (C-6).

HRMS Calculated for $C_{35}H_{37}N_2O_6$ $[M+NH_4]^+$: 581.2652. Found : 581.2605.

(+)-(2-Nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-α-*D*-galactopyranosyl)hex-1-yne (+)-IV.76α and (+)-(2-Nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-β-*D*-galactopyranosyl)hex-1-yne (+)-IV.76β

To a stirred, cold (-78°C) solution of hex-1-yne (0.82 mL, 6.99 mmol) in dry THF (15 mL), was added dropwise *n*-BuLi (1.5 M in hexanes, 4.70 mL, 6.99 mmol) under argon atmosphere. The reaction was allowed to warm to 0°C and stirred for 2 h, then cooled to -78°C. After addition of a solution of compound **IV.72** (1.080 g, 2.33 mmol) in dry THF (10 mL), the mixture was stirred for 5 h, then quenched with saturated aqueous NH_4Cl solution (25 mL). The organic layer was separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3×50 mL), then the combined organic phases were washed with brine (25 mL) and dried over $MgSO_4$. After removal of the solvents, the residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 95 / 5 → 9 / 1) to afford (2-nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-α-*D*-galactopyranosyl)hex-1-yne **(+)-IV.76α** (0.544 g, 1.00 mmol, 43 %) as a pale yellow oil and (2-nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-β-*D*-galactopyranosyl)hex-1-yne **(+)-IV.76β** (0.291 g, 0.54 mmol, 23 %) as a pale yellow oil.

(+)-(2-Nitro-3,4,6-tri-O-benzyl-2-deoxy-α-D-galactopyranosyl)hex-1-yne (+)-IV.76α



(+)-IV.76α

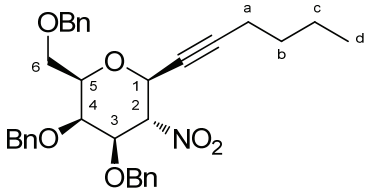
$C_{33}H_{37}NO_6$
M = 543.65 g.mol^{-1}
Pale yellow oil
R_f = 0.74 (cyclohexane / EtOAc : 7 / 3)
$[a]_D^{20°C}$ + 77 (c = 1.04 $CHCl_3$)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.37-7.20 (m, 15H, H-Bn), 5.23 (dt, 1H, H-1, $^3J_{H1/H2}$ = 6.1 Hz, $^5J_{H1/Ha}$ = 2.0 Hz), 5.10 (dd, 1H, H-2, $^3J_{H2/H1}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H2/H3}$ = 10.5 Hz), 4.84 (d, 1H, CH_{2Bn}, ^2J = 11.6 Hz), 4.72 (br s, 2H, CH_{2Bn}), 4.53-4.42 (m, 3H, CH_{2Bn}), 4.37 (dd, 1H, H-3, $^3J_{H3/H4}$ = 3.0 Hz, $^3J_{H3/H2}$ = 10.5 Hz), 4.14 (m, 1H, H-5), 4.02 (d, 1H, H-4, $^3J_{H4/H3}$ = 3.0 Hz), 3.59-3.54 (m, 2H, H-6a, H-6b), 2.22 (td, 2H, H-a, $^3J_{Ha/Hb}$ = 6.8 Hz, $^5J_{Ha/H1}$ = 2.0 Hz), 1.52-1.35 (m, 4H, H-b, H-c), 0.92 (t, 3H, H-d, $^3J_{Hd/Hc}$ = 7.4 Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 136.2 (C_{quat} Bn), 135.9 (C_{quat} Bn), 135.4 (C_{quat} Bn), 128.6 (CH Bn), 128.5 (CH Bn), 128.4 (CH Bn), 128.2 (CH Bn), 128.1 (CH Bn), 128.0 (CH Bn), 127.9 (CH Bn), 127.8 (CH Bn), 92.3 (C_{alkyne}), 82.2 (C-2), 76.3 (C-3), 75.2 (CH_2 Bn), 73.6 (CH_2 Bn), 73.3 (C-4), 73.1 (CH_2 Bn), 72.5 (C-5), 71.4(C_{alkyne}), 68.3 (C-6), 66.9 (C-1), 30.3(C-b or C-c), 21.9 (C-b or C-c), 18.4 (C-a), 13.6 (C-d).

HRMS Calculated for $C_{33}H_{38}NO_6$ $[M+H]^+$: 544.2699. Found : 544.2696.

(2-Nitro-3,4,6-tri-O-benzyl-2-deoxy-β-D-galactopyranosyl)hex-1-yne (+)-IV.76β



(+)-IV.76β

$C_{33}H_{37}NO_6$
M = 543.65 g.mol^{-1}
Pale yellow oil
R_f = 0.69 (cyclohexane / EtOAc : 7 / 3)
$[a]_D^{20°C}$ + 127 (c = 0.98 $CHCl_3$)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.38-7.20 (m, 15H, H-Bn), 4.95 (t, 1H, H-2, $^3J_{H2/H1} = {}^3J_{H2/H3}$ = 10.6 Hz), 4.85 (d, 1H, CH_{2Bn}, ^2J = 11.4 Hz), 4.81-4.35 (m, 7H, H-1, H-5, CH_{2Bn}), 4.02 (dd, 1H, H-3, $^3J_{H3/H2}$ = 10.6 Hz, $^3J_{H3/H4}$ = 3.5 Hz), 4.01 (dd, 1H, H-4, $^3J_{H4/H3} = {}^3J_{H4/H5}$ = 3.5 Hz), 3.66-3.56 (m, 2H, H-6a, H-6b), 2.20-2.14 (m, 2H, H-a), 1.49-1.29 (m, 4H, H-b, H-c), 0.87 (t, 3H, H-d, $^3J_{Hd/Hc}$ = 7.7 Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 137.9 (C_{quat} Bn), 137.5 (C_{quat} Bn), 136.7 (C_{quat} Bn), 128.6 (CH Bn), 128.5 (CH Bn), 128.4 (CH Bn), 128.3 (CH Bn), 128.2 (CH Bn), 128.0 (CH Bn), 127.9 (CH Bn), 127.8 (CH Bn), 90.0 (C_{alcyne}), 88.0 (C-2), 80.0 (C-3), 75.3 (C-5), 74.9 (CH_2 Bn), 73.6 (CH_2 Bn), 72.3 (CH_2 Bn), 71.8 (C-4), 68.9 (C-1), 67.9 (C-6), 30.1(C-b or C-c), 21.8 (C-b or C-c), 18.3 (C-a), 13.5 (C-d).

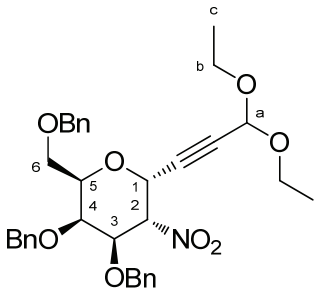
HRMS Calculated for $C_{33}H_{38}NO_6$ $[M+H]^+$: 544.2699. Found : 544.2701.

(+)-(2-Nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-α-*D*-galactopyranosyl)diethoxyprop-1-yne (+)-IV.77α and (+)-(2-Nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-β-*D*-galactopyranosyl)diethoxyprop-1-yne (+)-IV.77β

To a stirred, cold (-78°C) solution of 2,2-diethoxyprop-1-yne (1.10 mL, 7.35 mmol) in dry THF (15 mL), was added dropwise *n*-BuLi (1.5 M in hexanes, 4.90 mL, 7.35 mmol) under argon atmosphere. The reaction was allowed to warm to 0°C and stirred for 2 h, then cooled to -78°C. A solution of compound **IV.72** (1.130 g, 2.45 mmol) in dry THF (10 mL) was added, and the mixture was stirred for 5 h. The reaction was quenched with saturated aqueous NH_4Cl solution (25 mL), and the organic layer was separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3×50 mL), and the combined organic phases were washed with brine

(25 mL), then dried over $MgSO_4$. After removal of the solvents, the residue was purified by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 95 / 5 → 9 / 1) to give (2-nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-α-*D*-galactopyranosyl)hex-1-yne **(+)-IV.77α** (0.706 g, 1.20 mmol, 49 %) as a colorless oil and (2-nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-deoxy-β-*D*-galactopyranosyl)hex-1-yne **(+)-IV.77β** (0.412 g, 0.70 mmol, 29 %) as a white powder.

