



HAL
open science

Vers la synthèse de C-glycosyl aminoxy peptides et d'oligomères de nucléosides aminoxy acides

Sandrine Peyrat

► **To cite this version:**

Sandrine Peyrat. Vers la synthèse de C-glycosyl aminoxy peptides et d'oligomères de nucléosides aminoxy acides. Autre. École normale supérieure de Cachan - ENS Cachan, 2011. Français. NNT : 2011DENS0065 . tel-00675657

HAL Id: tel-00675657

<https://theses.hal.science/tel-00675657>

Submitted on 1 Mar 2012

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.

**THESE DE DOCTORAT
DE L'ECOLE NORMALE SUPERIEURE DE CACHAN**

Présentée par

Mademoiselle Sandrine PEYRAT

**Pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'ECOLE NORMALE SUPERIEURE DE CACHAN**

Domaine : **Chimie**

Sujet de la thèse :

**Vers la synthèse de C-glycosyl aminoxy peptides et
d'oligomères de nucléosides aminoxy acides**

Thèse présentée et soutenue à Cachan le XX décembre 2011 devant le jury composé de :

Luigi AGROFOGLIO

Rachid BENHIDA

François COUTY

Mélanie ETHEVE-QUELQUEJEU

Joanne XIE

Professeur, Université d'Orléans

Directeur de Recherche, Université de Nice

Professeur, Université de Versailles

Maître de conférences, Université Paris 6

Professeur, ENS de Cachan

Rapporteur

Rapporteur

Examinateur

Examinatrice

Directrice de thèse

Sigles et abréviations

A

Å	Angström, 10^{-10} m
A	Adénine
AA	Acide aminé
Ac ₂ O	Anhydride acétique
AcOEt	Acétate d'éthyle
AcOH	Acide acétique
ADDP	1,1'-(Azodicarbonyl)dipipéridine
ADN	Acide désoxyribonucléique
AIBN	2,2'-Azobisisobutyronitrile
ARN	Acide ribonucléique
ARNi	Interférence d'acide ribonucléique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
AZT	3'-Azido-3'-désoxythymidine

B

B	Base nucléique
BAIB	(Bisacétoxyiodo)benzène
9-BBN-H	9-Borabicyclo[3.3.1]nonane
Bn	Benzyle
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyle
Boc ₂ O	Anhydride de <i>tert</i> -butyloxycarbonyle
BOMCl	Chlorure de benzyloxyméthyle
BOP	Benzotriazol-1-yloxytris(diméthylamino)phosphonium hexafluorophosphate
BSA	<i>N,O</i> -Bis(triméthylsilyl)acétamide
BVDU	5-(2-Bromovinyl)-2-désoxyuridine
Bz	Benzoyle

C

C	Cytosine
C ₀	Concentration initiale
cat.	Catalytique
Cbz	Benzyloxycarbonyle
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CIC	<i>N</i> -Cyclohexyl- <i>N'</i> -isopropylcarbodiimide
CMV	Cytomégalovirus
CoSy	de l'anglais <i>Correlated spectroscopy</i> ¹ H- ¹ H
CuAAC	de l'anglais <i>Copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition</i>

D

d4C	2',3'-Didéhydro-2',3'-didésoxycytosine
d4T	2',3'-Didéhydro-2',3'-didésoxythymidine
DAST	Trifluorure de diéthylaminosulfure
DBAD	Di- <i>tert</i> -butyl azodicarboxylate
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimide
ddC	2',3'-Didésoxycytosine
ddI	2',3'-Didésoxyinosine

Sigles et abréviations

DEAD	Diéthyl azodicarboxylate
DEPC	Cyanure de diéthylphosphonyle
DIAD	Diisopropyl azodicarboxylate
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimide
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropyléthylamine
DMAP	4-(Diméthylamino)pyridine
DMF	<i>N,N</i> -Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DMT	4,4'-Diméthoxytrityle
DPPA	Azoture de diphénylphosphonyle
δ	Déplacement chimique exprimé en ppm

E

EDC	<i>N</i> -Ethyl- <i>N'</i> -(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
EdU	2'-Désoxy-5-éthyluridine
EP	Ether de pétrole
éq	Equivalent
Et	Ethyle
Et ₂ O	Ether diéthylique

F

FIAC	2'-Fluoro-5-iodo-1-β-D-arabinofuranosyl cytosine
FIAU	2'-Fluoro-5-iodo-1-β-D-arabinofuranosyl uracile
FMAU	2'-Fluoro-5-méthyl-1-β-D-arabinofuranosyl uracile

G

G	Guanine
Gly	Glycine

H

h	Heure(s)
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium hexafluorophosphate
HBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium hexafluorophosphate
HetCor	Corrélation hétéronucléaire
HMPA	Hexaméthyl phosphoramide
HMQC	de l'anglais <i>Heteronuclear multiple quantum coherence</i>
HOAt	1-Hydroxy-7-aza-1 <i>H</i> -benzotriazole
HOBt	1-Hydroxy-1 <i>H</i> -benzotriazole
HRMS	Spectrométrie de masse haute résolution
HSV	Herpes simplex virus
Hz	Hertz

I

IdU	2'-Désoxy-5-iodouridine
IR	Infra rouge

J

<i>J</i>	Constante de couplage
----------	-----------------------

L

LBPA	Laboratoire de biologie et de pharmacologie appliquée
LNA	de l'anglais <i>Locked nucleic acid</i>
LTR	de l'anglais <i>Long Terminal Repeat</i>

M

MeCN	Acétonitrile
MeOH	Méthanol

min	Minutes
MMI	Méthylène méthyl imino
MMT	4-Monométhoxytrityle
MS	Spectroscopie de masse
MsCl	Chlorure de mésyle
MTT	3-(4,5-Diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium
μ	Micro

N

NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimide
NIS	<i>N</i> -Iodosuccinimide
NXS	<i>N</i> -Halogénosuccinimide
NMO	<i>N</i> -Oxyde de <i>N</i> -méthylmorpholine
NOESY	de l'anglais <i>Nuclear overhauser effect spectroscopy</i>
Nu	Nucléophile

O

ODN	Oligodésoxyribonucléotide
-----	---------------------------

P

Ph	Phényle
PhthNOH	<i>N</i> -Hydroxyphthalimide
PNA	Acide nucléique peptidique
POC	Peptide-oligonucléotide
ppm	Partie par million
PPTS	Para-toluènesulfonate de pyridinium
PyBOP	[(Benzotriazol-1-yl)oxy]tris-(pyrrolidino)phosphonium

R

Rdt	Rendement
Réf.	Référence
RISC	de l'anglais <i>RNA-induced silencing complex</i>
Rf	Rapport frontal
RMN	Résonnance magnétique nucléaire
RNAse	Ribonucléase

S

SIDA	Syndrome de l'immunodéficience acquise
siRNA	Petit acide ribonucléique interférent
SN ₂	Substitution nucléophile de type 2

T

T	Thymine
TA	Température ambiante
TBAF	Fluorure de tétrabutylammonium
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphénylsilyle
TBS	<i>tert</i> -Butyldiméthylsilyle
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -Butyle
TEMPO	2,2,6,6-Tétraméthyl-1-pipéridine nitroxyle
Tf	Température de fusion
TFA	Acide trifluoroacétique
TFT	2'-Désoxy-5-trifluorométhyluridine
THF	Tétrahydrofurane
TIPS	Triisopropylsilyle

Sigles et abréviations

T _m	Température de fusion, caractéristique physicochimique caractérisant les duplex ou les triplex d'oligonucléotides
TMS	Triméthylsilyle
TMSOTf	Triflate de triméthylsilyle
Tr	Trityle
Ts	Tosyle
U	
U	Uridine
V	
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VZV	Virus varicelle-zona

SOMMAIRE

Introduction générale.....	13
Chapitre I : Les aminoxy acides	17
I. Introduction	19
II. Les peptides d' aminoxy acides	20
II.1. Les monomères d' α - aminoxy acides	20
II.2. Les oligomères d' α - aminoxy acides	20
II.3. Etude des β - aminoxy acides	23
II.4. Etude des γ - aminoxy acides.....	25
II.5. Construction de récepteurs d' anions et de canaux avec des synthons d' α - aminoxy acides	25
II.5.a. Récepteurs cycliques d' anions	26
II.5.b. Récepteurs acycliques d' anions.....	27
II.6. Conclusion	30
III. Utilisation des aminoxy acides	31
III.1. Peptides d' α - aminoxy acides et de carbo- β - amino acides.....	31
III.2. Les glycoaminoxy acides.....	32
III.2.a. En série glucose	32
III.2.b. En série ribofuranose	33
III.3. Objectifs	36
Chapitre II : Nucléosides, nucléotides et oligonucléotides modifiés.....	37
I. Introduction	39
II. Présentation des nucléosides, de l' ADN et des virus.....	40
II.1. Nucléosides et nucléotides : définition et structure	40
II.2. L' ADN et l' ARN : structure et fonction.....	41
II.2.a. Structures de l' ADN et de l' ARN	41
II.2.b. Les étapes de réplication, transcription et traduction	44
II.3. Généralités sur les virus.....	46
II.3.a. Définition et structure d' un virus	46
II.3.b. Multiplication des virus	47

II.3.c. Le virus du SIDA	48
III. Nucléosides et analogues	50
III.1. Mode d'action des analogues de nucléosides	50
III.2. Les 1 ^{ers} analogues	50
III.3. Les nucléosides à base modifiée.....	52
III.4. Les nucléosides à structure ribosyle modifiée.....	55
IV. Les analogues d'oligonucléotides	58
IV.1. La stratégie antisens.....	58
IV.2. La stratégie antigène.....	59
IV.3. L'interférence d'ARN.....	59
IV.4. Oligonucléotides modifiés.....	61
IV.4.a. Modification de la liaison phosphodiester.....	61
IV.4.b. Modification du squelette des oligonucléotides	68
IV.5. Objectifs	69
Chapitre III : Les nucléosides aminoxy acides en série ADN : Synthèse à partir de la thymidine	71
I. Introduction.....	73
II. Synthèse de la thymidine oxyamine	75
II.1. Quelques rappels bibliographiques sur la réaction de Mitsunobu.....	75
II.2. Synthèse de la 5'- <i>O</i> -phthalimidothymidine.....	77
II.3. Synthèse de la thymidine oxyamine	78
II.3.a. Synthèse de la 5'- <i>O</i> -phthalimido-3'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilyl-thymidine	79
II.3.b. Synthèse de la thymidine oxyamine	80
II.4. Autre voie de synthèse menant à la thymidine oxyamine	80
II.4.a. Synthèse de la 3'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilylthymidine.....	80
II.4.b. Synthèse de la 5'- <i>O</i> -phthalimido-3'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilyl-thymidine	81
III. Synthèse de la thymidine acide.....	82
III.1. Introduction du groupement protecteur DMT	82
III.2. Introduction de la fonction acide carboxylique	84
III.2.a. Synthèse de la 5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-3'- <i>O</i> -éthoxycarbonylméthyl thymidine	84
III.2.b. Protection de la base.....	88

III.2.c. Synthèse de la 3- <i>N</i> -benzoyl-5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-3'- <i>O</i> -éthoxycarbonylméthylthymidine	92
III.2.d. Synthèse de la 3'- <i>O</i> -allyl-5'- <i>O</i> -diméthoxytritylthymidine.....	93
III.2.e. Synthèse de la 5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-3'- <i>O</i> -formylméthylthymidine...	97
III.2.f. Obtention de la thymidine acide.....	98
IV. Synthèse de dimères de thymidine.....	101
IV.1. Couplage peptidique : rappels bibliographiques	101
IV.2. Synthèse de dimères de thymidine liés par liaison <i>N</i> -oxy amide	105
IV.3. Synthèse de dimères de thymidine liés par liaison oxime.....	106
IV.4. Synthèse de dimères de thymidine liés par liaison aminoxy.....	108
IV.5. Etude biologique des dinucléosides synthétisés	110
V. Synthèse de dimères de thymidine à longueur de chaîne <i>N</i>-oxy amide modifiée	113
V.1. Synthèse de la 3'-carboxyméthyl-3'-désoxy-5'- <i>O</i> -diméthoxytritylthymidine. 114	
V.1.a. Etape d'oxydation.....	114
V.1.b. Réaction de Wittig.....	117
V.2. Autre voie de synthèse envisageable de la 3'-carboxyméthyl-3'-désoxy-5'- <i>O</i> -diméthoxytritylthymidine	118
VI. Vers la synthèse de la thymidine aminoxy acide pour la synthèse d'oligonucléosides	120
VI.1. Etape d'alkylation.....	121
VI.1.a. Synthèse de la 5'- <i>O</i> -phthalimido-3'- <i>O</i> -éthoxycarbonylméthyl thymidine	121
VI.1.b. Protection de la base.....	122
VI.1.c. Essai d'alkylation	122
VI.1.d. Utilisation du groupement Boc comme protecteur de la fonction aminoxyle	123
VI.2. Seconde voie de synthèse envisagée pour la thymidine aminoxy acide.....	125
VII. Conclusion.....	127
Chapitre IV : Les nucléosides aminoxy acides en série ARN : Synthèse à partir de l'uridine.....	131
I. Introduction.....	133
II. Synthèse des oligonucléosides de la série 1.....	135
II.1. Synthèse de l'uridine aminoxy acide <i>via</i> la voie A	136
II.1.a. Réaction de Mitsunobu.....	136

II.1.b.	Synthèse de la 5'- <i>O</i> -phthalimidouridine	138
II.1.c.	Mise en place de la voie A'' par l'approche de l'uridine di-silylée ..	140
II.2.	Synthèse de l'uridine aminoxy acide <i>via</i> la voie B	143
II.2.a.	Synthèse de la 2,2'-anhydro-5'- <i>O</i> -phthalimidouridine	143
II.2.b.	Synthèse de la 2,2'-anhydro-5'- <i>O</i> -diméthoxytrityluridine.....	144
II.2.c.	Synthèse de la 2,2'-anhydro-5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-3'- <i>O</i> - éthoxycarbonylméthyluridine	145
II.2.d.	Synthèse de la 5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-3'- <i>O</i> -éthoxycarbonylméthyl-2'- <i>O</i> - méthyluridine	146
III.	Synthèse des oligonucléosides de la série 2.....	150
III.1.	Synthèse de la 2,3'-anhydro-5'- <i>O</i> -benzoyl-2'- <i>O</i> -méthyluridine.....	150
III.2.	Ouverture de l'anhydronucléoside	151
III.2.a.	Introduction bibliographique	151
III.2.b.	Synthèse de la 5'- <i>O</i> -benzoyl-2'- <i>O</i> -méthyl-3'- <i>O</i> - <i>tert</i> - butoxycarbonylaminouridine.....	152
IV.	Synthèse des oligonucléosides de la série 3.....	154
IV.1.	Synthèse de l'intermédiaire oxydé en position 3'	154
IV.2.	Réaction de Wittig.....	156
IV.2.a.	Synthèse de la 3'-désoxy-3'-éthoxycarbonylméthylène-2',5'- <i>di-O</i> - (<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine	156
IV.2.b.	Synthèse de la 3'-désoxy-3'-méthylène-2',5'- <i>di-O</i> -(<i>tert</i> - butyldiméthylsilyl)uridine	157
IV.3.	Etape d'hydrogénation et d'hydroboration.....	157
IV.3.a.	Hydrogénation de la 3'-désoxy-3'-éthoxycarbonylméthylène-2',5'- <i>di-O</i> - (<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine.....	157
IV.3.b.	Hydroboration de la 3'-désoxy-3'-méthylène-2',5'- <i>di-O</i> -(<i>tert</i> - butyldiméthylsilyl)uridine	158
IV.4.	Introduction de la fonction aminoxy en position 5'	159
IV.4.a.	Introduction d'un groupement phthalimidoxy.....	159
IV.4.b.	Passage par un intermédiaire halogéné	161
IV.4.c.	Introduction de la fonction aminoxy par substitution nucléophile.	163
IV.4.d.	Déprotection de la fonction aminoxy	164
IV.4.e.	Déprotection de la fonction acide.....	165
IV.5.	Protection de la position 5' par un groupement DMT.....	165
IV.5.a.	Synthèse de la 5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-2'- <i>O</i> - <i>tert</i> - butyldiméthylsilyluridine.....	166
IV.5.b.	Synthèse de la 3'-désoxy-5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-3'- éthoxycarboxyméthyl-2'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilyluridine.....	166
IV.5.c.	Synthèse de la 5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-3'-oxo-2'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthyl- silyluridine	168
IV.5.d.	Synthèse de la 3'-désoxy-3'-méthylène-2'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilyl- 5'- <i>O</i> -trityluridine	168
IV.5.e.	Utilisation du tétrafluoroborate de diméthoxytrityle.....	169

IV.6. Hydroboration de la 3'-désoxy-5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-3'-méthylène-2'- <i>O</i> -tert-butyl-diméthylsilyluridine	171
IV.7. Synthèse du dérivé uridine acide	171
IV.8. Synthèse de dinucléosides liés par liaison <i>N</i> -oxy amide	172
V. Conclusions et perspectives	174
Chapitre V : Les C-glycosyl aminoxy acides	179
I. Introduction	181
II. Synthèse du C-allyl glucoside.....	183
III. Synthèse de C-glycosyl aminoxy acides.....	184
III.1. Introduction bibliographique	184
III.2. Synthèse des intermédiaires 237 et 238	185
III.3. Réaction de Mitsunobu	186
III.4. Déprotection de l'alcool primaire.....	187
III.5. Etape d'oxydation.....	189
III.6. Déprotection de la fonction aminoxyle	189
IV. Conclusion.....	191
Conclusion générale	193
Partie expérimentale	197
I. Généralités et appareillage	199
II. Produits synthétisés.....	200
III. Index des produits synthétisés.....	273
IV. Tests biologiques.....	278
Références bibliographiques	281

Introduction générale

Les progrès considérables de la biologie et de la génétique moléculaire dans les années 1980 ont permis l'élucidation de la séquence d'un nombre croissant de gènes. Ceci a abouti à l'idée que les oligonucléotides peuvent avoir de nombreuses applications en biologie. Ils peuvent être utilisés comme sondes d'acides nucléiques pour la purification, l'imagerie et la fixation sur bio-puce des acides nucléiques pour leur capacité à former des double ou triple hélices stables. Ils constituent également une famille d'agents pharmacologiques potentiels soit par leur capacité à cibler les acides nucléiques, soit comme analogue de substrat d'enzyme. Les stratégies antisens, antigène et l'interférence d'ARN ont ainsi été développés. Ces nouvelles stratégies nécessitent la synthèse d'oligonucléotides modifiés qui sont notamment résistants aux enzymes et qui sont capables d'atteindre la cellule. C'est dans ce contexte qu'ont été développés des oligonucléotides dans lesquels la liaison phosphodiester est par exemple remplacée par la liaison phosphorothioate.

D'autre part, les analogues de nucléosides ont trouvé des applications en chimie thérapeutique. Ils ont montré des propriétés antibiotiques, anticancéreuses et antivirales. Certains nucléosides, très connus comme l'AZT et l'acyclovir, sont utilisés dans le traitement du VIH ou du virus de l'herpès. L'activité de ces molécules a provoqué un engouement pour la recherche de nouveaux nucléosides modifiés, afin de trouver les molécules les plus actives et les moins toxiques possibles.

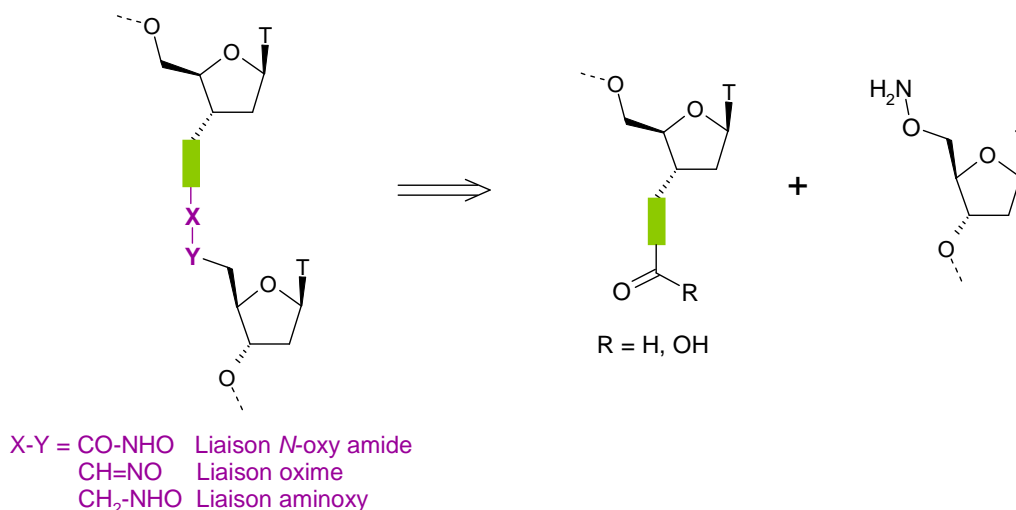
Les aminoxy acides, analogues d'acides aminés dans lesquels la fonction amine est remplacée par une fonction aminoxy, ont été récemment développés et étudiés. Les peptides d' aminoxy acides forment fréquemment des structures secondaires bien définies comme des α -, β -, γ -turns ou des hélices grâce à la facilité de formation des liaisons hydrogène intramoléculaires.

Nous proposons de synthétiser et d'étudier des nucléosides aminoxy acides et leur oligomère en tant que nouveau type d'oligonucléotides modifiés. Les fonctions aminoxy, acide carboxylique et aldéhyde seront introduites sur la partie sucre afin de créer de nouveaux oligonucléosides liés par liaison *N*-oxy amide, oxime et aminoxy. Les molécules synthétisées seront testées pour leur activité antivirale en collaboration avec le Laboratoire de Biologie et de Pharmacologie Appliquée (LBPA) de l'ENS de Cachan. Les oligonucléosides obtenus seront étudiés pour leur stabilité et leur capacité à former des double ou triple-hélices.

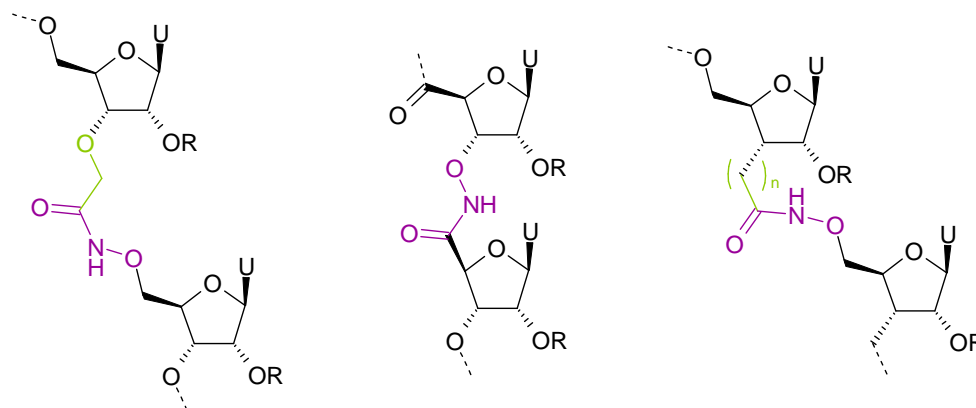
En parallèle, dans la continuité des travaux réalisés au laboratoire sur la synthèse des glycoamino acides, nous réaliserons la synthèse de nouveaux *C*-glycosyl aminoxy acides dans le but de créer de nouveaux mimes de glycopeptides.

Dans les deux premiers chapitres, nous présenterons d'abord les aminoxy acides et leur intérêt dans les structures peptidiques. Puis, nous nous intéresserons aux acides nucléiques ainsi qu'à l'intérêt porté aux nucléosides et oligonucléotides modifiés.

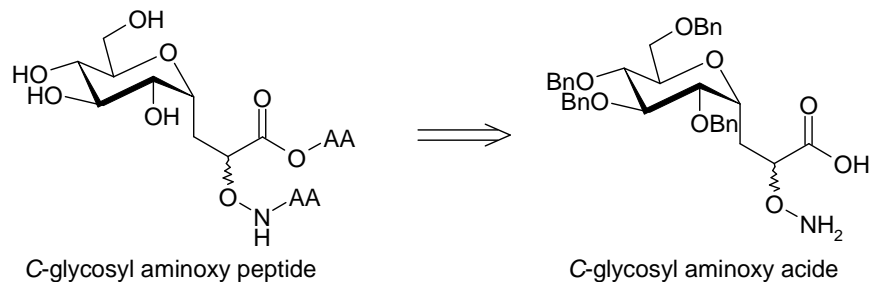
Dans le troisième chapitre, nous présenterons la synthèse des nucléosides aminoxy acides en série ADN. Les différents oligonucléosides seront construits à partir de monomères portant des fonctions acide carboxylique, aldéhyde et aminoxy.



Dans la quatrième partie, nous développerons les synthèses réalisées en série ARN à partir de l'uridine. Différentes séries d'oligonucléosides sont envisagées afin d'étudier l'impact de différents liens contenant la liaison N-oxy amide.



Enfin, nous terminerons avec la synthèse des C-glycosyl aminoxy acides comme nouveaux mimes de glycopeptides.



Chapitre I :
Les aminoxy acides

I. Introduction

Les aminoxy acides sont des analogues d'acides aminés comportant une fonction aminoxyle (O-NH₂) à la place de la fonction amine. Plus précisément, les α-aminoxy acides sont des analogues de β-amino acides, le carbone en β étant remplacé par un oxygène (Figure 1). L'introduction de la fonction aminoxyle O-NH₂ se fait classiquement par une réaction de Mitsunobu,¹ à l'aide du *N*-hydroxyphthalimide (PhthNOH). Le groupement phthalimidoxyle est ensuite déprotégé par réaction d'hydrazinolyse afin d'obtenir la fonction O-NH₂. L'insertion d'un atome d'oxygène entraîne une modification des liaisons hydrogène intramoléculaires dans les structures peptidiques.

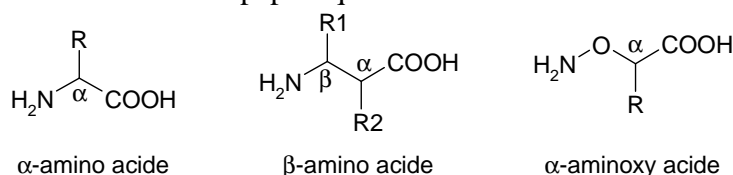


Figure 1. Représentation d'acides aminés et d'aminooxy acides.

Les fonctions biologiques d'une molécule sont étroitement liées avec sa structure secondaire. Les peptides jouent des rôles importants dans l'organisme au niveau des enzymes, des hormones, des neurotransmetteurs... Cependant en raison de leur flexibilité et de leur faible biodisponibilité, les peptides ne sont pas vus comme des agents thérapeutiques utilisables pour des applications médicales. Il est donc nécessaire de trouver des structures capables de mimer les peptides.

En 1963, E. Testa *et al.*² ont été les premiers à synthétiser des aminoxy acides et à rapporter une méthode permettant la synthèse systématique d'α-aminoxy acides chiraux.

Une dizaine d'années plus tard, Malcom T. Briggs et John S. Morley³ ont synthétisé les premiers dipeptides d'aminooxy acides dérivés de l'aspartame et d'un térapeptide de gastrine (Figure 2). En ce qui concerne l'analogue aminoxy de l'aspartame, il n'a pas de goût sucré contrairement à ce dernier. Ceci peut s'expliquer par le fait que la molécule ne peut pas se lier au récepteur en raison de la présence de l'oxygène de la liaison *N*-oxy amide. La synthèse de l'analogue aminoxy du térapeptide de gastrine a permis de montrer que la liaison aminoxy peptidique est résistante à l'hydrolyse enzymatique.

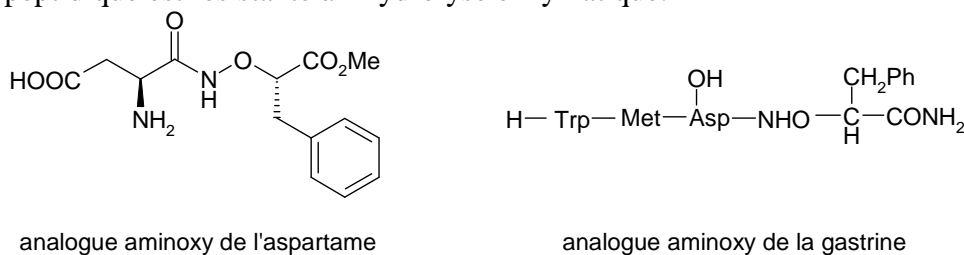


Figure 2. Structure chimique des analogues aminoxy de l'aspartame et de la gastrine.

¹ Mitsunobu, O. *Synthesis* **1981**, 1-28.

² Testa, E.; Nicolaus, B. J. R.; Mariani, L.; Pagani, G. *Helv. Chim. Acta* **1963**, 46, 766-780.

³ Briggs, M. T.; Morley, J. S. *J.C.S. Perkin I* **1979**, 2138-2143.

II. Les peptides d'aminooxy acides

A la fin des années 90 et dans les années 2000, l'équipe de D. Yang a repris et développé les travaux sur les peptides d'aminooxy acides.

II.1. Les monomères d' α -aminooxy acides

En 1996, l'étude de peptides contenant une unité d' α -aminooxy acide⁴ a permis de mettre en évidence la formation de coudes (turns) au niveau des structures secondaires dans les peptides contenant des α -aminooxy acides. L'étude de ces structures montre la formation d'un cycle à 8 chaînons grâce à la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires entre deux résidus adjacents, ce cycle est appelé α N-O turn (Figure 3). La formation des α N-O turn est indépendante de la chaîne latérale des aminooxy acides. De plus, la conformation (gauche ou droite) est uniquement déterminée par la configuration du carbone α (configuration D ou L). Ceci permet d'envisager la construction de peptides dont les structures secondaires seront bien définies.

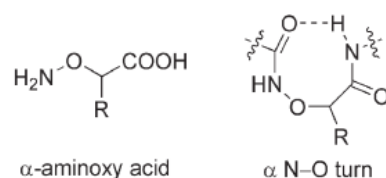


Figure 3. Représentation d'un α -aminooxy acide et d'un α N-O turn.

II.2. Les oligomères d' α -aminooxy acides

Des oligomères d' α -aminooxy acides (Figure 4) ont ensuite été étudiés par calcul théorique et synthétisés pour des études RMN, IR et cristallographiques.

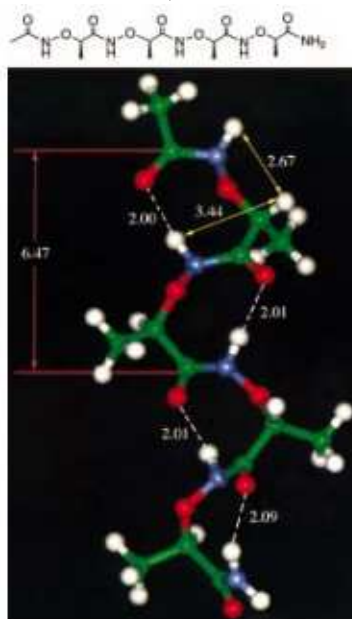


Figure 4. Représentation de la structure modélisée en hélice formée par un tétramère d' α -aminooxy acides.

⁴ Yang, D.; Ng, F.-F.; Li, Z.-J.; Wu, Y.-D.; Chan, K. W. K.; Wang, D.-P. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9794-9795.

Les études à l'état liquide et à l'état solide ont révélé des conformations quasi-identiques dans ces deux états. La formation de structures secondaires intéressantes a été montrée. La présence d' α N-O turn entraîne la formation de structures en hélice quelque soit la chaîne latérale de l'aminooxy acide. Les chaînes latérales des aminooxy acides se situent alternativement aux côtés opposés de l'hélice. Le carbonyle du résidu $i + 2$ est décalé de $+50^\circ$ par rapport à celui de la position i ; ce qui permet de définir la structure comme une hélice 1.8_8 (chaque coude de l'hélice contient environ 1,8 unité d'aminooxy acide). Dans les peptides, dix à douze résidus sont nécessaires à la formation d'hélices stables. Pour les peptides d'aminooxy acides, la structure en hélice est observée dans des oligomères aussi court que des trimères; ces structures représentent ainsi les plus petites hélices jamais observées.⁵

Des structures en coude inversé (reverse turn), dans lesquelles la chaîne peptidique change de direction, sont régulièrement observées dans les structures secondaires de peptides ou protéines naturels. Elles jouent des rôles importants dans le repliement des protéines et dans la reconnaissance des récepteurs. Ces structures en coude inversé peuvent être créées à partir des α -aminooxy acides. En effet, la présence de D- α -aminooxy acides induit un N-O turn orienté à droite alors que la présence de L- α -aminooxy acides induit un N-O turn orienté à gauche. Un dipeptide composé de deux α -aminooxy acides de configurations différentes (dipeptide **2**) donne une conformation en boucle (Figure 5) et un térapeptide permet d'observer une structure en coude inversé.⁶

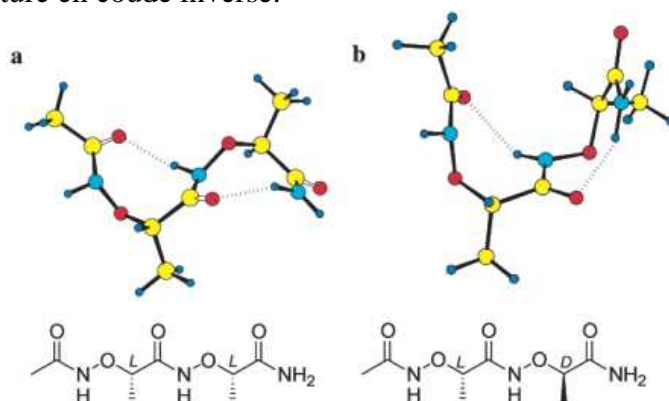


Figure 5. Conformations calculées d'un dipeptide homochiral **1** (à gauche) et d'un dipeptide hétérochiral **2** (à droite).

L'équipe de Yang s'est ensuite penchée sur l'étude de peptides alternant des α -amino acides et des α -aminooxy acides.⁷

Pour rappel, dans les peptides d'aminooxy acides, les repliements observés ont été nommés des N-O turns par D. Yang. En fonction du nombre de carbones composant l'aminooxy acide, la taille du N-O turn varie. Pour un α -aminooxy acide, on observe un cycle à 8 chaînons qui constitue donc un α N-O turn. Pour un β -aminooxy acide, on a un cycle à 9 chaînons qui constitue un β N-O turn et ainsi de suite (Figure 6).

⁵ Yang, D.; Qu, J.; Li, B.; Ng, F.-F.; Wang, X.-C.; Cheung, K.-K.; Wang, D.-P.; Wu, Y.-D. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 589-590.

⁶ Yang, D.; Qu, J.; Li, W.; Wang, D.-P.; Ren, Y.; Wu, Y.-D. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14452-14457.

⁷ Yang, D.; Li, W.; Qu, J.; Luo, S.-W.; Wu, Y.-D. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13018-13019.

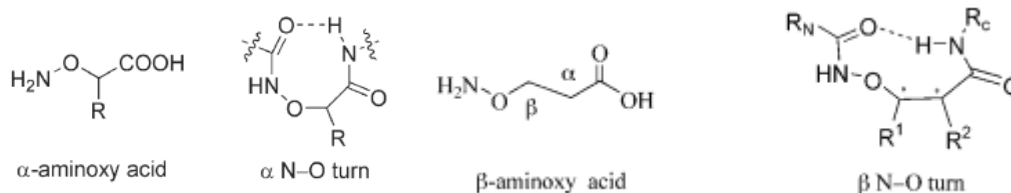


Figure 6. Présentation des α et β N-O turns.

Dans les peptides naturels, la liaison hydrogène s'établit entre un C=O d'un résidu i et le NH d'un résidu $i + x$ ou $i - x$. Cette liaison hydrogène conduit à la formation de cycles à n atomes notés C_n . Les liaisons en C_7 , C_{10} et C_{13} constituent les repliements les plus présents à l'état naturel et constituent des coudes ou des hélices dans la structure secondaire. En particulier, la liaison de type C_7 entre un C=O d'un résidu i et le NH d'un résidu $i+2$ correspond à un coude γ , celle de type C_{10} entre un C=O i et le NH $i+3$ correspond à un coude β et enfin la liaison de type C_{13} entre un C=O i et le NH $i+4$ à un coude α . Les liaisons de type C_5 et C_{11} sont plus rares (Figure 7).

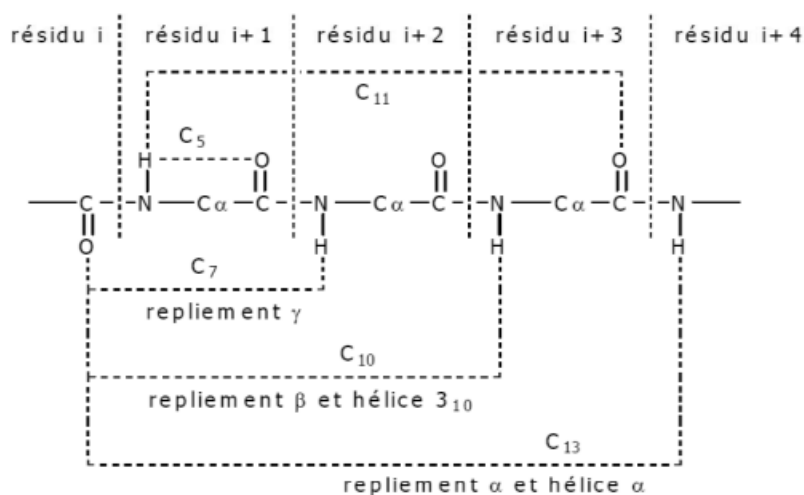


Figure 7. Différentes liaisons hydrogène rencontrées dans les peptides.

Dans les structures des protéines, les coudes γ sont moins observés que les coudes β ⁸ mais ils jouent des rôles vitaux dans la reconnaissance moléculaire au niveau des systèmes biologiques.⁹ Dans le peptide **3** composé de D- α -amino acides et de L- α -aminooxy acides, la formation d'un coude γ est initiée par la présence d'un α N-O turn (Figure 8). L'alternance de α N-O turns et de coudes γ donne une nouvelle structure en hélice 7/8. Ceci montre la possibilité d'induire des structures γ -turn à des sites spécifiques de courts peptides par incorporation d' α -aminooxy acides.

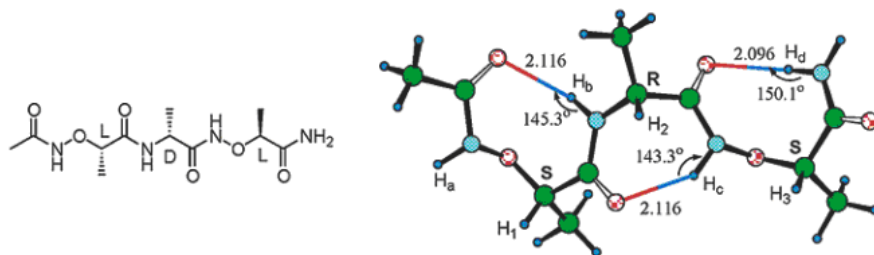


Figure 8. Conformation la plus stable calculée dans le CH_2Cl_2 d'un tripeptide **3** (distances en Å).

⁸ Rose, G. D.; Gierasch, L. M.; Smith, J. A. *Adv. Protein Chem.* **1985**, *37*, 1-109.

⁹ Haubner, R.; Gratias, R.; Diefenbach, B.; Goodman, S. L.; Jonczyk, A.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7461-7472.

II.3. Etude des β -aminooxy acides

Les β -aminooxy acides comportent un carbone supplémentaire par rapport aux α -aminooxy acides. Ils sont des analogues de γ -amino acides dans lesquels le carbone en γ est remplacé par un oxygène. De manière similaire aux recherches sur les γ -peptides,¹⁰⁻¹⁴ plusieurs types de β -aminooxy acides substitués (Figure 9) ont été étudiés.

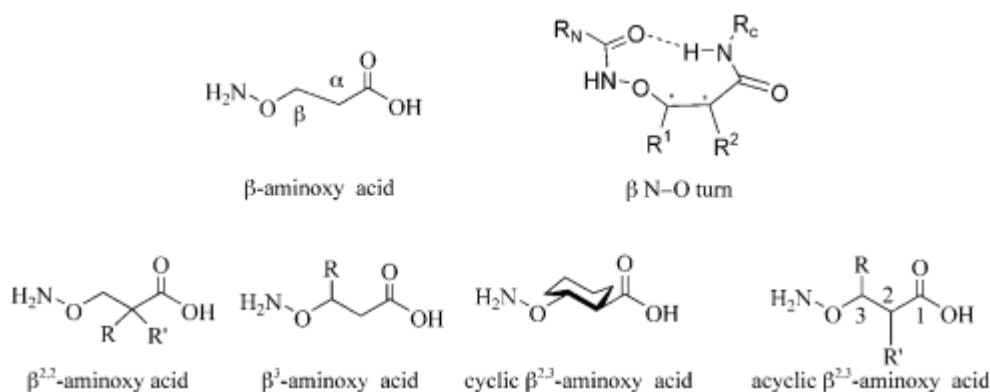


Figure 9. Les β -aminooxy acides.

En 2002, les $\beta^{2,2}$ -aminooxy acides comportant deux chaînes latérales sur le carbone α ont été étudiés.¹⁵ Ils ont la propriété de former *via* des liaisons hydrogène intramoléculaires des cycles à 9 chaînons entre le C=O d'un résidu i et le NH du résidu $i + 2$ appelés des β N-O turns (Figure 10). La structure est stabilisée par la formation d'un cycle à 6 grâce à la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires entre le N-O du résidu $i + 1$ et le NH du résidu $i + 2$ (études menées par cristallographie et RMN 2D NOESY). Ceci permet la formation de structures en hélice bien définies, composées de deux β N-O turns successifs. Les longueurs des liaisons hydrogène ont également été étudiées. La distance entre le NH du résidu $i + 2$ et le C=O du résidu i est de 1,93 Å pour le premier β N-O turn et de 2,29 Å pour le second (Figure 10). La plus courte distance N-H...O=C dans la première liaison hydrogène reflète la plus grande acidité de la N -oxy amide O-NH-CO comparée à l'amide normal NH-CO.

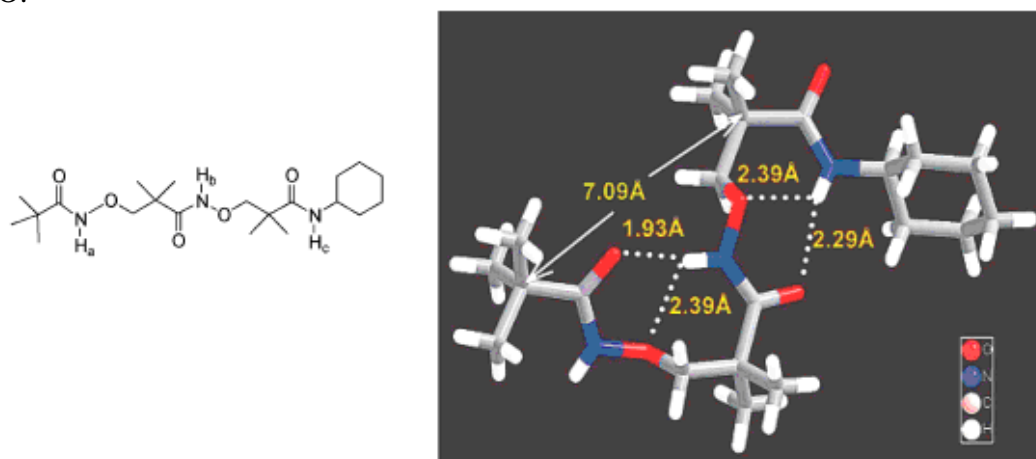


Figure 10. Structure cristallographique d'un triamide comportant deux unités de $\beta^{2,2}$ -aminooxy acides.

¹⁰ Hanessian, S.; Luo, X.; Schaum, R.; Michnick, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8569-8570.

¹¹ Hanessian, S.; Luo, X.; Schaum, R. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4925-4929.

¹² Hintermann, T.; Gademann, K.; Jaun, B.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 983-1002.

¹³ Seebach, D.; Brenner, M.; Rueping, M.; Schweizer, B.; Jaun, B. *Chem. Commun.* **2001**, 207-208.

¹⁴ Seebach, D.; Brenner, M.; Rueping, M.; Jaun, B. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 573-584.

¹⁵ Yang, D.; Zhang, Y.-H.; Zhu, N.-Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9966-9967.

Gellman *et al.*¹⁶ utilisent des β -acides aminés contraints pour avoir des conformations bien définies. Il a été montré que suivant la taille du cycle de la chaîne latérale (5 ou 6 chaînons), la structure secondaire engendrée est différente et contrainte. Afin de voir s'il en est de même pour les β -aminoxy acides, l'équipe de Yang a étudié les $\beta^{2,3}$ -aminoxy acides cycliques.¹⁷ Les $\beta^{2,3}$ -aminoxy acides cycliques sont une sous-classe de β -aminoxy acides dans laquelle les carbones α et β sont compris dans le cycle (cyclopentane ou cyclohexane). Une étude RMN a montré que les diamides synthétisées (Figure 11) ont une structure similaire qui correspond au β N-O turn quelque soit la taille du cycle du β -aminoxy acide.

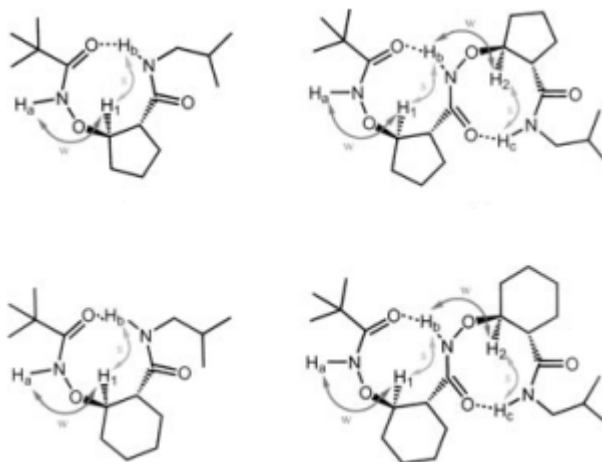


Figure 11. Représentation des liaisons hydrogène présentes dans les $\beta^{2,3}$ -aminoxy acides de cyclopentane et de cyclohexane.

L'étude à l'état solide (par cristallographie) a montré la présence d'une hélice 1.8₉ bien définie composée de deux β N-O turns consécutifs et ceci indépendamment de la chaîne latérale (Figure 12). Les propriétés de β -aminoxy peptides sont donc différentes de celles des β -peptides étudiés par Gellman.

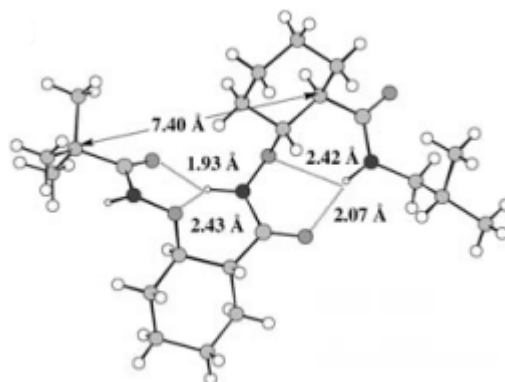


Figure 12. Structure cristalline d'un diamide de $\beta^{2,3}$ -aminoxy acides de cyclohexane.

En 2010, les $\beta^{2,3}$ -aminoxy acides acycliques ont été étudiés.¹⁸ Les β N-O turns précédemment identifiés dans les peptides de $\beta^{2,2}$ - et β^3 -aminoxy acides sont aussi présents de manière prédominante dans les peptides de $\beta^{2,3}$ -aminoxy acides ayant une configuration *syn*.

¹⁶ Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173-180.

¹⁷ Yang, D.; Zhang, Y.-H.; Hao, Y.; Wu, Y.-D.; Luo, S.-W.; Zhu, N.-Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6719-6722.

¹⁸ Zhang, Y.-H.; Song, K.-S.; Zhu, N.-Y.; Yang, D. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 577-587.

L'étude de ces structures a montré que les β -aminooxy acides ont une plus grande flexibilité que les α -aminooxy acides mais que cela n'empêche pas la formation de β N-O turns rigides.

II.4. Etude des γ -aminooxy acides

La synthèse d'un nouveau dipeptide de γ -aminooxy acides (Figure 13) a permis de tester la capacité de ces nouvelles structures à former des liaisons hydrogène.

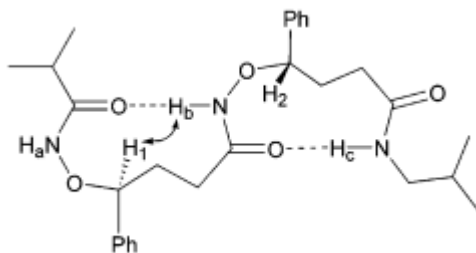


Figure 13. Dipeptide 4 de γ -aminooxy acides.

Des études spectroscopiques IR et RMN ont permis de montrer la formation *via* liaisons hydrogène intramoléculaires de cycles à 10 chaînons entre le C=O d'un résidu i et le NH du résidu $i + 2$, appelé γ N-O turn. Sur le dipeptide 4, deux γ N-O turns consécutifs peuvent être formés et une nouvelle structure en hélice est observée (Figure 13).¹⁹ Cette étude a été complétée en 2008 avec la synthèse et l'analyse de divers γ -aminooxy peptides substitués avec des groupements phényle, alkyle et cyclohexyle (Figure 14).²⁰

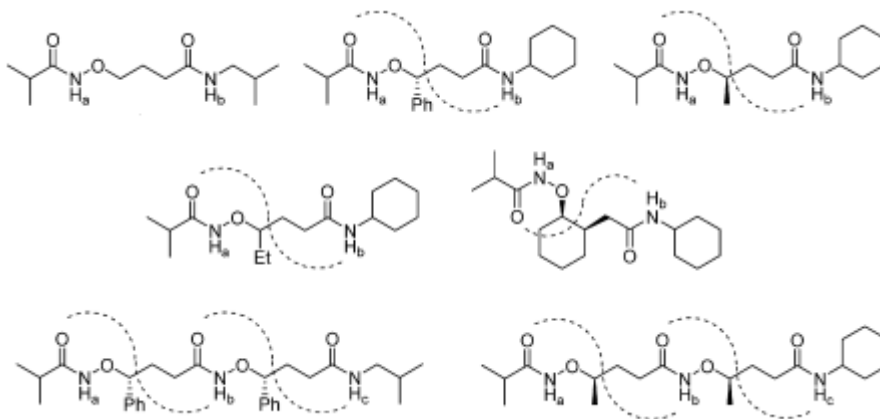


Figure 14. Représentation de γ -aminooxy peptides substitués et de leurs liaisons hydrogène intramoléculaires.

II.5. Construction de récepteurs d'anions et de canaux avec des synthons d' α -aminooxy acides

Les anions, notamment les ions chlorures qui sont les plus abondants dans l'organisme, jouent des rôles importants en biologie et en médecine comme la reconnaissance et le transport dans les processus physiologiques. Les canaux Cl⁻ permettent le transfert des ions chlorures à travers la membrane cellulaire. Le dysfonctionnement des canaux dans

¹⁹ Chen, F.; Zhu, N.-Y.; Yang, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15980-15981.

²⁰ Chen, F.; Song, K.-S.; Wu, Y.-D.; Yang, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 743-755.

l'organisme engendre de nombreuses maladies comme la mucoviscidose, les maladies héréditaires de calculs rénaux, les épilepsies. Par conséquent, la création de systèmes synthétiques permettant de mimer les fonctions biologiques des canaux Cl⁻ naturels est la bienvenue et il est intéressant de développer des récepteurs artificiels d'anions.

Les études précédentes sur la longueur des liaisons hydrogène dans les structures composées de $\beta^{2,2}$ -aminooxy acides ont montré que le NH de l'aminooxy acide est plus acide que celui de l'acide aminé, ce qui en fait un donneur plus efficace de liaisons hydrogène pendant l'interaction avec l'anion.²¹ L'aminooxy acide se présente donc comme un excellent synthon pour la construction de récepteurs d'anions.

II.5.a. Récepteurs cycliques d'anions

Les récepteurs cycliques d'anions sont a priori plus adaptés que les récepteurs linéaires car ils sont pré-organisés de manière rigide. Lors des études précédentes (p. 21), il a été observé que les oligomères composés d'aminooxy acides de configurations différentes (configuration D et L) ont une conformation qui donnent des N-O turns gauche et droite, ce qui rapproche le C-terminal et le N-terminal de l'oligomère d' α -aminooxy acides. Ceci en fait donc le candidat idéal à la construction d'un peptide cyclique. Des peptides cycliques contenant quatre et six unités d' α -aminooxy acides ont été synthétisés et étudiés (Figure 15).²²

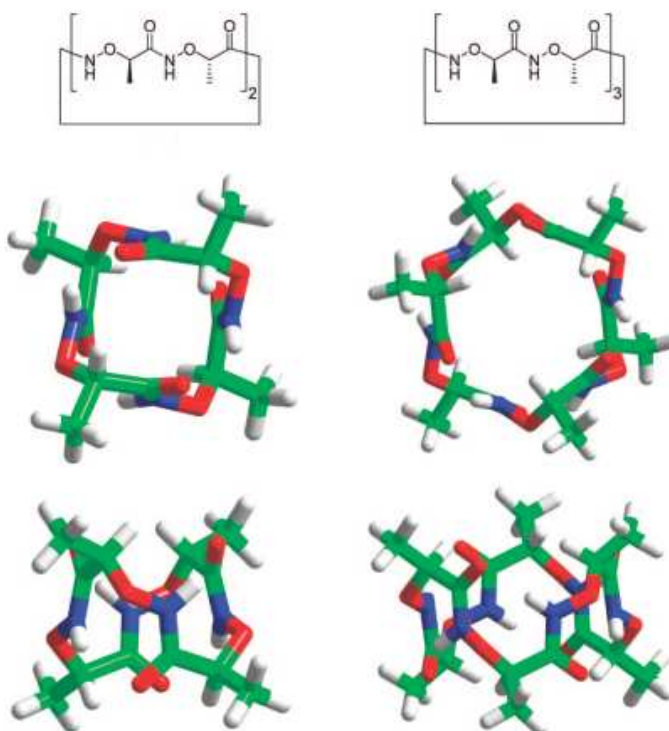


Figure 15. Vues de face et de côté d'un tétrapeptide cyclique (à gauche) et d'un hexapeptide cyclique **5** (à droite).

Ces peptides adoptent une structure symétrique (en anglais, highly bracelet-like conformation). La surface extérieure est plutôt apolaire et la cavité intérieure plutôt polaire. La cavité cylindrique à l'intérieur a un diamètre de $\sim 1,28$ Å dans le cas du tétrapeptide, ce qui

²¹ Li, X.; Wu, Y.-D.; Yang, D. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1428-1438.

²² Yang, D.; Qu, J.; Li, W.; Zhang, Y.-H.; Ren, Y.; Wang, D.-P.; Wu, Y.-D. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12410-12411.

en fait une cavité trop petite pour être utile à la réception d'ions. Dans le cas de l'hexapeptide **5**, la cavité est de 3,22 Å, ce qui en fait un bon candidat à la réception de petits ions. Les études montrent que l'hexapeptide cyclique **5** a une forte affinité pour les ions halogénés et une haute sélectivité pour les ions Cl⁻. L'ion Cl⁻ se lie simultanément par liaisons hydrogène aux six protons NH présents dans la cavité (Figure 16).

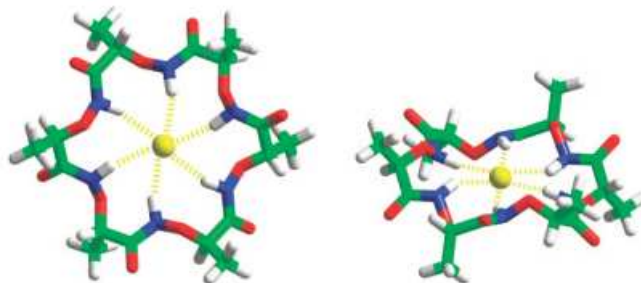


Figure 16. Vues de face et de côté d'un complexe hexapeptide cyclique **5** / ion Cl⁻.

L'hexapeptide cyclique **6** composé alternativement de D- α -aminooxy acides et de D- α -amino acides a une structure comportant une symétrie C₃. La structure secondaire adopte alternativement des cycles à 7 chaînons (γ -turns) et des cycles à 8 chaînons (α N-O turns). Cet hexapeptide cyclique permet non seulement la formation d'un complexe 1 / 1 avec les ions halogénés mais également une haute sélectivité avec l'ion Cl⁻ (Figure 17). Lors de la formation du complexe, l'anion est lié au récepteur par liaisons hydrogène. Dans ce cas, les liaisons hydrogène ne se font pas avec le NH de l'amide mais plutôt avec les trois O-NH (au vu des valeurs des angles et des distances), ce qui montrent l'importance des aminooxy acides dans le récepteur.²³

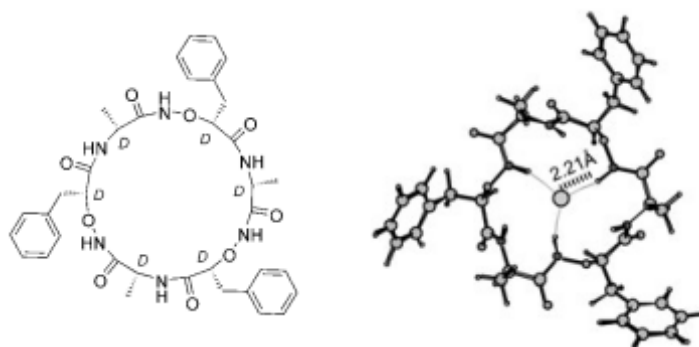


Figure 17. Structure de l'hexapeptide cyclique **6** et représentation des liaisons hydrogène entre l'ion Cl⁻ et l'hexapeptide cyclique **6**.

II.5.b. Récepteurs acycliques d'anions

Le rendement de synthèse pour les peptides cycliques contenant des aminooxy acides étant très faible, des peptides acycliques ont été développés. Les récepteurs acycliques sont basés sur une symétrie C₂ où deux unités d'aminooxy acides sont liées.²⁴ Dans ces unités, une partie des NH des liaisons aminooxy amides n'a pas de possibilité de formation de liaisons hydrogène intramoléculaires, ce qui laisse la possibilité au récepteur de capter des anions (Figure 18).

²³ Yang, D.; Li, X.; Sha, Y.; Wu, Y.-D. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 3005-3009.

²⁴ Yang, D.; Li, X.; Fan, Y.-F.; Zhang, D.-W. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7996-7997.

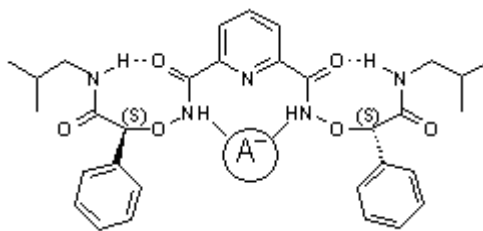


Figure 18. Récepteur **7** pour la reconnaissance d'ions carboxylates A^- .

En 2005, l'étude a été menée sur le groupement carboxylate,²⁴ une entité anionique de première importance dans la nature. Les enzymes, anticorps, acides aminés, etc... contiennent de nombreuses fonctions carboxylates importantes au niveau biochimique. La reconnaissance énantiosélective des carboxylates a des implications importantes dans la synthèse asymétrique et la découverte de nouveaux médicaments. Le récepteur **7** (Figure 18) a été synthétisé en cinq étapes avec un rendement global de 70%. L'étude des propriétés de reconnaissance du composé **7** avec les acides (R)- et (S)-mandélique montre la formation de complexes 1 / 1 mais aussi une distinction des deux énantiomères (au vu des mesures des constantes d'association : $K_a = 4300 M^{-1}$ pour l'acide (R)-mandélique et $K_a = 8100 M^{-1}$ pour l'acide (S)-mandélique dans le $CDCl_3$). Les tests ont également été réalisés avec différents carboxylates, et la capacité du récepteur à différencier les énantiomères d'une large variété d'acides carboxyliques a été montrée par étude spectroscopique de RMN 1H . En effet, lorsque l'anion est lié au récepteur, les protons des centres chiraux des acides (R)- et (S)-mandélique ont des déplacements chimiques différents, ce qui montre qu'ils n'ont pas le même environnement chimique. Cette étude a été menée en présence de mélanges racémiques de divers acides carboxyliques chiraux (Table 1).

Entry	Carboxylic acids ^a	$\Delta\Delta\delta$ (ppm) ^b	Spectra
1		0.10	
2		0.10	
3		0.10	
4		0.11	
5		0.05	
6		0.07	
7		0.04 ^c	
8		0.09	
9		0.04 ^c	
10		0.08	
11		0.03 ^c	
12		0.05	
13		0.08	

Table 1. Valeurs des différences de déplacements chimiques ($\Delta\Delta\delta$) entre les protons H_a des espèces (R) et (S) d'acides carboxyliques mis en présence du récepteur **7**.²⁴

En 2007, le récepteur **8** (Figure 19) a été obtenu en cinq étapes à partir de la L-leucine avec un rendement global de 68%. Afin de montrer la capacité de ce composé **8** à faciliter le transport des ions Cl^- à travers les bicouches lipidiques des membranes, des liposomes suspendus dans une solution de chlorure de sodium ont été préparés et les flux de Cl^- ont été étudiés par fluorescence. L'addition du composé **8** dans les liposomes précédemment préparés induit un rapide déclin de fluorescence, ce qui indique que le composé **8** transporte bien les ions Cl^- dans les liposomes.²⁵ Il représente la plus petite molécule synthétique capable de transporter efficacement les ions Cl^- dans les membranes plasmiques des cellules vivantes. Cette molécule a donc le potentiel de devenir une nouvelle tête de série pour le traitement de maladies humaines associées aux dysfonctionnements des canaux Cl^- .

²⁵ Li, X.; Shen, B.; Yao, X.-Q.; Yang, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 7264-7265.

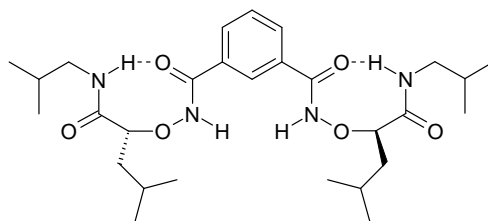


Figure 19. Récepteur **8** pour la reconnaissance des ions Cl⁻.

II.6. Conclusion

Pour résumer, la liaison N-O présente dans les aminooxy peptides (et non présente dans les peptides naturels) permet la formation de N-O turns *via* des liaisons hydrogène intramoléculaires, ce qui induit la formation de structures en hélice. Les aminooxy acides se révèlent être de bons synthons permettant la construction de mimes de structures peptidiques. Grâce aux différents « types » d'aminooxy acides, une large variété de structures secondaires peut être envisagée. Les NH des liaisons *N*-oxy amides étant plus acides que les NH des liaisons amides des acides aminés (pK_a de l'oxyamine $\approx 4,6$ comparé au pK_a de l'amine d'un acide aminé ≈ 9),²⁶ les aminooxy acides se révèlent être de meilleurs donneurs pour la formation de liaisons hydrogène. Ils constituent ainsi de bons récepteurs d'anions.

²⁶ Bissot, T. C.; Parry, R. W.; Campbell, D. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 796-800.

III. Utilisation des aminosxy acides

En raison de l'intérêt porté aux peptides d'aminosxy acides et de leur faculté à former des liaisons hydrogène et donc de nouvelles structures secondaires, les aminosxy acides ont été utilisés par d'autres équipes, soit pour l'étude de nouveaux peptides, soit pour la synthèse et l'étude de glycoaminosxy acides.

III.1. Peptides d' α -aminosxy acides et de carbo- β -amino acides

Des peptides hybrides comportant un α -aminosxy acide dérivé de l'acide (S)-lactique et un carbo- β -amino acide ont été synthétisés et étudiés par une équipe indienne (Figure 20).²⁷ Les hexapeptides correspondant forment des hélices 12/10, assez solide, en raison de la présence des carbo- β -amino acides. Il est à noter que les α -aminosxy acides seuls forment des hélices 8. Dans ce cas, l'encombrement stérique des carbo- β -amino acides influence la structure secondaire et empêche la formation des α N-O turns.

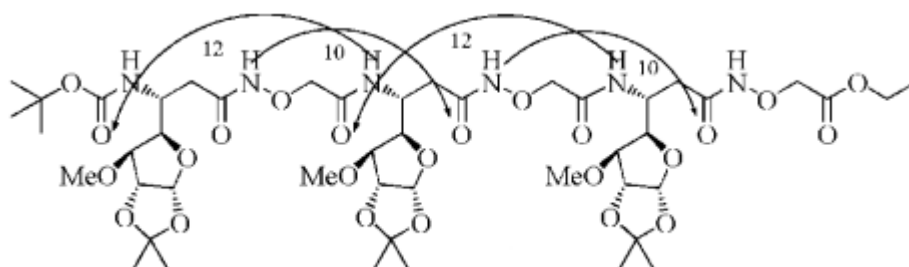


Figure 20. Structure de l'hexapeptide alternant un α -aminosxy acide et un carbo- β -amino acide, les flèches représentant les liaisons hydrogène.

Ces peptides ont ensuite été cyclisés afin d'étudier leur comportement envers les ions.²⁸ Le peptide cyclique (Figure 21) forme des N-O turns à 8 chaînons et montre une affinité importante avec les anions et notamment avec les ions Cl⁻. Ces résultats sont comparables avec les études de Yang effectuées sur les récepteurs cycliques.²³

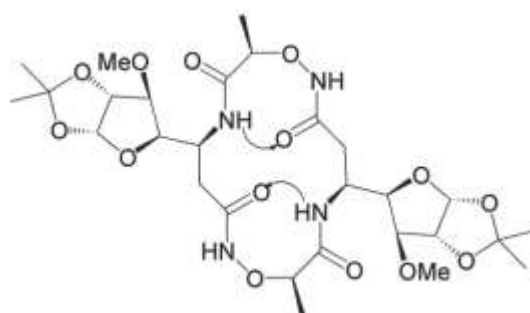


Figure 21. Structure du peptide cyclique, les flèches représentant les liaisons hydrogène.

²⁷ Sharma, G. V. M.; Manohar, V.; Dutta, S. K.; Subash, V.; Kunwar, A. C. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3689-3698.

²⁸ Sharma, G. V. M.; Manohar, V.; Dutta, S. K.; Sridhar, B.; Ramesh, V.; Srinivas, R.; Kunwar, A. C. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 1087-1094.

III.2. Les glycoaminoxy acides

Les acides aminés et les sucres sont deux types de synthons chiraux fondamentaux présents de façon abondante dans la nature.

Les glycoaminoxy acides, portant une fonction amine et une fonction acide carboxylique ont largement été étudiés.²⁹⁻³¹ Au laboratoire, dans la continuité des travaux réalisés sur les glycoaminoxy acides,³²⁻³⁶ la synthèse de glycoaminoxy acides (Figure 22) a alors récemment été réalisée.

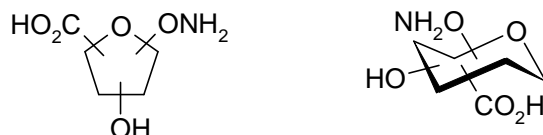


Figure 22. Présentation des glycoaminoxy acides.

III.2.a. En série glucose

Les fonctions aminoxyle et acide carboxylique ont donc été introduites sur le sucre en série glucose (Schéma 1)³⁷ afin de former des analogues d'oligosaccharides et de montrer la possibilité d'obtenir des mimes de glycopeptides. A partir du méthyl α -D-glucoside **9**, le α -C-allyl glucoside **10** a été synthétisé en trois étapes avec un rendement de 75%. La réaction de Mitsunobu avec le *N*-hydroxyphthalimide permet la formation du composé **11** et donc l'introduction de la liaison N-O. La fonction allyle est ensuite oxydée en acide carboxylique *via* une coupure oxydante et une oxydation de Jones pour donner le composé **12** avec un rendement de 60%. La fonction acide carboxylique est ensuite protégée par un ester *tert*-butylique. La fonction aminoxyle est libérée par réaction d'hydrazinolyse pour donner le produit désiré **14** avec un rendement de 77%.

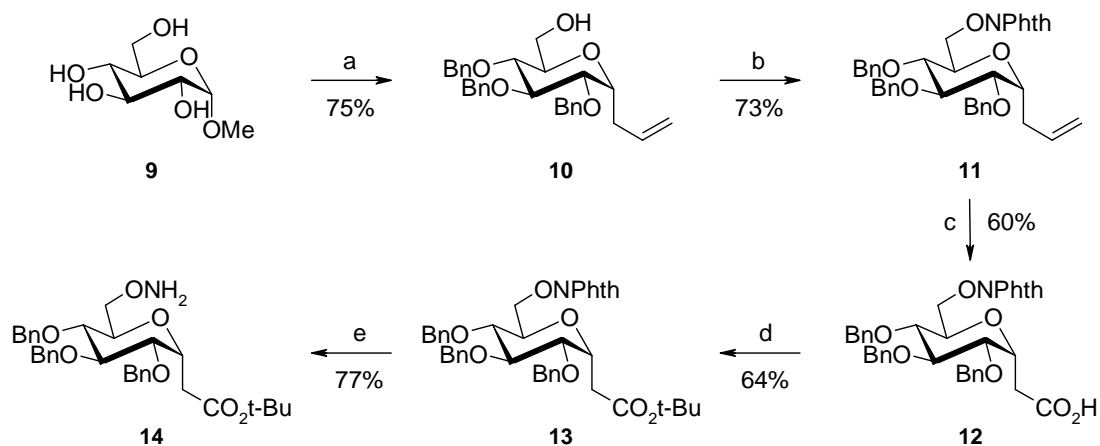


Schéma 1. Synthèse du composé **14**. Réactifs et conditions : a) i-NaH, BnBr, DMF, 98% ; ii-TMSAllyl, TMSOTf, CH₃CN puis Ac₂O, 70% ; iii- MeONa, MeOH, 100% ; b) PhthNOH, PPh₃, DIAD, toluène, 73% ; c) OsO₄, réactif de Jones, 60% ; d) *t*-BuOH, DCC, DMAP, CH₂Cl₂, 64% ; e) NH₂NH₂.H₂O, MeOH, 77%.

²⁹ Schweizer, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 230-253.

³⁰ Gruner, S. A. W.; Locardi, E.; Lohof, E.; Kessler, H. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 491-514.

³¹ Gervay-Hague, J.; Weathers Jr., T. M. *J. Carbohydr. Chem.* **2002**, *21*, 867-910.

³² Xie, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3411-3418.

³³ Xie, J. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 399-406.

³⁴ Durrat, F.; Xie, J.; Valéry, J. M. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1477-1479.

³⁵ Ménand, M.; Blais, J.-C.; Hamon, L.; Valéry, J. M.; Xie, J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4423-4430.

³⁶ Ménand, M.; Blais, J.-C.; Valéry, J. M.; Xie, J. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3295-3298.

³⁷ Malapelle, A.; Ramozzi, R.; Xie, J. *Synthesis* **2009**, 888-890.

Les synthons formés peuvent ensuite être engagés dans des réactions de couplage afin de former des oligosaccharides liés par liaison *N*-oxy amide et des mimes de glycopeptides.

Les synthons **12** et **14** sont donc utilisés pour former le disaccharide **15** *via* une réaction de couplage peptidique (utilisation de DEPC) qui permet la formation de la liaison *N*-oxy amide. Le premier disaccharide lié par liaison *N*-oxy amide a ainsi été synthétisé (Schéma 2).

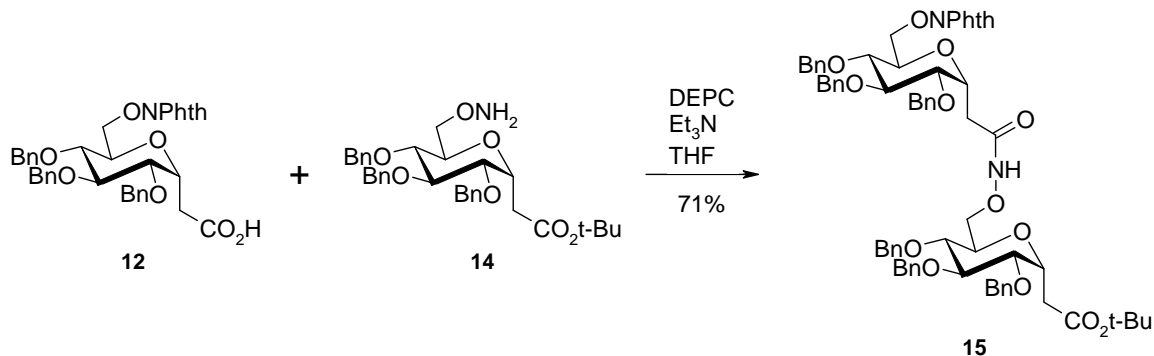


Schéma 2. Synthèse du disaccharide **15**.

Afin de montrer qu'il est possible d'envisager la synthèse de mimes de glycopeptides, le glucoaminoxy ester **14** est couplé avec la Boc-Gly-OH (Schéma 3). Le composé **16** est obtenu avec un rendement de 92%.

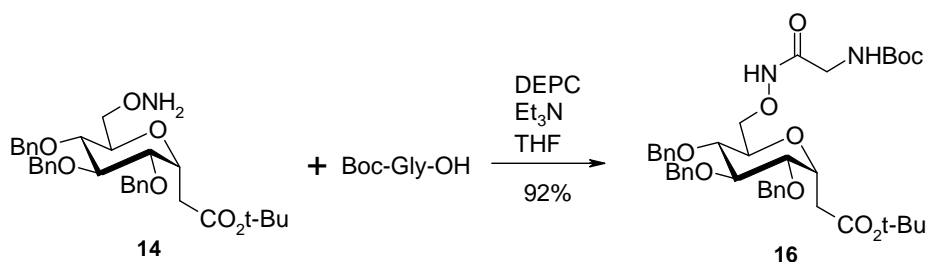


Schéma 3. Synthèse du mime de glycopeptides **16**.

III.2.b. En série ribofuranose

A partir du diacétone-D-glucose **17**, les fonctions aminoxyle et acide carboxylique ont été introduites respectivement en positions 3 et 5 du sucre.³⁸ L'introduction de la fonction aminoxyle se fait *via* une réaction de Mitsunobu. Tout d'abord, la réaction entre le composé **17** et le *N*-hydroxyphthalimide n'a pas fonctionné, sans doute en raison de l'encombrement stérique. Le passage par un mésylate³⁹ ou par un triflate ne conduit qu'au produit d'élimination. Le composé **17** a donc été converti en **19** *via* un enchaînement de réactions d'oxydation, de Wittig, d'hydroboration et d'hydroxylation pour éviter les problèmes d'encombrement stérique. Le composé **20** est ainsi obtenu après réaction de Mitsunobu avec le *N*-hydroxyphthalimide. Ensuite, la déprotection sélective de l'isopropylidène, la coupure oxydante, puis l'oxydation en acide carboxylique et la protection en ester *tert*-butylique conduisent au composé **24**. Enfin la déprotection de l'oxyamine par réaction d'hydrazinolyse conduit au composé **25** qui est engagé dans des réactions de couplage (Schéma 4).

³⁸ Gong, Y.; Sun, H.; Xie, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 6027-6033.

³⁹ Liu, F.; Thomas, J.; Burke Jr., T. R. *Synthesis* **2008**, 2432-2438.

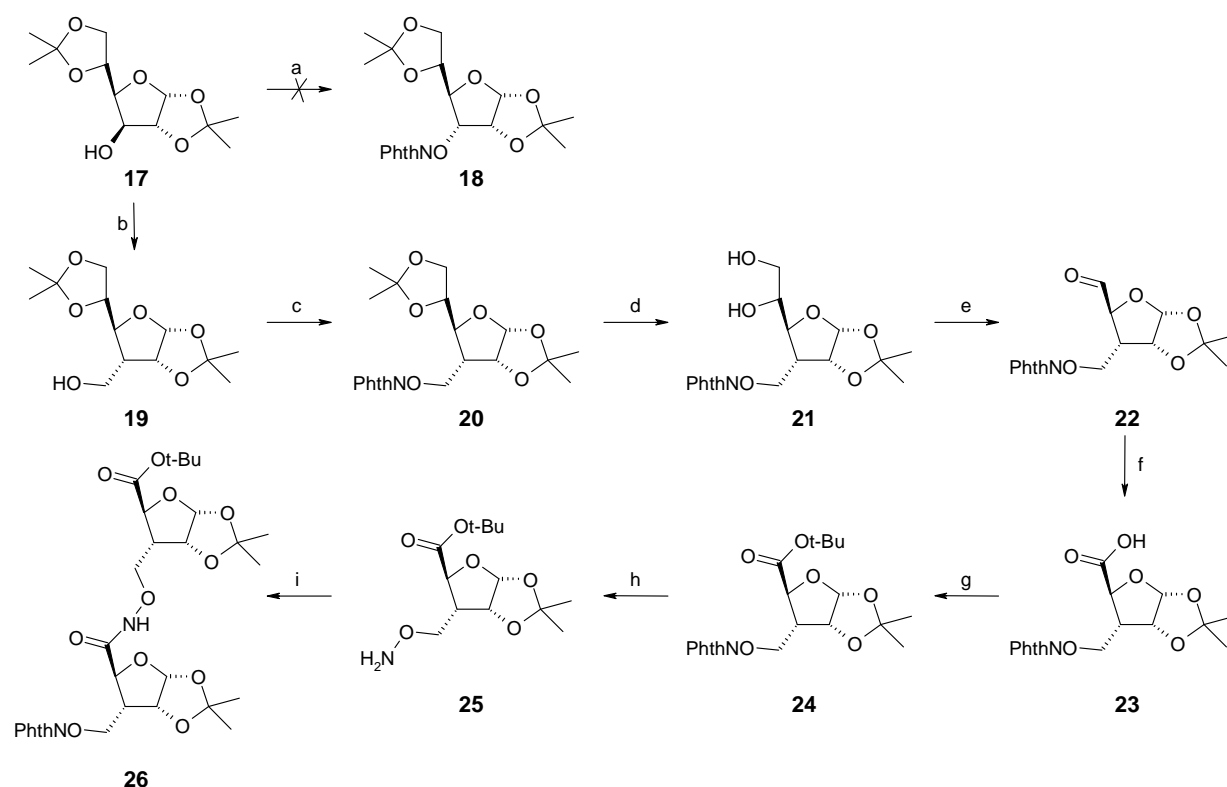


Schéma 4. Synthèse du disaccharide **26**. Réactifs et conditions : a) PhthNOH, PPh₃, DEAD, THF ou DIAD, toluène ; b) i-Oxydation de Collins ; ii-PPh₃=CH₂ ; iii-BH₃, THF ; iv-NaOH 2N, H₂O₂ 30%, 58% ; c) PhthNOH, PPh₃, DIAD, toluène ; d) AcOH 75%, 85% ; e) NaIO₄, EtOH, H₂O ; f) NaClO₂, NaH₂PO₄, CH₃CN, H₂O, *t*-BuOH, 84% ; g) Cl₃CC(=NH)*Ot*-Bu, CH₂Cl₂, BF₃·OEt₂, cyclohexane, 96% ; h) MeNHNH₂, MeOH ; i) **23**, DEPC, Et₃N, THF, 77% ou **23**, EDC, HOBt, DMF, CH₂Cl₂, 81% ou **23**, DPPA, DIPEA, DMF, NaHCO₃, 78%.

Afin de synthétiser des oligosaccharides, des réactions de couplage ont été mises en œuvre. Diverses conditions ont été testées : EDC / HOBt, DEPC / Et₃N, DPPA / DIPEA / NaHCO₃. Ces agents de couplage sont des réactifs couramment utilisés dans les couplages peptidiques. Les premiers dérivés organophosphorés destinés aux couplages peptidiques ont été développés par S. Yamada *et al.* dans les années 1970, notamment l'azoture de diphenylphosphonyle (DPPA)⁴⁰ et par la suite, le cyanure de diéthylphosphonyle (DEPC)⁴¹. Pour la formation du disaccharide **26** (Schéma 4), les trois conditions testées donnent des résultats similaires avec des rendements allant de 77 à 81%. Après réaction d'hydrazinolyse, le couplage entre le disaccharide **27** et le composé **23** permet la formation d'un trisaccharide **28** (Schéma 5) avec un bon rendement (60-63%).

⁴⁰ Shioiri, T.; Ninomiya, K.; Yamada, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6203-6205.

⁴¹ Yamada, S.-I.; Kasai, Y.; Shioiri, T. *Tetrahedron Lett.* **1973**, *14*, 1595-1598.

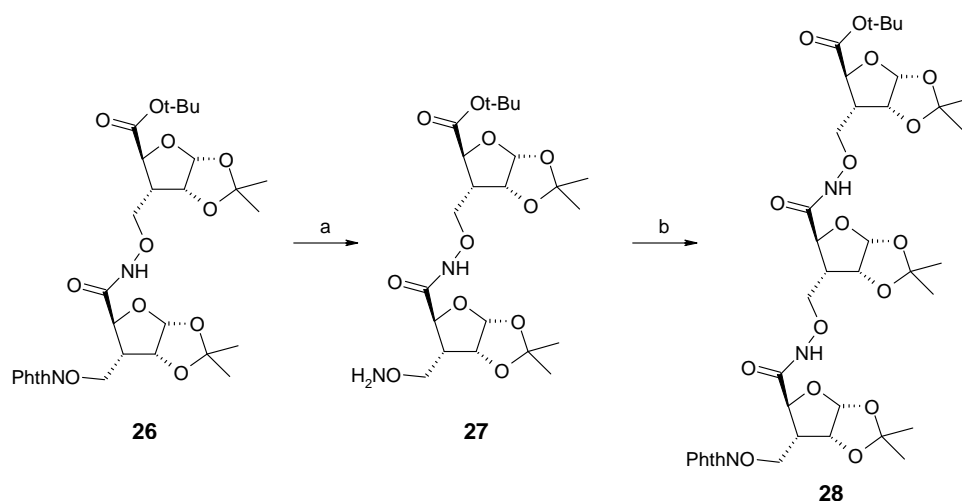


Schéma 5. Synthèse du trisaccharide **28**. Réactifs et conditions : a) MeNHNH₂, MeOH ; b) **23**, DEPC, Et₃N, THF, 60% ou **23**, EDC, HOBT, DMF, CH₂Cl₂, 63%.