(+)-(2-Nitro-3,4,6-tri-O-benzyl-2-deoxy-α-D-galactopyranosyl)diethoxyprop-1-yne (+)-IV.77α



(+)-IV.77α

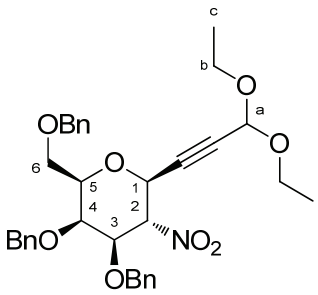
$C_{34}H_{39}NO_8$
M = 589.68 g.mol^{-1}
Colorless oil
R_f = 0.63 (cyclohexane / EtOAc : 7 / 3)
$[a]_D^{20°C}$ + 66 (c = 0.39 $CHCl_3$)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.39-7.17 (m, 15H, H-Bn), 5.31 (dd, 1H, H-1, $^3J_{H1/H2}$ = 6.0 Hz, $^5J_{H1/Ha}$ = 1.2 Hz), 5.29-5.27 (m, 1H, H-a), 5.14 (dd, 1H, H-2, $^3J_{H2/H1}$ = 6.0 Hz, $^3J_{H2/H3}$ = 10.8 Hz), 4.83 (d, 1H, CH_{2Bn}, ^2J = 11.0 Hz), 4.71 (br s, 2H, CH_{2Bn}), 4.51-4.40 (m, 3H, CH_{2Bn}), 4.38 (dd, 1H, H-3, $^3J_{H3/H2}$ = 10.8 Hz, $^3J_{H3/H4}$ = 2.7 Hz), 4.18-4.11 (m, 1H, H-5), 4.06-4.02 (m, 1H, H-4), 3.74-3.52 (m, 6H, H-6a, H-6b, H-b), 1.23 (td, 3H, H-c, $^3J_{Hc/Hb}$ = 7.2 Hz, $^5J_{Hc/Ha}$ = 1.7 Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 139.9 (C_{quat} Bn), 136.6 (C_{quat} Bn), 136.1 (C_{quat} Bn), 127.5 (CH Bn), 127.4 (CH Bn), 127.3 (CH Bn), 127.1 (CH Bn), 126.9 (CH Bn), 126.8 (CH Bn), 90.0 (C-a), 85.4 (C_{alkyne}), 82.6 (C-2), 75.2 (C-3), 74.2 (CH_2 Bn), 72.5 (CH_2 Bn), 72.1 (C-4), 72.0 (CH_2 Bn), 71.9 (C-5), 67.0 (C-b), 65.4 (C-1), 60.3 (C-6), 60.1 (C_{alkyne}), 14.03 (C-c).

HRMS Calculated for $C_{34}H_{43}N_2O_8$ $[M+NH_4]^+$: 607.3019. Found : 607.3015.

(+)-(2-Nitro-3,4,6-tri-O-benzyl-2-deoxy-β-D-galactopyranosyl)diethoxyprop-1-yne (+)-IV.77β



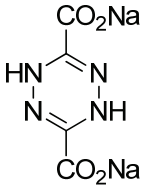
$C_{34}H_{39}NO_8$
M = 589.68 g.mol^{-1}
White powder
R_f = 0.57 (cyclohexane / EtOAc : 7 / 3)
mp = 115-117°C
$[a]_D^{20°C}$ + 20 (c = 0.73 $CHCl_3$)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.31-7.13 (m, 15H, H-Bn), 5.17 (m, 1H, H-a), 4.93 (t, 1H, H-2, $^3J_{H2/H1} = {}^3J_{H2/H3}$ = 10.1 Hz), 4.77 (d, 1H, CH_{2Bn}, ^2J = 11.5 Hz), 4.53 (d, 1H, CH_{2Bn}, ^2J = 11.5 Hz), 4.49-4.31 (m, 5H, H-1, CH_{2Bn}), 3.99 (dd, 1H, H-3, $^3J_{H3/H2}$ = 10.1 Hz, $^3J_{H3/H4}$ = 2.9 Hz), 3.95-3.92 (m, 1H, H-4), 3.64-3.41 (m, 7H, H-5, H-6a, H-6b, H-b), 1.12 (td, 6H, H-c, $^3J_{Hc/Hb}$ = 7.5 Hz, $^5J_{Hc/Ha}$ = 1.9 Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 137.8 (C_{quat} Bn), 137.5 (C_{quat} Bn), 136.6 (C_{quat} Bn), 128.6 (CH Bn), 128.5 (CH Bn), 128.3 (CH Bn), 128.2 (CH Bn), 128.1 (CH Bn), 128.0 (CH Bn), 127.9 (CH Bn), 127.8 (CH Bn), 90.9 (C-a), 87.2 (C-2), 83.8 (C_{alcyne}), 79.9 (C-3), 77.7 (C-5), 74.9 (CH_2 Bn), 73.6 (CH_2 Bn), 72.4 (CH_2 Bn), 71.9 (C-4), 68.4 (C-1), 67.9 (C-b), 61.2 (C-6 or C_{alkyne}), 60.9 (C-6 or C_{alkyne}), 15.0 (C-c).

HRMS Calculated for $C_{34}H_{43}N_2O_8$ $[M+NH_4]^+$: 607.3019. Found : 607.3021.

Disodium dihydro-1,2,4,5-tetrazine-3,6-dicarboxylate IV.79[250]

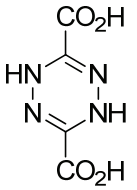


$C_4H_2N_4Na_2O_4$
M = 216.06 g.mol^{-1}
Brown powder

IV.79

A solution of ethyl diazoacetate (10.00 g, 87.6 mmol) in 13 M aqueous NaOH solution (30 mL) was stirred for 1.5 h at 60°C. EtOH (150 mL) was then added at rt, and the mixture was cooled to 0°C. After being filtered and washed with EtOH (4×150 mL), the brown solid was allowed to dry overnight under the hood to give disodium dihydro-1,2,4,5-tetrazine-3,6-dicarboxylate **IV.79** (8.69 g, 24.9 mmol, 57 %) as a brown powder.

Dihydro-1,2,4,5-tetrazine-3,6-dicarboxylic acid IV.80[250]



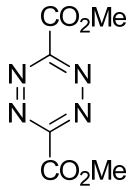
$C_4H_4N_4O_4$
M = 172.10 g.mol^{-1}
Beige powder

IV.80

To a stirred, cool (-5°C) solution of compound **IV.79** (8.69 g, 24.9 mmol) in a 1 / 1 mixture of ice-water (28 g), were added dropwise a 37 % aqueous HCl solution (6.5 mL) over 45 min. The product was collected by filtration, and rinsed with cold brine. Drying the

product at rt under the hood during 2 days gave dihydro-1,2,4,5-tetrazine-3,6-dicarboxylic acid **IV.80** (3.30 g, 19.1 mmol, 76 %) as a beige powder.

Dimethyl 1,2,4,5-tetrazine-3,6-dicarboxylate IV.81[250]



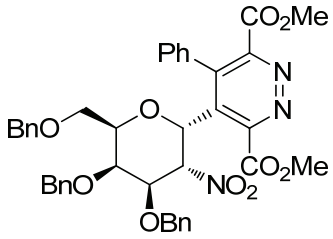
$C_6H_6N_4O_4$
M = 198.14 g.mol^{-1}
Bright red powder
mp = 169-171°C, mp (lit.[250]) = 173-175°C

IV.81

A solution of thionyl chloride (3.6 mL, 49.6 mmol) in dry MeOH (50 mL) was stirred for 30 min. at -30°C, then compound **IV.80** (3.30 g, 19.10 mmol) was added portionwise. After stirring for 30 min. at the temperature, the mixture was heated at 40°C for 2.5 h, then cooled to -30°C before addition of Et_2O. The suspension was filtered to give an orange powder (2.50 g) which was dissolved in CH_2Cl_2 (100 mL), and cooled to 0°C. A stream of nitrous gases (generated in a separate vessel from addition of 37 % aqueous HCl solution to an aqueous $NaNO_2$ solution) was bubbled into the reaction mixture for 15 min. The mixture was then allowed to warm to rt and stirred for 2 h before filtration. The filtrate was concentrated under reduced pressure to afford dimethyl 1,2,4,5-tetrazine-3,6-dicarboxylate **IV.81** (1.59 g, 8.02 mmol, 42 %) as a bright red powder.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 4.22 (s, 6H, CO_2CH_3).

(-)-3,6-Bis(methoxycarbonyl)-4-phenyl-5-(2-nitro-3,4,6-tri-*O*-benzyl-α-*D*-galactopyranosyl)pyridazine (-)-IV.82α



$C_{41}H_{39}N_3O_{10}$
M = 733.76 g.mol^{-1}
Colorless oil
$[a]_D^{20°C}$ − 56 (c = 0.7 $CHCl_3$)

(+)-IV.82α

To a solution of acetylene derivative **IV.75α** (290 mg, 0.514 mmol) in freshly distilled 1,4-dioxane (3 mL), was added portionwise every 2 days 1,2,4,5-tetrazine-3,6-dicarboxylate **IV.81** (509 mg, 2.57 mmol). The mixture was stirred in a sealed tube at 100°C for 3 days, 120°C for 3 days and 150°C for 4 days. The solvent was evaporated, and a purification by silica gel column chromatography (cyclohexane / EtOAc : 9 / 1) afforded pyridazine **(-)-**