Pour former des oligosaccharides, la déprotection de l'ester *tert*-butylique est nécessaire mais il faut utiliser des conditions douces pour ne pas déprotéger l'isopropylidène. L'utilisation de 14% de TFA dans du CH₂Cl₂ à 0°C permet la formation du composé **29** avec un rendement de 77%. Ainsi, des pentasaccharides (**30**) et hexasaccharides (**31**) ont pu être obtenus par couplages successifs avec des rendements respectifs de 40 et 21% (Schéma 6).

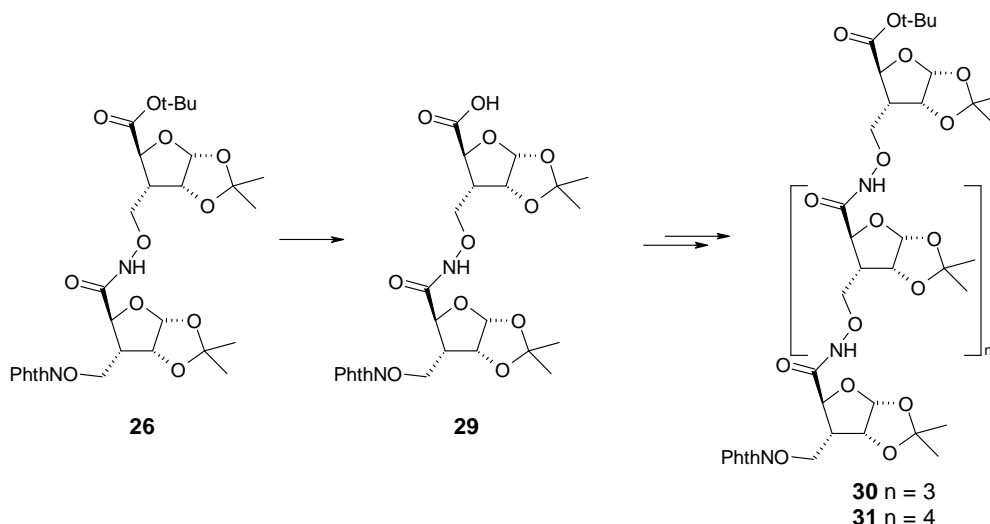


Schéma 6. Synthèse du pentasaccharide **30** et de l'hexasaccharide **31**.

Ce travail a montré la possibilité de développer de nouveaux monomères de glycoaminoxy acides, ces monomères permettant la formation de mimes d'oligosaccharides.

Dans le même temps, une équipe indienne⁴² a reporté l'étude de courts oligosaccharides (trisaccharides) formés sur de nouveaux synthons à base de glycoaminoxy acides, les *cis*-β^{2,3}-furanoid sugar aminoxy acid (*cis*-β-FSAOA) (Figure 23).

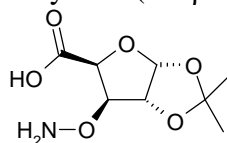


Figure 23. Représentation d'une unité de *cis*-β-FSAOA.

⁴² Chandrasekhar, S.; Rao, C. L.; Reddy, M. S.; Sharma, G. D.; Kiran, M. U.; Naresh, P.; Chaitanya, G. K.; Bhanuprakash, K.; Jagadeesh, B. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 9443-9446.

Le monomère acide **35** a été synthétisé à partir du dérivé **33** déjà reporté dans la littérature⁴³ en 1990 par J. M. J. Tronchet *et al.* (Schéma 7).

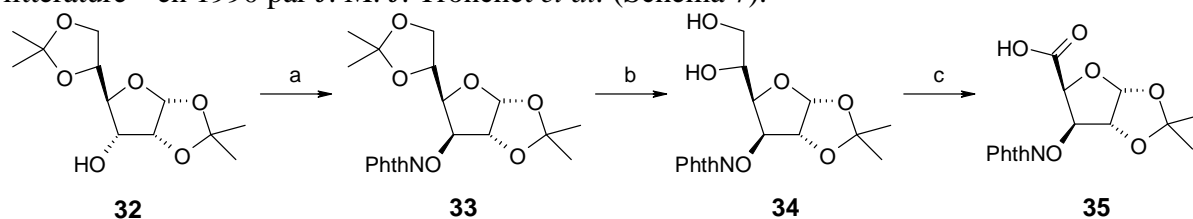


Schéma 7. Synthèse du composé **35**. Réactifs et conditions : a) PhthNOH, PPh₃, DEAD, THF, 59% ; b) H₂SO₄ 0,8%, MeOH, 96% ; c) i-NaIO₄, THF-H₂O ; ii-NaClO₄, NaH₂PO₄, H₂O₂, CH₃CN.

Ces nouveaux oligosaccharides forment une structure secondaire en forme de ruban. Les études ont été menées par calcul, par études RMN et IR. Elles ont montré la formation *via* liaisons hydrogène intramoléculaires de cycles à 7 chaînons entre le NH d'un résidu *i* et le C=O du même résidu *i* ainsi que de cycles à 5 chaînons entre le NH d'un résidu *i* et l'oxygène endocyclique du sucre du résidu *i-1* (Figure 24). Cette géométrie est expliquée par la contrainte apportée par le sucre.

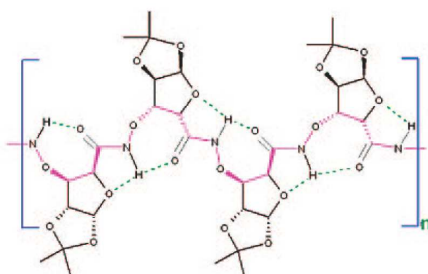


Figure 24. Représentation des liaisons hydrogène intramoléculaires et de la structure en ruban formée par les oligosaccharides.

Cette étude montre l'intérêt à apporter aux glycoaminoxy acides. De nouveaux synthons pourront ainsi être développés pour créer des structures secondaires intéressantes.

III.3. Objectifs

Dans la continuité des travaux réalisés au laboratoire sur les glycoaminoxy acides en série glucose, nous envisageons de développer de nouveaux mimes de glycopeptides à partir de *C*-allyl glycoside en introduisant les fonctions aminoxy et acide carboxylique sur la chaîne anomérique du sucre. D'autre part, dans la continuité des travaux réalisés en série ribofuranose, nous envisageons de développer des nucléosides aminoxy acides puis des oligonucléosides liés par liaison *N*-oxy amide. Afin de comprendre l'intérêt de la préparation de nucléosides modifiés, nous allons tout d'abord résumer les modifications déjà étudiées au niveau des nucléotides et des oligonucléotides, puis nous présenterons les travaux effectués sur les nucléosides aminoxy acides.

⁴³ Tronchet, J. M. J.; Zosimo-Landolfo, G.; Galland-Barrera, G.; Dolatshahi, N. *Carbohydr. Res.* **1990**, *204*, 145-156.

Chapitre II :

Nucléosides, nucléotides et
oligonucléotides modifiés

I. Introduction

En 1868, le biologiste suisse Miescher découvre les acides nucléiques dans les noyaux cellulaires. Il en tire d'ailleurs leur nom du latin *nucleus*, noyau. Les acides nucléiques sont des molécules d'origine naturelle 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 des cellules mais aussi dans leur cytoplasme. Leur structure a été élucidée plus tard avec les travaux initiateurs de Kossel (découverte des quatre bases azotées de l'ADN) à partir de 1882 jusqu'à ceux de Levene en 1927. 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 renferme également le patrimoine héréditaire de chaque individu et le code génétique permettant à chaque cellule « mère » de se diviser en deux cellules « filles » en tous points identiques.

II. Présentation des nucléosides, de l'ADN et des virus

II.1. Nucléosides et nucléotides : définition et structure

Les acides nucléiques sont de très longues molécules, appelées polynucléotides, formées par un enchaînement de nucléosides.

Du point de vue structural, les nucléosides sont l'association par une liaison β -N-glycosidique d'une base azotée (purique ou pyrimidique) et d'un sucre (le ribose pour l'ARN ou le 2-désoxyribose pour l'ADN).⁴⁴ Cette liaison est formée entre l'azote en position 1 des pyrimidines ou l'azote en position 9 des purines et le carbone en position 1' du sucre (Figure 25). La base est en position β , c'est à dire qu'elle se situe au dessus du plan du cycle. Les bases puriques (adénine, guanine) et pyrimidiques (cytosine, thymine dans l'ADN, uracile dans l'ARN) peuvent être abrégées respectivement par A, G, C, T, U, tandis que l'abréviation B ou Base est utilisée dans le cas général.

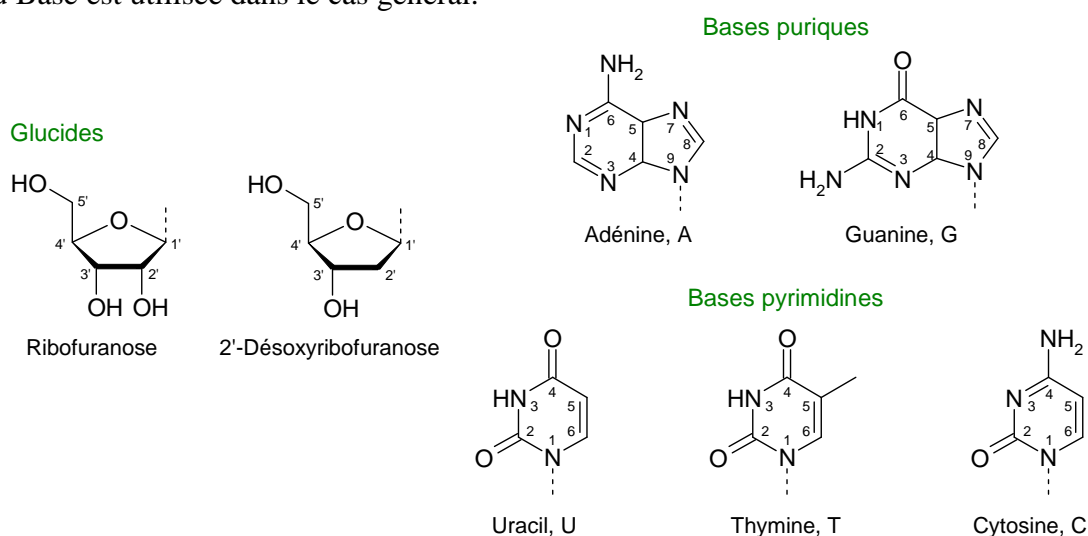


Figure 25. Structure générale des nucléosides.

Un nucléotide est un nucléoside portant un ou plusieurs groupements phosphate sur une des fonctions hydroxyle du sucre. Dans la majorité des cas, le groupement phosphate se positionne en position 5' du sucre (Figure 26).

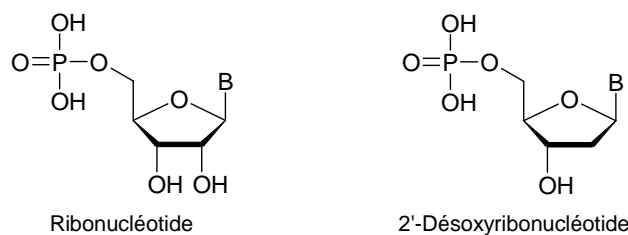


Figure 26. Structure générale des nucléotides.

Les oligonucléotides sont des macromolécules qui résultent de l'enchaînement de plusieurs nucléotides, reliés entre eux par 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 nucléoside, et d'autre part, l'hydroxyle en position 5' du second nucléotide (Figure 27).

⁴⁴ Miller, P. S. *Bioconjugate Chem.* **1990**, *1*, 187-191.

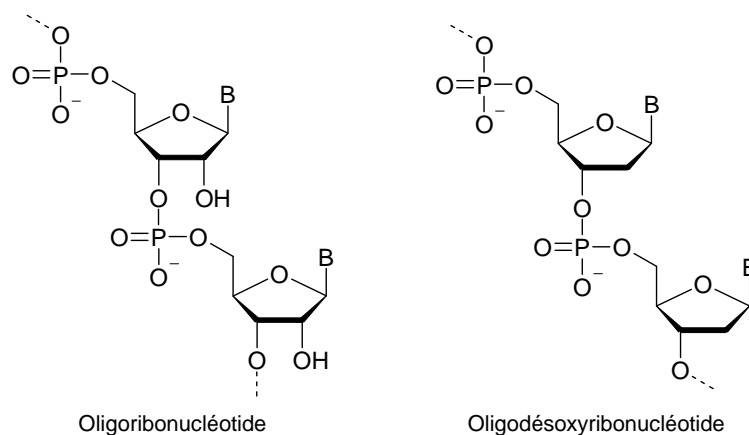


Figure 27. Structure générale des oligonucléotides.

II.2. L'ADN et l'ARN : structure et fonction

II.2.a. Structures de l'ADN et de l'ARN

L'ADN est donc un enchaînement d'un grand nombre de nucléotides reliés entre eux par des liaisons phosphodiester. En 1953, Watson et Crick⁴⁵⁻⁴⁷ ont élucidé pour la première fois la structure de l'ADN à partir de l'observation des travaux de Franklin et Wilkins.^{48,49} Ils ont montré que l'ADN est un polymère linéaire formé de deux brins hélicoïdaux, antiparallèles et complémentaires, reliés par des liaisons hydrogène formées entre les bases azotées (Figure 28).

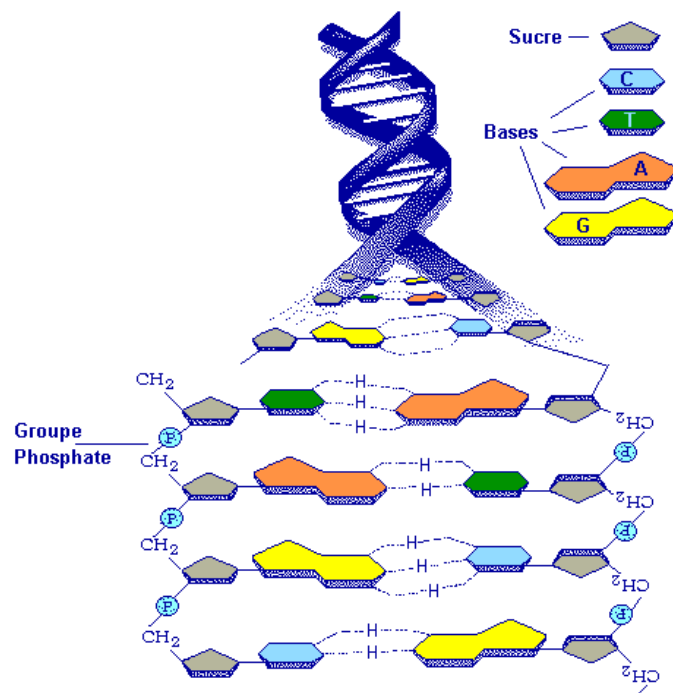


Figure 28. Structure de l'ADN.

⁴⁵ Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Nature* **1953**, *171*, 737-738.

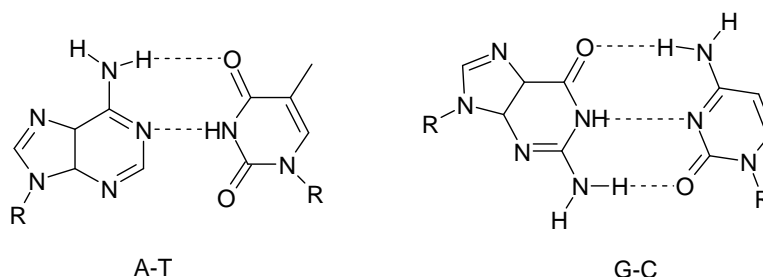
⁴⁶ Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Nature* **1953**, *171*, 964-967.

⁴⁷ Crick, F. H. C.; Watson, J. D. *Proc. Roy. Soc. (A)* **1954**, *223*, 80-96.

⁴⁸ Franklin, R. E.; Gosling, R. G. *Acta Cryst.* **1953**, *6*, 673-677.

⁴⁹ Fuller, W. *Nature* **2003**, *424*, 876-878.

Les deux squelettes pentose-phosphate sont localisés sur les bordures extérieures de l'hélice tandis que les bases azotées se font face à l'intérieur et s'apparient par des liaisons hydrogène maintenant ensemble les deux brins. L'adénine est appariée à la thymine par deux liaisons hydrogène tandis que la guanine et la cytosine sont liées par trois liaisons hydrogène (Figure 29).



A-T G-C
Figure 29. Appariement des bases nucléiques.

Cet appariement spécifique est lié au fait que les liaisons hydrogène ont des distances et des géométries bien déterminées. En effet, l'appariement de deux purines occuperait un volume trop grand pour permettre la formation d'une hélice régulière alors que deux pyrimidines seraient trop éloignées pour former des liaisons stables. L'exactitude de cette règle d'appariement entraîne une complémentarité entre les séquences de bases de deux chaînes associées. Ceci a pour conséquence d'orienter en sens opposé les deux chaînes polynucléotiques (brins antiparallèles).

En 1953, Watson et Crick pensait improbable l'existence d'une structure similaire à l'ADN dans laquelle le ribose remplacerait le désoxyribose.⁴⁵ Cependant, peu de temps après, en 1956, Rich et Davies ont découvert la structure en hélice de l'ARN en associant deux brins simples.⁵⁰ Il existe cependant quelques différences structurales avec la double hélice d'ADN. En effet, la structure hélicoïdale de l'ADN se caractérise par son axe principal, le sens d'enroulement et le pas. Du fait de la position de l'axe au centre de chaque paire de base et de leur attachement dissymétrique sur le squelette ose-phosphate, deux sillons d'ouverture et de profondeur différentes vont alterner sur les flancs de la double hélice : le petit sillon (m) et le grand sillon (M) (Figure 30). Au niveau des sillons, les bases sont visibles et la conformation des sillons permet la lecture de l'ADN, ce qui signifie que les protéines reconnaissent les bases à l'intérieur des sillons.

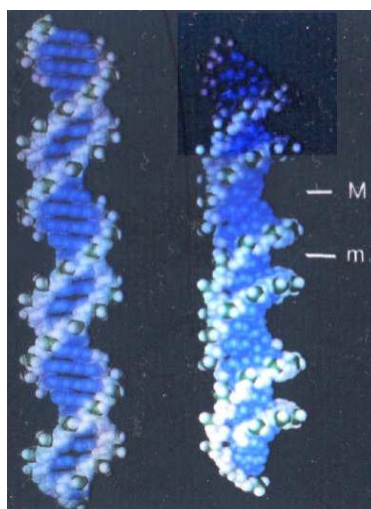


Figure 30. Vue du petit (m) et du grand (M) sillon dans la représentation de l'ADN forme B.

⁵⁰ Rich, A.; Davies, D. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 3548-3549.

Plusieurs structures de la double hélice ont été observées (Figure 31). La première est la forme B correspondant au modèle trouvé par Watson et Crick. L'ADN de forme B est le plus abondant au niveau biologique, car il est le plus stable dans les conditions physiologiques. Il se caractérise par un enroulement droit, un pas de 3,4 nm, dix paires de base par tour, et la rotation du plan des bases de 36° .

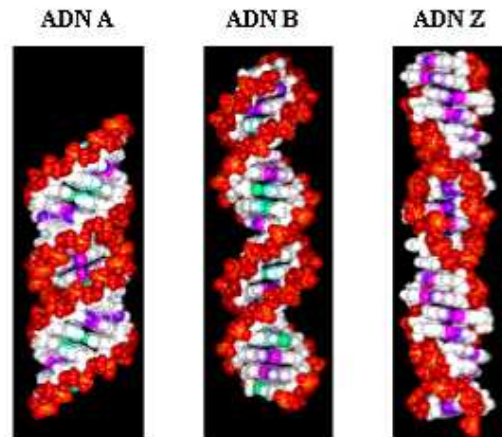


Figure 31. Les différentes formes de l'ADN.

Lorsque l'humidité est faible et que la salinité est forte, l'ADN se présente sous la forme A. Dans ce cas, l'hélice est droite (comme dans l'ADN B), mais plus compacte (pas de 2,8 nm, onze paires de base par tour) et la rotation du plan des bases est de 33° . Cette structure est trouvée *in vivo* dans l'ADN de certaines spores bactériennes, formées en réponse à la dessiccation du milieu et dans les hybrides ADN-ARN qui se forment transitoirement à l'amorce de la réplication et pendant la transcription.

Une troisième forme dite Z se différencie par des hélices qui tournent vers la gauche. Cet ADN de gauche n'est pas l'image dans un miroir de l'ADN de droite. Il a une conformation différente de la forme B. Le squelette sucre-phosphate prend une disposition en zigzag (d'où le nom qui lui a été donné) ; l'hélice est plus allongée et moins torsadée que l'ADN B, et l'intervalle entre les paires de base est légèrement supérieur (pas de 4,5 nm, douze paires de base par tour). La forme Z peut être adoptée par des séquences qui ne sont pas strictement des séquences pyrimidique-purique alternées. Par exemple, l'hexanucléotide m^5CGATm^5CG , contenant deux 5-méthylcytosine (m^5C), cristallise sous forme d'ADN Z. On pense que la méthylation *in vivo* de la cytosine en position 5 favorise le changement de la forme B en Z. En effet, ces groupes méthyle hydrophobes formeraient des saillies à la surface de l'ADN B, ce qui dans l'environnement aqueux du grand sillon déstabiliserait sa structure. Dans la forme Z, ces mêmes groupes méthyle peuvent, au contraire, créer une petite zone hydrophobe stabilisante. Certaines régions spécifiques de l'ADN cellulaire sont probablement de forme Z, les autres étant essentiellement de forme B. Comme la méthylation a un rôle de régulation de l'expression des gènes, l'ADN Z pourrait par sa présence contribuer à la régulation de l'expression de l'information génétique.

En ce qui concerne l'ARN, la chaîne d'ARN simple brin forme une structure en tige boucle. La tige correspond à la partie où les nucléotides sont appariés et forment des hélices dont la conformation est proche de celle de la conformation A de l'ADN : les groupements hydroxyle en 2' des riboses s'opposent à un enroulement de type B. La boucle correspond à la partie où les nucléosides ne sont pas appariés et participent à un motif d'épingle à cheveux qui stabilise la structure (structure en tige boucle - Figure 32).

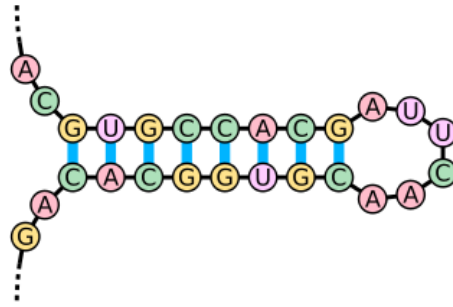


Figure 32. Schématisation de la structure tige-boucle de l'ARN.

La double hélice d'ARN a une conformation de type A et la différence essentielle avec l'ADN est que le petit sillon est plus large que le grand sillon. Dans la double hélice d'ARN, le petit sillon est large et peu profond alors que le grand sillon est étroit et très profond (Figure 33). Pour cette raison, l'ARN est reconnu de manière différente de l'ADN par les protéines.

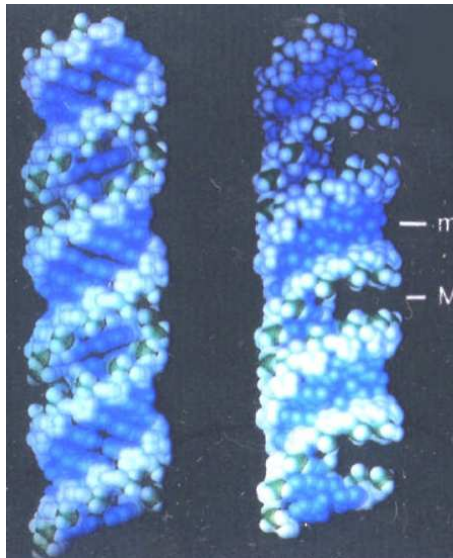


Figure 33. Vue du petit (m) et du grand (M) sillon dans la représentation de l'ARN de forme A.

Trois caractéristiques permettent de différencier l'ADN et l'ARN. Tout d'abord, comme les initiales « ADN » l'indiquent, l'ose constituant l'ADN est le 2'-désoxyribose, et celui constituant l'ARN est le ribose. Ensuite, les bases constituant les nucléotides de l'ADN sont l'adénine, la guanine, la cytosine et la thymine. Dans l'ARN, l'uracile remplace la thymine. Par ailleurs, l'ADN est formé de deux brins de nucléotides alors que l'ARN est le plus souvent monobrin.

II.2.b. Les étapes de réplication, transcription et traduction

L'ADN et l'ARN sont les dépositaires moléculaires de l'information génétique et établissent le scénario de tous les événements se produisant dans une cellule. Chaque protéine et donc chaque constituant cellulaire résulte d'une information programmée dans la séquence nucléotidique de l'ADN. Pour cela, plusieurs étapes entrent en jeu : la réplication, la transcription et la traduction.

La réplication consiste à créer une copie de l'ADN afin de créer des cellules filles identiques aux cellules mères. La réplication est semi-conservatrice, c'est à dire que la

molécule mère donne un de ses brins à chaque molécule fille, qui est complété par une chaîne nouvellement synthétisée. Le processus de réplication nécessite une ouverture du double brin d'ADN. La réplication démarre à l'origine de réplication qui se situe dans une zone riche en adénine et thymine (peu stable), ce qui permet la séparation des deux brins d'ADN par rupture des liaisons hydrogène entre les bases (Figure 34). Le processus de réplication est ensuite effectué grâce à une enzyme, l'ADN polymérase.

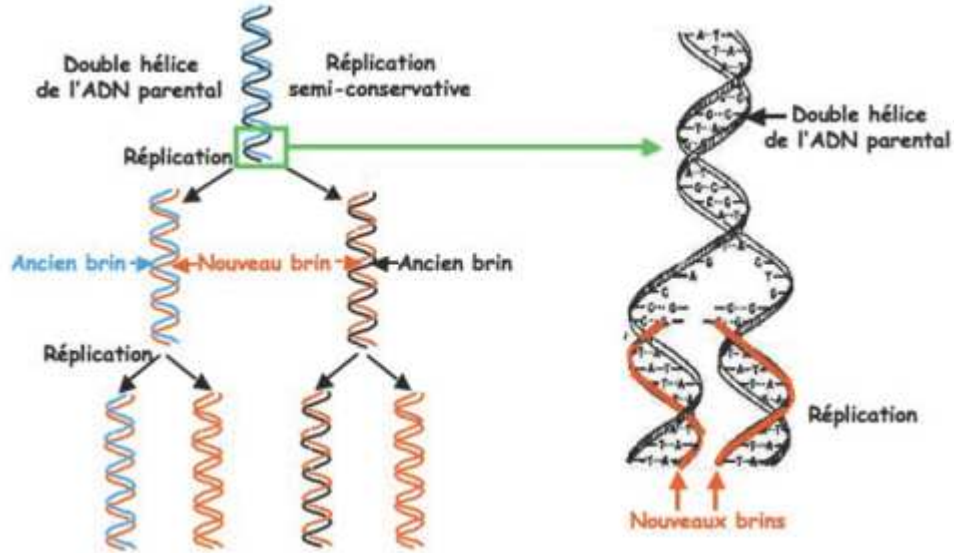


Figure 34. Réplication de l'ADN.

La transcription est le passage de l'ADN à l'ARN (Figure 35). Dans un double brin, un seul porte le message génétique signifiant pour la synthèse des protéines, c'est le brin 5' → 3' appelé brin sens. L'autre brin, le brin matrice, complémentaire du brin sens, permet la synthèse de l'ARN, complémentaire au brin matrice et donc identique en version ARN au brin sens. Le passage par l'ARN est indispensable à la synthèse des protéines. La transcription se fait grâce à une enzyme, l'ARN polymérase qui se fixe sur l'ADN et en permet l'ouverture.

La traduction consiste, à partir de l'ARN messager (ARNm) contenant une séquence nucléotidique composée de codons (association de trois nucléotides), à définir et à polymériser entre eux des acides aminés formant la protéine. Cette étape de traduction est assurée dans le cytoplasme grâce aux ribosomes (Figure 35).

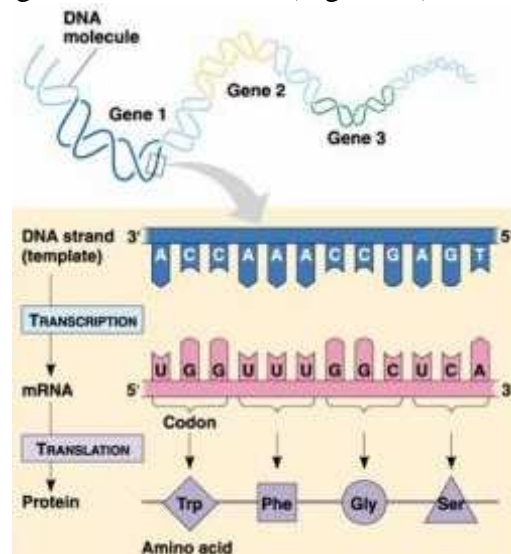


Figure 35. Etapes de transcription et de traduction.

La compréhension de ces mécanismes permet ensuite de comprendre le mode d'action des nucléosides modifiés se révélant être des agents thérapeutiques intéressants.

II.3. Généralités sur les virus

Les virus sont omniprésents sur la Terre et ils sont à l'origine de nombreuses maladies chez les êtres vivants.

II.3.a. Définition et structure d'un virus

En 1957, A. Lwoff⁵¹ a défini les virus de la manière suivante.

Un virus est une entité potentiellement pathogène, strictement intracellulaire, ayant une phase infectieuse qui :

- ne possède qu'un seul type d'acide nucléique,
- se reproduit à partir du seul acide nucléique (les autres êtres se reproduisent à partir de la somme de leurs constituants),
- est incapable de croître et de suivre des divisions binaires,
- n'a aucune information génétique concernant les enzymes du métabolisme intermédiaire,
- utilise des structures de la cellule-hôte et spécialement les ribosomes pour sa multiplication.

Un virus n'infecte pas toutes les espèces. En effet, certains virus n'infectent qu'un hôte (par exemple, l'hépatite B et la rougeole n'infectent que l'Homme) et certains virus infectent plusieurs hôtes comme le virus de la rage infecte l'homme, le renard, le chien, le chat...

Chez un animal, un virus n'infecte généralement qu'un seul type cellulaire. Par exemple, le virus de l'hépatite B infecte le foie, celui de la rage les neurones.

Un virus est un agent infectieux très simple, défini par une structure se résumant à deux ou trois éléments, selon les virus. Ces éléments sont la capsidie qui contient le matériel génétique sous forme d'ADN ou d'ARN, une ou quelques enzymes, et parfois une enveloppe (Figure 36).

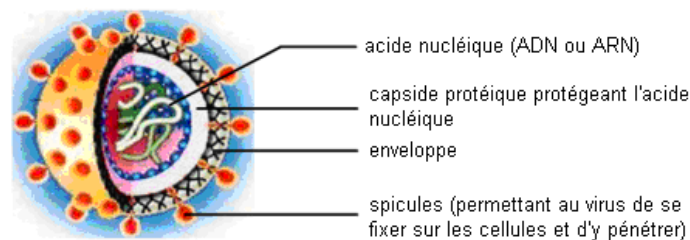


Figure 36. Structure générale d'un virus.

La capsidie est une structure protéique dans laquelle le génome est protégé. Elle a une conformation géométrique qui, selon les virus, est soit tubulaire, soit polyédrique. Le virus utilise un nombre minimal de gènes pour constituer cette capsidie formée de plusieurs unités répétitives (les protéines de capsidie). La capsidie protège le virion lorsque celui-ci se trouve à l'extérieur. Dans le cas d'un virus nu (sans enveloppe), c'est elle qui porte les déterminants viraux qui se lient spécifiquement à des récepteurs cellulaires. La capsidie de certains virus peut être entourée d'une enveloppe de même nature lipidique que les cellules infectées. Cette

⁵¹ Lwoff, A. *J. Gen. Microbiol.* **1957**, 17, 239-253.

enveloppe porte alors les déterminants viraux (glycoprotéines...) qui se lient aux récepteurs cellulaires de manière spécifique. Après fixation aux récepteurs de la membrane cellulaire, l'enveloppe peut fusionner avec cette membrane et permettre l'introduction de la nucléocapside dans la cellule. La présence ou non de l'enveloppe règle en grande partie le mode de transmission des virus.

II.3.b. Multiplication des virus

La simplicité extrême des virus les empêche de se multiplier par eux-mêmes. Pour cela, ils doivent pénétrer à l'intérieur d'une cellule où se trouvent la matière première, les sources d'énergies et les enzymes nécessaires à la multiplication virale. Ainsi, la cellule (cellule hôte) va permettre au virus de se multiplier, selon le procédé de la réplication.

Le cycle de multiplication du virus se divise en quatre étapes (Figure 37) : l'attachement du virus à la cellule hôte, la pénétration dans la cellule avec ou sans décapsidation, la réplication des génomes viraux et enfin la libération (assemblage du virus et sortie de la cellule).

L'étape d'attachement commence par l'entrée en contact du virus et de la cellule. Le virus reconnaît des molécules (protéines, sucres, lipides complexes) situées à la surface de la cellule et se lie à elles par des liaisons non covalentes.

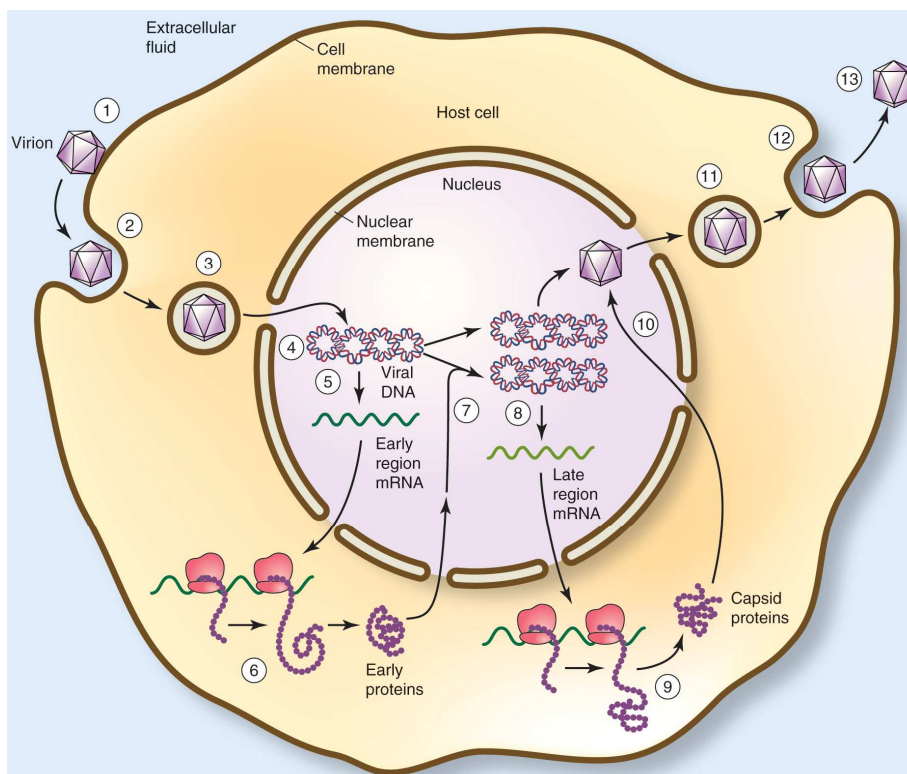


Figure 37. Représentation du cycle de multiplication du virus (numéro 1 : l'attachement, numéro 2 à 3 : pénétration dans la cellule, numéro 4 à 10 : la réplication, numéro 11 à 13 : la libération).

La pénétration dans la cellule peut se faire de trois façons différentes (Figure 38). Pour les virus enveloppés, le plus courant est la fusion directe entre l'enveloppe virale et la membrane cytoplasmique (cas du VIH). L'entrée peut aussi se faire par endocytose, un endosome se forme et libère ensuite le virus dans la cellule. Les structures virales à l'intérieur de la cellule sont ensuite dégradées, à l'exception du génome qui, débarrassé de la capsid, se trouve libéré.

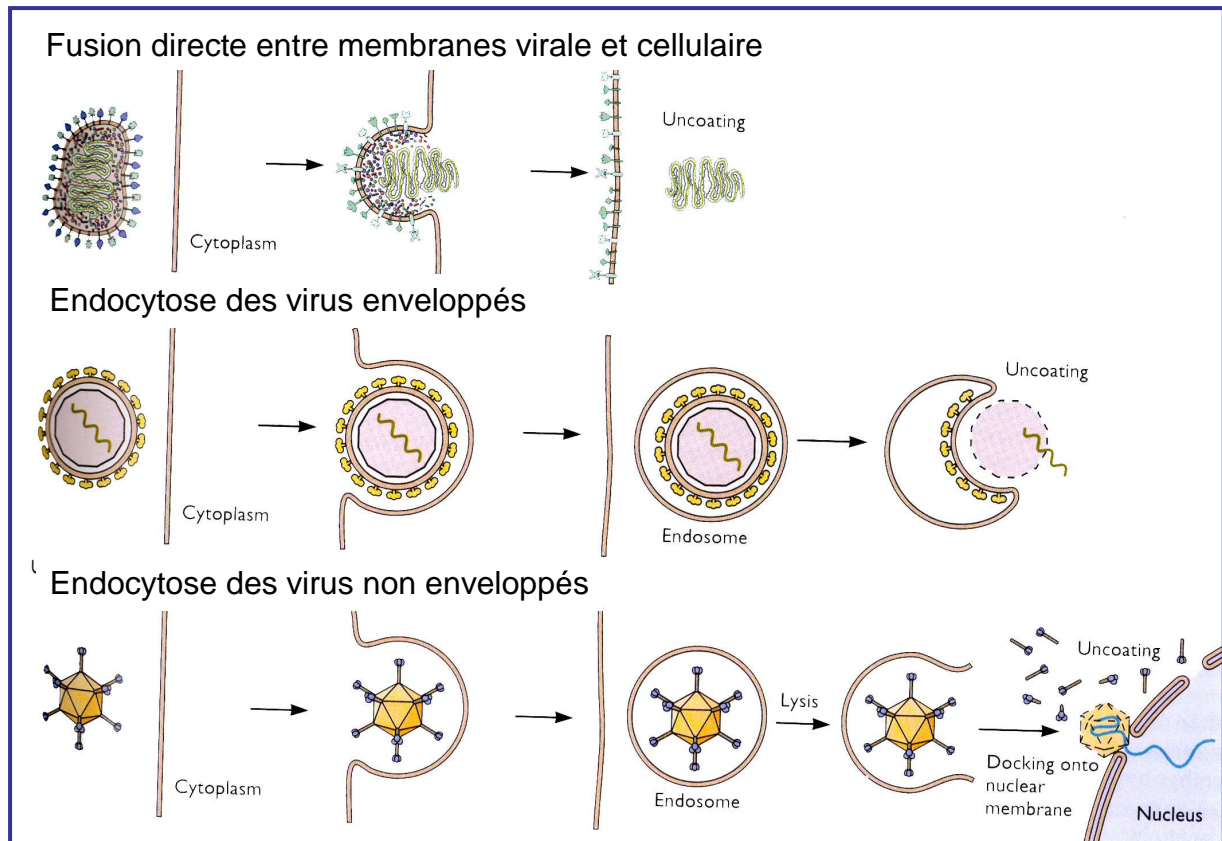


Figure 38. Etapes d'entrée du virus dans la cellule.

La cellule va donc produire des virus, il s'agit de l'étape de réplication. Plus précisément, le génome viral, les protéines virales et les protéines de capsidie vont être copiés. Le mécanisme de la réplication varie selon que le virus soit à ADN ou à ARN.

La dernière étape est la libération. Les nouveaux génomes viraux fabriqués par la cellule s'entourent de nouvelles protéines virales également fabriquées par la cellule. Cet emballage est l'encapsidation des génomes qui aboutit à la formation de nouveaux virus. Ces nouveaux virus sont relargués hors de la cellule par éclatement pour les virus nus, par bourgeonnement pour les virus à enveloppe.

Parmi les différents virus existants, notre attention s'est portée sur le VIH (virus d'immunodéficience humaine), qui est à l'origine du SIDA (syndrome d'immunodéficience acquise), maladie décrite pour la première fois en 1981.

II.3.c. Le virus du SIDA

Le SIDA est la conséquence de la destruction du système immunitaire humain par un rétrovirus, le VIH. Les premiers signes de l'épidémie remontent à la fin des années 1970. Le VIH a été identifié au début des années 80 par l'équipe de Luc Montagnier⁵² à l'Institut Pasteur. Deux virus sont en fait responsables du SIDA : le VIH-1 et le VIH-2. Le VIH-1 est le plus virulent et le plus facilement transmissible, il est la source de la majorité des infections à travers le monde. Le VIH-2 est surtout présent en Afrique de l'ouest.

⁵² Barré-Sinoussi, F.; Chermann, J. C.; Rey, F.; Nugeyre, M. T.; Chamaret, S.; Gruest, J.; Dauguet, C.; Axler-Blin, C.; Vézinet-Brun, F.; Rouzioux, C.; Rozenbaum, W.; Montagnier, L. *Science* **1983**, 220, 868-871.

Le VIH-1 est un lentivirus composé de deux copies d'ARN simple brin fermées dans une capsidie conique, qui est entourée par une membrane plasmique. Les enzymes contenues dans le virus sont la transcriptase inverse, l'intégrase et la protéase (Figure 39).

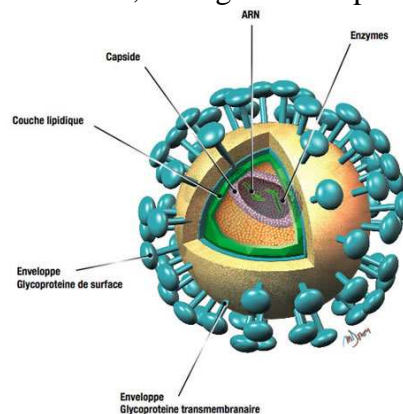


Figure 39. Structure du VIH.

L'entrée du VIH dans la cellule se fait par attachement aux récepteurs CD4 par le biais des glycoprotéines gp120 présentes à la surface du virion. Ensuite, la transcriptase inverse, découverte par H. M. Temin et D. Baltimore,⁵³ permet le passage du brin d'ARN en ADN double brin. L'ADN viral ainsi synthétisé entre dans le noyau de la cellule et est alors incorporé dans le génome de la cellule hôte. Dans certaines conditions, le génome viral est inactif et dans d'autres le virus est transcrit et s'exprime par le biais de deux ARNm qui aboutissent à la synthèse de trois protéines. Ces protéines sont ensuite clivées par des protéases pour aboutir aux différentes protéines virales qui sont ensuite assemblées pour former un nouveau virion (Figure 40).

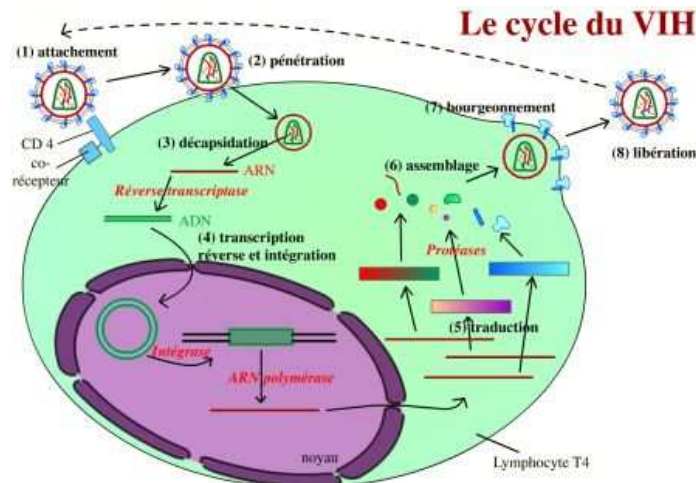


Figure 40. Le cycle de multiplication du VIH.

Les traitements contre le virus du SIDA existent mais ne sont pas des traitements curatifs. Ils permettent une réduction du nombre de virions dans le sang. Les médicaments utilisés sont souvent, dans le cas des virus, des analogues de nucléosides.

⁵³ Temin, H. H.; Baltimore, D. *Adv. Virus Res.* **1972**, *17*, 129-186.

III. Nucléosides et analogues

Les analogues de nucléosides utilisés en chimie thérapeutique présentent une structure proche des nucléosides puriques et pyrimidiques qui sont les éléments constitutifs de l'ADN et de l'ARN. Grâce à leurs rôles biologiques essentiels, ils peuvent posséder de nombreuses propriétés antivirales, antibactériennes, antitumorales ou encore anticancéreuses. La recherche dans ce domaine a conduit à de nombreuses modifications portant sur la base et / ou le sucre des nucléosides naturels. A ce jour, plus de 40 médicaments possédant une structure nucléotidique ont été mis sur le marché. Ces analogues de nucléosides peuvent être classés de deux manières différentes, soit suivant la structure des nucléosides, soit suivant les maladies contre lesquelles ils sont actifs.

III.1. Mode d'action des analogues de nucléosides

Les analogues de nucléosides sont des composés inactifs qui traversent la membrane cellulaire à l'aide de transporteurs nucléosidiques. Ils subissent, par le biais d'enzymes spécifiques, plusieurs étapes de phosphorylation et peuvent ensuite être actifs. Ils peuvent agir de trois façons différentes contre les infections virales :

- comme inhibiteurs de la transcriptase inverse en empêchant la « reproduction » du virus (dans le cas du VIH par exemple)
- comme inhibiteurs de l'ADN polymérase (dans le cas de l'herpès par exemple)
- comme inhibiteurs de l'ARN réplicase ou de l'ARN polymérase ARN dépendante (dans le cas de l'hépatite C par exemple).

Dans le cadre d'une activité anticancéreuse, les nucléosides modifiés et phosphorylés exercent une activité cytotoxique par interaction avec les enzymes du métabolisme des nucléotides physiologiques en perturbant leur fonctionnement ou par incorporation dans les chaînes d'ADN et ARN en provoquant des erreurs. Ces phénomènes induisent la mort de la cellule par apoptose. Dans le cadre d'une activité antivirale, les dérivés di- et triphosphates s'intègrent dans l'ADN ou l'ARN viral et jouent le rôle de terminateurs de chaîne.

III.2. Les 1^{ers} analogues

Un des premiers analogues de nucléosides possédant une activité antivirale intéressante fut la β -D-2'-désoxy-5-iodouridine **36** (IdU). Mise au point par W. Prusoff,⁵⁴ c'est un nucléoside à base modifiée (Figure 41). Ce composé a été utilisé dans le traitement de certaines infections herpétiques mais son utilisation n'a pas été poursuivie à cause de son manque de sélectivité et des effets secondaires intolérables en utilisation systématique.

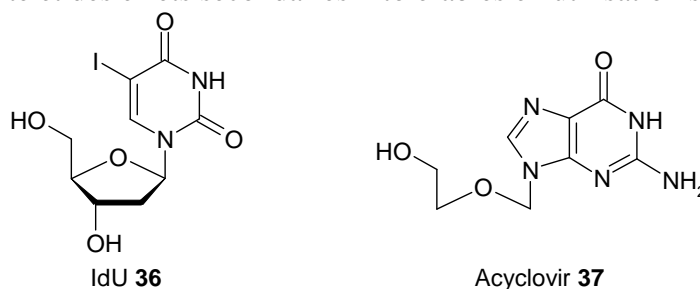


Figure 41. Structure chimique de l'IdU **36** et de l'Acyclovir **37**.

⁵⁴ Prusoff, W. H. *Biochim. Biophys. Acta* **1959**, 32, 295-296.

L'acyclovir **37** est le premier antiviral bien toléré, mis au point par G. Elion *et al.*⁵⁵⁻⁵⁷ en 1977. Ce nucléoside non naturel a une structure acyclique, c'est à dire que le cycle furanose est supprimé (Figure 41) et donc la structure est dépourvue de 3'-OH, ce qui en fait un terminateur de chaîne. L'efficacité et la sélectivité de cet antiviral a provoqué un engouement sans précédent pour la recherche de nouveaux nucléosides modifiés, afin de tenter d'obtenir une molécule beaucoup plus active et dépourvue de toxicité. La recherche de nouveaux dérivés a conduit à de nombreuses familles de dérivés nucléotidiques (Figure 42), nous allons maintenant en développer quelques unes.

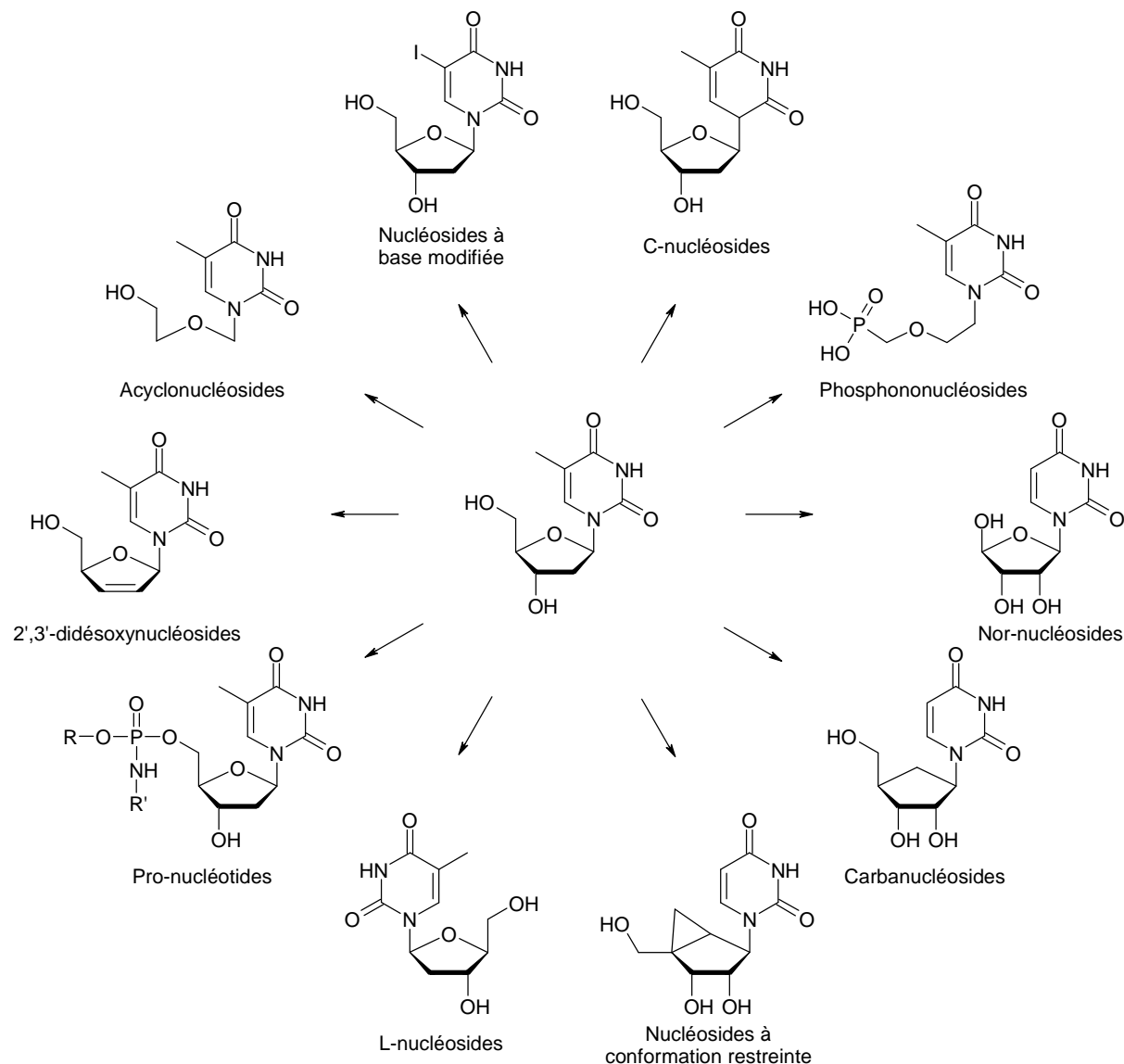


Figure 42. Principales familles de dérivés nucléosidiques.

⁵⁵ Elion, G. B.; Furman, P. A.; Fyfe, J. A.; De Miranda, P.; Beauchamp, L.; Schaeffer, H. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1977**, *74*, 5716-5720.

⁵⁶ Schaeffer, J. H.; Beauchamp, L.; De Miranda, P.; Elion, G. B.; Bauer, D. J.; Collins, P. *Nature* **1978**, *272*, 583-585.

⁵⁷ Furman, P. A.; St. Clair, M. H.; Fyfe, J. A.; Rideout, J. L.; Keller, P. M.; Elion, G. B. *J. Virol.* **1979**, *32*, 72-77.

III.3. Les nucléosides à base modifiée

Les bases présentes dans l'ADN et l'ARN codent l'information génétique. Elles forment des liaisons hydrogène entre elles, permettent la stabilité de l'ADN et peuvent interagir avec les enzymes. Le développement de nucléosides à base modifiée est donc un vaste domaine de recherche dans lequel les modifications peuvent prendre diverses formes, allant d'une simple addition d'atomes à la substitution de certains atomes voire au changement de la base entière par un autre hétérocycle.

La modification la plus fréquemment apportée sur les bases pyrimidiques consiste à introduire sur leur noyau un ou plusieurs substituants. Comme nous venons de le voir, l'IdU **36** (Figure 41) fait partie de cette famille. D'autres exemples, comme la 2'-désoxy-5-trifluorométhyluridine **38** (TFT),⁵⁸ la 2'-désoxy-5-éthyluridine **39** (EdU)⁵⁹⁻⁶¹ et la 2'-désoxy-5-propyluridine **40**⁶² ont montré des propriétés contre le virus de l'herpès (HSV). La 5-bromovinyl-2'-désoxyuridine **41** (BVDU)⁶³, quant à elle, est employée dans le traitement du Virus Varicelle-Zona (VZV) et contre l'herpès de type 1 (HSV-1).⁶⁴ Sa sélectivité est due au fait qu'elle est phosphorylée spécifiquement par la thymidine kinase du virus, suivie par une interaction avec l'ADN polymérase virale.

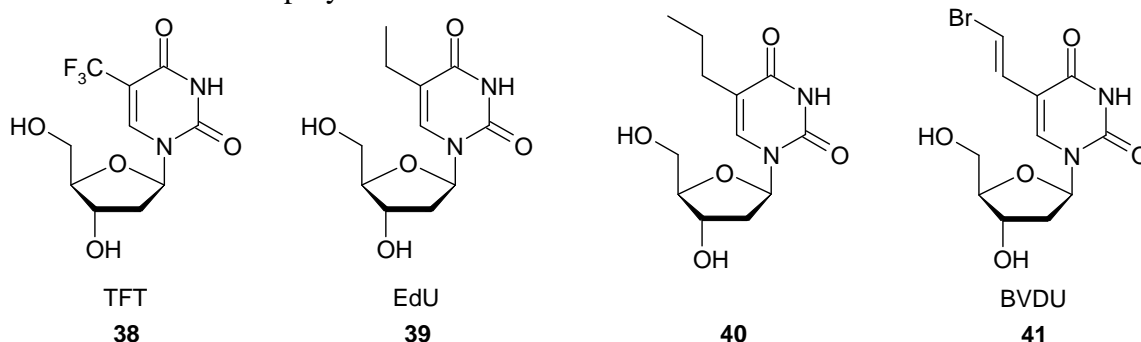


Figure 43. Structures chimiques de nucléosides à base pyrimidique modifiée.

En ce qui concerne les nucléosides à base purique modifiée, plusieurs molécules ont été mises sur le marché dans les années 1980-90. Par exemple, la cladribine **42** et la fludaribine **43** (Figure 44) ont une structure similaire à l'adénosine et à la 2'-désoxyadénosine mais elle comporte un halogène en position 2 de la base, respectivement un chlore et un fluor. Ces molécules sont utilisées dans le traitement de la leucémie à tricholeucocytes⁶⁵ qui se caractérise par une accumulation anormale de lymphocytes B.

⁵⁸ Kaufman, H. E.; Martola, E.; Heidelberger, C. *Science* **1964**, *145*, 585-585.

⁵⁹ Shapira, J. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 1918-1919.

⁶⁰ Swierkowski, M.; Shugar, D. *J. Med. Chem.* **1969**, *12*, 533-534.

⁶¹ Davis, W. B.; Oakes, J. E.; Taylor, J. A. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **1978**, *14*, 743-748.

⁶² De Clercq, E.; Descamps, J.; Shugar, D. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **1978**, *13*, 545-547.

⁶³ De Clercq, E.; Descamps, J.; De Somer, P.; Barr, P. J.; Jones, A. S.; Walker, R. T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1979**, *76*, 2947-2951.

⁶⁴ De Clercq, E. *Biochem. Pharm.* **2004**, *68*, 2301-2315.

⁶⁵ Robak, T. *Cancer Treat. Rev.* **2006**, *32*, 365-376.

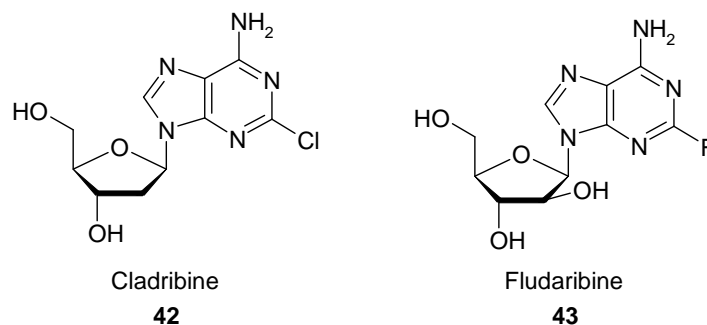


Figure 44. Structures chimiques de nucléosides à base purique modifiée.

On trouve également des analogues C-nucléosidiques, où la partie glycosidique est reliée à la base par une liaison C-C à la place de la liaison C-N. Ces composés ont l'avantage de résister à l'hydrolyse chimique et enzymatique. Un grand nombre de dérivés C-nucléosidiques sont des composés naturels. Parmi eux, la pseudouridine **44**⁶⁶ possède une base pyrimidique dont l'atome d'azote en position 1 est déplacé en position 5 (Figure 45). Toutefois, cette molécule ou ses analogues n'ont pas exprimé d'activité biologique suffisante pour être utilisés à un niveau thérapeutique. La showdomycine **45**⁶⁷ a également été isolé de l'ARN et c'est un antibiotique naturel.⁶⁸

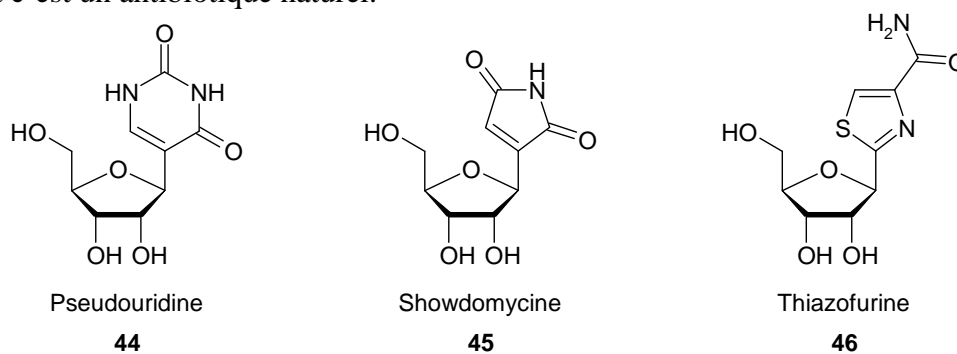


Figure 45. Structures chimiques d'analogues C-nucléosidiques.

Ainsi, de nombreux dérivés C-nucléosidiques ont été développés ces dernières années.⁶⁹ Parmi eux, quelques uns possèdent des activités antivirales et anticancéreuses prononcées. Par exemple, la thiazofurine **46**^{70,71} possède une base avec un motif thiazole (Figure 45) et est un puissant agent cytostatique⁷² récemment approuvé pour le traitement de la leucémie myéloïde chronique. D'autres composés, tels que la formycine et ses dérivés qui présentent des bases C-puriques (Figure 46), ont dévoilé des propriétés antibiotiques et cytotoxiques.⁷³ Les formycines agissent en inhibant la purine nucléoside phosphorylase et les nucléosidases (enzymes capables de catalyser la décomposition par hydrolyse des nucléosides), ce qui leur confère un caractère potentiellement antitumoral.⁷⁴

⁶⁶ Cohn, W. E. *J. Biol. Chem.* **1960**, 235, 1488-1498.

⁶⁷ Nishimura, H.; Mayama, M.; Komatsu, Y.; Kato, H.; Shimaoka, N.; Tanaka, Y. *J. Antibiotics* **1964**, 17, 148-155.

⁶⁸ Matsuura, S.; Shiratori, O.; Katagiri, K. *J. Antibiotics* **1964**, 17, 234-237.

⁶⁹ Stambasky, J.; Hocek, M.; Kocovsky, P. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 6729-6764.

⁷⁰ Fuertes, M.; Garcia-Lopez, T.; Garcia-Munoz, G.; Stud, M. *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 4074-4077.

⁷¹ Srivastava, P. C.; Pickering, M. V.; Allen, L. B.; Streeter, D. G.; Campbell, M. T.; Witkowski, J. T.; Sidwell, R. W.; Robins, R. K. *J. Med. Chem.* **1977**, 20, 256-262.

⁷² Kovacs, G.; Simonidesz, V.; Tomoskozi, I.; Kormoczy, P.; Székely, I.; Papp-Behr, A.; Stadler, I. *J. Med. Chem.* **1982**, 25, 107-108.

⁷³ Henderson, J. F.; Paterson, A. R. P.; Caldwell, I. C.; Hori, M. *Cancer Res.* **1967**, 27, 715-719.

⁷⁴ Brownska, A. *Modified Nucleosides: Biochemistry, Biotechnology and Medicine*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany ed.; Herdewijn, P., 2008 ; pp 473-510.

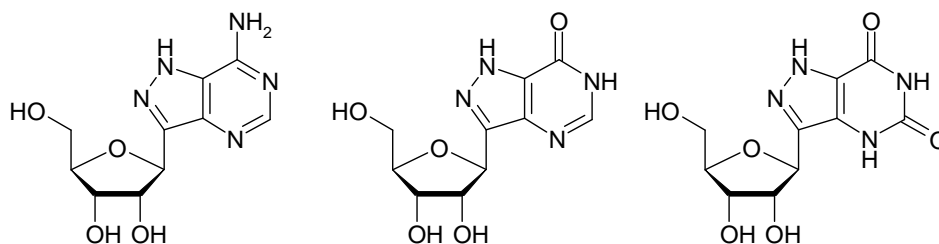


Figure 46. Structures chimiques de dérivés formycines.

Des nucléosides possédant un noyau triazole à la place de la base ont également été développés. Le noyau 1,2,3-triazole a l'avantage de posséder un haut moment dipolaire⁷⁵ et se révèle capable de participer à la formation de liaisons hydrogène et d'interactions de type π stacking.⁷⁶ Il est particulièrement stable aux conditions acides, basiques, oxydantes et réductrices, par une forte stabilisation aromatique et suggère une bonne résistance aux dégradations métaboliques.⁷⁷ Cet hétérocycle se révèle donc être un bon candidat pour une utilisation comme base nucléosidique modifiée. De plus, l'utilisation de la cycloaddition 1,3-dipolaire CuAAC entre un azoture et un alcyne permet un accès rapide aux bases 1,2,3-triazole.

La ribavirine **47**, découverte en 1972, est active à la fois sur les virus à ADN et à ARN, et principalement sur l'hépatite C.⁷⁸ Elle est de nos jours utilisée dans le traitement de ce virus malgré la présence d'effets secondaires très importants.⁷⁹

En 2003 puis en 2005, des analogues carbocycliques ont été synthétisés par l'équipe de L. A. Agrofoglio.^{80,81} Les composés **48** et **49** et le dérivé phosphonique **50** (Figure 47) montrent des activités antivirales respectives de 44, 42 et 37 μM sur le VIH-1.

R. Benhida *et al.*^{82,83} ont développé des nucléosides 2'-désoxyribosyles puis ribosyles possédant une base 1,2,3-triazole substituée par des chaînes lipophiles ou des aromatiques. Le composé ribosyle **51** (Figure 47) présente des activités inhibitrices respectives de 44, 50 et 56 μM sur des cellules cancéreuses L1210, Molt4/C8 et CEM.

⁷⁵ Bourne, Y.; Kolb, H. C.; Radlc, Z.; Sharpless, K. B.; Taylor, P.; Marchot, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 1449-1454.

⁷⁶ Whiting, M.; Muldoon, J.; Lin, Y.-C.; Silverman, S. M.; Lindstrom, W.; Olson, A. J.; Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B.; Elder, J. H.; Fokin, V. V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1435-1439.

⁷⁷ Tron, G. C.; Pirali, T.; Billington, R. A.; Canonico, P. L.; Sorba, G.; Genazzani, A. A. *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 278-308.

⁷⁸ Witkowski, J. T.; Robins, R. K.; Khare, G. P.; Sidwell, R. W. *J. Med. Chem.* **1973**, *16*, 935-937.

⁷⁹ Lindhal, K.; Stahle, L.; Bruchfeld, A.; Schvarcz, R. *Hepatology* **2005**, *41*, 275-279.

⁸⁰ Saito, Y.; Escuret, V.; Durantel, D.; Zoulim, F.; Schinazi, R. F.; Agrofoglio, L. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 3633-3639.

⁸¹ Joubert, N.; Schinazi, R. F.; Agrofoglio, L. A. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 11744-11750.

⁸² Guezguez, R.; Bougrin, K.; El Akri, K.; Benhida, R. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 4807-4811.

⁸³ El Akri, K.; Bougrin, K.; Balzarini, J.; Faraj, A.; Benhida, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6656-6659.

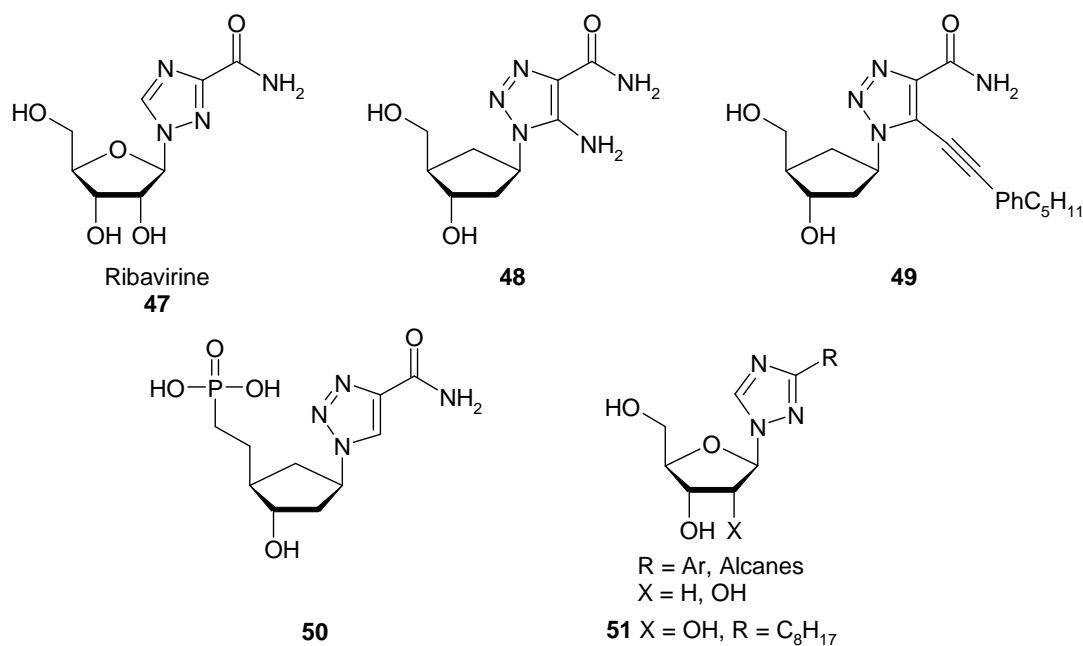


Figure 47. Exemples de nucléosides possédant un triazole à la place de la base.

III.4. Les nucléosides à structure ribosyle modifiée

En plus de la modification des bases, la recherche s'est aussi orientée sur la modification de la partie sucre des nucléosides. Le plus connu des nucléosides de ce type est sans doute l'AZT **52**. Il est modifié en position 3' du sucre avec une fonction azoture à la place de l'hydroxyle,⁸⁴ et il a été le premier agent antirétroviral testé contre le VIH.⁸⁵ Il agit par inhibition du fonctionnement de la transcriptase inverse. Une fois transformé en dérivé triphosphate, il est incorporé dans l'ADN viral par la transcriptase inverse et comme il ne possède pas de fonction hydroxyle libre, il ne peut pas être phosphorylé, ce qui bloque le processus de réplication et la production d'ADN viral.^{86,87} L'AZT **52** est employé dans les trithérapies contre le VIH et a encouragé les recherches vers d'autres modifications de la structure ribosyle.

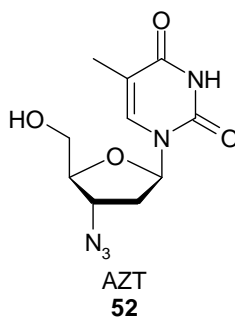


Figure 48. Structure chimique de l'AZT **52**.

⁸⁴ Horwitz, J. P.; Chua, J.; Noel, M. *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 2076-2078.

⁸⁵ Mitsuya, H.; Weinhold, K. J.; Furman, P. A.; St. Clair, M. H.; Nusinoff Lehrman, S.; Gallo, R. C.; Bolognesi, D.; Barry, D. W.; Broder, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 7096-7100.

⁸⁶ Furman, P. A.; Fyfe, J. A.; St. Clair, M. H.; Weinhold, K.; Rideout, J. L.; Freeman, G. A.; Lehrman, S. N.; Bolognesi, D. P.; Broder, S.; Mitsuya, H.; Barry, D. W. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, *83*, 8333-8337.

⁸⁷ 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*, 1111-1125.

La découverte de l'AZT a conduit à la synthèse de nombreux 2',3'-didésoxynucléosides potentiellement actifs, notamment comme agents anti-VIH.⁸⁸ Parmi eux, la 2',3'-didésoxy-2',3'-didéhydrothymidine **53** (d4T)⁸⁹ et la 2',3'-didésoxy-2',3'-didéhydroguanosine **54** (d4G)⁹⁰ comportant une insaturation en position 2',3' ainsi que la 2',3'-didésoxycytidine **55** (ddC)⁹¹ et la 2',3'-didésoxyinosine **56** (ddI)⁹² sont utilisées comme antirétroviraux inhibant la transcriptase inverse. Ils sont prescrits pour traiter le VIH dans le cadre de polythérapies.⁹³

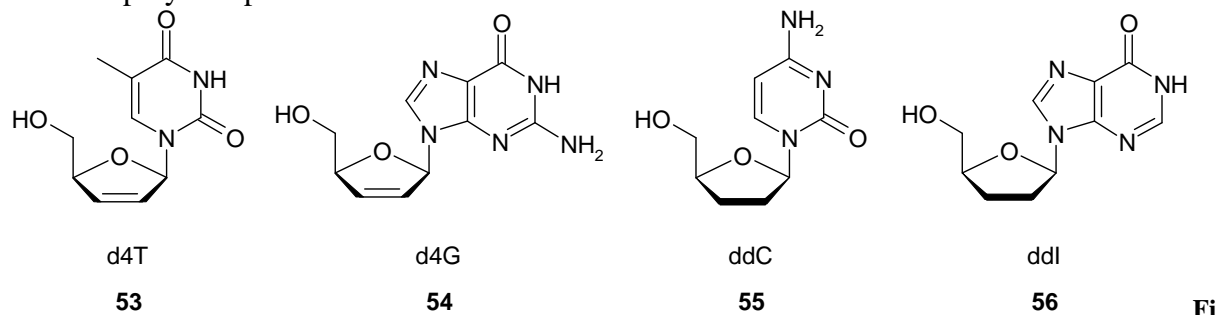


Figure 49. Structures chimiques de divers 2',3'-didésoxynucléosides.

D'autres modifications ont porté sur le remplacement des groupements hydroxyle par des atomes de fluor (Figure 50). Il s'est avéré que les nucléosides fluorés ont des activités biologiques intéressantes.⁹⁴ Par exemple, le 2'-fluoro-5-méthyl-1-β-D-arabinofuranosyl uracile **57** (FMAU), le 2'-fluoro-5-iodo-1-β-D-arabinofuranosyl cytosine **58** (FIAC) et le 2'-fluoro-5-iodo-1-β-D-arabinofuranosyl uracile **59** (FIAU) ont des propriétés anti-herpétiques.⁹⁵ Un autre exemple concerne la gemcitabine **60**, difluorée en position 2', qui est active dans le cas du cancer du pancréas.⁹⁶

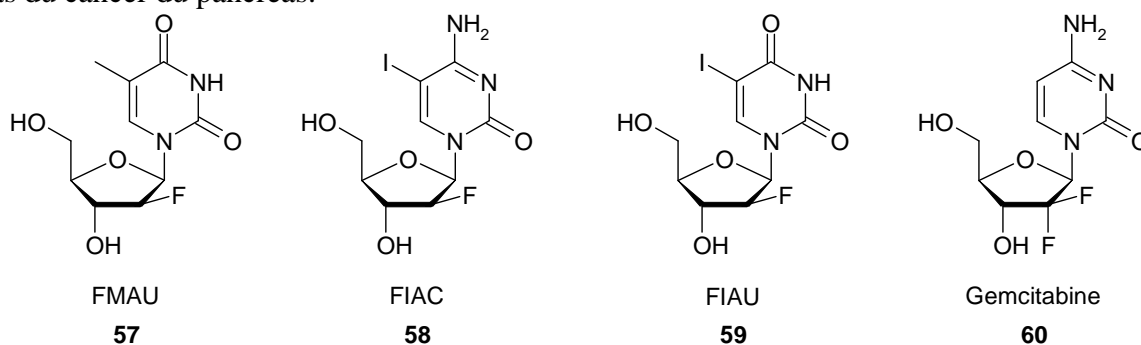


Figure 50. Structures chimiques de divers nucléosides fluorés.

Une autre famille de nucléosides modifiés est la famille des acyclonucléosides. Dans cette famille, la partie sucre est remplacée par un enchaînement linéaire hydroxylé susceptible d'être phosphorylé. L'intérêt pour cette classe de nucléosides a été suscité par l'acyclovir **37** (Figure 41), qui est devenu la référence pour les traitements des infections de type HSV-1 et HSV-2. Cette famille comporte un grand nombre d'antiviraux⁹⁷ parmi lesquels le tenofovir

⁸⁸ Mitsuya, H.; Broder, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, *83*, 1911-1915.

⁸⁹ Ho, H.-T.; Hitchcock, M. J. M. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **1989**, *33*, 844-849.

⁹⁰ Ray, A. S.; Yang, Z.; Chu, C. K.; Anderson, K. S. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **2002**, *46*, 887-891.

⁹¹ Adkins, J. C.; Peters, D. H.; Faulds, D. *Drugs* **1997**, *53*, 1054-1080.

⁹² Yarchoan, R.; Mitsuya, H.; Thomas, R. V.; Pluda, J. M.; Hartman, N. R.; Perno, C.-F.; Marczyk, K. S.; Allain, J. P.; Johns, D. G.; Broder, S. *Science* **1989**, *245*, 412-415.

⁹³ Mehellou, Y. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 521-538.

⁹⁴ Pankiewicz, K. W. *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 87-105.

⁹⁵ Schinazi, R. F.; Fox, J. J.; Watanabe, K. A.; Nahmias, A. J. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **1986**, *29*, 77-84.

⁹⁶ Noble, S.; Goa, K. L. *Drugs* **1997**, *54*, 447-472.

⁹⁷ De Clercq, E.; Holy, A. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 928-940.

61,⁹⁸ employé contre le VIH comme inhibiteur de transcriptase inverse ou encore le pencyclovir **62**⁹⁹ ou le gancyclovir **63**¹⁰⁰ utilisés pour le traitement d'infections à herpès (HSV, CMV, VZV).

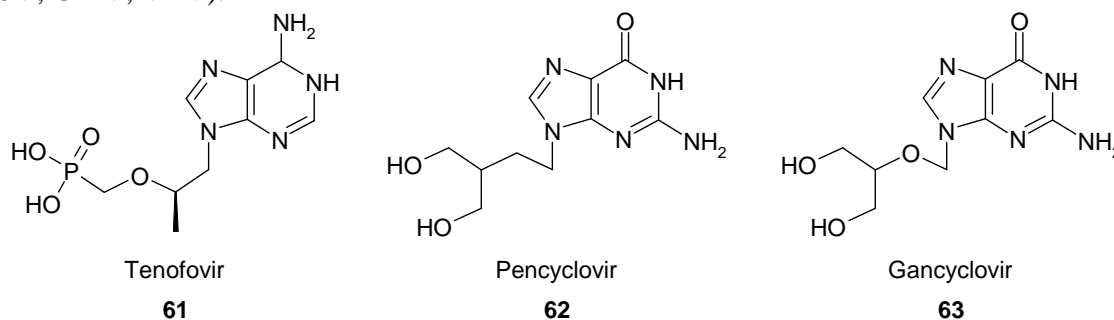


Figure 51. Structures chimiques de divers acyclonucléosides.

Nous pouvons également citer les analogues carbocycliques de nucléosides ou carbanucléosides où l'oxygène du furane est remplacé par un méthylène (Figure 52). Cette modification rend la liaison C-N entre le sucre et la base plus stable face à l'hydrolyse enzymatique et / ou chimique. Depuis la synthèse de l'analogue carbocyclique de l'adénosine, l'aristéromycine **64**, par Y. F. Shealy en 1966,^{101,102} de nombreux composés ont été synthétisés et étudiés pour leur potentiel thérapeutique. Par exemple, le carbovir **65** est un puissant inhibiteur de la transcriptase inverse du VIH, son analogue l'abacavir **66**, est lui aussi actif contre la transcriptase inverse.¹⁰³

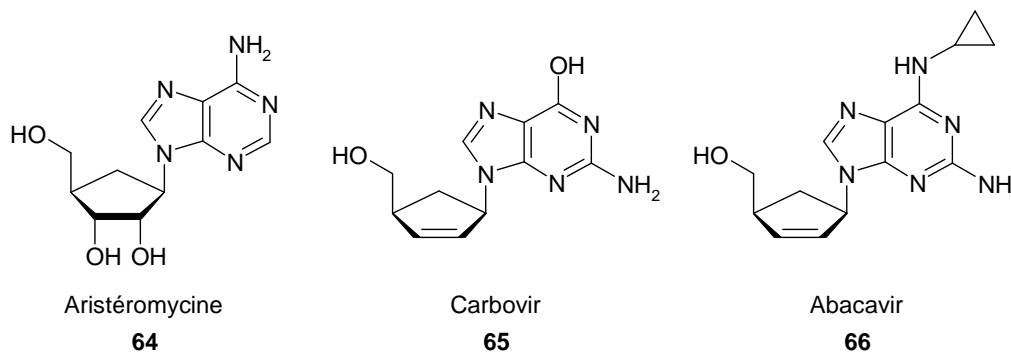


Figure 52. Structures chimiques de divers carbanucléosides.

⁹⁸ Barditch-Crovo, P.; Deeks, S. G.; Collier, A.; Safrin, S.; Coakley, D. F.; Miller, M.; Kearney, B. P.; Coleman, R. L.; Lamy, P. D.; Kahn, J. O.; McGowan, I.; Lietman, P. S. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **2001**, *45*, 2733-2739.

⁹⁹ Weinberg, A.; Bate, B. J.; Masters, H. B.; Schneider, S. A.; Clarck, J. C.; Wren, C. G.; Allaman, J.; Levin, M. *J. Antimicrob. Agents Chemoter.* **1992**, *36*, 2037-2038.

¹⁰⁰ Faulds, D.; Heel, R. C. *Drugs* **1990**, *39*, 597-638.

¹⁰¹ Shealy, Y. F.; Clayton, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 3885-3887.

¹⁰² Shealy, Y. F.; Clayton, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 3075-3083.

¹⁰³ Balzarini, J.; Haller-Meier, F.; De Clercq, E.; Meier, C. *Antivir. Chem. Chemoter.* **2002**, *12*, 302-306.

IV. Les analogues d'oligonucléotides

Dans les années 1980, des progrès considérables ont eu lieu dans les domaines de la biologie et de la génétique moléculaire se traduisant par l'élucidation de la séquence d'un nombre croissant de gènes. Ceci a abouti à l'idée que l'ARN ou l'ADN peuvent être directement la cible des médicaments.

Les chercheurs se sont donc aussi intéressés aux analogues d'oligonucléotides dans lesquels la liaison phosphodiester ou le squelette des oligonucléotides peut être remplacée, ceci pour des applications biologiques ciblant l'ADN ou l'ARN.

IV.1. La stratégie antisens

Le principe de la stratégie antisens est de cibler une séquence définie de l'ARNm en utilisant un court (10-20 nucléotides) oligonucléotide complémentaire (oligonucléotide antisens) afin de former une double hélice avec ce dernier et de perturber la traduction des ARNm en protéines (Figure 53). En principe, n'importe quelle séquence génétique peut être ciblée par un oligonucléotide antisens. Ce qui fait de la stratégie antisens une stratégie générale et attractive comparée au développement des médicaments traditionnels agissant au niveau des protéines.¹⁰⁴ Le principe a tout d'abord été documenté par les observations de P. C. Zamecnik et M. L. Stephenson en 1978 qui ont utilisé un oligodésoxynucléotide composé de treize nucléotides pour bloquer l'étape de réplication du virus du sarcome de Rous.^{105,106}

Un oligonucléotide antisens a basiquement deux modes d'action possibles dépendant de la formation de duplex entre l'ARN cible et l'oligonucléotide antisens. Le premier est l'hybridation de l'oligonucléotide sur l'ARNm créant ainsi localement un hétéroduplex oligonucléotide/ARN. De tels hétéroduplex sont dégradés dans les cellules par la RNase H (enzyme qui hydrolyse le brin d'ARN dans un double brin ADN/ARN), ce qui permet de dégrader l'ARNm et ainsi d'inhiber la synthèse de la protéine ciblée. L'oligonucléotide antisens est alors libre de se fixer sur un autre ARNm et d'induire sa dégradation. Dans le cas où la RNase ne reconnaît pas l'hétéroduplex, le brin d'ARNm ne peut être dégradé. Toutefois l'encombrement stérique généré par la présence de l'oligonucléotide antisens peut empêcher les ribosomes de se fixer à l'ARNm, ce qui inhibe la traduction et la synthèse protéique.