IV.82α (30 mg, 0.041 mmol, 8 %) as a colorless oil and the starting material **(+)-IV.75α** (231 mg, 0.411 mmol, 80 %) as a white powder.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 7.37-7.05 (m, 16H, H-Ar), 7.00-6.90 (m, 3H, H-Ar), 6.69 (d, 1H, H-Ar, ^{3}J = 7.3 Hz), 5.52 (d, 1H, H-1, $^{3}J_{H1/H2}$ = 5.4 Hz), 4.53-4.31 (m, 6H, CH_{2Bn}), 4.30 (dd, 1H, H-3, $^{3}J_{H3/H2}$ = 5.8 Hz, $^{3}J_{H3/H4}$ = 2.5 Hz), 4.18-4.09 (m, 2H, H-2, H-5), 4.07 (dd, 1H, H-4, $^{3}J_{H4/H5}$ = 5.0 Hz, $^{3}J_{H4/H3}$ = 2.5 Hz), 3.81 (s, 3H, CO_2Me), 3.64 (s, 3H, CO_2Me), 3.53 (dd, 1H, H-6a, $^{3}J_{H6a/H5}$ = 5.7 Hz, $^{2}J_{H6a/H6b}$ = 10.5 Hz), 3.46 (dd, 1H, H-6b, $^{3}J_{H6b/H5}$ = 7.2 Hz, $^{2}J_{H6b/H6a}$ = 10.5 Hz),

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 165.5 ($\underline{C}O_2Me$), 164.5 ($\underline{C}O_2Me$), 153.2 (C_{quat} pyridazine), 152.6 (C_{quat} Ar), 138.2 (C_{quat} pyridazine), 137.7 (C_{quat} Ar), 137.4 (C_{quat} Ar), 136.7 (C_{quat} Ar), 133.9 (C_{quat} pyridazine), 131.8 (C_{quat} Ar), 129.5 (CH Ar), 128.9 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.3 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 126.8 (CH Ar), 87.1 (C-2), 77.0 (C-5), 75.7 (C-3), 74.6 (CH_2 Bn), 73.1 (CH_2 Bn), 72.9 (CH_2 Bn), 72.6 (C-4), 68.8 (C-1), 65.7 (C-6), 53.0 ($CO_2\underline{C}H_3$), 52.8 ($CO_2\underline{C}H_3$)

HRMS Calculated for $C_{41}H_{40}N_3O_{10}$ $[M+H]^+$: 734.2714. Found : 734.2770.

Références bibliographiques

[1] Ledley, F. D. *Hum.Gene.Ther*. **1995**, *6,* 1129.

[2] (a) Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Nature* **1953**, *171*, 737 ; (b) Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Nature* **1953**, *171*, 964 ; (c) Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Proc. Roy. Soc. (A)* **1954**, *223*, 80.

[3] Jordheim, L.; Galmarini, C. M.; Dumontet, C.; *Bull. Cancer* **2005** ; *92*, 239.

[4] Prusoff, W. H. *Biophys. Acta* **1959**, *32*, 295.

[5] Kaufman, H. E.; Martola, E.; Heidelberger, C. *Science* **1964**, *145*, 585.

[6] De Clercq, E. Synthesis pyrimidine analogs in *Advances to antiviral agents.* Harnden, M., Ed.; Macmillan : London, **1985**, 57.

[7] (a) De Clercq, E.; Descamp, J.; Desomer, P.; Barr, P. J.; Jones, A. S.; Walker, R. T. *Proc. Natl. Sci.* USA **1979**, *76*, 2947 ; (b) De Clercq, E. *Biochem. Pharm.* **2004**, *68*, 2301.

[8] (a) Pour une revue, voir : Agrofoglio, L. A. *Curr. Org. Chem.* **2006**, *10*, 333 ; (b) Agrofoglio, L. A.; Gillaizeau, I.; Saito, Y. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1875 ; (c) Peyron, C.; Benhida, R.; Bories, C.; Loiseau, P. M. *Bioorg. Chem.* **2005**, *33*, 439 ; (d) Torrence, P. F.; Fan, X.; Zhang, X.; Loiseau, P. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 5047 ; (e) Chacko, A.-M.; Qu, W.; Kung, H. F. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4874.

[9] Meneni, S.; Ott, I.; Sergeant, C. D.; Sniady, A.; Gust, R.; Dembinski, R. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 3082.

[10] Lee, Y. S.; Park, S. M.; Kim, H. M.; Park,S.-K.; Lee, K., Lee, C. W.; Kim, B. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4688.

[11] (a) Tallman, M.S.; Hakimian, D.; Variakojis, D.; Koslow, D.; Sisney, G.A.; Rademaker, A.W.; Rose, E.; Kaul, K. *Blood* **1992**, *80*, 2203-2209 ; (b) Robak, T.; Korycka, A.; Kasznicki, M.; Wrzesień-Kuś, A.; Smolewski, P. *Curr. Cancer Drug Targets* **2005**, *5*, 421.

[12] (a) Robak, T.; Lech-Maranda, E.; Korycka, A.; Robak, E. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 3165 ; (b) Pettit, A. R. *Br. J. Haematol.* **2003**, *121*, 692.

[13] Robak, T. *Cancer Treat. Rev.* **2006**, *32*, 365.

[14] Pastor-Anglada, M.; Molina-Arcas, M.; Casado, F. J.; Bellosillo, B.; Colomer, D.; Gil, J. *Leukemia* **2004**, *18*, 385 ; (b) Robak, T. *Cancer Treat. Rev.* **2007**, *33*, 710 ; (c) Kalinka-Warzocha, E.; Wajs, J.; Lech-Maranda, E.; Ceglarek, B.; Holowiecki, J.; Federowicz, I.; Walewski, J.; Czyz, J.; Robak, T.; Warzocha, K. *Cancer* **2008**, *113*, 367 ; (d) Zinzani, P. L. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* **2002**, *15*, 505.

[15] (a) Parker, W. B.; Secrist, J. A. 3rd; Waud, W. R. *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2004**, *5*, 592 ; Faderl, S.; Gandhi, V.; Keating, M. J.; Jeha, S.; Plunkett, W.; Kantarjian, H. M. *Cancer* **2005**, *103*, 1985 ; Pui, C. H.; Jeha, S.; Kirkpatrick, P. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 369.

[16] Korycka, A.; Lech-Maranda, E.; Robak, T. *Recent Patents AntiCancer Drug Discov.* **2008**, *3*, 123.

[17] (a) Prus, K. L.; Averett, D. R.; Zimmerman, T. P. *Cancer Res.* **1990**, *50*, 1817 ; (b) Roecker, A. M.; Allison, J. C.; Kisor, D. F. *Future Oncol.* **2006**, *2*, 441 ; (c) Kisor, D. F. *Drugs Today* **2006**, *42*, 455.

[18] http://www.pharmacorama.com/ezine/Nelarabine__nouvel_anti-leucemique.php

[19] (a) Hosur, M. C.; Talawar, M. B.; Bennur, R. S.; Patil, P. A. *Ind. J. Pharm. Sci.* **1993**, *55*, 86 ; (b) Yang, Y.; Lu, W.; Shi, Y. *Huaxue Tongbao*, **1996**, *10*, 6 ; (c) Camden, J. B. *PCT Int. Appl. WO* 1996, 96 40119 ; (d) Oida, S.; Tanaka, T.; Tajima, W.; Somaki, A.; Miyaoka, T.; Yasuda, H. Jpn. Kokai, Tokkyo Koho JP, 10, 158167 (1998).

[20] Dunaev, V. V.; Belenichev, I. F.; Kevalenko, S. I.; Bashkin, I. V.; Knysh, E. G.; Tishkin, V. S. *Ukr. Biokhim. Zh.* **1996**, *68*, 100.

[21] (a) Chem, H. M.; Zhang, J.; Mao, J. M.; Cai, M. S. *Gaodeng Huexiao Huaxue Xuebao* **1994**, *15*, 705 ; (b) Chem, H. M.; Zhang, J.; Mao, J. M.; Cai, M. S. *Chem. Res. Chin.Univ.* **1996**, *12*, 258 ; (c) El Ashry, E. S. H.; El Kilany, Y. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1996**, *67*, 391 ; (d) Al Masoudi, N. A.; Issa, F. B.; Al Timari, U. A. *Bull. Soc.*

Chim. Belg. **1997**, *106*, 215 ; (e) Györgydeák, Z.; Holzer, W.; Thiem, J. *Carbohydr. Res.* **1997**, *302*, 229 ; (f) Awad L. F.; El Ashry, E. S. H. *Carbohydr. Res.* **1998**, *312*, 9.

[22] Witkowski, J. T.; Robins, R. K.; Sidwell, R. W.; Simon, N. L. *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 1150.

[23] Barnard, D. *Curr. Opini. Investig. Drugs* **2002**, *3*, 1585.

[24] Kini, G. D.; Robins, R. K.; Avery, T. L. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1447.

[25] Xia, Y.; Liu, Y.; Wan, J.; Wang, M.; Rocchi, P.; Qu,F.; Iovanna, J. L.; Peng, L. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6083.

[26] El Akri, K.; Bougrin, K.; Balzarini, J.; Faraj, A.; Benhida, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6656.

[27] Townsend, L. B.; Revankar, G. R. *Chem. Rev.* **1970**, *70*, 389.

[28] (a) Tamm, I. *Science* **1957**, *126*, 1235. (b) Sehgal, P. B.; Fraser, N. W.; Darnell, J. E. *Virology* **1979**, *94*, 185 ; (c) Tamm, I.; Kikuchi, T.; Darnell, Jr., J. E.; Salditt-Georgieff, M. *Biochemistry* **1980**, *19*, 2743.

[29] (a) Tamm, I.; Sehgal, P. B. *Adv. Virus Res.* **1978**, *22*, 187 ; (b) Bucknall, R. A. *J. Gen. Virol.* **1967**, *1*, 89.