Pour que cette stratégie soit efficace, un oligonucléotide antisens doit avoir plusieurs propriétés : une haute affinité de liaisons avec les brins d'ARN ciblés, une résistance aux exo- et aux endo-nucléases, une faible toxicité et la capacité d'atteindre la cible *in vivo*. Comme nous le verrons ensuite, ces conditions ont mené à l'élaboration d'oligonucléotides modifiés.

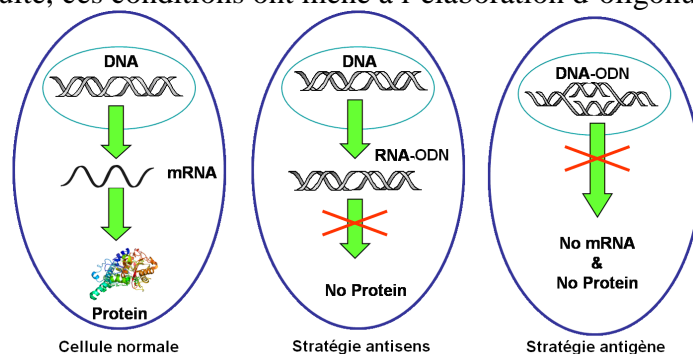


Figure 53. Schématisation des stratégies antisens et antigène.

¹⁰⁴ Kvaerno, L.; Wengel, J. *Chem. Commun.* **2001**, 1419-1424.

¹⁰⁵ Zamecnik, P. C.; Stephenson, M. L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1978**, *75*, 280-284.

¹⁰⁶ Stephenson, M. L.; Zamecnik, P. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1978**, *75*, 285-288.

IV.2. La stratégie antigène

Cette stratégie consiste à synthétiser des oligonucléotides capables de se fixer sur une double hélice d'ADN afin de moduler la transcription d'un gène en se fixant sur son promoteur¹⁰⁷ (Figure 53). La fixation d'un troisième brin d'oligonucléotide dans le grand sillon de l'ADN induit la formation d'une triple hélice stabilisée par les liaisons hydrogène de Hoogsteen ou de Hoogsteen inverse^{108,109} (Figure 54). Il est à noter que seules les bases puriques G et A sont capables de former, en plus d'une liaison de Watson-Crick, des liaisons hydrogène de Hoogsteen. Le second brin d'ADN sur lequel s'hybride le troisième brin devrait donc être formé uniquement de purines. Il y a peu de séquences naturelles assez longues de ce type sur l'ADN, ce qui rend cette stratégie difficile à mettre en œuvre. Cependant, des séquences homopuriques ont été identifiées dans certains virus, dont le VIH, ce qui rend cette stratégie attractive.

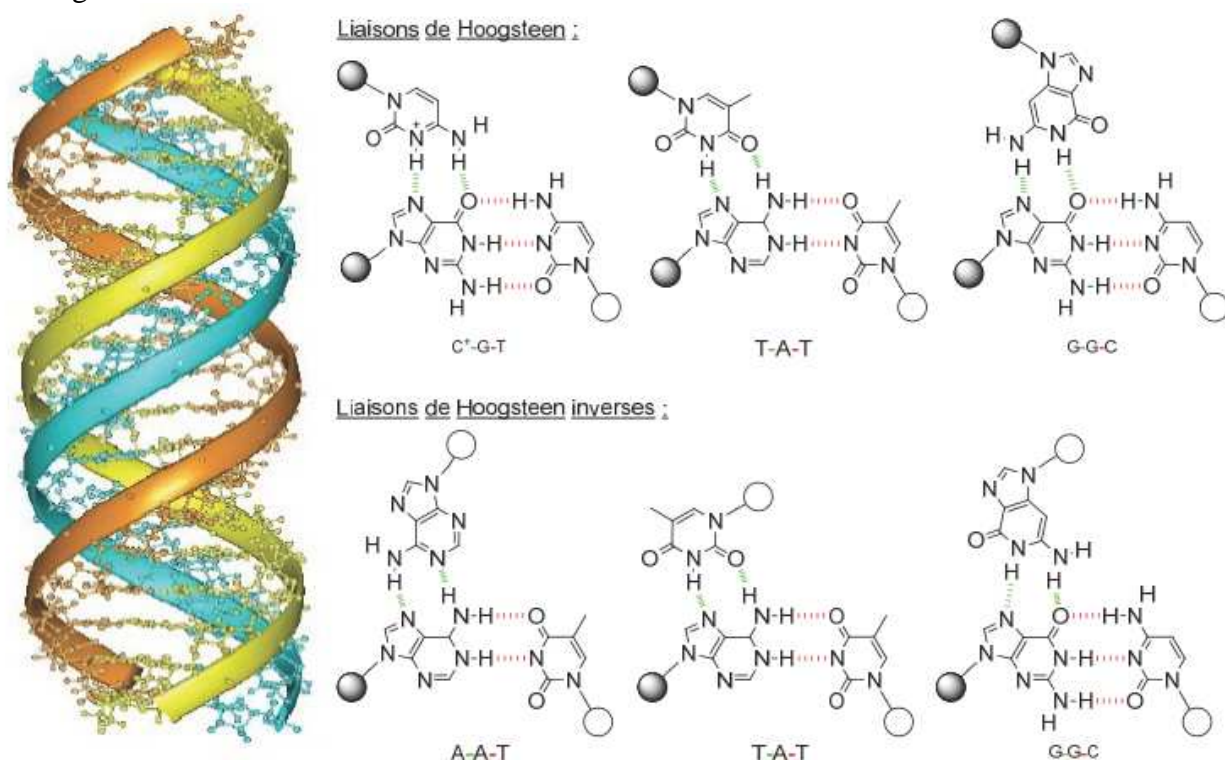


Figure 54. Triple hélice (brin supplémentaire en bleu) et liaisons de Hoogsteen et Hoogsteen inverse (en vert).

Cette stratégie possède néanmoins une activité supérieure à la stratégie antisens. 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'ARNm, ce qui nécessite une concentration plus importante d'oligonucléotides.

IV.3. L'interférence d'ARN

L'interférence d'ARN (ARNi) est un phénomène décrit en 1998 par l'équipe de A. Fire.^{110,111} Ils ont montré qu'on pouvait réduire spécifiquement l'expression de protéines

¹⁰⁷ Faria, M.; Giovannangeli, C. *J. Gene Med.* **2001**, *3*, 299-310.

¹⁰⁸ Sun, J.-S.; Hélène, C. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1993**, *3*, 345-356.

¹⁰⁹ Sun, J.-S.; Garestier, T.; Hélène, C. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 327-333.

¹¹⁰ Fire, A.; Xu, S.; Montgomery, M. K.; Kostas, S. A.; Driver, S. E.; Mello, C. C. *Nature* **1998**, *391*, 806-811.

contenues dans les cellules du nématode *Caenorhabditis elegans*, en introduisant de l'ARN double brin. Le phénomène d'interférence d'ARN peut donc être décrit comme suit : dans une cellule, un ARN double brin conduit dans certaines conditions à la dégradation spécifique de l'ARNm de séquence identique à l'un des brins. Ce mécanisme, qui semble être un moyen de résistance vis-à-vis des virus, est à la base d'une stratégie actuellement utilisée pour cibler la dégradation d'un ARNm dont on cherche à connaître la fonction.

L'action des ARNi s'effectue en deux étapes. Dans la première étape, les longues molécules d'ARN double brin sont clivées par la protéine Dicer (une nucléase de la famille des RNases-III) en petits fragments d'ARN double brins de 21 à 25 nucléotides de longueur : les siRNAs (small interfering RNA ou petits ARN interférents en français). Dans la seconde étape, les siRNAs sont incorporés dans un complexe de plusieurs protéines, le complexe RISC, qui va guider les siRNAs sur l'ARNm de séquence homologue. Le brin antisens des siRNAs s'apparie à l'ARNm cible, ce qui provoque son clivage (par Dicer) au milieu de la zone d'appariement, et donc l'impossibilité de traduire en protéine (Figure 55).¹¹²

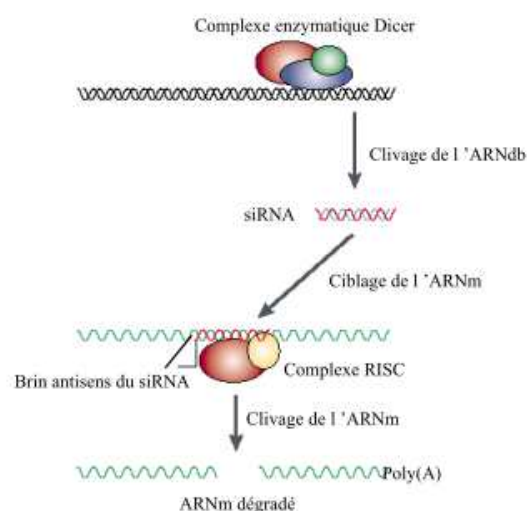


Figure 55. Processus des ARNi.

Les petites molécules utilisées comme médicaments répondent aux règles de Lipinski (haute lipophilicité, poids moléculaire < 500 g.mol⁻¹). Les acides nucléiques sont de grande taille, ont un haut poids moléculaire (~13 kDa) et possèdent de nombreuses charges anioniques dues à la liaison phosphodiester. En solution aqueuse, les acides nucléiques sont hautement hydratés et dégradés dans le sérum par les nucléases. Ils ont donc un court temps de demi-vie *in vivo*.¹¹³ L'utilisation d'oligonucléotides modifiés chimiquement peut permettre d'améliorer les différents processus d'inhibition de l'expression des gènes (Figure 56) en améliorant la stabilité et la pénétration dans la cellule des oligonucléotides.¹¹⁴

¹¹¹ Montgomery, M. K.; Xu, S.; Fire, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 15502-15507.

¹¹² Martinez, J.; Patkaniowska, A.; Urlaub, H.; Lührmann, R.; Tuschl, T. *Cell* **2002**, *110*, 563-574.

¹¹³ Soutschek, J.; Akinc, A.; Bramlage, B.; Charisse, K.; Constien, R.; Donoghue, M.; Elbashir, S.; Geick, A.; Hadwiger, P.; Harboth, J.; John, M.; Kesavan, V.; Lavine, G.; Pandey, R. K.; Racie, T.; Rajeev, K. G.; Röhl, I.; Toudjarska, I.; Wang, G.; Wuschko, S.; Bumcrot, D.; Koteliansky, V.; Limmer, S.; Manoharan, M.; Vornlocher, H.-P. *Nature* **2004**, *432*, 173-178.

¹¹⁴ Singh, Y.; Murat, P.; Defrancq, E. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2054-2070.

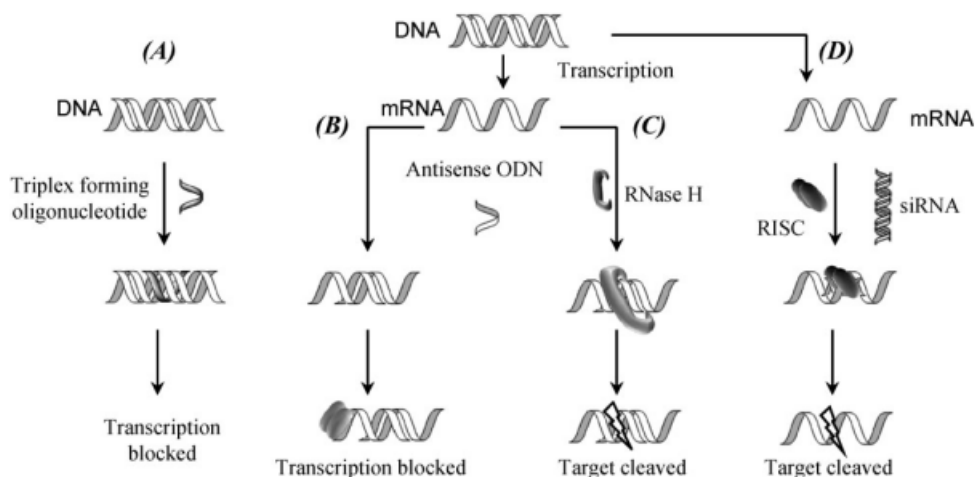


Figure 56. Mécanismes clés impliqués dans l'inhibition sélective de l'expression des gènes : (A) approche antigène, (B) et (C) approche antisens, (D) interférence ARN.

IV.4. Oligonucléotides modifiés

Comme nous venons de le mentionner, les oligonucléotides naturels ne sont pas stables dans les conditions physiologiques. De très nombreuses variantes chimiques ont donc été envisagées pour répondre à ces problèmes et les oligonucléotides ont été modifiés au niveau de la base, du sucre ou de la liaison phosphodiester (Figure 57).¹¹⁵ Nous nous intéresserons ici aux modifications effectuées au niveau de la liaison phosphodiester.

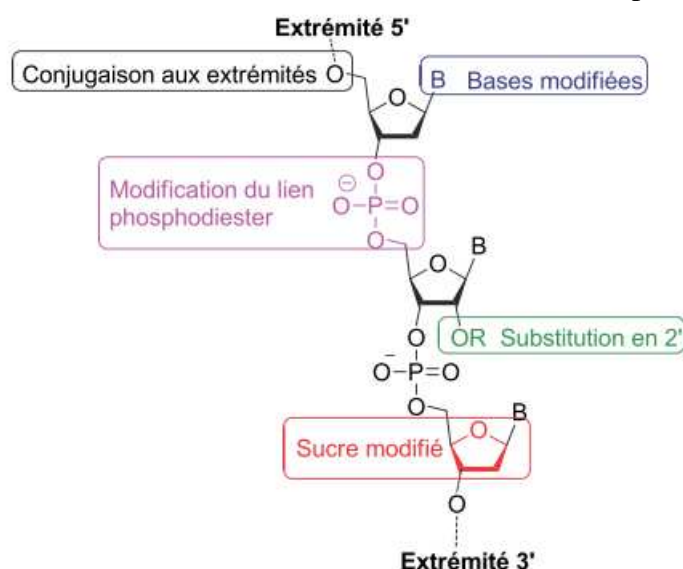


Figure 57. Modifications possibles au niveau des oligonucléotides.

IV.4.a. Modification de la liaison phosphodiester

Les principales modifications réalisées ont permis de remplacer la liaison phosphodiester par une liaison méthylphosphonate^{116,117} ou par une liaison phosphorothioate.

¹¹⁵ Freier, S. M.; Altmann, K.-H. *Nucleic Acids Res.* **1997**, *25*, 4429-4443.

¹¹⁶ Miller, P. S.; Yano, J.; Yano, E.; Carroll, C.; Jayaraman, K.; Ts'o, P. O. P. *Biochemistry* **1979**, *18*, 5134-5143.

¹¹⁷ Miller, P. S.; McParland, K. B.; Jayaraman, K.; Ts'o, P. O. P. *Biochemistry* **1981**, *20*, 1874-1880.

L'oxygène portant la charge négative est remplacé par un groupement méthyle dans le cas des méthylphosphonates et par un atome de soufre dans le cas des phosphorothioates (Figure 58).

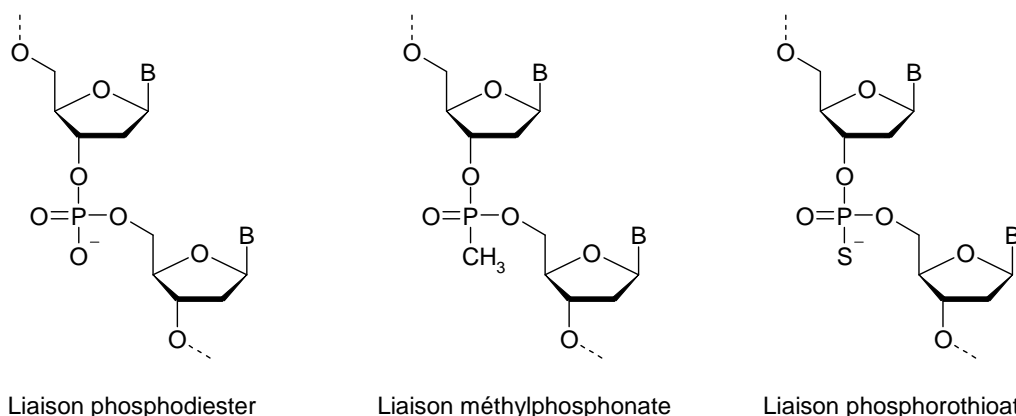


Figure 58. Oligonucléotides modifiés par liaison méthylphosphonate ou par liaison phosphorothioate.

La liaison internucléosidique des oligonucléotides méthylphosphonates les rend plus hydrophobes, favorisant ainsi le franchissement membranaire. Ils résistent mieux aux nucléases¹¹⁷ et sont donc plus stables en milieu biologique. Ils peuvent de plus établir des liaisons hydrogène et former des duplex ARN / méthylphosphonates ou des triplex ADN / méthylphosphonates stables.¹¹⁸ Malheureusement, ils sont insensibles à la RNase H,¹¹⁹ ce qui limite les applications antisens possibles.

L'intérêt pour les oligonucléotides phosphorothioates s'est développé en raison de leur très grande résistance vis-à-vis des nucléases¹²⁰ et pour leur plus grande stabilité dans les milieux physiologiques. La demi-vie d'un oligonucléotide phosphorothioate dans du sérum humain est de 9 à 10 heures à 37°C, soit presque dix fois plus qu'un oligonucléotide naturel.¹²¹ De plus, la modification du lien internucléosidique ne modifie pas la reconnaissance des hétéroduplex ARN / phosphorothioates par la RNase H. L'inconvénient majeur des oligonucléotides phosphorothioates est qu'ils créent des interactions non spécifiques avec certaines protéines et possèdent donc un caractère potentiellement toxique.¹²² L'affinité des oligonucléotides phosphorothioates pour l'ARN se trouve légèrement réduite, la température de fusion d'un hétéroduplex ARN / phosphorothioate diminuant d'environ 0,5°C par nucléotide phosphorothioate inséré.¹²³

Néanmoins, cette famille s'avère très prometteuse dans le cadre de la stratégie antisens.¹²⁴ 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. Par exemple, l'oblimersen (Genasense) est un oligodésoxynucléotide phosphorothioate 18-mère (5'-TCTCCAGCGTGCGCCAT-3') complémentaire des codons 1 à 6 de l'ARNm de la protéine Bcl-2.¹²⁵ 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 sont actuellement en phase III. Le fomivirsen

¹¹⁸ Miller, P. S.; Cassidy, R. A.; Hamma, T.; Kondo, N. S. *Pharmacology & Therapeutics* **2000**, *85*, 159-163.

¹¹⁹ Giles, R. V.; Tidd, D. M. *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 763-770.

¹²⁰ Eckstein, F. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2000**, *10*, 117-121.

¹²¹ Campbell, J. M.; Bacon, T. A.; Wickstrom, E. J. *Biochem. Biophys. Methods* **1990**, *20*, 259-267.

¹²² Kurreck, J. *Eur. J. Biochem.* **2003**, *270*, 1628-1644.

¹²³ Croke, S. T. *Methods Enzymol.* **2000**, *313*, 3-45.

¹²⁴ Wilson, C.; Keefe, A. D. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, *10*, 607-614.

¹²⁵ Klasa, R. J.; Gillum, A. M.; Klem, R. E.; Frankel, S. R. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2002**, *12*, 193-213.

(Vitravene), seul oligonucléotide antisens actuellement autorisé sur le marché, est un oligodésoxynucléotide phosphorothioate 21-mère (5'-GCGTTTGCTCTTCTTCTTGCG-3') destiné à traiter la rétinite cytomégalovirale dont souffrent certains malades atteints du SIDA.¹²⁶

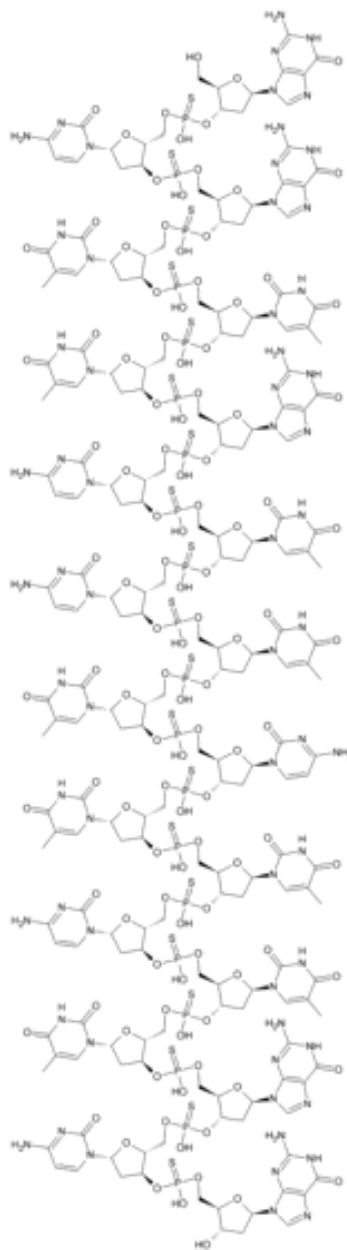


Figure 59. Structure du Vitravene.

De nombreux essais de remplacement de la liaison phosphodiester ont été réalisés dans l'optique d'obtenir les oligonucléotides les plus stables et résistants possibles. Parmi les différentes modifications réalisées (Figure 60), il existe les liaisons triazole,^{127,128}

¹²⁶ Crooke, S. T. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **1998**, 8, 7-8.

¹²⁷ Isobe, H.; Fujino, T.; Yamazaki, N.; Guillot-Nieckowski, M.; Nakamura, E. *Org. Lett.* **2008**, 10, 3729-3732.

¹²⁸ El-Sagheer, A. H.; Brown, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 3958-3964.

sulfide,^{129,130} formacétal,¹³¹⁻¹³³ thioformacétal,¹³⁴ diméthylènesulfone,^{135,136} aminoxy,¹³⁷⁻¹³⁹ analogue de silyle.¹⁴⁰

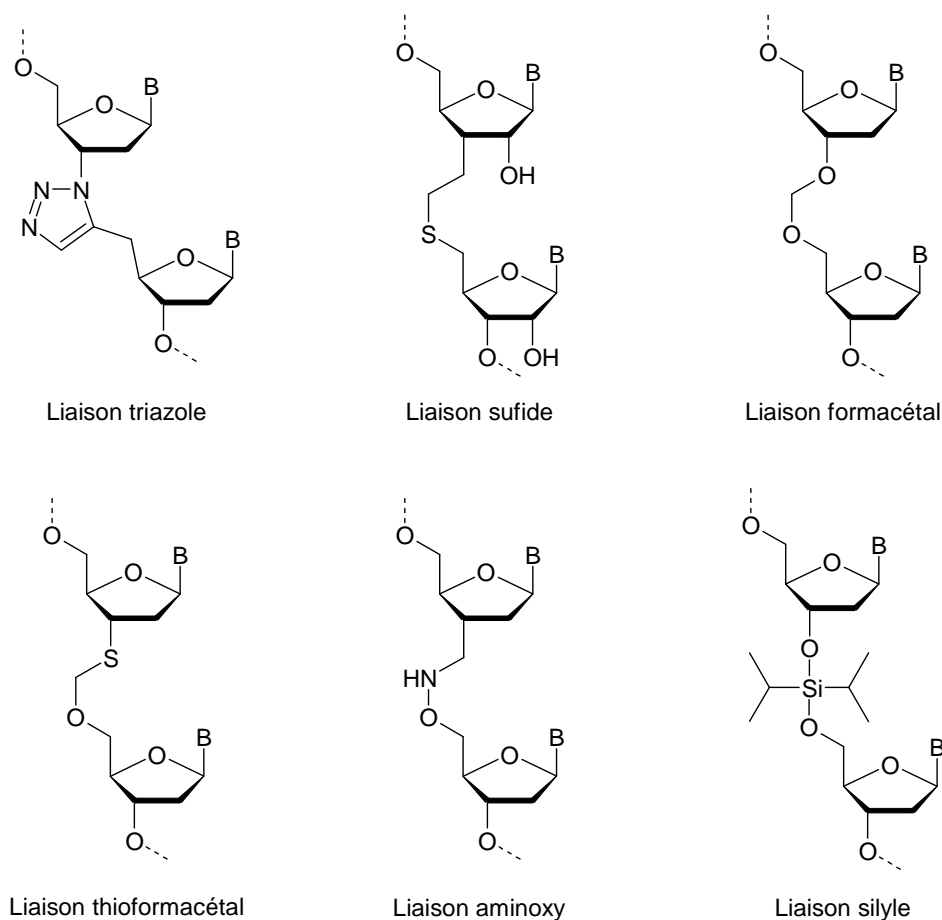


Figure 60. Représentation des principales modifications possibles au niveau de la liaison phosphodiester.

Une autre liaison intéressante est la liaison amide. Tout d'abord, elle a été étudiée en série ADN *via* la préparation de dimères de thymidine liés par le lien amide ou *N*-méthyl amide.¹⁴¹ Cette liaison est non-ionique, beaucoup moins polaire que le lien phosphodiester et peut être rendue encore plus lipophile par une *N*-alkylation. Les dinucléosides **67** et **68** synthétisés par réaction de couplage peptidique entre les monomères **69** et **70** ou **71** (Schéma 8) ont été incorporés dans des brins d'ADN pour faire des 12-mères. La mesure des températures de fusion (T_m) a montré que la stabilité des duplex ou des triplex formés avec

¹²⁹ Meng, B.; Kawai, S. H.; Wang, D.; Just, G.; Giannaris, P. A.; Damha, M. J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 729-731.

¹³⁰ Damha, M. J.; Meng, B.; Wang, D.; Yannopoulos, C. G.; Just, G. *Nucleic Acids Res.* **1995**, *23*, 3967-3973.

¹³¹ Jones, R. J.; Lin, K.-Y.; Milligan, J. F.; Wadwani, S.; Matteucci, M. D. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2983-2991.

¹³² Rozners, E.; Strömberg, R. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 1846-1850.

¹³³ Pitulescu, M.; Grapp, M.; Krätzner, R.; Knepel, W.; Diederichsen, U. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2100-2106.

¹³⁴ Cao, X.; Matteucci, M. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 807-810.

¹³⁵ Roughton, A. L.; Portmann, S.; Benner, S. A.; Egli, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7249-7250.

¹³⁶ Huang, Z.; Benner, S. A. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3996-4013.

¹³⁷ Vasseur, J. J.; Debart, F.; Sanghvi, Y. S.; Cook, P. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4006-4007.

¹³⁸ Morvan, F.; Sanghvi, Y. S.; Perbost, M.; Vasseur, J. J.; Bellon, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 255-256.

¹³⁹ Bhat, B.; Swayze, E.; Wheeler, P.; Dimock, S.; Perbost, M.; Sanghvi, Y. S. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8186-8199.

¹⁴⁰ Xiao, Z.; Weisz, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3862-3869.

¹⁴¹ Idziak, I.; Just, G.; Damha, M. J.; Giannaris, P. A. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 5417-5420.

l'ARN ou l'ADN est comparable à des duplex et triplex naturels que ce soit pour des liaisons amide **67** ou *N*-méthyl amide **68**.

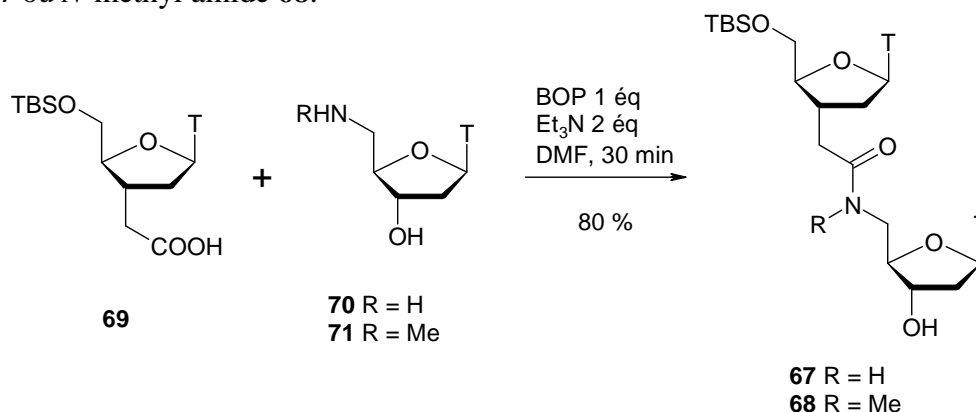


Schéma 8. Synthèse des dinucléosides **67** et **68**.

D'autres oligonucléotides modifiés comportant une liaison amide ont été étudiés par l'équipe de De Mesmaeker. Lorsque la configuration de la chaîne entre deux monomères est modifiée (dinucléosides **72**¹⁴² et **73**¹⁴³ - Figure 61), la stabilité thermodynamique des oligonucléotides est elle aussi modifiée. En effet, l'incorporation de ces dinucléosides **72** et **73** dans les mêmes séquences oligonucléotidiques que le dinucléoside **67** donne des résultats différents. La valeur des T_m dans la formation d'un duplex stable avec l'ARN est diminuée de 2,9 K par modification dans le cas de l'oligonucléotide **72** et de 1,6 K dans le cas de l'oligonucléotide **73**. Il a été confirmé par étude moléculaire dynamique que le dinucléoside **67** adopte une géométrie plus favorable dans le duplex avec l'ARN que les oligonucléotides comportant les dinucléosides **72** et **73**.¹⁴⁴ De plus, l'ajout d'un substituant méthyle **68** sur la liaison amide¹⁴³ ou l'inversion du sens de la liaison¹⁴⁵ (composé **74**) diminue encore plus la stabilité thermodynamique. En revanche, il a été montré que la stabilité vis à vis des nucléases (dans une solution à 10% de sérum de veau fœtal à 37°C) est augmentée par un facteur deux à trois en comparaison avec un oligonucléotide naturel.¹⁴³

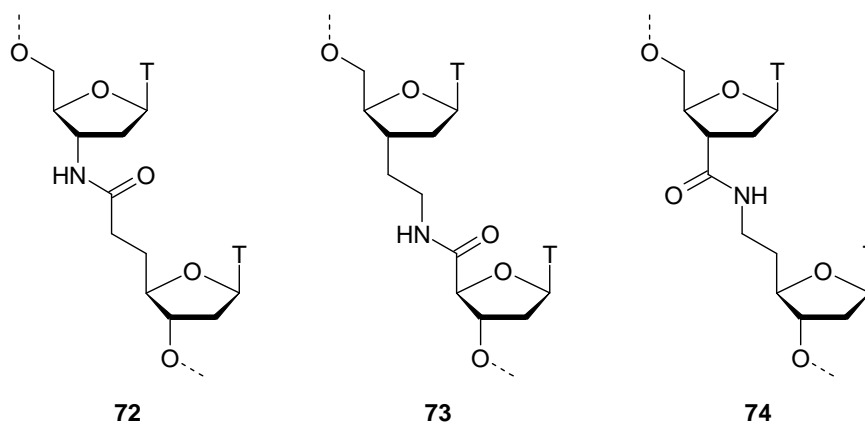


Figure 61. Oligonucléotides modifiés par lien amide.

¹⁴² De Mesmaeker, A.; Lebreton, J.; Waldner, A.; Fritsch, V.; Wolf, R. M.; Freier, S. M. *Synlett* **1993**, 733-736.

¹⁴³ Lebreton, J.; De Mesmaeker, A.; Waldner, A.; Fritsch, V.; Wolf, R. M.; Freier, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6383-6386.

¹⁴⁴ De Mesmaeker, A.; Waldner, A.; Lebreton, J.; Hoffmann, P.; Fritsch, V.; Wolf, R. M.; Freier, S. M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 226-229.

¹⁴⁵ De Mesmaeker, A.; Lebreton, J.; Waldner, A.; Fritsch, V.; Wolf, R. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 873-878.

L'introduction d'un carbone chiral sur la chaîne reliant deux nucléosides entre eux par liaison amide a été étudiée. L'oligonucléotide comportant le composé **75** a montré une meilleure affinité avec l'ARN qu'avec l'ADN. Les résultats obtenus suggèrent que l'introduction de ce dinucléoside n'affecte pas vraiment les propriétés d'hybridation des oligonucléotides entre eux. Les oligonucléotides modifiés ont été testés contre une 5'-exonucléase et il s'avère que lorsque le carbone asymétrique est de configuration (S), l'oligonucléotide ciblé n'est pas affecté alors que lorsque la configuration est (R), l'enzyme dégrade le brin d'ADN et le coupe au second lien phosphodiester en partant du 5'-terminal.¹⁴⁶

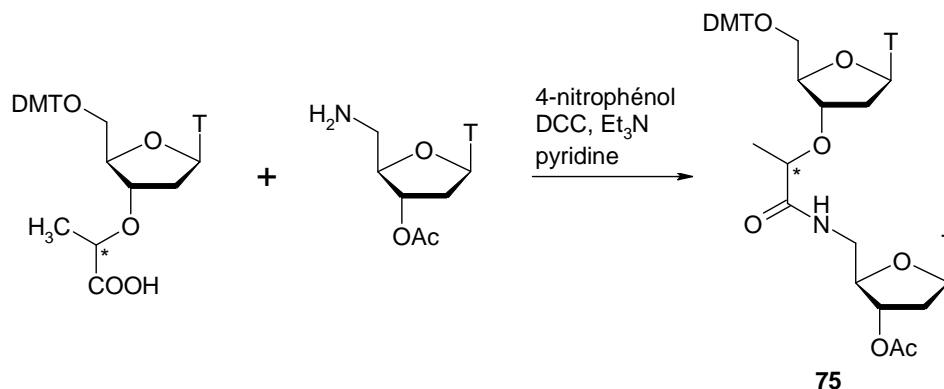


Schéma 9. Synthèse du dinucléoside **75**.

Etant donné que les oligoribonucléotides modifiés forment généralement des duplex plus stables que les oligodésoxyribonucléotides modifiés avec les cibles ADN ou ARN, une étude du lien amide a été réalisée en série ARN puisque ces molécules peuvent être de meilleures candidates.¹⁴⁷ Deux types d'oligoribonucléotides modifiés par lien amide ont ensuite été synthétisés (Figure 62.).¹⁴⁸ Il s'est avéré que les séquences comportant le dinucléoside **76** ont une stabilité similaire aux oligonucléotides naturels, ce qui est cohérent avec les résultats de la série ADN.¹⁴¹ Les séquences comportant le dinucléoside **77** avec une inversion de l'enchaînement de la liaison amide ont une stabilité améliorée de + 1,3 à + 2,4 K suivant le nombre de dinucléosides incorporés dans la séquence. Ceci correspond au meilleur effet observé lors du remplacement du lien phosphodiester.^{149,150}

¹⁴⁶ De Napoli, L.; Iadonisi, A.; Montesarchio, D.; Varra, M.; Piccialli, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 1647-1652.

¹⁴⁷ De Mesmaeker, A.; Lesueur, C.; Bévière, M.-O.; Waldner, A.; Fritsch, V.; Wolf, R. M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2790-2794.

¹⁴⁸ Rozners, E.; Katkevica, D.; Bizdena, E.; Strömberg, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12125-12136.

¹⁴⁹ Arya, D. P.; Bruice, T. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12419-12427.

¹⁵⁰ Linkletter, B. A.; Szabo, I. E.; Bruice, T. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3888-3896.

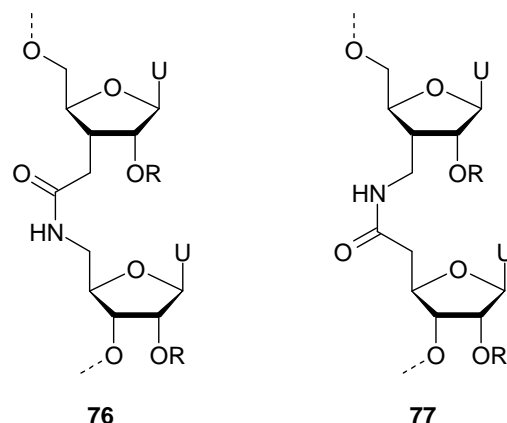


Figure 62. Dinucléosides modifiés par lien amide.

Très récemment, de nouveaux analogues d'oligonucléotides modifiés ont été synthétisés et étudiés. Par exemple, un lien thiazolidin-4-one a été introduit entre deux nucléosides afin d'étudier les propriétés anti-HIV du dinucléoside synthétisé (Figure 63). Les premières études ont montré que les dinucléosides contenant un lien de configuration (R) ont une meilleure activité contre la transcriptase inverse du VIH que l'AZT, et que ceux de configuration (S).¹⁵¹

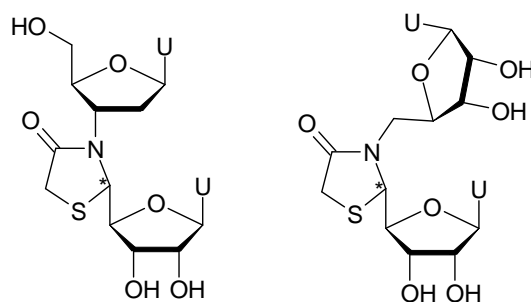


Figure 63. Dinucléosides modifiés par lien thiazolidin-4-one.

Un autre exemple récent concerne l'introduction d'un groupement méthylène en position 3' ou 5' dans le lien phosphodiester afin d'obtenir des oligonucléotides modifiés par lien phosphonate (Figure 64).¹⁵²

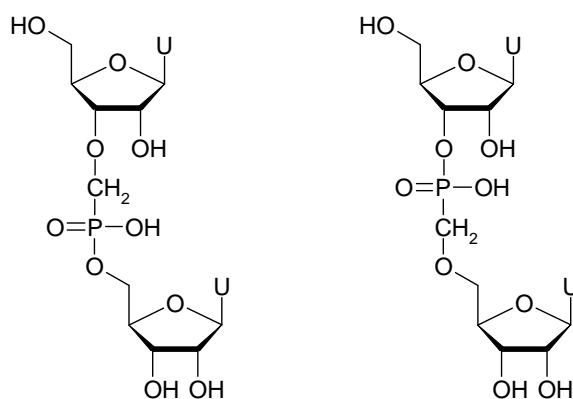


Figure 64. Dinucléotides modifiés par lien 3'-phosphonate et 5'-phosphonate.

¹⁵¹ Shen, F.; Li, X.; Zhang, X.; Yin, Q.; Qin, Z.; Chen, H.; Zhang, J.; Ma, Z. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 5766-5772.

¹⁵² Pav, O.; Kosiova, I.; Barvik, I.; Pohl, R.; Budesinsky, M.; Rosenberg, I. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 6120-6126.

Au niveau biologique, l'insertion du groupement méthylène entraîne une diminution des T_m en comparaison avec des séquences non modifiées. L'introduction de dinucléotides modifiés par lien 5'-phosphonate résulte en une déstabilisation modérée (environ $-1,6^\circ\text{C}$ / modification) alors que l'introduction de dinucléotides modifiés par lien 3'-phosphonate implique une plus grande déstabilisation (environ $-5,7^\circ\text{C}$ / modification). La réalisation d'études de modélisation peut expliquer ce phénomène. Dans le duplex, les liens 5'-phosphonate adoptent une conformation stabilisée par une liaison hydrogène 2'OH-5'O alors que les liens 3'-phosphonate adoptent plusieurs conformations sans stabilisation spécifique (Figure 65). En revanche, les séquences modifiées sont extraordinairement stables contre le clivage par les nucléases.

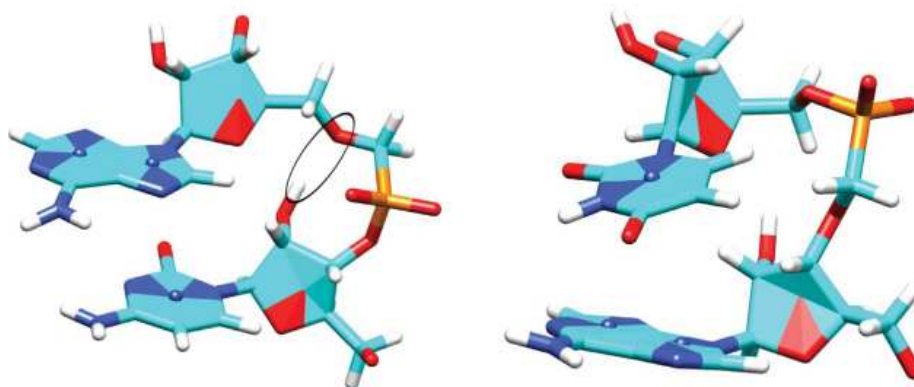


Figure 65. Conformation d'un dinucléotide lié par lien 5'-phosphonate (gauche) et 3'-phosphonate (droite).

IV.4.b. Modification du squelette des oligonucléotides

Une autre modification intéressante apportée aux oligonucléotides a été réalisée sur le squelette de l'oligonucléotide. Il a été remplacé par des unités de *N*-(2-aminoéthyl)glycine sur lesquelles sont accrochées les bases nucléotidiques (Figure 66). Cette structure composée d'un squelette peptidique est neutre contrairement à celle de l'ADN. Elle est appelée PNA, Peptide Nucleic Acid et a été décrite pour la première fois par P. E. Nielsen en 1991.¹⁵³ Les PNA sont stables chimiquement et résistants à l'hydrolyse enzymatique. Puisque leur géométrie et l'espacement des bases sont quasiment identiques à ceux d'un ADN ou d'un ARN naturel, les PNA sont capables de reconnaître des séquences d'ADN et d'ARN par appariement des bases selon Watson-Crick. Ceci leur confère des propriétés biologiques intéressantes.¹⁵⁴⁻¹⁵⁷

¹⁵³ Nielsen, P. E.; Egholm, M.; Berg, R. H.; Buchardt, O. *Science* **1991**, *254*, 1497-1500.

Pour des revues sur les PNA, voir :

¹⁵⁴ Hyrup, B.; Nielsen, P. E. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 5-23.

¹⁵⁵ Dean, D. A. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2000**, *44*, 81-95.

¹⁵⁶ Braasch, D. A.; Corey, D. R. *Biochemistry* **2002**, *41*, 4503-4510.

¹⁵⁷ Shakeel, S.; Karim, S.; Ali, A. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2006**, *81*, 892-899.

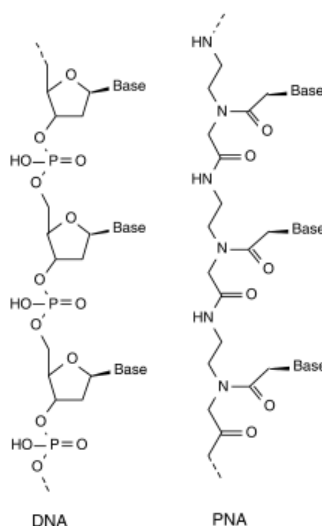


Figure 66. Structure d'un simple brin d'ADN (à gauche) et d'un PNA (à droite).

Une autre classe d'oligonucléotides à structure modifiée développée récemment est le LNA (Locked Nucleic Acid). Le LNA est un analogue de l'ARN dont la conformation du sucre est bloquée par un pont méthylène entre l'oxygène en position 2' et le carbone en position 4' (Figure 67).¹⁵⁸ Les LNA contiennent des liaisons phosphodiester et leur conformation bloquée du type N (C3'-endo) leur donne une forme similaire à l'ARN. Ils possèdent une haute affinité avec les séquences ADN et ARN. En raison de leur faible degré de résistance aux nucléases, de nombreuses modifications chimiques ont été introduites ces dernières années et les LNA ont été testées pour de potentiels applications biologiques.¹⁵⁹⁻¹⁶¹

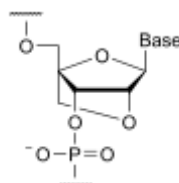


Figure 67. Représentation de la structure d'un monomère de LNA.

IV.5. Objectifs

Au vu de l'intérêt porté aux oligonucléotides modifiés par liaison amide, nous envisageons de développer des oligonucléosides liés par liaison *N*-oxy amide ainsi que par liaisons oxime et aminoxy (Figure 68). Plusieurs longueurs de chaîne sont proposées afin d'étudier l'influence de ce paramètre. Les modifications seront apportées en série ADN en utilisant la thymidine comme produit de départ et également en série ARN en utilisant l'uridine comme synthon de départ.

¹⁵⁸ Koshkin, A. A.; Nielsen, P. E.; Meldgaard, M.; Rajwanshi, V. K.; Singh, S. K.; Wengel, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13252-13253.

¹⁵⁹ Stenvang Jepsen, J.; Sorensen, M. D.; Wengel, J. *Oligonucleotides* **2004**, *14*, 130-146.

¹⁶⁰ Veedu, R. N.; Wengel, J. *Chem. Biodivers.* **2010**, *7*, 536-542.

¹⁶¹ Mitsuoka, Y.; Kodama, T.; Ohnishi, R.; Hari, Y.; Imanishi, T.; Obika, S. *Nucleic Acids Res.* **2009**, *37*, 1225-1238.

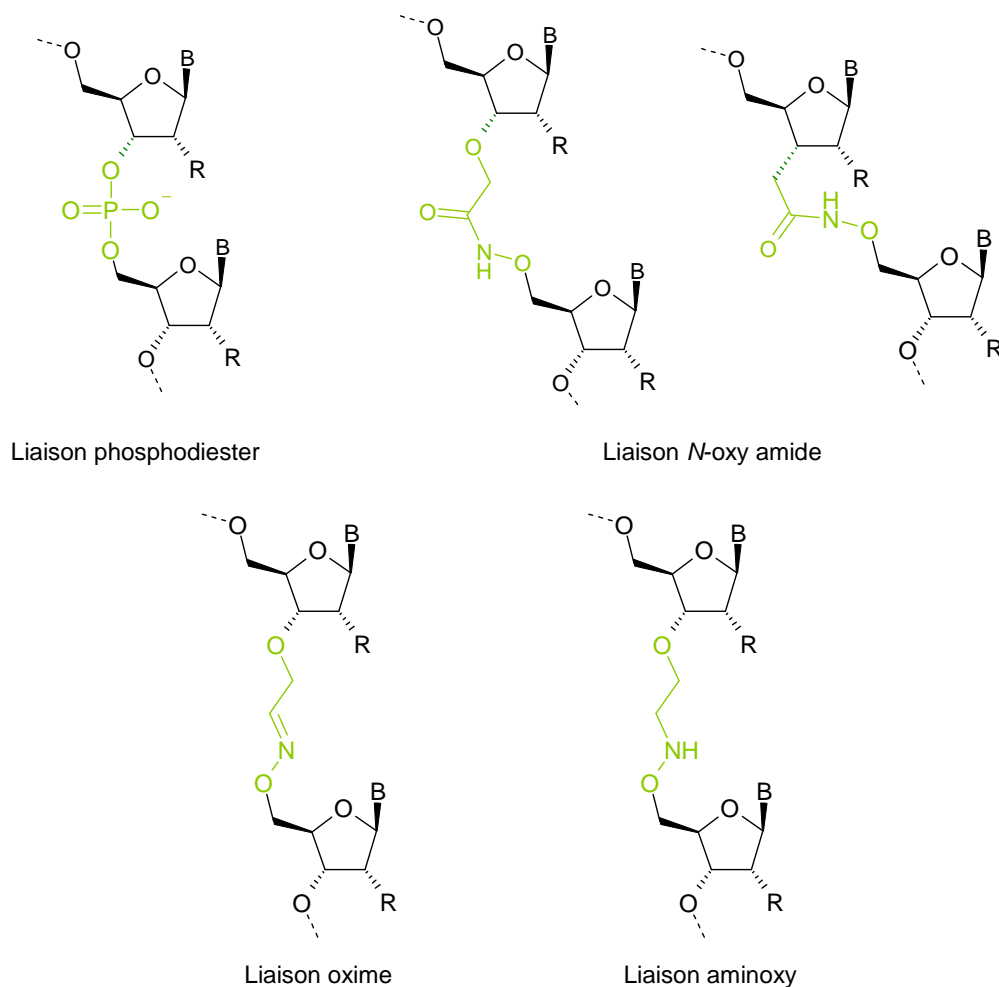


Figure 68. Structures d'oligonucléosides modifiés envisagés.

Comme nous l'avons vu précédemment (Paragraphe III, p. 50), les nucléosides modifiés possèdent de nombreuses propriétés antivirales, antibactériennes, antitumorales ou encore anticancéreuses. Nous envisageons donc de chercher l'activité biologique des molécules que nous aurons synthétisées. Dans un premier temps, l'activité antivirale des nucléosides modifiés obtenus sera testée en collaboration avec le LBPA à l'ENS de Cachan.

D'autre part, les dinucléosides seront intégrés à des séquences d'oligonucléotides afin d'étudier leurs caractéristiques physicochimiques et leurs propriétés biologiques.

Chapitre III :

Les nucléosides aminoxy acides en série ADN :

Synthèse à partir de la thymidine

I. Introduction

Dans ce chapitre, nous allons développer les études réalisées à partir de la thymidine. La thymidine a d'abord été étudiée en raison de sa structure un peu plus simple que celle de l'uridine. En effet, elle possède un groupement hydroxyle en moins en position 2'. Cependant, en raison des nombreux sites réactionnels présents sur sa structure, les problèmes de régiosélectivité sont fréquents.

L'objectif est de préparer différentes séries d'oligodésoxynucléosides liés par liaison *N*-oxy amide (CO-NH-O), par liaison oxime (C=N-O) et par liaison aminoxy (NH-O) avec différentes longueurs de chaîne (Figure 69).

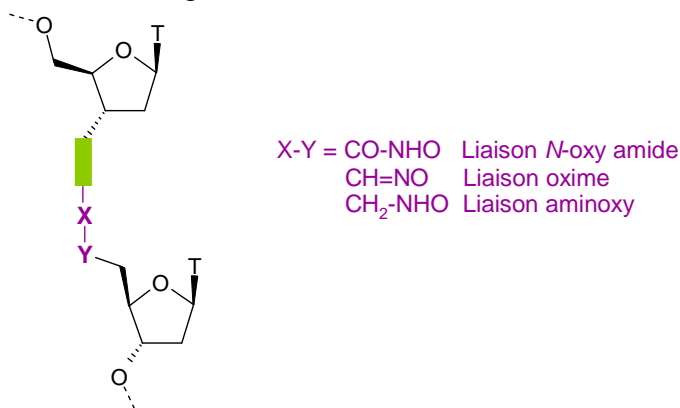


Figure 69. Différentes modifications envisagées au niveau de la liaison phosphodiester des oligonucléotides.

Dans un premier temps, nous envisageons de synthétiser des dinucléosides qui pourront ensuite être incorporés dans des séquences d'oligonucléotides *via* un synthétiseur à ADN (Schéma 10).

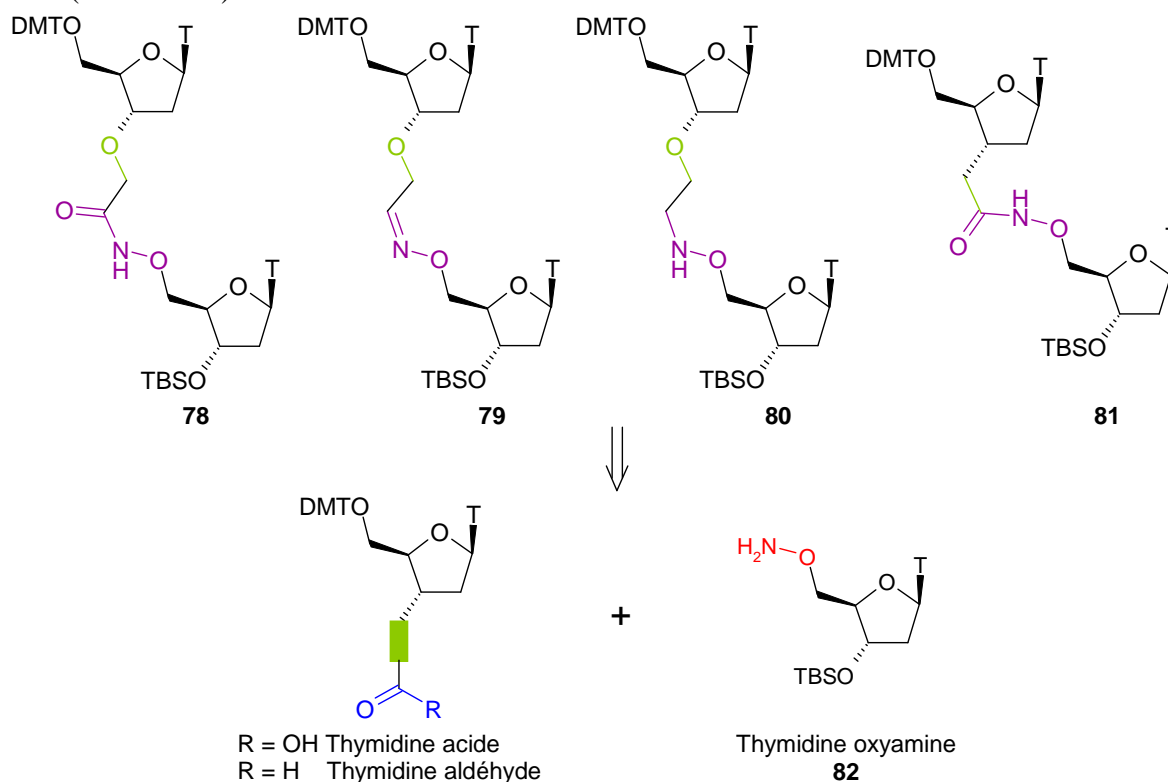


Schéma 10. Différents dinucléosides envisagés.

La formation des dinucléosides **78** à **81** nécessite, dans un premier temps, la synthèse de différents nucléosides modifiés. Le monomère thymidine oxyamine **82** est un intermédiaire commun à la synthèse de ces différents nucléosides. Nous pourrions ensuite synthétiser les monomères thymidine aldéhyde et acide adaptés qui permettent par réaction de couplage ou de condensation la synthèse des dinucléosides désirés (Schéma 10).

D'autre part, nous voulons synthétiser des monomères de thymidine aminoxy acide comme précurseurs d'oligonucléosides (Schéma 11).

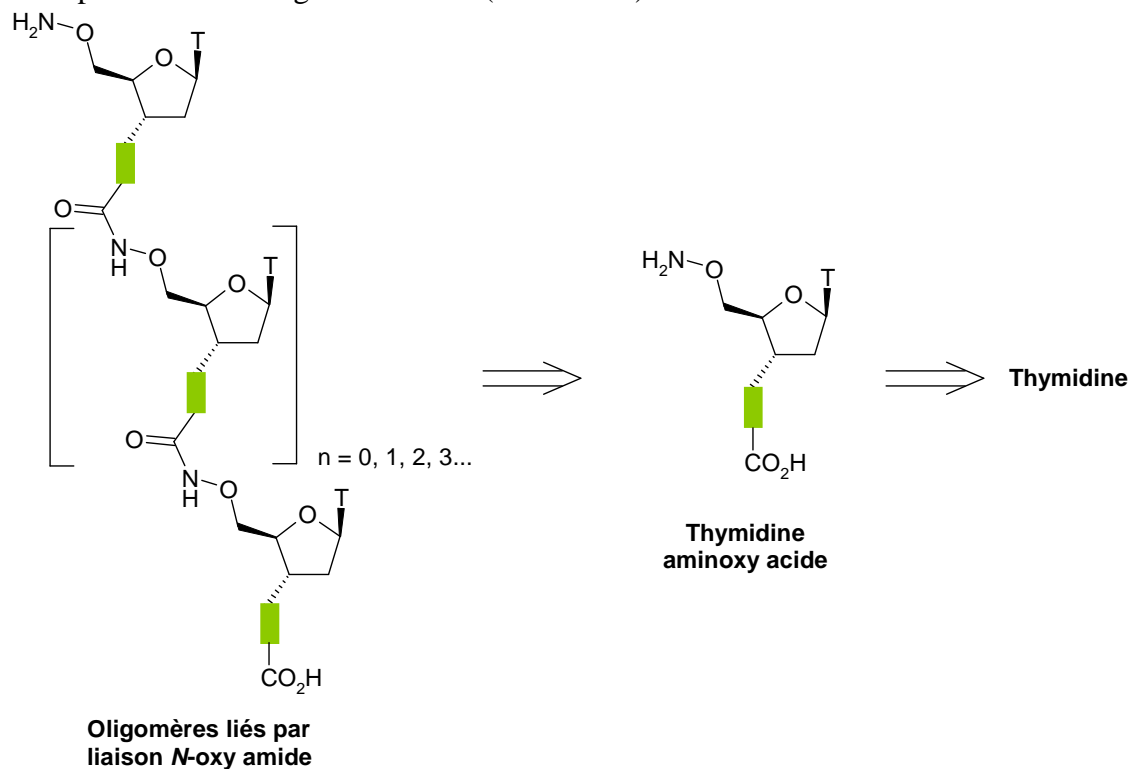


Schéma 11. Rétrosynthèse envisagée pour l'obtention d'oligonucléosides liés par liaison N-oxy amide.

II. Synthèse de la thymidine oxyamine

Le premier monomère nécessaire à la synthèse des différents dimères de thymidine est la thymidine oxyamine **82**. Ce monomère peut être rapidement obtenu à partir de la thymidine commerciale. L'étape clé de la synthèse envisagée (Schéma 12) est la réaction de Mitsunobu qui permet l'introduction de la liaison N-O.

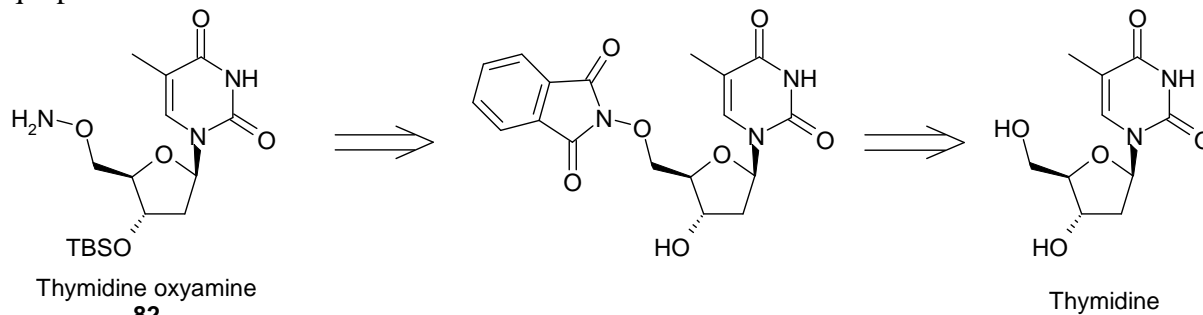


Schéma 12. Rétrosynthèse du monomère thymidine oxyamine.

II.1. Quelques rappels bibliographiques sur la réaction de Mitsunobu

La réaction de Mitsunobu est une réaction de substitution nucléophile (S_N2) mettant en jeu un alcool (ROH) et un pro-nucléophile acide (NuH) en utilisant un agent oxydant diazocarboxylate (le plus souvent le diéthyl azodicarboxylate, DEAD) et un réducteur phosphine (usuellement la triphénylphosphine PPh_3). En plus du produit désiré, de l'hydrazide (le diéthylhydrazinedicarboxylate DEAD- H_2) et de l'oxyde de phosphine ($Ph_3P=O$) sont formés (Schéma 13). La réaction de Mitsunobu permet la formation de liaisons C-O, C-N, C-S, C-X ou C-C.

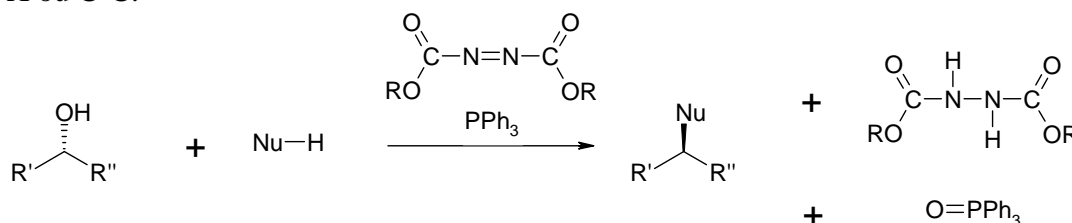


Schéma 13. Schéma général de la réaction de Mitsunobu.

Cette réaction a été décrite pour la première fois en 1967 par le Pr. O. Mitsunobu.¹⁶² La réaction reportée est celle de l'acide pentanoïque avec l'allyl diéthyl phosphite et le DEAD qui donne l'allyl pentanoate (Eq. 1 - Schéma 14). Elle est ensuite suivie par la description d'autres réactions entre l'acide benzoïque et des alcools en présence de DEAD et de PPh_3 qui résultent en la formation des esters correspondants avec d'excellents rendements (Eq. 2 - Schéma 14). La stéréosélectivité de la réaction a tout d'abord été observée dans la réaction du 2-octanol énantiomériquement enrichi avec l'acide benzoïque (Eq. 3 - Schéma 14).¹⁶³ Le fait que la réaction ait lieu avec une inversion de configuration lui confère un large intérêt en synthèse organique. Cependant, l'isolation du produit désiré peut parfois s'avérer difficile en raison des sous-produits formés et des excès de réactifs parfois nécessaires. Pour améliorer l'isolation du produit désiré, des modifications ont été apportées sur l'azodicarboxylate et la phosphine. Bien que le DEAD reste fréquemment utilisé, un nombre important de réactions

¹⁶² Mitsunobu, O.; Yamada, M.; Miukaiyama, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1967**, *40*, 2380-2383.

¹⁶³ Mitsunobu, O.; Eguchi, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1971**, *44*, 3427-3430.

est réalisé en présence de diisopropyl azodicarboxylate (DIAD). Il est notamment moins cher. Le di-*tert*-butyl azodicarboxylate (DBAD) gagne aussi en popularité car son sous-produit peut être éliminé par un traitement acide suivi d'un lavage à l'eau. Il trouve notamment des applications en chimie combinatoire. On trouve également la 1,1'-(azodicarbonyl)dipipéridine (ADDP), qui a un caractère plus basique et qui améliore les réactions avec des groupements méthylène activés ou des amides. Au niveau des phosphanes, la triphénylphosphine peut être remplacée par la tributylphosphine (PBU₃), sélective pour les alcools primaires ou par la triméthylphosphine (PMe₃), plus réactive.¹⁶⁴

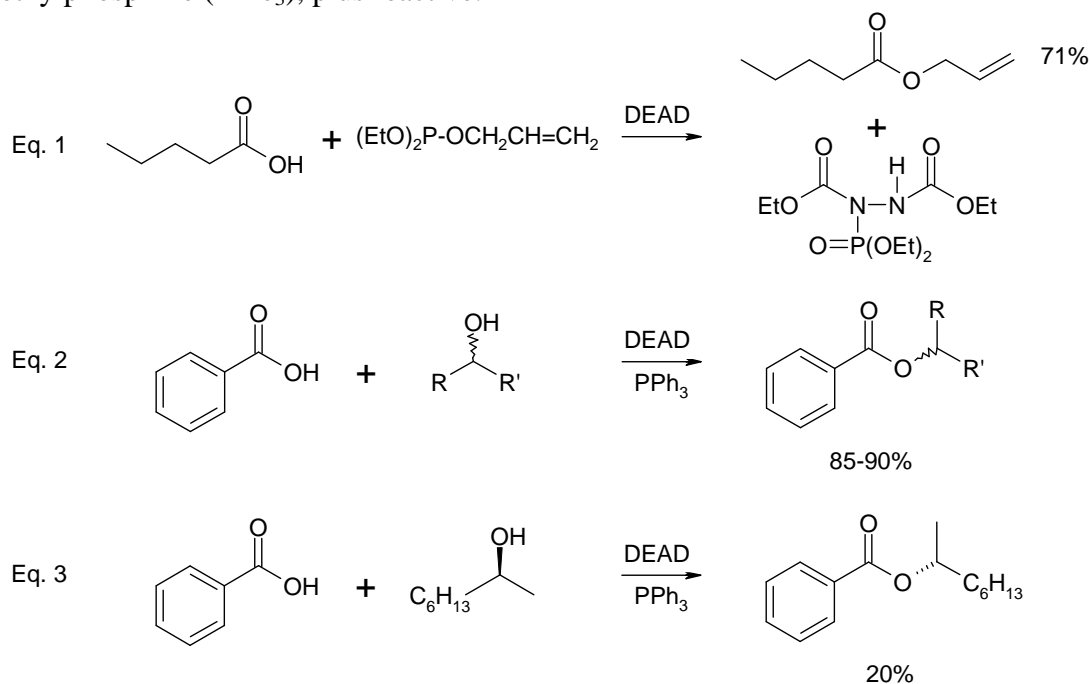


Schéma 14. Premiers exemples de la réaction de Mitsunobu.

Le mécanisme, qui est généralement accepté, passe tout d'abord par l'activation de la triphénylphosphine par le diazodicarboxylate, pour former un adduit qui est protoné par le proton du nucléophile. Il est donc important que le proton du nucléophile utilisé soit suffisamment acide pour protoner l'adduit formé. Ensuite, l'alcool va réagir avec le groupement phosphonium activé pour former le sel d'oxyphosphonium et l'hydrazide. Finalement, l'attaque du nucléophile sur l'alcool activé par une réaction de type S_N2 donnera le produit désiré ainsi que de l'oxyde de triphénylphosphine (Schéma 15).

¹⁶⁴ Dembinski, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2763-2772.

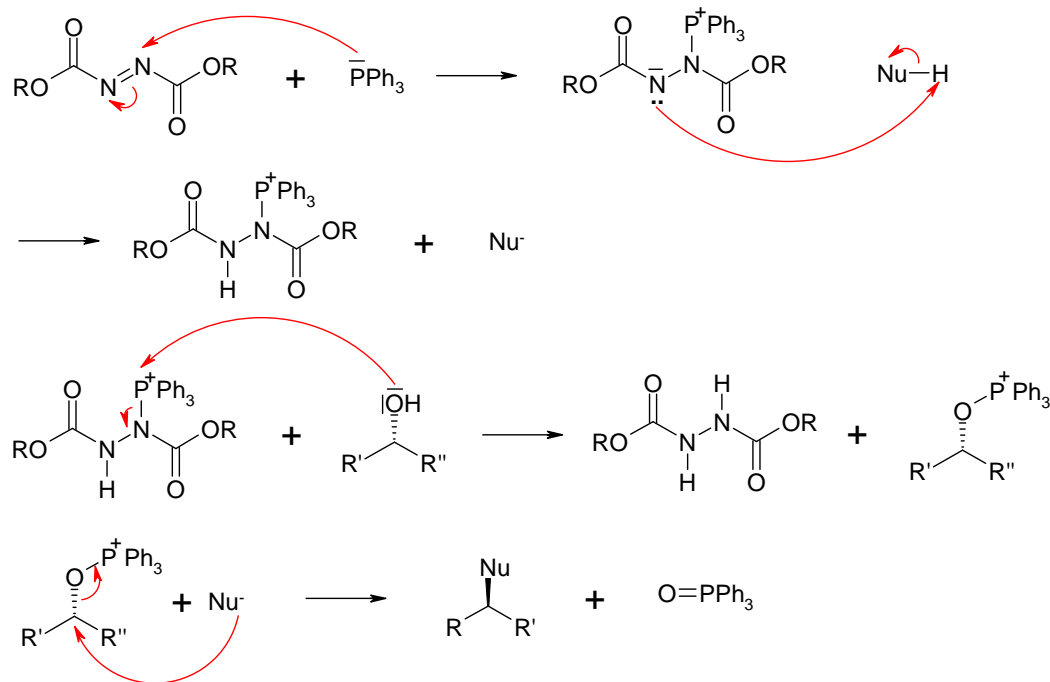
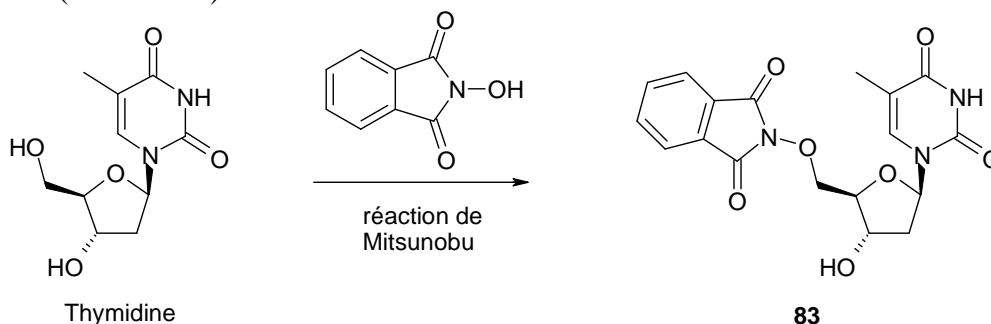


Schéma 15. Mécanisme de la réaction de Mitsunobu.

II.2. Synthèse de la 5'-O-phthalimidothymidine

La synthèse de la 5'-O-phthalimidothymidine **83** peut être réalisée à partir de la thymidine *via* une réaction de Mitsunobu mettant en jeu le *N*-hydroxyphthalimide comme nucléophile (Schéma 16).

Schéma 16. Introduction du groupement phthalimidoxy sur la thymidine *via* une réaction de Mitsunobu.

Cette réaction a précédemment été décrite dans la littérature en 1992. A partir de la thymidine, les conditions utilisées sont 1,3 éq de *N*-hydroxyphthalimide (PhthNOH), 1,3 éq de PPh₃ et 1,5 éq de DIAD dans le DMF, de 0°C à TA pendant 15h, ce qui permet l'obtention du produit désiré avec un rendement de 80%.¹⁶⁵

En 1995, la même équipe a de nouveau reporté la réaction mais avec plus de précision.¹⁶⁶ Le traitement de la thymidine avec PhthNOH, PPh₃ et du DIAD dans le DMF donne le composé désiré **83** avec un rendement de 60%. Il est précisé qu'une chromatographie sur colonne laborieuse est nécessaire pour séparer le produit désiré des sous-produits. Pour faciliter la purification, un nouveau traitement qui permet une isolation facile du dérivé **83** a

¹⁶⁵ Debart, F.; Vasseur, J. J.; Sanghvi, Y. S.; Cook, P. D. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 2645-2648.

¹⁶⁶ Perbost, M.; Hoshiko, T.; Morvan, F.; Swayze, E.; Griffey, R. H.; Sanghvi, Y. S. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 5150-5156.

été mis en place. En résumé, lorsque la réaction est finie (contrôle CCM), le milieu réactionnel est concentré en un résidu sirupeux. Ce résidu est dilué dans du CH₂Cl₂ froid et versé sur un mélange eau-glace, ce qui entraîne la précipitation du produit attendu qui peut ensuite être isolé par simple filtration.

Nous avons donc voulu reproduire cette réaction. Les premiers essais ont été réalisés sur des petites quantités (100 mg) notamment en raison du coût plutôt élevé de la matière première et des réactifs. Malheureusement, les différents essais réalisés ont conduit à des conversions incomplètes quelque soit l'agent diazocarboxylate et le solvant utilisés (Essais 1 à 4 - Tableau 1). Même en rajoutant des réactifs, aucun avancement supplémentaire de la réaction n'a pu être observé. Dans une référence,¹⁶⁶ la description du mode opératoire de la réaction précise que l'agent diazodicarboxylate (ici, le DIAD) doit être ajouté goutte à goutte. Pour pouvoir mieux maîtriser ce paramètre et pour pouvoir obtenir le produit désiré par précipitation, nous avons décidé d'augmenter l'échelle de la réaction à 1 g. En réalisant un ajout lent du DIAD dilué dans du DMF anhydre sur le milieu réactionnel refroidi à 0°C, le produit désiré **83** a pu être obtenu avec un rendement de 60% (Essai 5). La réaction réalisée sur 5 g de thymidine a conduit à un rendement de 86% (Essai 6).

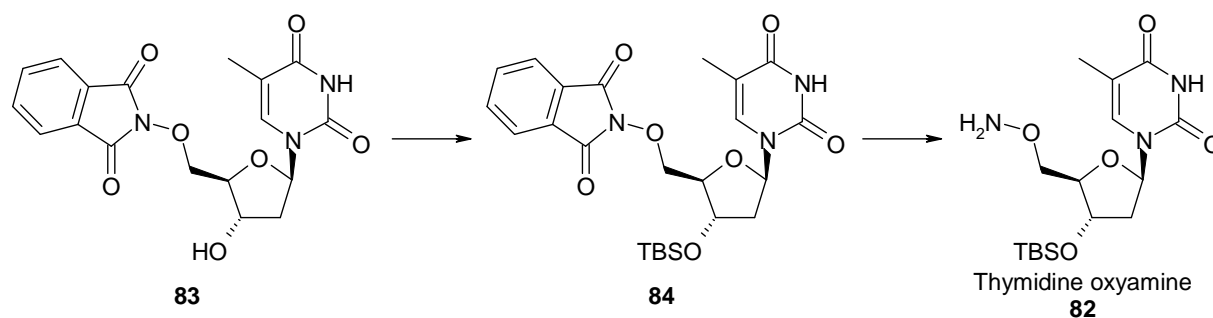
Essai	Quantité Thymidine	C ₀ (mmol/mL)	Conditions	Résultat
1	100 mg	0,27	DIAD, DMF	40% - produit impur
2	100 mg	0,28	DEAD, DMF	Conversion incomplète
3	100 mg	0,10	DBAD, DMF / THF 1/8	Conversion incomplète
4	40 mg	0,17	DIAD, dioxane	Conversion incomplète
5	1 g	0,40	DIAD (ajout lent), DMF	60%
6	5 g	0,38	DIAD (ajout lent), DMF	86%

Tableau 1. Essais réalisés sur la thymidine pour l'obtention du composé **83**.

Les facteurs clefs de cette étape sont donc : réaliser la réaction sur de grosses quantités (> 1 g) pour pouvoir travailler en milieu suffisamment concentré, introduire le DIAD par un goutte à goutte lent dans le milieu réactionnel refroidi à 0°C et travailler dans des conditions anhydres.

II.3. Synthèse de la thymidine oxyamine

A partir de la 5'-O-phthalimidothymidine **83**, la thymidine oxyamine **82** peut être obtenue en deux étapes (Schéma 17). La première étape est une protection du groupement hydroxyle en position 3' et la seconde est l'hydrazinolyse du groupement phthalimido.

Schéma 17. Synthèse de la thymidine oxyamine **82**.

II.3.a. Synthèse de la 5'-*O*-phthalimido-3'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine

La synthèse de la 5'-*O*-phthalimido-3'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine **84** est réalisée par silylation du composé **83**. Différents essais ont été réalisés avant de trouver les conditions qui mènent au meilleur rendement (Tableau 2).

Essai	Conditions	Résultat
1	TBSCl 1,1 éq Imidazole 3 éq I ₂ 2 éq Pyridine	Conversion incomplète
2	TBSCl 1,2 éq AgNO ₃ 1,1 éq Pyridine 5 éq DMF / THF 1 / 1	Conversion incomplète
3	TBSCl 1,2 éq (ajout lent) Imidazole 2,7 éq DMF	Rdt = 85%
4	TBSCl 1,3 éq (ajout lent) Imidazole 2,6 éq DMF	Rdt = 95%

Tableau 2. Essais d'optimisation de l'étape de silylation.

Le premier essai a été réalisé en utilisant les conditions classiques TBSCl, imidazole, I₂, pyridine (Essai 1 - Tableau 2). Ces conditions n'ont pas permis une conversion complète du produit de départ **83**. D'autres conditions ont alors été testées. Celles décrites par K. K. Ogilvie *et al.*¹⁶⁷ (Essai 2) n'ont pas non plus permis une conversion totale. Enfin, l'ajout lent d'une solution de TBSCl dans du DMF anhydre sur le milieu réactionnel contenant le composé **83** et de l'imidazole dans du DMF anhydre a permis d'obtenir le composé désiré **84** avec de très bons rendements (85% lorsque la réaction est réalisée sur 100 mg, et 95% lorsque 500 mg de composé **83** sont engagés – Essais 3 et 4).

¹⁶⁷ Hakimelahi, G. H.; Proba, Z. A.; Ogilvie, K. K. *Can. J. Chem.* **1982**, *60*, 1106-1113.

II.3.b. Synthèse de la thymidine oxyamine

La thymidine oxyamine **82** est ensuite obtenue par hydrazinolyse du composé **84**. En présence de 3,1 éq d'hydrazine hydrate dans du méthanol, le composé **118** est converti en 2h en thymidine oxyamine **82** avec un rendement quantitatif. Un lavage avec une solution saturée en NaHCO₃ suffit à éliminer les sous-produits de la réaction et permet l'obtention du produit désiré pur.

II.4. Autre voie de synthèse menant à la thymidine oxyamine

En raison des difficultés rencontrées lors des premiers essais de synthèse du composé 5'-*O*-phthalimidothymidine **83**, une autre approche menant à la thymidine oxyamine a été mise en place (Schéma 18). Le groupement protecteur TBS est d'abord introduit, ce qui peut ensuite faciliter l'introduction du groupement phthalimidoxyle (moins de problèmes de solubilité et de purification par exemple).

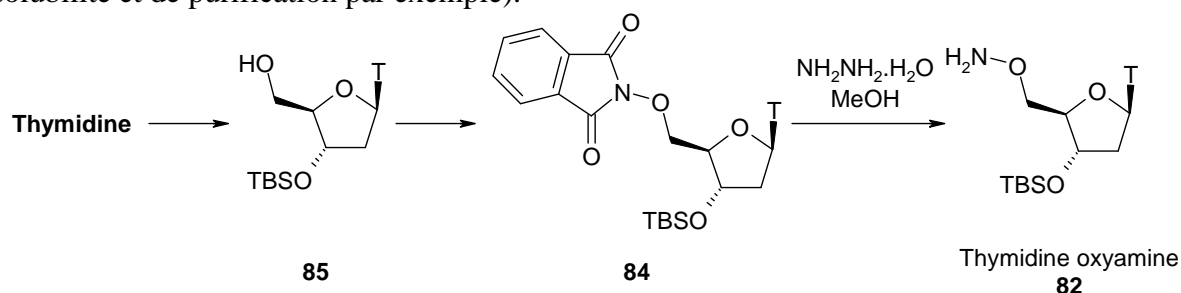


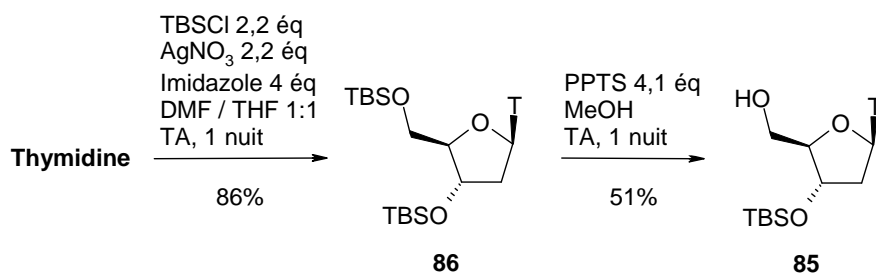
Schéma 18. Autre voie de synthèse menant à la thymidine oxyamine **82**.

II.4.a. Synthèse de la 3'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine

L'obtention de la 3'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine **85** se fait en deux étapes. Les positions 5' et 3' sont silylés et la position 5' est ensuite déprotégée sélectivement. Ces deux étapes sont décrites dans la littérature avec un rendement global de 68%.¹⁶⁸ La première étape, qui suit une procédure mise au point par l'équipe de K. K. Ogilvie,¹⁶⁷ est réalisée en présence de 2,2 éq de TBSCl, 2,2 éq de nitrate d'argent et 4 éq d'imidazole dans un mélange DMF / THF 1:1. En suivant cette procédure, nous avons obtenu le produit disilylé **86** avec un rendement de 86% (Schéma 19). La seconde étape est la déprotection sélective du TBS en position 5'. Cette étape s'effectue en présence d'un acide faible, le sel pyridinium d'acide para-toluènesulfonique (PPTS). PPTS est un acide plus faible que l'acide acétique. Ainsi, une solution 1M de PPTS a un pH de 3,0 alors qu'une solution 1M d'acide acétique a un pH de 2,4.¹⁶⁹ Suivant la procédure de P. C. Montevecchi *et al.*,¹⁶⁸ nous avons mis le composé **86** en présence de 4,1 éq de PPTS dans du MeOH pendant une nuit à TA et le produit **85** mono-silylé en 3' a été obtenu avec un rendement de 51% (Schéma 19).

¹⁶⁸ Montevecchi, P. C.; Manetto, A.; Navacchia, M. L.; Chatgialiloglu, C. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 4303-4308.

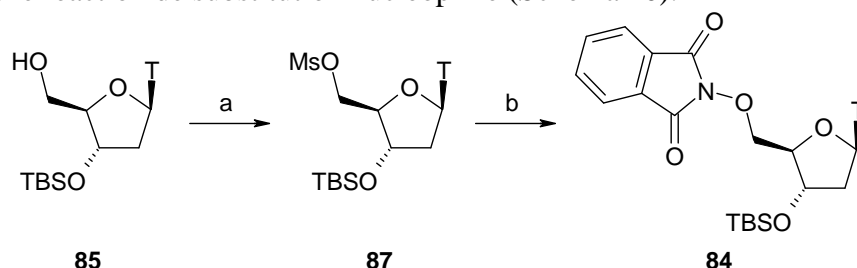
¹⁶⁹ Miyashita, N.; Yoshikoshi, A.; Grieco, P. A. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3772-3774.

Schéma 19. Synthèse du composé **85**.

II.4.b. Synthèse de la 5'-*O*-phthalimido-3'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine

La synthèse de la 5'-*O*-phthalimido-3'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine **84** peut s'effectuer à partir du composé **85** en réalisant une réaction de Mitsunobu. Nous avons donc testé ces conditions. En présence de *N*-hydroxyphthalimide (1,3 éq), de triphénylphosphine (1,3 éq) et de DIAD (1,5 éq) dans du DMF anhydre, le composé **85** ne réagit pas complètement même après ajout de quantités supplémentaires de réactifs. Cependant, ces travaux étant effectués en parallèle de ceux sur la mise au point de la réaction de Mitsunobu sur la thymidine, nous n'avons pas testé cette réaction sur de grosses quantités en utilisant les facteurs clefs énoncés précédemment (Paragraphe II.2, p. 78). Il pourrait donc être intéressant de réaliser de nouveaux tests.