[30] (a) Townsend, L. B.; Devivar, R. V.; Turk, S. R.; Nassiri, M. R.; Drach, J. C. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4098 ; (b) Stefańska, J. Z.; Gralewska, R.; Starościak, B. J.; Kazimierczuk, Z. *Pharmazie* **1999**, *54*, 879 ; (c) North, T. W.; Sequar, G.; Townsend, L. B.; Drach, J. C.; Barry, P. A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 2760.

[31] Krosky, P. M.; Underwood, M. R.; Turk, S. R.; Feng, K. W.-H.; Jain, R. K.; Ptak, R. G.; Westerman, A. C.; Biron, K. K.; Townsend, L. B.; Drach, J. C. *J. Virol.* **1998**, *72*, 4721.

[32] (a) Cohn, W. E. *J. Biol. Chem.* **1960**, *235*, 1488 ; (b) Cohn, W. E. *Biochim. Biophys. Acta* **1959**, *32*, 569.

[33] (a) Matsuura, S.; Shiratori, O.; Katagiri, K. *J. Antibiot.* **1964**, *17*, 234 ; (b) Nishimura, H.; Shimaoka, N.; Tanaka, Y.; Komatsu, Y.; Kato, H.; Mayama, M. *J. Antibiot.* **1964**, *17*, 148 ; (c) Nakagawa, Y.; Kano, H.; Tsukuda, Y.; Koyama, H. *Tetrahedron Lett.* **1967**, *42*, 4105.

[34] Bzowska, A. In *Modified Nucleosides : Biochemistry, Biotechnology and Medicine* ; Herdewijn, P., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2008 ; pp 473-510.

[35] Robins, R. K.; Srivastava, P. C.; Narayanan, V. L.; Plowman, J.; Paull, K. D. *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 107.

[36] (a) Fridland, A. *Cancer Res.* **1986**, *46*, 532 ; (b) Zatorski, A.; Watanabe, K. A.; Carr, S. F.; Goldstein, B. M.; Pankiewicz, K. W. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2422 ; (c) Pankiewicz, K. W. *Pharmacol. Ther.* **1997**, *76*, 89 ; (d) Szekeres, T.; Sedlak, J.; Novotny, L. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 759. (e) Pankiewicz, K. W.; Patterson, S. E. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 6761 ; (f) Black, P. L.; Jayaram, H. N.; Risal, D.; Goldstein, B. M.; Stuyver, L. J.; Schinazi, R. F. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 887 ; (g) Chen, L. Q.; Pankiewicz, K. W. *Curr. Opin. Drug DiscoVery DeV.* **2007**, *10*, 403 ; (h) Chen, L.; Petrelli, R.; Felczak, K.; Gao, G.; Bonnac, L.; Yu, J. S.; Bennett, E. M.; Pankiewicz, K. W. *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15*, 650.

[37] (a) Srivastava, P. C.; Robins, R. K. *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 445 ; (b) Kirsi, J. J.; North, J.; McKernan, P. A.; Murray, B. K.; Canonico, P. G.; Huggins, J. W.; Srivastava, P. C.; Robins, R. K. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1983**, *24*, 353.

[38] Franchetti, P.; Marchetti, S.; Cappellacci, L.; Yalowitz, J. A.; Jarayam, H. M.; Goldstein, B. M.; Grifantini, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 67.

[39] Franchetti, P.; Cappellacci, L.; Abu Sheikha, G.; Jayaram, H. N.; Gurudutt, V. V.; Sint, T.; Schneider, B. P.; Jones, W. D.; Goldstein, B. M.; Perra, G.; De Montis, A.; Loi, A. G.; La Colla, P.; Grifantini, M. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1731.

[40] Franchetti, P.; Cappellacci, L.; Grifantini, M.; Barzi, A.; Nocentini, G.; Yang, H.; O'Connor, A.; Jayaram, H. N.; Carrell, C.; Goldstein, B. M. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3829.

[41] (a) Pour une revue : Stambasky, J.; Hocek, M.; Kocovsky P. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 6729 ; (b) Postema, M. H. D. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 8545 ; (c) Jamarillo, C.; Knapp, S. *Synthesis* **1994**, 1 ; (d) Shaban, M. A. E.; Nasr, A. Z. *AdV. Heterocycl. Chem.* **1997**, *68*, 223 ; (e) Shaban, M. A. E. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1997**, *70*, 163 ; (f) Du, Y. G.; Linhardt, R. J.; Vlahov, I. R. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 9913 ; (g) Ferrero, M.; Gotor, V. *Chem. Rev.* **2000**,

100, 4319 ; (h) Agrofoglio, L. A.; Gillaizeau, I.; Saito, Y. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1875 ; (i) Wu, Q.; Simons, C. *Synthesis* **2004**, *10*, 1533 ; (j) Kilroy, T. G.; O'Sullivan, T. P.; Guiry, P. J. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *23*, 4929 ; (k) Lee, D. Y. W.; He, M. S. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *5*, 1333 ; (l) Wellington, K. W.; Benner, S. A. *Nucleosides, Nucleotides, Nucleic Acids* **2006**, *25*, 1309 ; (m) Adamo, M. F. A.; Pergoli, R. *Curr. Org. Chem.* **2008**, *12*, 1544.

[42] Haman, M.; Pierra, C.; Sommadossi, J.-P.; Musiu, C.; Vargiu, L.; Liuzzi, M.; Storer, M.; Gosselin, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2321.

[43] (a) Joshi, U.; Josse, S.; Pipelier M.; Chevallier, F.; Pradère, J.-P.; Hazard, R.; Legoupy, S.; Huet, F.; Dubreuil, D. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1031 ; (b) Peyron, C.; Navarre, J.-M.; Dubreuil, D.; Vierling, P.; Benhida, R. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 6171.

[44] (a) Mitsuya, H.; Weinhold, K. J.; Furman, P. A.; St Clair, M. H.; Lehman, S. N.; Gallo, R. C.; Bolognesi, D.; Barry, D. W.; Broder, S. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA **1985**, *82*, 7096 ; (b) Perno, C. F.; Yarchoan, R.; Cooney, D. A.; Hartman, N. R.; Gartner, S.; Popovic, M.; Hao, Z.; Gerrard, T. L.; Wilson, Y. A.; Johns, D. G.; Broder, S. *J. Exp. Med.* **1988**, 168, 1111.

[45] Mitsuya, H.; Broder, S. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA **1986**, *83*, 1911.

[46] Balzarini, J.; Kang, G. J.; Dalal, M.; Herdewijn, P.; De Clercq, E.; Broder, S.; Johns, D. G. *Mol. Pharmacol.* **1987**, *32*, 162.

[47] Mitsuya, H.; Broder, S. *U.S. Patent* 4,861,759, 1989.

[48] Mehellou, Y.; De Clercq, E. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 521.

[49] Gundmundsson, K. S.; Freeman, G. A.; Darch, J. C. Townsend, L. B. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2473.

[50] (a) Balzarini, J.; Baba, M. W.; Pauwels, R.; Herdewijn, P.; De Clerq, E. *Biochem. Pharmacol.* **1988**, *37*, 2847 ; (b) Balzarini, J.;Aerschot, A.; Pauwels, R.; Baba, M. W.; Scholz, D.; Herdewijn, P.; De Clerq, E. *Mol. Pharmacol.* **1989**, *35*, 571.

[51] Hong, J. H.; Choi, Y.; Chun, B. K.; Lee, K.; Chu, C. K.; *Arch. Pharm. Res.* **1998**, *21*, 89.

[52] Hertel, L. W.; Kroin, J. S.; Misner, J W.; Tustin, J. M. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2406.

[53] Machida, H.; Sakata, S.; Ashida, N.; Takenuki, K.; Matsuda, A. *Antiviral Chem. Chemother.* **1993**, *4*, 11.

[54] (a) Couturier, S.; Aljarah, M.; Gosselin, G.; Mathé, C.; Périgaud, C. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 11260 ; (b) Aljarah, M.; Couturier, S.; Mathé, C.; Périgaud, C. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 7436.

[55] Pour des revues : (a) Mathé, C.; Perigaud, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 1489 ; (b) Len, C.; Mondon, M.; Lebreton, J. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 7453 ; (c) Lebreton, J.; Escudier, J.-M.; Arzel, N.; Len, C. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3371.

[56] Selouane, A.; Vaccher, C.; Villa, P.; Postel, D.; Len, C. *Tetrahedron : Asymetry* **2002**, *13*, 407.

[57] Gagneron J.; Gosselin, G.; Mathé, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 4891.

[58] Clark, V. M.; Todd, A. R.; Zussman, J. *J. Chem. Soc.* **1951**, 2952.

[59] (a) Ikehara, M. *Acc. Chem. Res.* **1969**, *2*, 47 ; (b) Ikehara, M.; Ueda, T. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **1974**, *32*, 402.