Nous avons alors envisagé la synthèse du composé **84** en deux étapes. La première étape est l'activation de l'hydroxyle en 5' du composé **85** en un mésylate (composé **87**) et la seconde est une réaction de substitution nucléophile (Schéma 20).

Schéma 20. Synthèse du composé **84** en deux étapes : a) activation par un mésylate ; b) substitution nucléophile.

La première étape a été réalisée en présence de chlorure de mésyle (1,1 éq) dans la pyridine¹⁷⁰ et a permis l'obtention du dérivé **87** avec un rendement de 89%. La seconde étape est réalisée en présence de DBU (2 éq) et de *N*-hydroxyphthalimide (2 éq) dans du DMF. Le composé **84** est ainsi obtenu avec un rendement de 39%.

Nous avons ainsi pu mettre en place une seconde voie de synthèse qui permet l'obtention du dérivé **84**. Ce dérivé permet ensuite l'obtention du dérivé thymidine oxyamine **82** en une seule étape. Cette étape d'hydrazinolyse est réalisée en présence d'hydrazine hydrate dans le méthanol avec un rendement quantitatif (Paragraphe II.3.b, p. 80).

Finalement, cette voie de synthèse n'a pas été optimisée car la première voie de synthèse décrite (Schéma 12) permet la synthèse de la thymidine oxyamine **82** en seulement trois étapes avec un bon rendement global (82%).

¹⁷⁰ Horwitz, J. P.; Urbanski, J. A.; Chua, J. J. *Org. Chem.* **1962**, 27, 3300-3302.

III. Synthèse de la thymidine acide

Ensuite, nous avons étudié la synthèse de la thymidine acide **88** fonctionnalisée en position 3' (Schéma 21). Le groupement protecteur diméthoxytrityle (DMT) introduit en position 5' a été choisi dans le but d'intégrer les dinucléosides synthétisés dans des séquences d'oligomères *via* un synthétiseur à ADN.

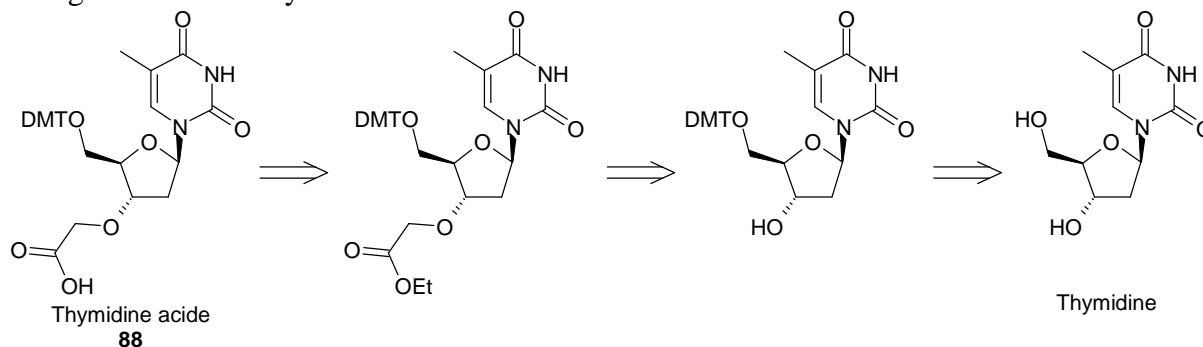


Schéma 21. Rétrosynthèse du monomère thymidine acide.

III.1. Introduction du groupement protecteur DMT

La première étape est la protection de l'hydroxyle en position 5' par le groupement DMT (Schéma 22). Pour réaliser cette réaction de tritylation, différentes conditions s'offrent à nous. Les conditions DMTCl, DMAP en quantité catalytique dans la pyridine sont couramment utilisées.^{141,171} Cependant, les essais réalisés (Essais 1 et 2 - Tableau 3) ont conduit à de faibles rendements.

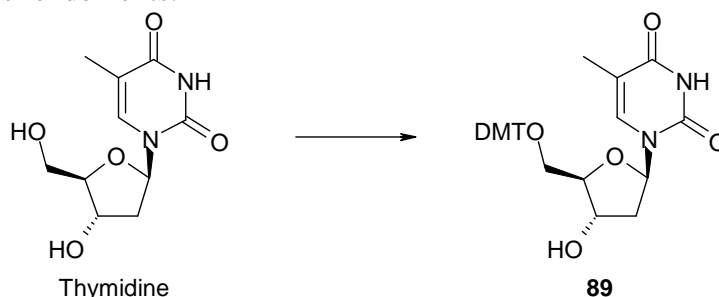


Schéma 22. Protection en 5' par le groupement DMT.

Récemment, l'introduction du DMT en position 5' sur les α -L-arabino nucléosides¹⁷² a été décrite dans les conditions suivantes : le nucléoside de départ est co-évaaporé avec de la pyridine anhydre et dissous dans un mélange CH_2Cl_2 / pyridine 4:1. Le DMTCl (1,1 éq) est ajouté sous atmosphère inerte et le mélange est agité pendant 10h à TA. Le mélange est encore agité pendant 2h après un ajout supplémentaire de DMTCl (0,1 éq). Le milieu est traité et purifié et le produit désiré est obtenu avec un rendement de 84%. Nous avons utilisé ces conditions (Tableau 3 - Essai 3) mais la réaction s'est avérée incomplète même après un temps de réaction plus long.

¹⁷¹ Baral, B.; Kumar, P.; Anderson, B. A.; Ostergaard, M. E.; Sharma, P. K.; Hrdlicka, P. J. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 5850-5852.

¹⁷² Gupta, P.; Maity, J.; Shakya, G.; Prasad, A. K.; Parmar, V. S.; Wengel, J. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 2389-2401.

Essai	Quantité Thymidine	Conditions	Résultats
1	100 mg	DMTCl 1,1 éq DMAP 0,1 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Réaction incomplète après 24h à TA ▪ Ajout de 0,1 éq de DMTCl, 3 jours à TA ▪ Rdt = 30%
2	100 mg	DMTCl 1,25 éq DMAP 0,2 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Réaction incomplète
3	100 mg	DMTCl 1,1 éq Pyridine / CH ₂ Cl ₂ 1:4	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Réaction incomplète après 24h à TA ▪ Ajout de 0,1 éq de DMTCl, 5 jours à TA : incomplet
4	100 mg	Pyridine 5 éq AgNO ₃ 1,05 éq DMTCl 1,0 éq THF anhydre	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Peu d'avancement à TA ▪ Chauffé une nuit à reflux ▪ Formation de nombreux produits
5	50 mg	DMTCl 1,15 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 48h à reflux ▪ Rdt = 12%
6	200 mg	DMTCl 1,2 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 5 jours à reflux ▪ Produit di-tritylé majoritaire ▪ Beaucoup de sous-produits
7	1 g	DMTCl 1,2 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Réaction incomplète après 2h30 à reflux ▪ Ajout de 1,0 éq de DMTCl, 1 nuit à reflux puis 3 jours à TA ▪ Produit di-tritylé majoritaire
8	1 g	DMTCl 1,1 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ajout lent d'une solution de DMTCl dans la pyridine, dans le milieu chauffé à reflux ▪ 1 nuit à TA ▪ Rdt = 50%
9	3 g	DMTCl 1,1 éq Et ₃ N 1 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ajout lent d'une solution de DMTCl dans la pyridine, dans le milieu chauffé à 80°C ▪ 1 nuit à TA ▪ Rdt = 46%
10	5 g	DMTCl 1,1 éq Et ₃ N 2 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 1h30 à reflux ▪ Rdt = 82%

Tableau 3. Essais de protection par un groupement DMT.

En 1982, l'équipe de K. K. Ogilvie¹⁶⁷ a décrit une nouvelle méthode de tritylation après avoir observé la formation de produit di-tritylé et des réactions incomplètes en utilisant les méthodes classiques (DMTCl, pyridine). Cette méthode est basée sur l'utilisation de nitrate d'argent comme catalyseur et permet l'obtention de la 5'-O-diméthoxytrityluridine

avec un rendement de 84% en partant de 24 g d'uridine. Les conditions ont été testées sur 100 mg de thymidine (Essai 4 - Tableau 3) mais après une nuit à TA, peu d'avancement a été observé. Le chauffage du milieu réactionnel a conduit à la formation de nombreux produits.

Les conditions classiques (DMTCl, pyridine à TA) permettant la tritylation de la position 5' de la thymidine sont décrites avec d'excellents rendements (80 à 98%).¹⁷³⁻¹⁷⁵ Nos essais dans ces mêmes conditions donnent des réactions incomplètes, c'est pourquoi le milieu réactionnel a été chauffé à reflux (Essais 5, 6 et 7 - Tableau 3). Il est à noter que des temps de réaction trop long à haute température (Essais 6 et 7) entraînent la formation d'un certain pourcentage de produit di-tritylé. Pour remédier à cela, nous avons introduit le DMTCl par un ajout lent dans le milieu chauffé à reflux (Essai 8), ce qui nous a permis d'augmenter le rendement à 50%. L'ajout de triéthylamine (Essai 9) n'a pas permis d'améliorer ce rendement dans un premier temps. Mais l'ajout en une seule fois du DMTCl en présence de 2 éq de triéthylamine puis un court chauffage à reflux (1h30) permettent d'obtenir le produit **89** avec un bon rendement (Essai 10).

Il est important de noter pour la suite que le groupement DMT est sensible en milieu acide et qu'il peut être en partie clivé lors des purifications sur silice. Pour éviter ceci, de la triéthylamine (0,5 - 1%) est ajoutée dans l'éluant lors de la purification des composés portant un groupement DMT.

III.2. Introduction de la fonction acide carboxylique

III.2.a. Synthèse de la 5'-O-diméthoxytrityl-3'-O-éthoxycarbonylméthyl thymidine

Afin d'introduire la fonction acide carboxylique en position 3' du nucléoside **89**, une étape d'O-alkylation est envisagée (Schéma 23).

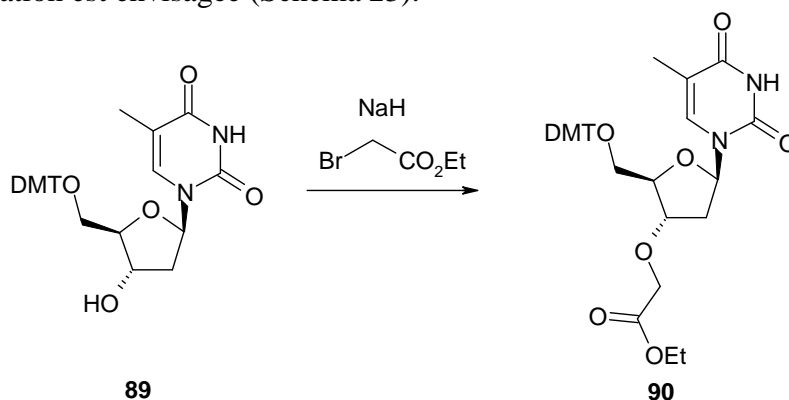


Schéma 23. Etape d'O-alkylation.

Dans la littérature, cette réaction a été peu décrite. En 1993, T. H. Keller et R. Häner¹⁷⁶ ont essayé la réaction d'alkylation sur l'uridine protégée **91** en présence de diéthoxy thallium $Tl(OEt)_2$ et de bromoacétate de méthyle (Schéma 24). Cette réaction conduit exclusivement au produit N-alkylé **92**.

¹⁷³ Schaller, H.; Weimann, G.; Lerch, B.; Khorana, H. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3821-3827.

¹⁷⁴ Chirakul, P.; Sigurdsson, S. T. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 917-919.

¹⁷⁵ Bdour, H. M.; Kao, J. L.-F.; Taylor, J. S. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1640-1646.

¹⁷⁶ Keller, T. H.; Häner, R. *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 884-892.

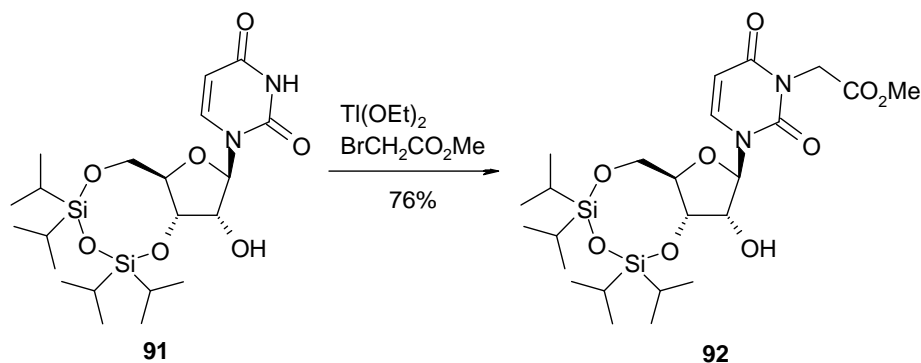


Schéma 24. Réaction d'alkylation sur le dérivé uridine **91** décrite par T. H. Keller et R. Häner.

Ils ont alors contourné le problème en réalisant la réaction d'alkylation sur le dérivé ribose **93** (Schéma 25), ce qui permet ensuite d'introduire les différentes bases nucléotidiques *via* la réaction de glycosylation et d'obtenir ainsi différents nucléosides modifiés.

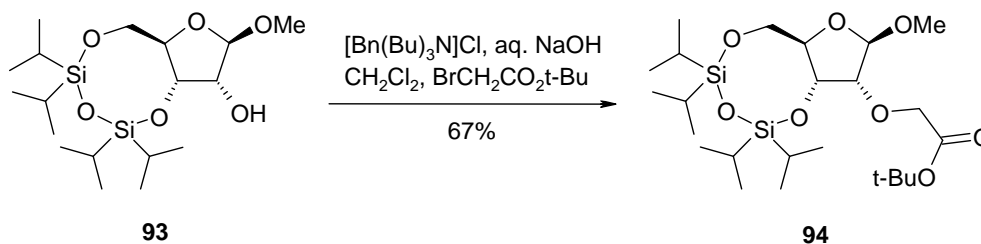


Schéma 25. Réaction d'alkylation sur le dérivé ribose **93** décrite par T. H. Keller et R. Häner.

En 1968, la réaction d'alkylation a été étudiée sur l'uridine et la thymidine par M. H. Halford et A. S. Jones (Schéma 26).¹⁷⁷ La réaction de la 5'-*O*-tritylthymidine **95** en présence de NaH (2 éq) avec le chloroacétate de sodium (1 éq) dans le DMSO donne le produit *O*-alkylé **96** majoritaire (34%). Cependant, une quantité considérable de produit *N*-alkylé **97** est aussi formée ainsi qu'un peu de produit *N*- et *O*-dialkylé **98**. De plus, il apparaît que le groupement trityle n'est pas complètement stable dans les conditions de la réaction.

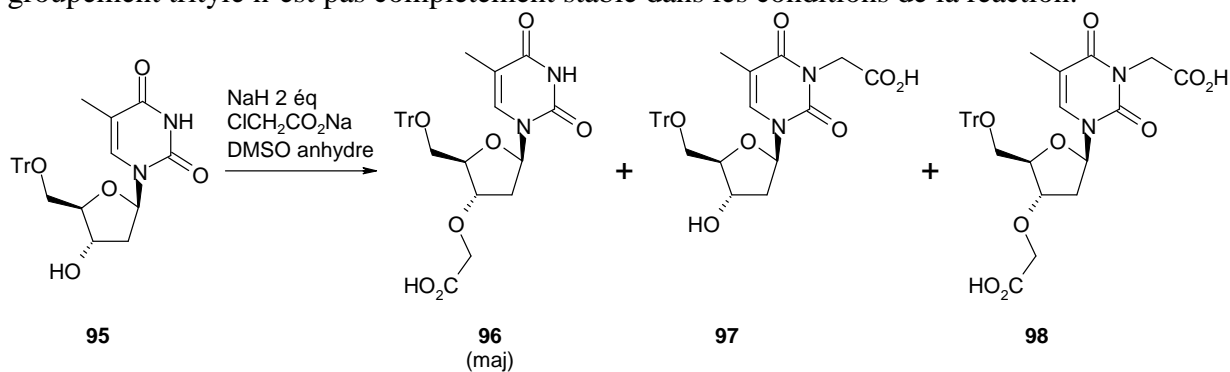


Schéma 26. Réaction décrite par M. H. Halford et A. S. Jones.

Cette réaction a ensuite été réutilisée en 1995 par M. M. Greenberg (Schéma 27).¹⁷⁸ La réaction de la 5'-*O*-diméthoxytritylthymidine **89** avec le chloroacétate de sodium permet d'obtenir le produit *O*-alkylé **88** avec un rendement de 97%.

¹⁷⁷ Halford, M. H.; Jones, A. S. *J. Chem. Soc. (C)* **1968**, 2667-2670.

¹⁷⁸ Greenberg, M. M. *Tetrahedron* **1995**, 51, 29-38.

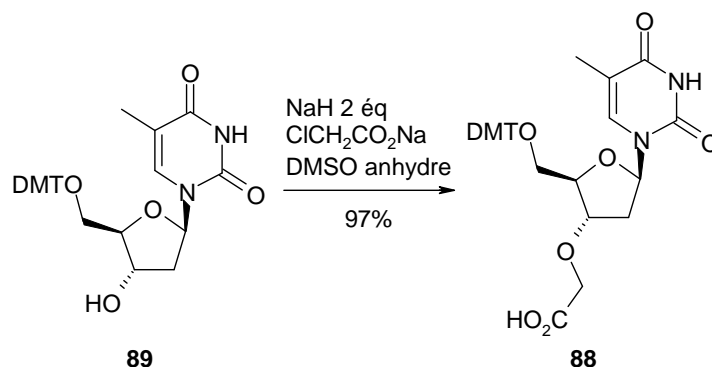
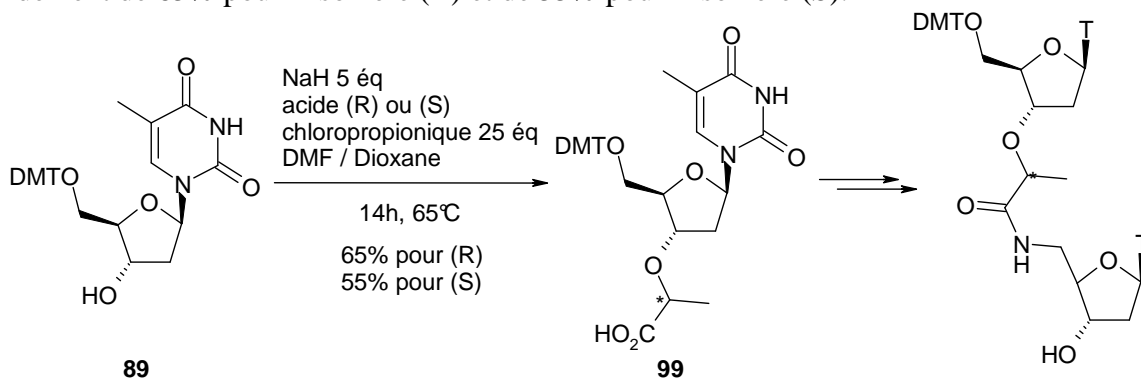


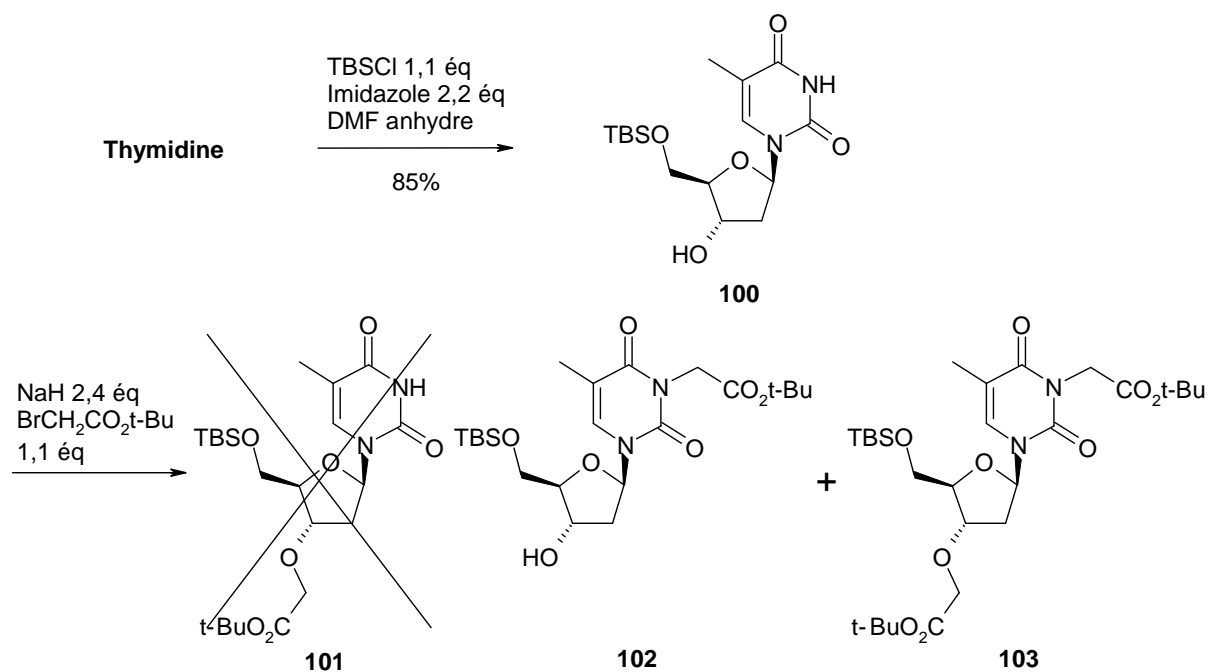
Schéma 27. Réaction décrite par M. M. Greenberg.

La réaction d'O-alkylation a également été utilisée dans la synthèse de dinucléosides de thymidine liés par liaison amide (Schéma 28).¹⁴⁶ La 5'-O-diméthoxytritylthymidine **89** est ici traitée avec du NaH (5 éq) et de l'acide (R) ou (S) 2-chloropropionique (25 éq) dans un mélange DMF / dioxane 1:1 pendant 14h à 65°C. Le produit désiré **99** est obtenu avec un rendement de 65% pour l'isomère (R) et de 55% pour l'isomère (S).

Schéma 28. Réaction décrite par G. Piccialli *et al.*

La réaction d'alkylation avec un α -bromoacétate d'alkyle permettant l'introduction d'un groupement ester en position 3' n'a jamais été décrite sur la thymidine ne portant pas de groupement protecteur sur la base. Nous avons testé la réaction sur la 5'-O-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine **100**, synthétisée avec un rendement de 85% à partir de la thymidine¹⁷⁹ (Schéma 29).

¹⁷⁹ Li, X.; Zhan, Z.-Y. J.; Knipe, R.; Lynn, D. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 746-747.



Sch\u00e9ma 29. Etape d'alkylation.

Le compos\u00e9 **100** est mis en pr\u00e9sence de NaH et le m\u00e9lange est activ\u00e9 aux ultrasons. L' α -bromoac\u00e9tate de *tert*-butyle est ensuite ajout\u00e9. Le milieu r\u00e9actionnel est agit\u00e9 une nuit \u00e0 TA. L'utilisation d'au moins 2 \u00e9q de NaH est justifi\u00e9 par le fait que le proton du NH ($pK_a = 9$) est plus acide que celui du OH ($pK_a = 16$). Suivant le solvant utilis\u00e9, les r\u00e9sultats sont l\u00e9g\u00e8rement diff\u00e9rents (Tableau 4). En pr\u00e9sence de THF, la r\u00e9action est incompl\u00e8te et le produit majoritaire est le produit N-alkyl\u00e9. En pr\u00e9sence de DMF, la conversion est totale et le produit N-alkyl\u00e9 est obtenu avec un rendement de 83%. D'apr\u00e8s une \u00e9tude r\u00e9alis\u00e9e par R. Zerrouki *et al.*,¹⁸⁰ les solvants \u00e0 haute constante di\u00e9lectrique (ϵ_r) comme le DMF ($\epsilon_r = 37$) conduisent exclusivement \u00e0 la r\u00e9action de N-alkylation contrairement aux solvants \u00e0 faible constante di\u00e9lectrique comme le THF ($\epsilon_r = 7,6$) qui conduisent plut\u00f4t \u00e0 la r\u00e9action d'O-alkylation. Dans notre cas, le produit d'O-alkylation **101** n'a pas pu \u00eatre isol\u00e9.

Essai	Solvant	Produit N-alkyl\u00e9 102	Produit N- et O-dialkyl\u00e9 103
1	THF	45%	8%
2	DMF	83%	3%

Tableau 4. Essais d'alkylation.

Il est \u00e0 noter que les produits N- et O-alkyl\u00e9 sont principalement diff\u00e9renci\u00e9s par RMN ^{13}C . En effet, le d\u00e9placement chimique d'un CH_2 en α d'un atome d'azote est d'environ 40 ppm alors que celui d'un CH_2 en α d'un atome d'oxyg\u00e8ne est d'environ 65 ppm.

La r\u00e9action d'alkylation a \u00e9t\u00e9 r\u00e9alis\u00e9e sur la 5'-O-tritylthymidine **95** (Sch\u00e9ma 30), synth\u00e9tis\u00e9e avec un rendement de 37% en pr\u00e9sence de TrCl dans la pyridine \u00e0 reflux. En

¹⁸⁰ Teste, K.; Colombeau, L.; Hadja-Bouazza, A.; Lucas, R.; Zerrouki, R.; Krausz, P.; Champavier, Y. *Carb. Res.* **2008**, *343*, 1490-1495.

reprenant les conditions précédentes (NaH 2,6 éq, BrCH₂CO₂Et 1,1 éq), le produit N-alkylé **105** a été obtenu avec un rendement de 37%.

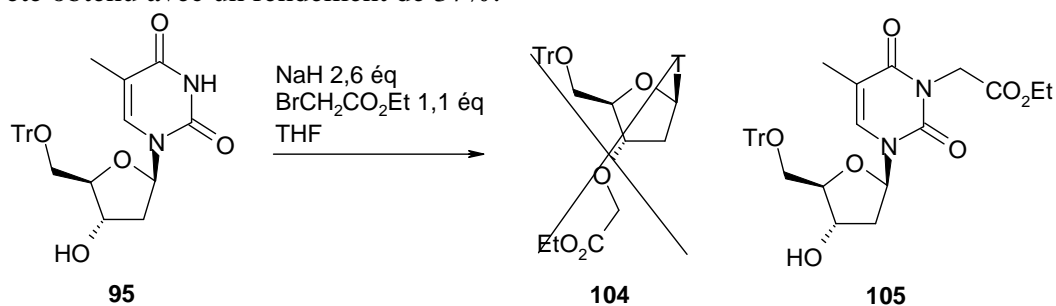


Schéma 30. Etape d'alkylation.

A partir de la 5'-*O*-diméthoxytritylthymidine **89**, les résultats sont identiques quels que soient les quantités de réactifs introduits et le temps de réaction (Schéma 31).

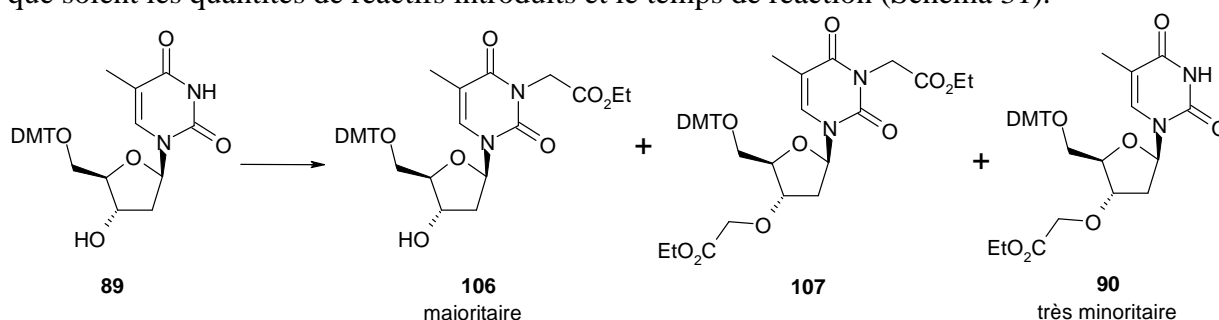


Schéma 31. Essais d'alkylation. Réactifs et conditions : NaH, BrCH₂CO₂Et, THF ou DMF.

Un essai reprenant les conditions décrites par M. M. Greenberg¹⁷⁸ a été réalisé. Une solution de 5'-*O*-diméthoxytritylthymidine **89** dans le DMSO est ajoutée à une suspension de NaH (2,4 éq) dans du DMSO à TA. Après 1h, une solution de bromoacétate de sodium (1,2 éq) est ajoutée et le mélange réactionnel est agité pendant une nuit. La réaction est incomplète et le reste même après un temps de réaction prolongé (3 jours). Après traitement, la RMN du brut réactionnel montre la présence du produit N-alkylé **108** (pic à 42,1 ppm en RMN ¹³C dans le DMSO-d₆ correspondant au N-CH₂).

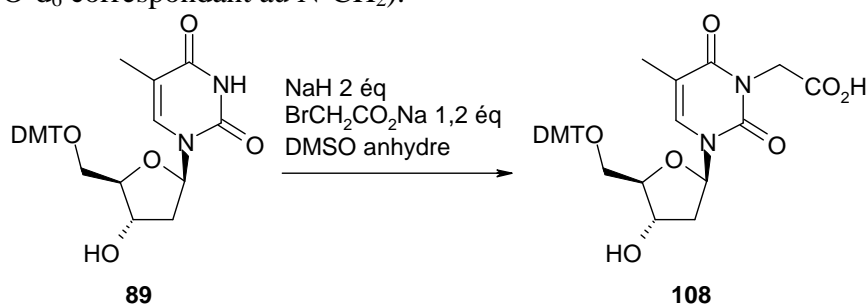


Schéma 32. Essai d'alkylation avec le bromoacétate de sodium.

III.2.b. Protection de la base

Vu les échecs d'*O*-alkylation dus à la formation de produits N-alkylé non désirés, le NH de la base peut être protégé. L'équipe de P. D. Cook¹⁸¹ a utilisé cette méthode (Schéma 33). En partant de la 5'-*O*-*tert*-butyldiphénylsilylthymidine, la position N-3 est

¹⁸¹ Teng, K.; Cook, P. D. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 278-280.

régiosélectivement protégée avec le chlorure de (benzyloxy)méthyle (BOMCl). Le produit N-protégé **109** est ensuite alkylé en présence d' α -bromoacétate d'éthyle pour donner le produit désiré **110** avec un rendement de 76%.

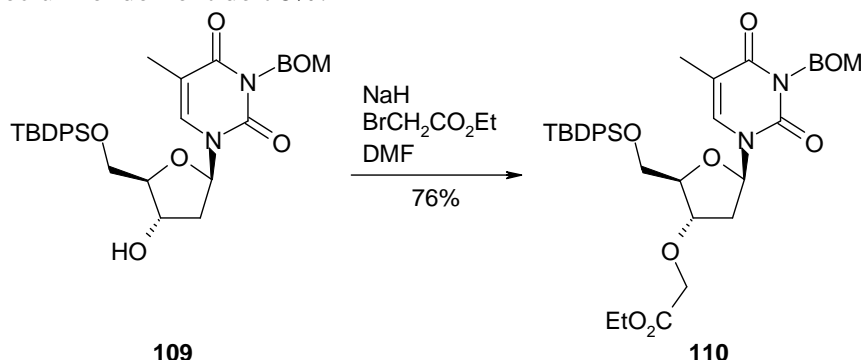


Schéma 33. Réaction décrite par K. Teng et P. D. Cook.

La réaction a également été décrite sur l'uridine protégée **111** (Schéma 34).¹⁸² En présence de NaH (2,2 éq) et d' α -bromoacétate de méthyle (5 éq) dans le DMF pendant 1,5h à -5°C le produit désiré **112** est obtenu avec un rendement de 98%.

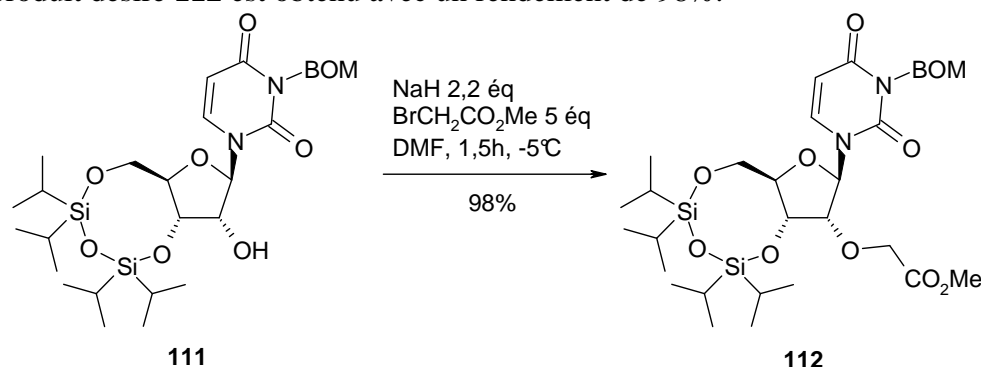


Schéma 34. Réaction décrite par B. Cuenoud *et al.*

Nous avons donc voulu protéger le NH de la thymine afin de pouvoir ensuite réaliser la réaction d'O-alkylation. Dans la littérature,¹⁸³ la protection temporaire du N-3 de la thymine avec un groupement silyle a été développée dans le but de pouvoir ensuite alkyler la position N-1 (Schéma 35).

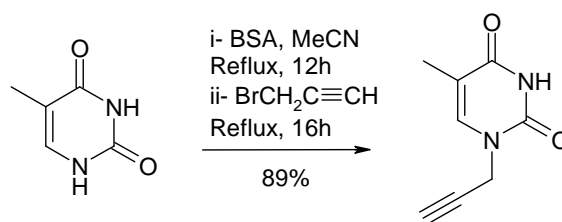


Schéma 35. Réaction décrite par C. Len *et al.*

Nous avons donc repris ces conditions pour un essai préliminaire afin de vérifier la sélectivité de la réaction. En mettant la 5'-O-tritylthymidine **95** en présence de *N,O*-bis(triméthylsilyl)acétamide (BSA) dans de l'acétonitrile anhydre à reflux, un nouveau produit est obtenu après 45 min, le milieu est ensuite refroidi à TA puis à 0°C et du NaH (1,1 éq) est ajouté. Après 45 min, de l' α -bromoacétate d'éthyle (1,1 éq) est ajouté et le milieu est

¹⁸² Cuenoud, B.; Casset, F.; Hüskén, D.; Natt, F.; Wolf, R. M.; Altmann, K.-H.; Martin, P.; Moser, H. E. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1288-1291.

¹⁸³ Hamon, F.; Violeau, B.; Turpin, F.; Bellot, M.; Bouteiller, L.; Djedaini-Pilard, F.; Len, C. *Synlett* **2009**, 2875-2879.

agité une nuit à TA. Après traitement et purification, un nouveau produit est obtenu avec un rendement de 80% (Schéma 36). L'analyse RMN ^1H et ^{13}C permet d'identifier le produit obtenu. Il s'agit du produit N-alkylé **113** et non du produit O-alkylé **104**. De plus, une petite quantité de produit silylé en position 3' (composé **114**) a été obtenue et identifiée. En effet, la liaison O-Si est privilégiée car elle est plus forte et donc plus stable qu'une liaison N-Si.

Ce résultat est à comparer avec celui obtenu précédemment (Schéma 30, p. 88) dans le cas de la réaction d'alkylation « classique ». Le rendement de la réaction a pu être amélioré significativement (de 37% à 80%).

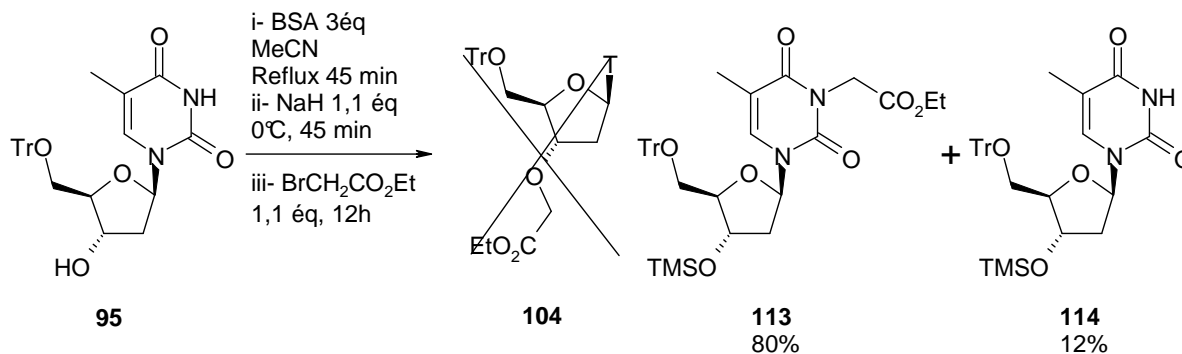


Schéma 36. Essai d'O-alkylation.

Afin de réaliser la protection du NH de la thymidine, notre choix s'est porté sur le groupement benzoyle. Le chlorure de benzoyle (BzCl), disponible au laboratoire, est largement utilisé pour la protection des nucléosides à base pyrimidique.¹⁸⁴ La 5'-O-diméthoxytritylthymidine **89** est mise en présence de triéthylamine (2 éq) et de BzCl (1,5 éq) dans du DMF anhydre. Le produit **116** comportant le groupement benzoyle en position 3' a été obtenu avec un rendement de 34% à la place du composé désiré N-benzoylé **115**.

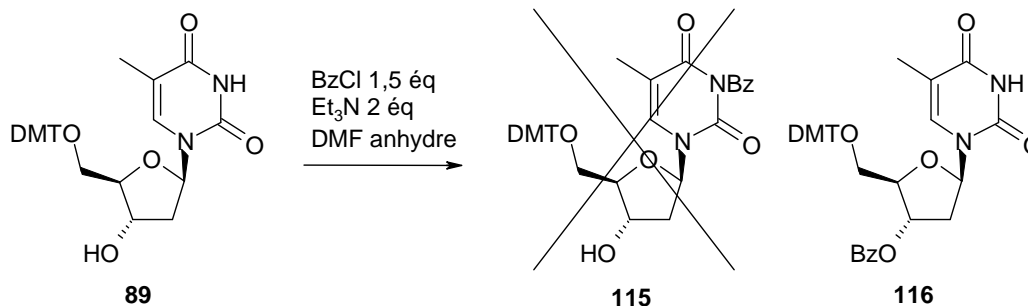


Schéma 37. Essai de protection de la base avec un groupement benzoyle.

Les conditions décrites par G. H. Veeneman *et al.*¹⁸⁵ (BzCl 1 éq, DIPEA 2 éq, pyridine, 1h à TA) qui permettent l'obtention de la 3-N-benzoyl-5'-O-diméthoxytritylthymidine avec un rendement de 85% ont également été testées. La réaction s'est révélée incomplète (conversion < 50%) en 1h et avec un temps de réaction plus long, un mélange de produits a été observé en CCM.

Il est intéressant de noter que la réaction de N-benzoylation a été étudiée sur l'uridine et la thymidine en 2002 par l'équipe de A. R. Maguire.¹⁸⁶ A partir de la 2',3'-O,O-isopropylidèneuridine, les conditions classiques BzCl, Et₃N, CH₂Cl₂ donnent le produit N-

¹⁸⁴ Sonveaux, E. In *Methods in Molecular Biology*; Agrawal, S., Ed.; Humana Press Inc.: Totowa, NJ, 1994; Vol. 26, p 1-71.

¹⁸⁵ Veeneman, G. H.; Van Der Marel, G. A.; Van Den Elst, H.; Van Boom, J. H. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 1547-1562.

¹⁸⁶ Maguire, A. R.; Hladezuk, I.; Ford, A. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 369-372.

benzoylé avec un rendement de 56%. En revanche, quand la thymidine réagit dans ces conditions, la protection sélective du N-3 n'a pas lieu et le produit 3',5'-di-*O*-benzoylthymidine est obtenu avec un rendement de 24% et le dérivé tri-benzoylé est obtenu avec un rendement de 3%. Afin de procéder à la protection sélective du N-3 de la thymidine, l'équipe de A. R. Maguire a repris une stratégie mise en place par l'équipe de H. G. Khorana¹⁷³ pour la synthèse de la *N*-benzoyldésoxycytosine. Cette stratégie implique un passage par le produit tri-benzoylé puis une déprotection sélective des groupements protecteurs esters (Schéma 38).