[60] (a) Hamamura, E. K.; Prystasz, M.; Verheyden, J. P. H.; Moffat, J. G.; Yamaguchi, K.; Uchida, N.; Sato, K.; Nomura, A.; Shiratori, O.; Takase, S.; Katagiri, K. *J. Med. Chem.* **1976**, *19*, 654 ; (b) Sato, K.; Nomura, A.; Moffat, J. G. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1977**, *11*, 191 ; (c) Nishiyama, S.; Nomura, A.; Yamanaka, T.; Moffat, J. G. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1977**, *11*, 198 ; (d) Hsu, L.-Y.; Chang, Y.-M.; Lin, C.-H.; Drach, J. C. *Nucleosides Nucleotides* **1996**, *15*, 1835.

[61] (a) Hirayama, H.; Sugihara, K.; Wakigawa, K.; Iwamura, M.; Hikita, J.; Ohkuma, H. *Pharmacometrics* **1972**, *6*, 1255 ; (b) Hirayama, H.; Sugihara, K.; Wakigawa, K.; Hikita, J.; Sugihara, T.; Kubota, T.; Ohkuma, H.; Oguro, K. *Pharmacometrics* **1972**, *6*, 1259 ; (c) Hirayama, H.; Sugihara, K.; Sugihara, T.; Wakigawa, K.;

Iwamura, M.; Ohkuma, H.; Hikita, J. *Pharmacometrics* **1974**, *8*, 353 ; (d) Hoshi, A.; Kanzawa, F.; Kuretani, K.; Saneyoshi, M.; Arai, Y. *Gann Monogr. Cancer. Res.* **1971**, *62*, 145.

[62] Harnden, M. R. Eur. Pat. Appl. EP 0060099, 1982.

[63] Lin, T.-S.; Shen, Z.-Y.; August, E. M.; Brankovan, V.; Yang, H.; Ghazzouli, I.; Prusoff, W. H. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1891.

[64] Palczewski, K.; Kahn, N.; Hargrave, P. A. *Biochemistry* **1990**, *29*, 6276.

[65] (a) Niedzwicki, J. G.; El Kouni, M. H.; Chu, S. H.; Cha, S. *Biochem. Pharmacol.* **1983**, *32*, 339 ; (b) Dvoøakova, H.; Holy, A. *Chem. Listy* **1991**, *85*, 171 ; (c) El Kouni, M. H.; Naguib, F. N. M.; Panzica, R. P.; Otter, B. A.; Chu, S.-H.; Gosselin, G.; Chu, C. K.; Schinazi, R. F.; Shealy, Y. F.; Goudgaon, N.; Ozerou, A. A.; Ueda, T.; Iltzsch, M. H. *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *51*, 1687.

[66] Mieczkowski, A.; Roy, V.; Agrofoglio, L. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1828.

[67] Zhong, S.; Mondon, M.; Pilard, S.; Len, C. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 7828.

[68] Pour des revues : (a) Merino, P. *Curr. Med. Chem. AIA* **2002**, *1*, 389 ; (b) Merino, P. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 539.

[69] Pour une revue : Yokoyama, M. *Synthesis* **2000**, 1637.

[70] Miura, S.; Yoshimura, Y.; Endo, M.; Machida, H.; Matsuda, A.; Tanaka, M.; Sasaki, T. *Cancer Lett.* **1998**, *129*, 103.

[71] Prichard, M. N.; Quenelle, D. C.; Hartline, C. B.; Harden, E. A.; Jefferson, G.; Frederick, S. L.; Daily, S. L.; Whitley, R. J.; Tiwari, K. N.; Maddry, J. A.; Secrist III, J. A.; Kern, E. R. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 5251.

[72] (a) Miles, R. W.; Tyler, P. C.; Furneaux, R. H.; Bagdassarian, C. K.; Schramm, V. L. *Biochemistry* **1998**, *37*, 8615. (b) Kicska, G. A.; Long, L.; Ho¨rig, H.; Fairchild, C.; Tyler, P. C.; Furneaux, R. H.; Schramm, V. L.; Kaufman, H. L. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, *98*, 4593. (c) Evans, G. B.; Furneaux, R. H.; Gainsford, G. J.; Hanson, J. C.; Kicska, G. A.; Sauve, A. A.; Schramm, V. L.; Tyler, P. C. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 155.

[73] (a) Maury, G. *Chemother. Antiviral Chem.* **2000**, *11*, 165 ; (b) Focher, F.; Spadari, S.; Maga, G. *Curr. Drug Targets Infect. Disord.* **2003**, *3*, 41.

[74] (a) Cameron, J. M.; Collins, P.; Daniel, M.; Storer, R. *Drugs Fut.* **1993**, *18*, 319 ; (b) Jarvis, B.; Faulds, D. *Drugs* **1999**, *58*, 101.

[75] Biron, K. K.; Harvey, R. J.; Chamberlain, S. C.; Good, S. S.; Smith III, A. A.; Davis, M. G.; Talarico, C. L.; Miller, W. H.; Ferris, R.; Dornsife, R. E.; Stanat, S. C.; Drach, J. C.; Townsend, L. B.; Kazalska, G. W. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 2365.

[76] Gershburg, E.; Pagano, J. S. *J. Antimicrob. Chemother.* **2005**, *56*, 277.

[77] Chu, C. K.; Ma, T. W.; Shanmuganathan, K.; Wang, C.-G.; Xiang, Y.-J.; Pai, S. B.; Yao, G.-Q. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1995**, *39*, 979.

[78] Gosselin, G.; Pierra, C.; Benzaria, S.; Dukhan, D.; Imbach, J.-L.; Loi, A. G.; La Colla, P.; Cretton-Scott, E.; Bridges, E. G.Standring, G.; Sommadossi, J.-P. 2004 In : Schinazi, R. F.; Liotta, D. C. (Eds), Frontiers in Nucleosides and Nucleic acids. IHL Press, 309-317.

[79] Mathé, C.; Gosselin, G. *Antivir. Res.* **2006**, *71*, 276.

[80] Radi, M.; Adema, A. D.; Daft, J. R.; Cho, J. H.; Hoebe, E. K.; Alexander, L. M. M.; Peters, G. J.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2249.

[81] Schaeffer, H. J.; Beauchamp, L.; De Miranda, P.; Elion, G.; Bauer, D. J.; Collins, P. *Nature* **1978**, *272*, 523.

[82] Lu, P.; Liu, J.; Wang, Y.; Chen, X.; Yang, Y.; Ji, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 6918.

[83] Ewing, D. F.; Glaçon, V.; Len, C.; Mackenzie, G. *New J. Chem.* **2005**, *29*, 1461.

[84] (a) Qiu, Y.-L.; Ksebati, M. B.; Ptak, R. G.; Fan, B. Y.; Bretenbach, J. M.; Lin, J. S.; Cheng, Y. C.; Kern, E. R.; Drach, J. C.; Zemlicka, J. *J. Med. Chem* **1998**, *41*, 10 ; (b) Rybak, R. J.; Hartline, C. B.; Qiu, Y. L.; Zemlicka, J.; Harden, E.; Marshall, G.; Sommadassi, J.-P.; Kern, E. R. *Antimicrob. Agents Chemother* **2000**, *44*, 1506.

[85] (a) Shimada, N.; Hasegawa. S.; Harada. T.; Tomisawa, T.; Fujii, A.; Takita, T. *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1623 ; (b) Nakamura. H.; Hasegawa, S.; Shimada, N.; Fujii. A.; Takita, T.; Iitaka, Y. *Zbid* **1986**, *39*, 1626.

[86] (a) Shimada, N.; Hasegawa, S.; Harada, T.; Tomisawa, T.; Fujii, A.; Takita, T. *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1623 ; (b) Hoshino, H.; Shimizu, N.; Shimada, M.; Takita, T.; Takeuchi, T. *J. Antibiot.* **1987**, *40*, 1077 ; (c) Niitsuma, S.; Ichikawa, Y.; Takita, T. *Studies in Natural Chemistry* **1992**, *10*, 585.

[87] Tohoku, J. *Exp. Med.* **1992**, *167*, 57.

[88] Nagahata, T.; Kitagawa, M.; Matsubara, K. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, *38*, 707.

[89] Norbeck, D.; Kern, E.; Hayashi, S.; Rosenbrook, W.; Sham, H.; Herrin, T.; Plattner, J. J.; Erickson, J.; Clement, J.; Swanson, R.; Shipkowitz, N.; Hardy, D.; Marsh, K.; Arnett, G.; Shannon, W.; Broder, S.; Mitsuya, H. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1281.

[90] (a) Ichikawa, Y.; Narita, A.; Shiozawa, A.; Hayashi, Y.; Narasaka, K. *J. Chem. Soc.* **1989**, 1919 ; (b) Bissachi, G. S.; Braitman, A.; Cianci, C. W.; Clark, J. M.; Field, A. K.; Hagen, M. E.; Hockstein, D. R.; Malley, M. F.; Mitt, T.; Slusarchyk, W. A.; Sundeen, J. E.; Terry, B. J.; Tuomari, A. V.; Weaver, E. R.; Young, M. G.; Zahler, R. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1415 ; (c) Pariza, R. J.; Hannick, S. M.; Sowin, T.; Doherty, E. M. **Eur.Pat. Appl. EP 452,729**, 23 octobre 1991, *Chem. Abstr.* **1992**, *116*, 84111m ; (d) Slusarchyk, W. A.; Zahler, R. **Eur. Pat. Appl. EP 484,843**, 13 mai 1992, *Chem. Abstr.* **1992**, *117*, 171960b ; (e) Cotteril, I. C.; Roberts, S. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 2585 ; (f) Chen, X.; Siddiqi, S.; Schneller, S. W. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2249 ; (g) Bissachi, G. S.; Singh, J.; Godfrey, J. D.; Kissick, T. P.; Mitt, T.; Malley, M. F.; Di Marco, J. D.; Gougoutas, J. Z.; Mueller, R. H., Zahler, R. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2902.

[91] Slusarchyk, W. A.; Young, M. G.; Bissachi, G. S.; Hockstein, D. R.; Zahler, R. *Tetrahedron Letters* **1989**, *30*, 6453.

[92] Jacobs, G. A.; Tino, J. A.; Zahler, R. *Tetrahedron Letters* **1989**, *30*, 6955.

[93] Kikuchi, Y.; Nishiyama, S.; Yamamura, S. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1897.

[94] Ikejiri, S.; Saijo, M.; Morikawa, S.; Fukushi, S.; Mizutani, T.; Kurane, I.; Maruyame, T. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2470.

[95] Marsac, Y.; Nourry, A.; Legoupy, S.; Pipelier, M.; Dubreuil, D.; Aubertin, A.-M.; Bourgougnon, N.; Benhida, R.; Huet, F. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7607.

[96] Mévellec, L.; Huet, F. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 13145.

[97] Li, Y.; Mao, S.; Hager, M. W.; Becnel, K. D.; Schinazi, R. F.; Liotta, D. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3398.

[98] Vite, G. D.; Tino, J. A.; Zahler, R.; Goodfellow, V.; Tuomari, A. V.; McGeever-Rubin, B.; Field, A. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 1211.

[99] Gharbaoui, T.; Legraverend, M.; Ludwig, O.; Bisagni, E.; Aubertin, A.-M.; Chertanova, L. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 1641.

[100] Sato, Y.; Maruyama, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 91.

[101] Gourdel-Martin, M.-E.; Huet, F. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2166.

[102] Hubert, C.; Alexandre, C.; Aubertin, A.-M.; Huet, F. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3775.

[103] Danappe, S.; Pal, A.; Alexandre, C.; Aubertin, A.-M.; Bourgougnon, N.; Huet, F. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 5782.

[104] Schaeffer, H. J.; Weimar, R. D *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 197.

[105] Arango, J. H.; Geer, A.; Rodriguez, J.; Young, P. E.; Scheiner, P. *Nucleosides & Nucleotides* **1993**, *12*, 773.

[106] (a) Konkel, M. J.; Vince, R. *Nucleosides & Nucleotides* **1995**, *14*, 2061 ; (b) Konkel, M. J.; Vince, R. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 799 ; (c) Konkel, M. J.; Vince, R. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8969.
[107] (a) Barral, K.; Halfon, P.; Pèpe, G.; Camplo, M. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 81 ; (b) Barral, K.; Courcambeck, J.; Pèpe, G.; Balzarini, J.; Neyts, J.; De Clercq, E.; Camplo, M. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 450.
[108] Pérez-Pérez, M. J.; Rozenski, J.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1531.
[109] Olivo, H. F.; Yu, J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 391.
[110] Ferrer, E.; Alibes, R.; Busqué, F.; Figueredo, M.; Font, J.; De March, P. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2425.
[111] Ramesh, K.; Wolfe, M. S.; Lee, Y.; Vander Velde, D.; Borchardt, R. T. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 5861.
[112] (a) Wang, J.; Herdewijn, P.; *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7820 ; (b) Wang, J.; Froeyen, M.; Hendrix, C.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 736 ; (c) Gu, P.; Morral, J.; Wang, J.; Rozenski, J.; Busson, R.; Van Aerschot, A.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2003**, *22*, 845.
[113] Lee, H.; Hee Hong, J. Bull. Kor. Chem. Soc. **2007**, *28*, 1645.
[114] Yoshimura, Y.; Ohta, M.; Imahori, T.; Imamichi, T.; Takahata, H. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3449.
[115] (a) Wang, J.; Viña, D.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4499 ; (b) Vijgen, S.; Nauwelaerts, K.; Wang, J.; Van Aerschot, A.; Lagoja, I.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4591 ; (c) Horvath, A.; Ruttens, B.; Herdewijn, P. *Tetrahedron Letters* **2007**, *48*, 3621.
[116] Young, R. C.; Jones, M.; Milliner, K. J.; Rana, K. K.; Ward, J. G. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 2073.
[117] Viña, D.; Santana, L.; Uriarte, E. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2001**, *20*, 1363 ; (b) Teran, C.; Santana, L.; Uriarte, E.; Viña, D.; De Clercq, E. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleics Acids* **2003**, *22*, 787.
[118] Calvani, F.; Macchia, M.; Rossello, A.; Gismondo, M. R.; Drago, L.; Fassina, M. C.; Cisternino, M.; Domiano, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2567.
[119] Rosenquist, A.; Kvarnström, I. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6282.
[120] (a) Mikhailov, S. N.; Blaton, N.; Rozenski, J.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *Nucleosides & Nucleotides* **1996**, *15*, 867 ; (b) Maurinsh, Y.; Schraml, J.; De Winter, H.; Blaton, N.; Peeters, O.; Lescrinier, E.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; De Clercq, E.; Busson, R.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2861.
[121] Hrebabecky, H.; Masojidkova, M.; Holy, A. *Collect. Czech. Chem. Comm.* **2002**, *67*, 1681.
[122] (a) Mikhailov, S. N.; Blaton, N.; Rozenski, J.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Herdewijn, P. *Nucleosides & Nucleotides* **1996**, *15*, 867 ; (b) Wang, J.; Busson, R.; Blaton, N.; Rozenski, J.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3051.
[123] Kitagawa, I.; Cha, B. C.; Nakae, T.; Okaichi, Y.; Takinami, Y.; Yoshikawa, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 542.
[124] (a) Quadrelli, P.; Mella, M.; Carosso, S.; Bovio, B.; Caramella, P. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 6003 ; (b) Quadrelli, P.; Mella, M.; Assanelli, G.; Piccanello, A. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 7312.
[125] Mehta, G.; Talukdar, P.; Pullepu, V.; Sen, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 4691.
[126] Hrebabecky, H.; Dracinsky, M.; Holy, A. *Collect. Czech. Chem. Comm.* **2009**, *74*, 1425.
[127] Sierakowska, H.; Sambade, M. J.; Agrawal, S.; Kole, R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 12840.
[128] Fire, A.; Mello, C. *Nature* **1998**, *391*, 806.
[129] (a) Cech, T. R.; Zaug, A. J.; Grabowski, A. J. *Cell* **1981**, *27*, 487 ; (b) Doudna, J. A.; Cech, T. R. *Nature* **2002**, *418*, 222.
[130] Gold, L.; Polisky, B.; Uhlenbeck, O.; Yarus, M. *Annu. Rev. Biochem.* **1995**, *64*, 763.
[131] Zamecnik, P. C.; Stephenson, M. L. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1978**, *75*, 280.
[132] Crooke, S. T.; *Annu. Rev. Med.* **2004**, *55*, 61.
[133] Hélène, C.; Toulmé, J. J. *Biochim. Biophys. Acta* **1990**, *1049*, 99.

[134] Heikkila, R.; Schwab G.; Wickstrom, E.; Loke, S. L.; Pluznik, D. H.; Watt, L.; Neckers, L. M. *Nature* **1987**, *328*, 445.
[135] Sun, J.-S.; Garestier, T.; Hélène, C. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 327.
[136] Faria, M.; Giovannangelli, C. *J. Gene Med.* **2001**, *3*, 299.
[137] Seidman, M. M.; Glazer, P. M. *J. Clin. Invest.* **2003**, *112*, 487.
[138] (a) Doronina, S. O.; Behr, J.-P. *Chem. Soc. Rev.* **1997**, *26*, 63-71 ; (b) Blanalt-Feidt, S.; Doronina, S. O.; Behr, J.-P. *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, *18*, 605-606 ; (c) Blanalt-Feidt, S.; Doronina, S. O.; Behr, J.-P. *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, *18*, 1617-1618.
[139] (a) Miller, P. S.; Yano, J.; Yano, E.; Carroll, C.; Jayaraman, K.; Ts'o, P. O. *Biochemistry* **1979**, *18*, 5134 ; (b) Miller, P. S.; McParland, K. B.; Jayaraman, K.; Ts'o, P. O. *Biochemistry* **1981**, *20*, 1874.
[140] Pour une revue : Eckstein, F. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2000**, *10*, 117.
[141] (a) Miller, P. S.; Ts'o P. O. P. *Annu. Rep. Med. Chem.* **1988**, *23*, 295 ; (b) Miller, P. S. In : Murray, J. A. H. (Ed.), Antisense RNA and DNA. New York : Wiley-Liss, 1992 : 241 ; (c) Miller, P. S.; Cassidy, A.; hamma, T.; Kondo, N. S. *Pharmacology & Therapeutics* **2000**, *85*, 159.
[142] (a) Giles, R. V.; Tidd, D. M. *Anticancer Drug Des.* **1992**, *7*, 37 ; (b) Giles, R. V.; Tidd, D. M. *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 763.
[143] Eckstein, F. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2000**, *10*, 117.
[144] (a) Campbell, J. M.; Bacon, T. A.; Wickstrom, E. *J. Biochem. Biophys. Methods* **1990** *20*, 259 ; (b) Crooke, S. T. *Methods Enzymol*. **2000,** *313*, 3 ; (c) Phillips, M. I.; Zhang, Y. C. *Methods Enzymol.* **2000**, *313*, 46.
[145] Kurreck J. *Eur. J. Biochem.* **2003**, *270*, 1628.
[146] Crooke S. T. *Methods Enzymol.* **2000**, *313*, 3.
[147] Wilson, C.; Keffe, A. D. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, *10*, 607.
[148] (a) Klasa, R. J.; Gillum, A. M.; Klem, R. E.; Frankel, S. R. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2002**, *12*, 193 ; (b) Dean, N. M.; Bennet, C. F. *Oncogene* **2003**, *22*, 9087 ; (c) Yu, R. Z.; Su, J. Q.; Grundy, J. S.; Geary, R. S.; Sewell, K. L.; Dorr, A.; Levin, A. A. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2003**, *13*, 57 ; (d) Ravichandran, L. V.; Dean, N. M.; Marcusson, E. G. *Oligonucleotides* **2004**, *14*, 49 ; (e) Crooke, S. T. *Ann. Rev. Med.* **2004**, *55*, 61.
[149] Klasa, R.;. Gillum, A.; Klem, R.; Frankel, S. *Antisense Nucl. Acid Drug Devel.* **2002**, *12*, 193.
[150] http://www.genta.com/Products_and_Pipeline/Genasense/Genasense.html
[151] (a) Crooke, S. T. Antisense Acid Nucleic *Drug Dev.* **1998**, 8, 7-8 ; (b) Zambarakji, H. J.; Mitchell, S. M.; Lightman, S.; Holder, G. E. *Br. J. Ophthalmol.* **2001**, *85*, 1142 ; (c) Hetzer, C.; Bisgrove, D.; Cohen, M. S.; Pedal, A.; Kaehlcke, K.; Speyerer, A.; Bartscherer, K.; Taunton, J.; Ott, M. *PLoS ONE* **2007**, *2*, e151.
[152] Altmann, K. H.; Fabbro, D.; Dean N. M. *Biochem. Soc. Trans.* **1996**; *24*, 630.
[153] McKay, R. A.; Miraglia, L. J.; Cummins, L. L.; Owen, S. R.; Sasmor, H.; Dean N. M. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*,1715.
[154] Yu, R. Z.; Geary R. S.; Monteith, D. K. *J. Pharm. Sci.* **2004**; *93*, 48.
[155] Pour une revue : Kaur, H.; Ravindra Babu, B.; Maiti, S. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4672-4697.
[156] (a) Singh, S. K.; Nielsen, P.; Koshkin, A. A.; Olsen, C. E; Wengel, J. *Chem. Commun*. **1998**, *4*, 455 ; (b) Koshkin, A. A; Singh, S. K.; Nielson, P.; Rajwanshi, V. K.; Kumar, R.; Meldgaard, M.; Olsen, C. E.; Wengel, J. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3607.
[157] Kurreck, J.; Wyszko, E.; Gillen, C.; Erdmann, V. A. *Nucl. Acids Res.* **2002**, *30*, 1911.
[158] Petersen, M.; Nielsen, C. B.; Nielsen, K. E.; Jensen, G. A.; Bondensgaard, K.; Singh, S. K.; Rajwanshi, V. K.; Koshkin, A. A.; Dahl, B. M.; Wengel, J.; Jacobsen, J. P. *J. Mol. Rec.* **2000**, *13*, 44.
[159] (a) Bondensgaard, K.; Petersen, M., Singh, S. K.; Rajwanshi, V. K.; Kumar, R.; Wengel, J.; Jacobsen, J. P. *Chemistry* **2000**, *6*, 2687 , (b) Braasch, D. A.; Corey, D. R. *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 1.

[160] Wahlestedt, C. ; Salmi, P.; Good, L.; Kela, J.; Johnsson, T.; Hokfelt, T.; Broberger, C.; Porreca, F.; Lai, J.; Ren, K.; Ossipov, M.; Koshkin, A.; Jakobsen, N.; Skouv, J.; Oerum, H.; Jacobsen, M. H.; Wengel, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 5633.

[161] Rakesh, V.; Jesper, W. *RNA Biology* **2009**, *6*, 321-323.

[162] Miriam, F.; Henrik O. *Curr. Pharm. Des.* **2008**, *14*, 1138-1142.

[163] http://www.santaris.com/Pipeline/Default.aspx

[164] Summerton, J.; Weller, D. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **1997**, *7*, 187.

[165] Hudziak, R. M.; Barofsky E.; Barofsky D. F.; Weller D. L.; Huang S. B.; Weller D. D. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* **1996**, *6*, 267.

[166] Youngblood, D. S.; Hatlevig S. A.; Hassinger J. N.; Iversen P. L.; Moulton H. M. *Bioconjug. Chem.* **2007**, *18*, 50.

[167] Geller B. L. *Curr. Opin. Mol. Ther.* **2005**, *7*, 109.

[168] Deas, T. S.; Bennett C. J.; Jones S. A.; Tilgner M.; Ren P.; Behr M. J.; Stein D. A.; Iversen P. L.; Kramer L. D.; Bernard K. A.; Shi P. Y. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 2470.

[169] Mc Clorey, G.; Fall A. M.; Moulton H. M.; Iversen, P. L.; Rasko, J. E.; Ryan, M.; Fletcher, S.; Wilton S. D. *Neuromuscul Disord.* **2006**, *16*, 583.

[170] http://www.avibio.com/our-programs/

[171] Achim, C.; Armitage, B.A.; Ly D.H.; Schneider, J.W. Wiley Encyclopedia of chemical biology **2008**.

[172] Nielsen, P. E.; Egholm, M.; Berg, R. H.; Buchardt, O. *Science* **1991**, *254*, 1497-1500.

[173] Demidov, V. V.; Potaman, V. N.; Frank-Kamenetskii, M. D.; Egholm, M.; Buchard, O.; Sonnichsen, S. H. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 1310.

[174] Egholm, M.; Buchardt, O.; Christensen, L.; Behrens, C.; Freier, S. M.; Driver, D. A.; Berg, R. H.; Kim, S. K.; Norden, B.; Nielsen, P. E. *Nature* **1993**, *365*, 566-568.

[175] (a) Egholm, M.; Buchardt, O.; Christensen, L.; Behrens, C.; Freier, S.; Driver, D. A.; Berg, R. H.; Kim, S. K.; Norden, B.; Nielsen, P. E.
Nature **1993**, *365*, 566 ; (b) Almarsson, O.; Bruice, T. C.; Kerr, J.; Zuckermann, R. N. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.* **1993**, *90*, 7518.

[176] Tomac, S.; Sarkar, M.; Ratilainem, T.; Wittung, P.; Nielsen, P.; Norden, B.; Graslund, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5544.

[177] Ratilainen, T. ; Holmen, A.; Tuite, E.; Nielsen, P. E.; Norden, B. *Biochemistry* **2000**, *39*, 7781.

[178] (a) Griffith, M. C.; Risen, L. M.; Greig, M. J.; Lesnik, E. A.; Sprankle, K. G.; Griffey, R. H.; Kiely, J. S.; Freier, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 831 ; (b) Bentin, T.; Nielsen, P. E. *Biochemistry* **1996**, *35*, 8863 ; (c) Kuhn, H.; Demidov, V. V.; Nielsen, P. E.; Frank-Kamenetskii, M. D. *J. Mol. Biol.* **1999**, *286*, 1337 ; (d) Zhang, X.; Ishihara, T.; Corey, D. R. *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 3332.

[179] Weiler, J.; Gausepohl, H.; Hauser, N.; Jensen, O. N.; Hoheisel, J. D. *Nucleic Acids Res.* **1997**, *25*, 2792.

[180] Chiarantini, L.; Cerasi, A.; Fraternale, A.; Millo, E.; Benatti, U.; Sparnacci, K.; Laus, M.; Ballestri, M.; Tondelli, L. *J. Controlled Release* **2005**, *109*, 24.

[181] Sazani, P.; Kang, S. H.; Maier, M. A.; Wei, C.; Dillman, J.; Summerton, J.; Manoharan, M.; Kole, R. *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 3965.

[182] Siwkowski, A. M.; Malik, L.; Esau, C. C.; Maier, M. A.; Wancewicz, E. V.; Albertshofer, K.; Monia, B. P.; Bennett, C. F.; Eldrup, A. B. *Nucleic Acids Res.* **2001**, *32*, 2695.

[183] Sazani, P.; Gemignani, F.; Kang, S. H.; Maier, M. A.; Manoharan, M.; Persmark, M.; Bortner, D.; Kole, R. *Nat. Biotechnol.* **2002**, *20*, 1228.

[184] (a) Zhilina, Z. V.; Ziemba, A. J.; Ebbinghaus, S. W. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *5*, 1119 ; (b) Achim, C.; Armitage, B.A.; Ly D.H.; Schneider, J.W. Wiley Encyclopedia of chemical biology **2008**.

[185] Kakefuda, A.; Masuda, A.; Ueno, Y.; Ono, A.; Matsuda, A. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 2863.

[186] Katagiri, N.; Morishita, Y.; Osawa, I.; Yamaguchi, M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6835.

[187] Honzawa, S.; Ohwada, S.; Morishita, Y.; Sato, K.; Katagiri, N.; Yamaguchi, M. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 2615.

[188] Gilham, P. T.; Khorana, H. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 6212.

[189] Michelson A. M.; Todd, A. R. *J. Chem. Soc.* **1955**, 2632.

[190] Letsinger, R. L.; Finnan, J. L.; Lundsford W. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 3278.

[191] Beaucage, S. L.; Caruthers, M. H. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 1859.

[192] Seela, F.; Kretschmer, U. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 3861.

[193] Radhakrishnan, P. I.; Lawrence, R. P.; William, E.; Regan, J. B.; Beaucage, S. L. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4693.

[194] Corby, N. S.; Kenner, G. W.; Todd, A. R. *J. Chem. Soc. (Lond.)* **1952**, 3669.

[195] Ichikawa, Y.; Narita, A.; Shiozawa, A.; Hayashi, Y.; Narasakab, K *J. Chem. Soc., Chem. Comm* **1989**, 1919.

[196] Ahmad, S.; Bisacchi, G. S.; Field, K.; Jacobs, G. A., Tuomari, A. V.; McGeever-Rubin, B.; Vite, G. D.; Zahler, R. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, 1215.

[197] Rustullet, A.; Alibés, R.; de March, P.; Figueredo, M.; Font, J. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2827.

[198] Cotteril, I. C.; Roberts, S. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1992**, 2585.

[199] Pichon, C.; Hubert, C.; Alexandre, C.; Huet, F. *Tetrahedron : Asymmetry* **2000**, *11*, 2429-2434.

[200] Gauvry, N.; Comoy, C.; Lescop, C.; Huet, F. *Synthesis* **1999**, 574.

[201] Mitsunobu, O. *Synthesis* **1981**, 1.

[202] Hugues, D. L. ; Reamer, R. A. ; Bergan, J. J. ; Grabowski E. J. J. *J. Am. Chem. Soc*. **1988**, *110*, 6487.

[203] (a) Szarek, W. A.; Depew, C.; Jarrel, H. C.; Jones, J. K. N. *J. Chem. Soc, Chem. Commun.* **1975**, 648 ; (b) Nokami, J.; Matsuura, H.; Takahashi, H.; Yamashita, M. *Synlett* **1994**, 491.

[204] (a) Dey, S.; Garner, P. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7697 ; (b) Yin, X.-Q.; Li, W.-Q.; Schneller, S.-W. F. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 9187 ; (c) Benoît, Y.-M.; Strazewski, P. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9836.

[205] Marsac, Y. *Thèse de doctorat*, Université du Maine, Le Mans, **2003**.

[206] Wang, J.; Busson, R.; Blaton, N.; Rozenski, J.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3051.

[207] Ferrier, R. J.; Middleton, S. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2779.

[208] Dilling, W. L. *Org. Photochem. Synth.* **1976**, *2*, 5.

[209] (a) Gauvry, N. *Thèse de Doctorat*, Université du Maine, Le Mans, **1999**; (b) Gauvry, N.; Huet, F. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 583.

[210] Moradei, O. M.; Paquette, L. A. *Org. Synth.* **2003**, *80*, 66.

[211] Feringa, B. L.; De Lange, B.; De Jong, J. C. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2471.

[212] Ait-Youcef, R. *Thèse de Doctorat*, Université du Maine, Le Mans, **2005**.

[213] Feringa, B. L.; De Lange, B.; De Jong, J. C. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2471.

[214] Shaw, G.; Warrener, R. N. *J. Chem. Soc.* **1958**, 153.

[215] Arita, M.; Adachi, K.; Ito, Y.; Sawai, H.; Ohno, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4049.

[216] Agrofoglio, L.; Condom, R.; Guedj, R.; Challand, R.; Selway, J. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6271.

[217] Harnden, M. R.; Wyatt, P. G.; Boyd, M. R.; Sutton, D. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 187.

[218] Coe, D.; Myers, P.; Parry, D.; Roberts, M.; Storer, R. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 151.

[219] Lubben, M.; Feringa, B. L. *Tetrahedron : Asymmetry* **1991**, *2*, 775.

[220] Tu, N. P.; Dibble, P. W. *Synthesis* **1996**, 77.

[221] (a) Collet, L. A.; Davies-Coleman, M. T.; Rivett, D. E. A. *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* **1998**, *75*, 181 ; (b) Mereyala, H. B.; Joe, M. *Curr. Med. Chem.* **2001**, *1*, 293.

[222] Rinner, U.; Hudlicky, T.; Gordon, H.; Pettit, G. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5342.

[223] Hoffman, H. M. R.; Rabe, J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1985**, *24*, 94.

[224] Piacente, S.; Pizza, C.; De Tommasi, N.; Mahmood, N. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 565.

[225] Swarnalakshmi, T.; Sethuraman, M. G.; Sulochana, N.; Arivudainambi, R. *Curr. Sci.* **1984**, *53*, 917.

[226]Naud, S.; Pipelier, M.; Viault, G.; Adjou, A.; Huet, F.; Legoupy, S.; Aubertin, A.-M.; Evain, M.; Dubreuil, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *20*, 3296.

[227] Kämpchen, T.; Massa, W.; Overheu, W.; Schmidt, R.; Seitz, G. *Chem. Ber.* **1982**, *115*, 683.

[228] Smith, R. A.; Fathi, Z.; Brown, S.-E.; Choi, S.; Fan, J.; Jenkins, S.; Kluender, H. C. E.; Konkar, A.; Lavoie, R.; Mays, M.; Natoli, J.; O'Connor, S. J.; Ortiz, A. A.; Podlogar, B.; Taing, C.; Tomlinson, S.; Tritto, T.; Zhang, Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 673.

[229] Anderson, D. R.; Meyers, M. J.; Vernier, W. F.; Mahoney, M. W.; Kurumbail, R. G.; Caspers, N.; Poda, G. I.; Schindler, G. F.; Reitz, D. B.; Mourey, R. J. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2647.

[230] Vanotti, E.; Amici, R.; Bargiotti, A.; Berthelsen, J.; Bosotti, R.; Ciavilella, A.; Cirla, A.; Cristiani, C.; D'Alession, R.; Forte, B.; Isacchi, A.; Martina, K.; Menichincheri, M.; Molinari, A.; Montagnoli, A.; Orsini, P.; Pillan, A.; Roletto, F.; Scolaro, A.; Tibolla, M.; Valsasina, B.; Varasi, M.; Volpi, D.; Santocanale, C. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 487.

[231] Chen, Y.-L.; Chung, C.-H.; Chen, I. L.; Chen, P.-H.; Jeng, H.-Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 2705.

[232] Wang, S.; Dong, Y.; Wang, X.; Hu, X.; O Liu, J.; Hu, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 911.

[233] Kim, M. K.; Oh, H. L.; Choi, B.-Y.; Lim, H.; Cho, Y.-H.; Lee, C.-H. *Cancer Sci.* **2007**, *98*, 1402.

[234] Hudlicky, T.; Tian, X. R.; Knigsberger, K. K.; Maurya, R.; Rouden, J.; Fan, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10752.

[235] Beccalli, E. M.; Broggini, G.; Martinelli, M.; Paladino, G.; Zoni, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 2091.

[236] Bergman, J.; Rehn, S. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 9179.

[237] Leteux, C.; Veyrières, A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1994**, 2647.

[238] Dondoni, A.; Mariotti, G.; Marra, A. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4475.

[239] Das, J.; Schmidt, R. R. *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1609.

[240] Geiger, J.; Reddy, B. G.; Winterfeld, G. A.; Weber, R.; Przybylski, M.; Schmidt, R. R. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4367.

[241] Reddy, B. G., Vankar, Y. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2001.

[242] Zhai, D.; Zhai, W.; Williams, R. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2501.

[243] Désiré, J.; Veyrières, A. *Carbohydrate Res.* **1995**, *268*, 177.

[244] Lubin-Germain, N.; Baltaze, J.-P.; Coste, A.; Hallonet, A.; Lauréano, H.; Legrave, G.; Uziel, J.; Augé, J. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 725.

[245] Cossy, J.; Lutz, F.; Alauze, V.; Meyer, C. *Synlett* **2002**, 45.

[246] Leeuwenburgb, M. A.; Timmers, C.-M.; Van der MareI, A.; Van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6251.

[247] Stichler-Bonaparte, J.; Vasella, A. *Helvetica Chim. Acta* **2001**, *84*, 2355.

[248] Kozikowski, A. P.; Lee, J. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 863.

[249] Pilgrim, W.; Murphy, P. V. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 939.

[250] Boger, D. L.; Panek, J. S.; Patel, M. *Org. Synth.* **1992**, *70*, 79.

[251] Perrin, D. D.; Amarego, W. L. F *Purification of Laboratory Chemicals*, Pergamon Press : Oxford, 1988.

[252] Hamada, Y.; Kato, S.; Shioiri, T. Tetrahedron Lett. **1985**, *26*, 3223.