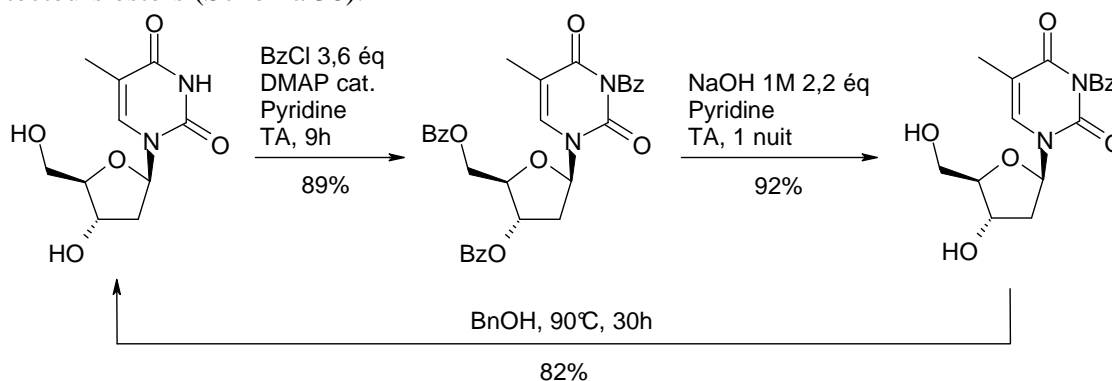


Schéma 38. Réactions décrites par A. R. Maguire *et al.*

Dans le but d'avoir une synthèse plus rapide du produit *N*-benzoylé désiré, nous nous sommes tournés vers les conditions précédemment mises en place (Schéma 36) qui utilisent la protection temporaire du OH en 3' par un groupement silyle (utilisation du BSA). En reprenant ces conditions (Schéma 39), l'intermédiaire silylé en position 3' est d'abord obtenu, puis en présence de triéthylamine et de BzCl, le produit *N*-benzoylé est formé. L'ajout de TBAF dans le milieu nous permet d'obtenir le produit désiré **115** avec un rendement de 62% après purification par chromatographie sur colonne.

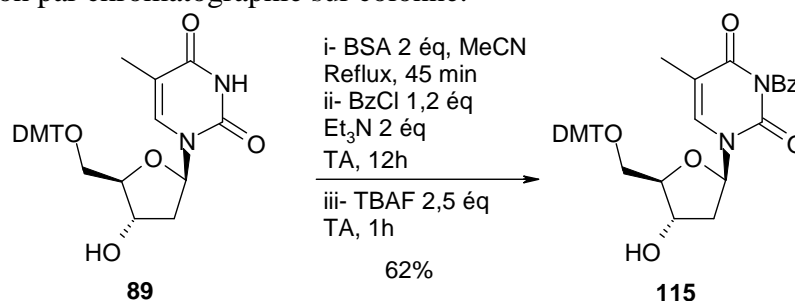


Schéma 39. Protection du NH de la base par un groupement benzoylé.

Dans la littérature, des conditions similaires utilisant la protection par un groupement silyle ont été décrites. En 1983, une équipe suédoise¹⁸⁷ a décrit une procédure générale « one-pot » pour la synthèse de dérivés uridine protégés en position N-3 par un groupement benzoylé (Schéma 40).

¹⁸⁷ Welch, C. J.; Chattopadhyaya, J. *Acta Chem. Scand.* **1983**, B 37, 147-150.

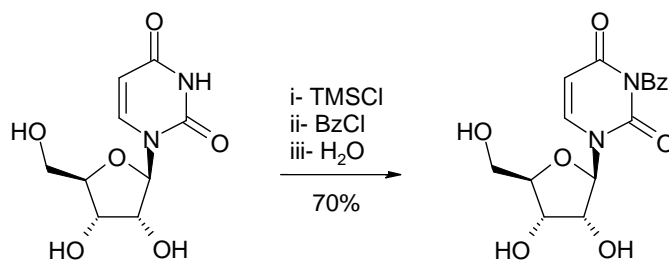


Schéma 40. Réactions décrites par C. J. Welch et J. Chattopadhyaya.

En 1987, l'équipe de M. Sekine¹⁸⁸ a décrit la réaction sur la thymidine. En deux étapes, le produit N-benzoylé est obtenu. La première étape consiste en la réaction de la thymidine avec le TMSCl (2,5 éq) en présence de diisopropyléthylamine (5 éq) dans la pyridine puis après 1h du BzCl (1,5 éq) est ajouté. Quand le mélange est traité avec une solution de dihydrogénophosphate de potassium, le produit 3-N-benzoyl-3',5'-O,O-ditriméthylsilylthymidine précipite avec un rendement de 98,5%. La déprotection s'effectue ensuite en présence d'acide trifluoroacétique (TFA) dans un mélange chloroforme / méthanol pour donner le composé 3-N-benzoylthymidine avec un rendement de 94%.

III.2.c. Synthèse de la 3-N-benzoyl-5'-O-diméthoxytrityl-3'-O-éthoxycarbonylméthylthymidine

La 3-N-benzoyl-5'-O-diméthoxytritylthymidine **115** a donc pu être obtenue et des essais d'alkylation ont été réalisés afin d'introduire le groupement ester sur la position libre en 3' (Schéma 41).

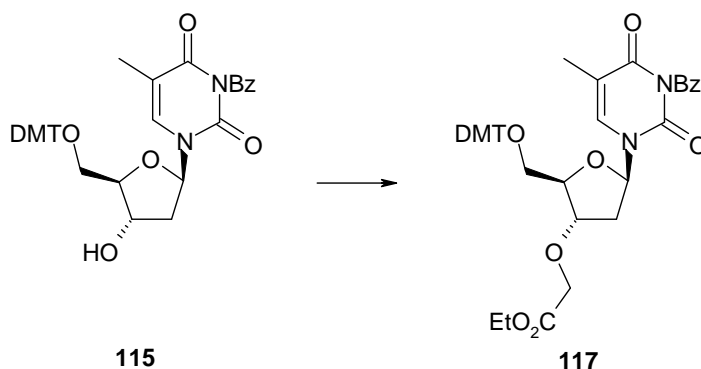


Schéma 41. Etape d'O-alkylation sur la thymidine protégée en position N-3.

Les conditions classiques ont tout d'abord été testées (Essai 1 - Tableau 5). Elles ne nous ont pas permis d'obtenir une conversion totale et seulement une trace d'un nouveau produit est observée. En augmentant le nombre d'équivalents (Essais 2 et 3), la réaction reste incomplète et après purification par chromatographie sur colonne, seulement quelques milligrammes d'un produit impur ont pu être obtenus. Nous n'avons cependant pas pu isoler le composé désiré **117** pur. En changeant le solvant THF pour du DMF, aucun avancement de la réaction n'a été observé (Essai 4).

¹⁸⁸ Sekine, M.; Fujii, M.; Nagai, H.; Hata, T. *Synthesis* **1987**, 1119-1121.

Essai	Conditions	Résultats
1	NaH 1,2 éq BrCH ₂ CO ₂ Et 1,3 éq THF anhydre	<ul style="list-style-type: none"> Après 2 jours, réaction incomplète Trace d'un produit moins polaire
2	NaH 2,5 éq BrCH ₂ CO ₂ Et 3,4 éq THF anhydre	<ul style="list-style-type: none"> Après 2 jours, réaction incomplète Obtention de quelques mg d'un produit impur
3	NaH 2,5 éq BrCH ₂ CO ₂ Et 5 éq THF anhydre	<ul style="list-style-type: none"> Réaction incomplète après plusieurs jours Avancement < 50% Non purifié
4	NaH 3 éq BrCH ₂ CO ₂ Et 2,6 éq DMF anhydre	<ul style="list-style-type: none"> Après une nuit, pas d'avancement

Tableau 5. Essais d'alkylation du composé **115**.

Au vu de ces résultats, nous avons choisi de développer une nouvelle voie de synthèse menant à la thymidine acide. Dans la littérature, la réaction d'alkylation avec le bromure d'allyle a été décrite et étudiée comme nous allons le voir. A partir de la 3'-*O*-allyl-5'-*O*-diméthoxytritylthymidine **118**, nous pouvons envisager à l'aide d'une coupure oxydante, la formation de l'aldéhyde **119**. Puis l'oxydation de l'aldéhyde en acide nous permettra d'obtenir la thymidine acide **88** désirée.

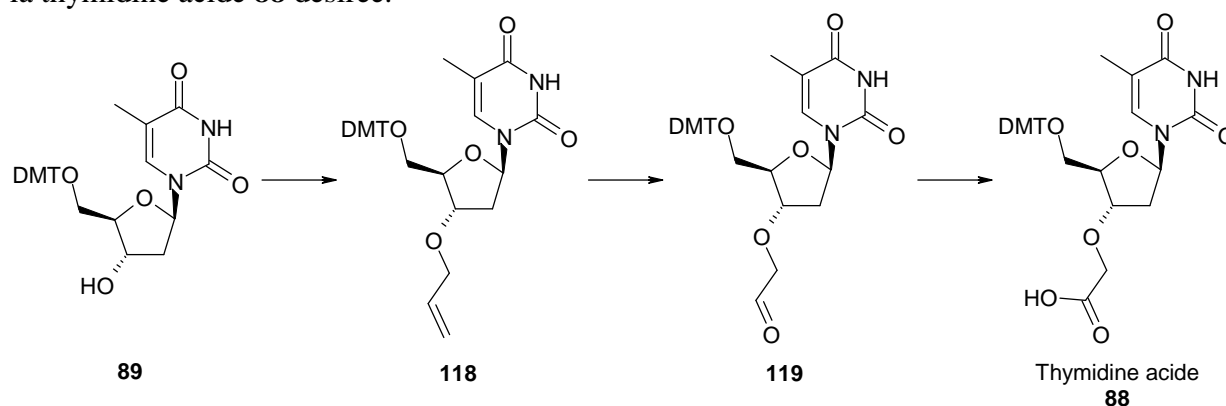


Schéma 42. Nouvelle synthèse envisagée pour l'obtention de la thymidine acide.

III.2.d. Synthèse de la 3'-*O*-allyl-5'-*O*-diméthoxytritylthymidine

La synthèse de la 3'-*O*-allyl-5'-*O*-diméthoxytritylthymidine **118** peut être réalisée à partir de la 5'-*O*-diméthoxytritylthymidine **89** en présence de NaH et de bromure d'allyle. Cette réaction a été décrite dans la littérature.

En 1991, l'équipe de J. Chattopadhyaya¹⁸⁹ a décrit la réaction sur les position 2' et 3' de dérivés de l'uridine (Schéma 43). La réaction est réalisée dans le THF en présence de NaH

¹⁸⁹ Wu, J.-C.; Xi, Z.; Gioeli, C.; Chattopadhyaya, J. *Tetrahedron* **1991**, 47, 2237-2254.

à 80% (2,5 éq) et après 15 min d'activation aux ultrasons, du bromure d'allyle (2,5 éq) est ajouté. Les produits désirés **120** et **121** ont été obtenus avec des rendements de 72%.

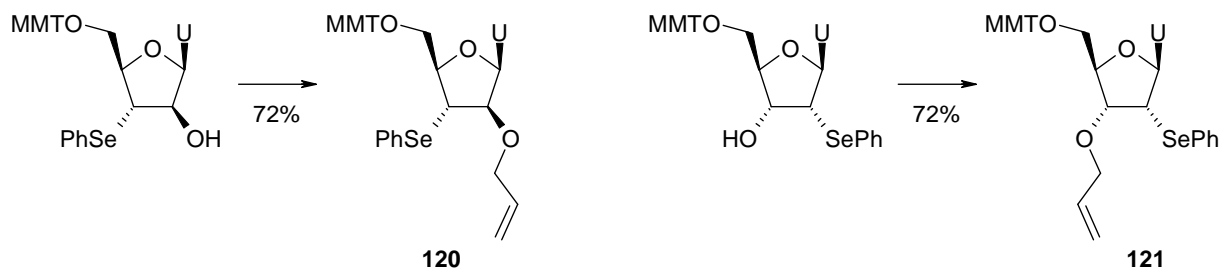


Schéma 43. Réactions décrites par J. Chattopadhyaya *et al.* Réactifs et conditions : NaH 2,5 éq, THF anhydre, ultrasons 15 min puis bromure d'allyle 2,5 éq, 5h, TA.

En 1997, l'équipe de S. B. Mandal¹⁹⁰ a voulu réaliser cette réaction sur la 5'-*O*-tritylthymidine **95**. En présence de NaH (2,5 éq) et de bromure d'allyle (2,5 éq) dans le DMF, le produit **122** disubstitué en position N-3 et en position 3'-*O* a été obtenu avec un rendement de 75% (Schéma 44).



Schéma 44. Réaction décrite par S. B. Mandal *et al.*

Une autre voie de synthèse utilisant des réactions de protection et de déprotection a donc été mise en place (Schéma 45). Le produit désiré **123** protégé avec un groupement benzyle en position N-3 est finalement obtenu en quatre étapes avec un rendement global de 79%.

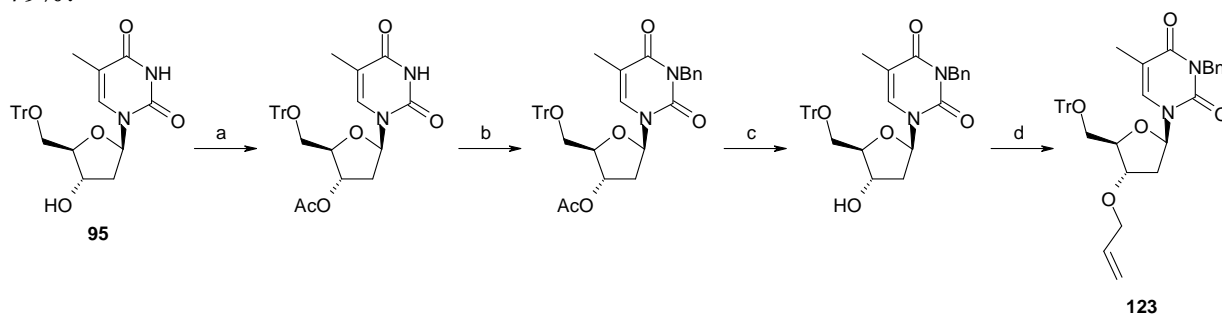


Schéma 45. Réactions décrites par S. B. Mandal *et al.* Réactifs et conditions : a) Ac₂O, pyridine, 12h ; b) BnBr, NaH, DMF, 5h ; c) NaOMe, MeOH, 10°C, 2h ; d) bromure d'allyle 5 éq, Bu₄N⁺Br⁻ 0,1 éq, CH₂Cl₂, NaOH 50%, 10h.

En 2002, la réaction d'allylation sélective sur l'oxygène en 3' de la thymidine a finalement été décrite par l'équipe de J. Lebreton (Schéma 46).¹⁹¹ Le composé 5'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine **100** est mis en présence de NaH et de bromure d'allyle dans le

¹⁹⁰ Bar, N. C.; Patra, R.; Achari, B.; Mandal, S. B. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 4727-4738.

¹⁹¹ Montebault, M.; Bourgougnon, N.; Lebreton, J. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8091-8094.

THF. Ces conditions utilisant l'activation par ultrasons sont celles décrites par J. Chattopidhyaya *et al.*¹⁸⁹ Elles permettent l'obtention du produit désiré **124** avec un rendement de 80% avec seulement 10% de produit di-alkylé **125** et 10% de produit de départ **100**. Ces conditions semblent donc minimiser la formation de produit N-alkylé.

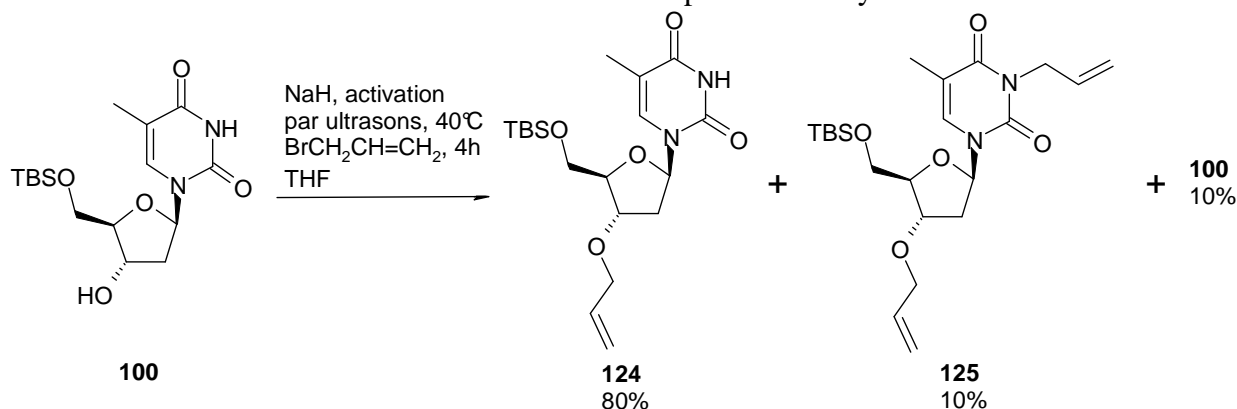
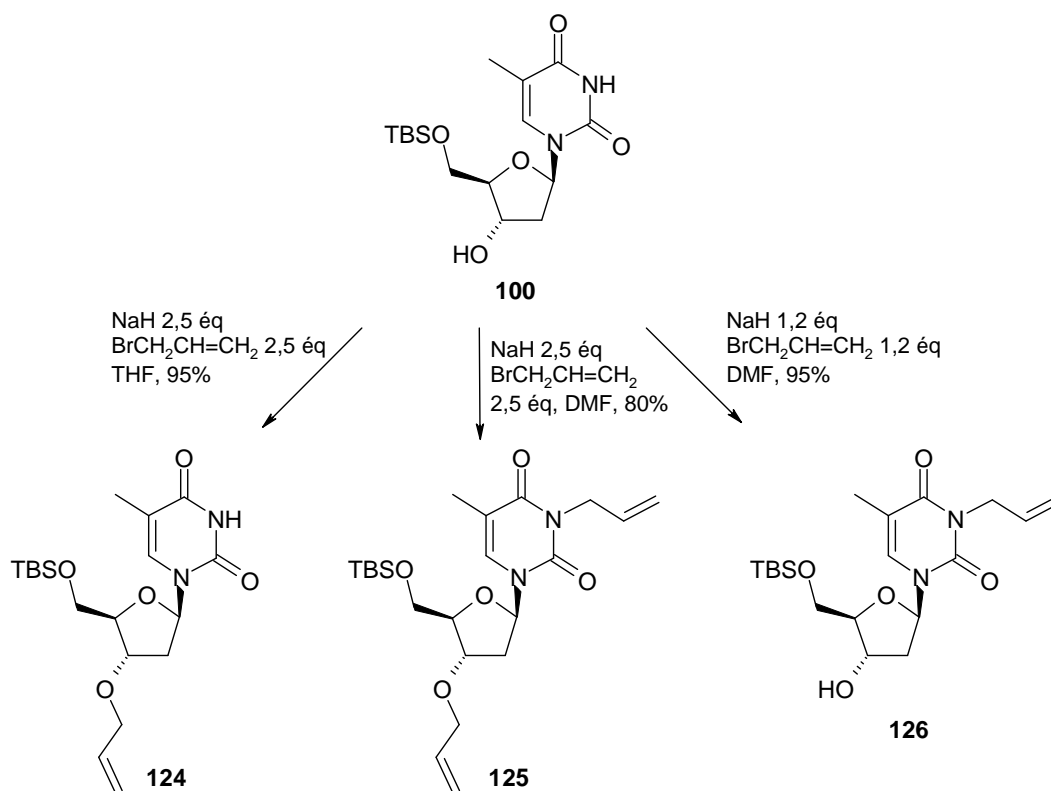


Schéma 46. Réaction décrite par J. Lebreton *et al.*

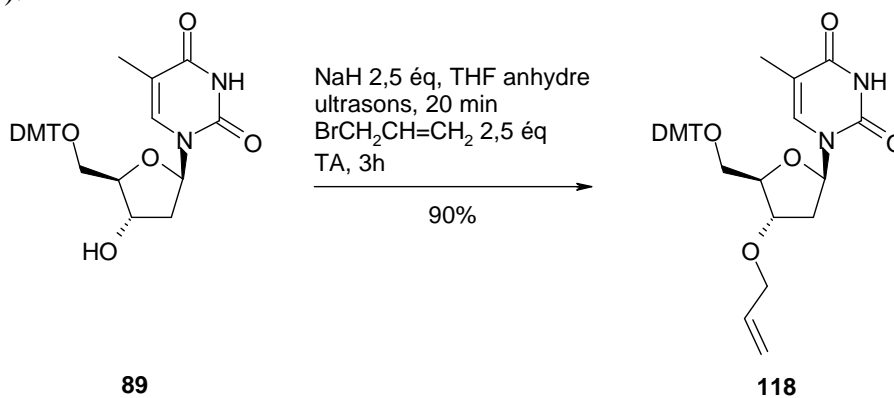
Un autre mode opératoire semble également permettre la formation du produit O-alkylé. En 2007, l'équipe de M. Sekine¹⁹² a décrit la formation de la 3'-O-allyl-5'-O-diméthoxytritylthymidine **118** de la manière suivante : à une solution de 5'-O-diméthoxytritylthymidine **89** dans le THF, du NaH et du bromure d'allyle sont ajoutés et après 90 min à TA, le composé désiré **118** est isolé avec un rendement de 70%.

En 2008, l'équipe de R. Zerrouki *et al.*¹⁸⁰ a tenté d'expliquer la régiosélectivité de la réaction d'alkylation. La réaction dans les conditions de J. Chattopidhyaya *et al.*¹⁸⁹ en présence de NaH (2,5 éq) et de bromure d'allyle (2,5 éq) dans le THF sous activation ultrasons conduit au composé 3'-O-allylthymidine **124** avec un rendement de 95%. La même réaction dans le DMF conduit au produit **125** dialkylé en positions N-3 et 3'-O. L'utilisation de 1,2 éq de NaH et de 1,2 éq de bromure d'allyle permet l'obtention du seul composé 3-N-allylthymidine **126** avec un rendement de 95%. La régiosélectivité semble dépendre de la constante diélectrique du solvant utilisé pour la réaction. La réaction a été réalisée dans d'autres solvants comme le dioxane, le dichlorométhane, le 1,2-dichloroéthane et le DMSO pour vérifier cette hypothèse. Il se trouve que lorsque la constante diélectrique du solvant est inférieure à 10 (cas du dioxane, THF et dichlorométhane), le produit O-alkylé **124** est exclusivement obtenu. Il faut noter qu'un excès de NaH et de bromure d'allyle est nécessaire à l'obtention de bons rendements. L'utilisation de quantités quasi-stœchiométriques de réactifs conduit à des rendements très moyens. Cependant, dans le cas des solvants à haute constante diélectrique (DMF, DMSO), un excès de réactifs conduit au produit di-alkylé **125** et il faut travailler en quantités quasi-stœchiométriques pour obtenir exclusivement le produit N-alkylé **126**.

¹⁹² Seio, K.; Terada, T.; Mizuta, M.; Ohkubo, A.; Taguchi, H.; Sekine, M. *Helv. Chim. Acta* **2007**, *90*, 1946-1965.

Schéma 47. Réactions décrites par R. Zerrouki *et al.*

Nous avons donc utilisé les conditions de J. Chattopadhyaya *et al.*,¹⁸⁹ qui semblent les plus adaptées à la formation du produit désiré **118**, pour réaliser la réaction d'O-allylation. La réaction réalisée dans le THF conduit au produit désiré **118** avec un rendement de 90% (Schéma 48).

Schéma 48. Synthèse du composé **118**.

III.2.e. Synthèse de la 5'-*O*-diméthoxytrityl-3'-*O*-formylméthylthymidine

L'obtention de la 5'-*O*-diméthoxytrityl-3'-*O*-formylméthylthymidine **119** à partir du dérivé allyle **118** peut être réalisée par une coupure oxydante (Schéma 49).

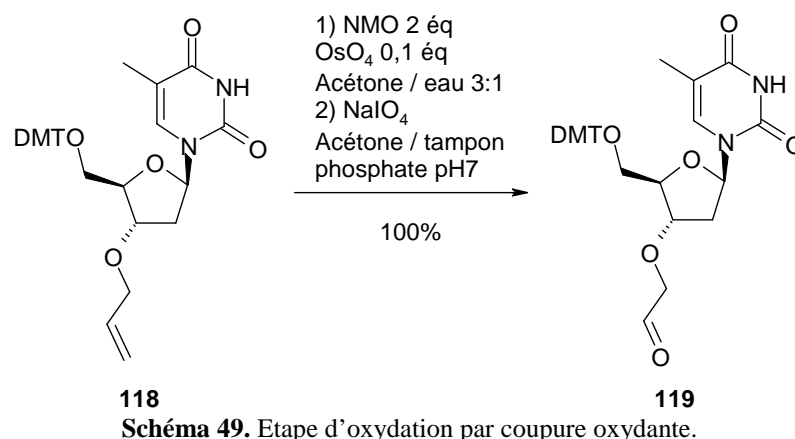
Nous nous sommes d'abord tournés vers les conditions courantes OsO₄ - NaIO₄,¹⁹³ et nous avons utilisé une procédure améliorée, déjà employée au laboratoire,³⁶ qui utilise de la 2,6-lutidine. Ces conditions ont l'avantage de réduire la formation de sous-produits de type α -hydroxy cétones, d'accélérer la réaction et d'améliorer les rendements des aldéhydes désirés.¹⁹⁴ Nous avons donc utilisé ces conditions (Essais 1, 2 et 3 – Tableau 6). Les rendements obtenus après purification se sont révélés moyens et lorsque la réaction est réalisée sur de plus grosses quantités (Essais 2 et 3), les produits obtenus ne sont pas très purs, ce qui semble poser des problèmes (réactions incomplètes, rendements faibles) lors des étapes suivantes. Nous nous sommes donc tournés vers une procédure d'oxydation en deux étapes.¹⁹² Dans un premier temps, l'alcène est converti en diol en présence de OsO₄ et d'oxyde de N-méthylmorpholine (NMO) dans un mélange acétone / eau et dans un second temps, la coupure oxydante a lieu en présence de NaIO₄ dans un mélange acétone / tampon phosphate pH 7. Ces conditions (Essais 4, 5 et 6) ont permis d'obtenir l'aldéhyde désiré **119** suffisamment pur pour pouvoir être utilisé ensuite sans purification. De plus, les rendements sont excellents et ces conditions se sont révélées extrêmement reproductibles.

Essai	Quantité Composé 118	Conditions	Résultats
1	90 mg	2,6-lutidine 2,2 éq NaIO ₄ 4,4 éq OsO ₄ 0,1 éq 1,4-dioxane / eau 3:1	▪ Rdt = 56%
2	870 mg	Idem	▪ Rdt = 58% ▪ Produit obtenu pas très pur
3	900 mg	Idem	▪ Rdt = 66% ▪ Produit obtenu pas très pur
4	150 mg	NMO 2 éq OsO ₄ 0,1 éq acétone / eau 3:1 Puis NaIO ₄ acétone / tampon phosphate pH 7	▪ Rdt = 78% après purification
5	1 g	Idem	▪ Rdt = 92% sans purification
6	1,6 g	Idem	▪ Rdt quantitatif

Tableau 6. Essais d'oxydation.

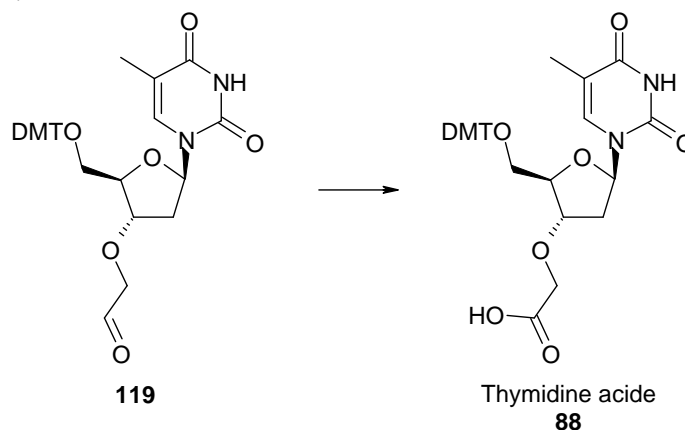
¹⁹³ Pappo, R.; Allen Jr, D. S.; Lemieux, R. U.; Johnson, W. S. *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 478-479.

¹⁹⁴ Yu, W.; Mei, Y.; Kang, Y.; Hua, Z.; Jin, Z. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3217-3219.



III.2.f. Obtention de la thymidine acide

L'obtention de la thymidine acide **88** peut se faire à partir du composé **119** via une réaction d'oxydation.



Différentes conditions sont à notre disposition pour réaliser cette étape d'oxydation. La première option est l'utilisation d'un traitement au NaClO₂.^{195,196} Ces conditions ont été utilisées pour des étapes d'oxydation sur de nombreux nucléosides.^{144,148,197} La seconde option est l'utilisation des conditions TEMPO, BAIB.¹⁹⁸ Ces conditions ont été décrites pour l'oxydation de l'hydroxyle en 5' des nucléosides (Schéma 51)¹⁹⁹ et réutilisées ensuite sur d'autres nucléosides.^{168,200-202}

¹⁹⁵ Dalcanale, E. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 567-569.

¹⁹⁶ Boger, D. L.; Borzilleri, R. M.; Nukui, S. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3561-3565.

¹⁹⁷ Xu, Q.; Katkevica, D.; Rozners, E. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5906-5913.

¹⁹⁸ De Mico, A.; Margarita, R.; Parlanti, L.; Vescovi, A.; Piancatelli, G. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6974-6977.

¹⁹⁹ Epp, J. B.; Widlanski, T. S. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 293-295.

²⁰⁰ Rozners, E.; Xu, Q. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3999-4001.

²⁰¹ Rozners, E.; Liu, Y. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 9841-9848.

²⁰² Mei, H.; Xing, L.; Cai, L.; Jin, H.-W.; Zhao, P.; Yang, Z.-J.; Zhang, L.-R.; Zhang, L.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5355-5358.

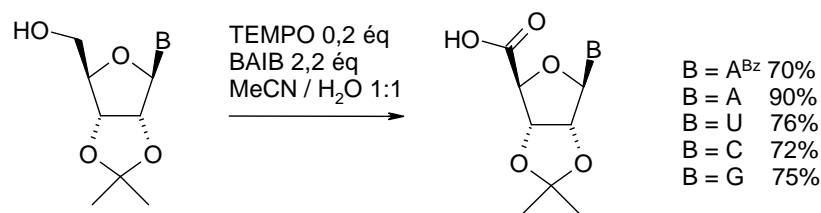


Schéma 51. Réaction décrite par T. S. Widlanski *et al.*

Nous avons donc testé dans un premier temps l'oxydation en présence de NaClO_2 . Dans les conditions NaClO_2 9,3 éq, NaH_2PO_4 7,6 éq, 2-méthyl-but-2-ène / t-BuOH 1:4, H_2O , nous observons en CCM la présence d'un produit plus polaire (sans doute l'acide désiré **88**) mais également l'apparition d'une tâche moins polaire.

En parallèle, nous avons testé les conditions TEMPO, BAIB et ces conditions semblent donner une réaction plus propre. Cependant après traitement, les analyses CCM et RMN montrent que le produit obtenu n'est pas très pur. Une purification par chromatographie sur colonne semble difficile en raison de la polarité du produit. De plus, il est impossible d'augmenter la polarité de l'éluant avec de l'acide acétique puisque le groupement DMT est sensible en milieu acide. Pour résoudre ce problème, nous avons décidé de transformer l'acide obtenu en ester méthylique **127** puis, par une étape de saponification, le monomère thymidine acide **88** sera régénéré (Schéma 52).

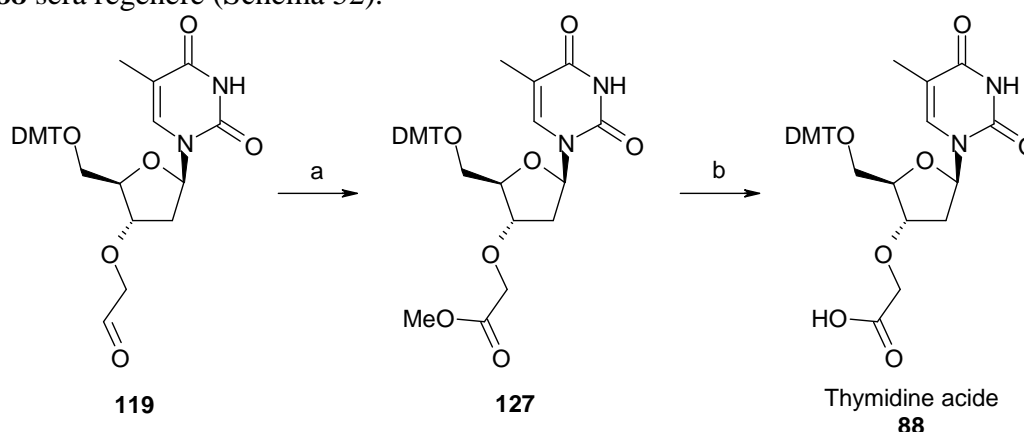


Schéma 52. Synthèse de la thymidine acide **88**. Réactifs et conditions : a) i-TEMPO 0,2 éq, BAIB 2 éq, MeCN / H_2O 1:1, 2h ; ii- NaHCO_3 3 éq, Cs_2CO_3 0,5 éq, MeI 1,5 éq, DMF, 36h, 64% ; b) LiOH 1,6 éq, MeOH, 3 jours, 90%.

L'ester méthylique **127** est synthétisé à partir de l'acide carboxylique en présence de NaHCO_3 et de iodométhane. La conversion n'est pas totale quelque soit le nombre d'équivalents de réactifs introduits. Nous avons donc utilisé une base plus forte (le carbonate de césium) pour augmenter le taux de conversion (Tableau 7). Cependant, si la quantité de Cs_2CO_3 utilisée est trop importante, le produit méthylé en position N-3 se forme. Un ajout de 0,5 éq de Cs_2CO_3 permet donc d'obtenir le composé **127** avec un rendement de 64% sur deux étapes.

Essai	Bases utilisées	Rendement
1	NaHCO ₃	50%
2	Cs ₂ CO ₃	35% + 18% de produit O- et N-diméthylé
3	NaHCO ₃ + 0,5 éq de Cs ₂ CO ₃	64%

Tableau 7. Optimisation des conditions de l'étape d'estérification.

Enfin, une réaction de saponification (LiOH 1,6 éq, MeOH) permet la conversion du dérivé ester **127** en monomère thymidine acide **88** avec un rendement de 90%. Ce composé est obtenu suffisamment pur pour être engagé dans l'étape de couplage permettant la formation de dimères de thymidine liés par liaison *N*-oxy amide.

IV. Synthèse de dimères de thymidine

L'obtention des monomères thymidine acide **88** et thymidine oxyamine **82** nous permet d'envisager la synthèse de dimères de thymidine liés par liaison *N*-oxy amide. La formation de la liaison *N*-oxy amide peut être envisagée par réaction de couplage peptidique.

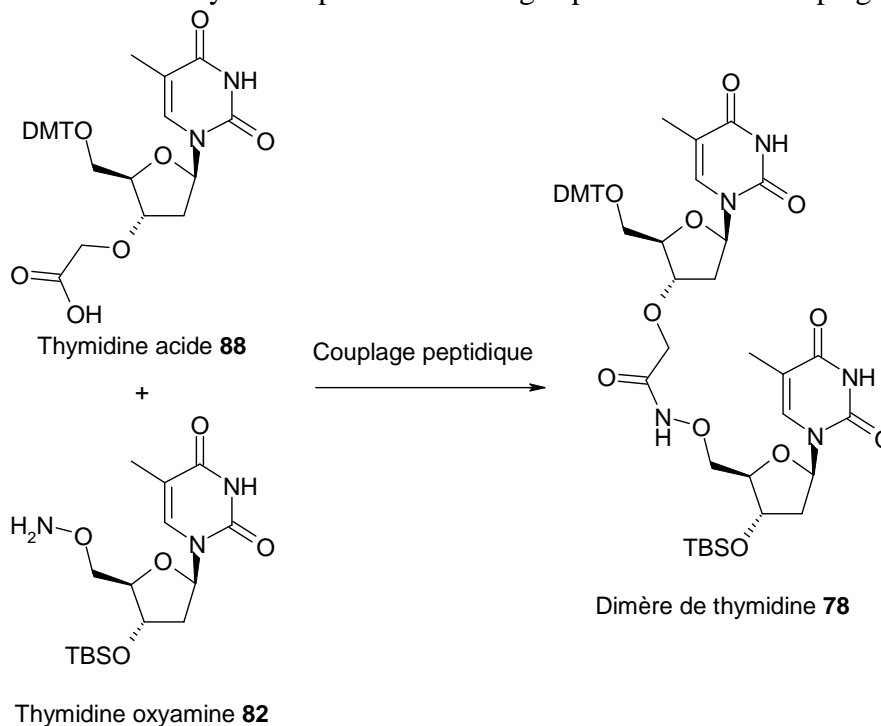


Schéma 53. Synthèse par couplage peptidique de dimères de thymidine liés par liaison *N*-oxy amide.

IV.1. Couplage peptidique : rappels bibliographiques

Au cours d'un couplage peptidique visant à synthétiser un dipeptide AA_1-AA_2 à partir de deux acides aminés AA_1 et AA_2 convenablement protégés, l'acide carboxylique de AA_1 est dans un premier temps activé puis réagit avec la fonction amine de AA_2 (Schéma 54).

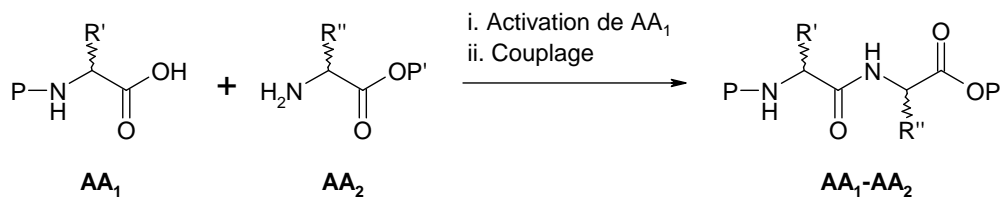


Schéma 54. Couplage peptidique (R' et R'' : chaînes latérales des acides aminés, P et P' : groupements protecteurs des fonctions acide carboxylique et amine ne réagissant pas dans le couplage).

Afin de synthétiser des peptides avec les meilleurs rendements possibles, la réaction de couplage peptidique doit être la plus efficace possible. D'une part, l'activation doit conduire à la formation de la liaison peptidique avec de très bons rendements (>95%), ce qui implique un minimum de produits secondaires et une certaine facilité de purification. D'autre part, une attention particulière doit être portée à la minimisation du phénomène de racémisation au cours du couplage peptidique. La racémisation peut avoir lieu à la position C-terminale d'un résidu d'acide aminé lors du couplage peptidique (Figure 70). Pendant le couplage, un intermédiaire oxazolone est susceptible de se former (Schéma 55). La base est

alors capable d'arracher le proton en α du carbonyle pour conduire à un énolate plan, ce qui entraîne la perte de la chiralité.

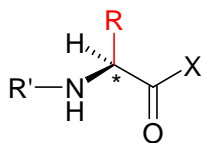


Figure 70. Représentation d'un acide aminé et mise en évidence du carbone asymétrique en α d'un groupement électroattracteur.

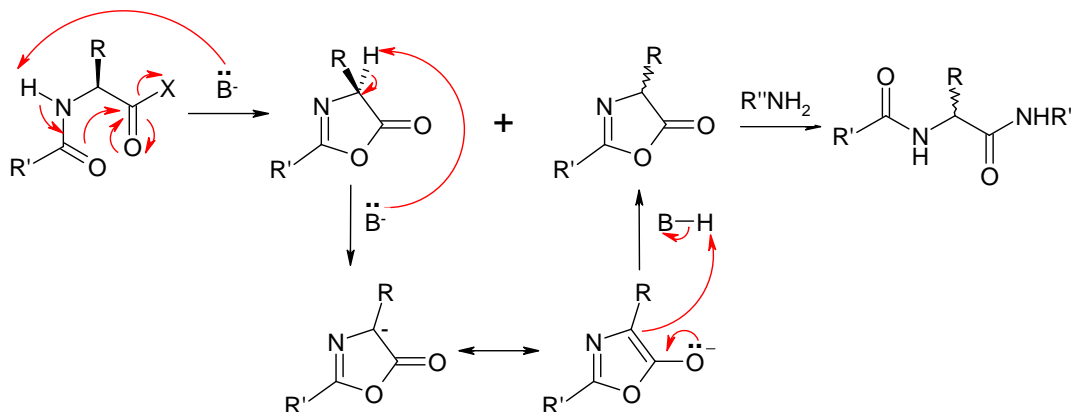


Schéma 55. Racémisation par formation d'un intermédiaire oxazolone.

Des méthodes ont donc été développées pour minimiser ce phénomène de racémisation. Une des méthodes très utilisées est l'activation aux moyens de carbodiimides. Cette méthode a différents avantages : ces réactifs sont relativement peu coûteux, l'activation est réalisée *in situ* ce qui permet de s'affranchir d'isoler l'intermédiaire activé, et enfin, de nouvelles méthodes combinant les carbodiimides avec des réactifs suppresseurs de racémisation et plus réactifs vis-à-vis de l'aminolyse (tels que HOBt ou HOAt) se sont développées.

La méthode aux carbodiimides a été présentée pour la première fois par J. C. Sheehan et G. P. Hess en 1955.²⁰³ Ils ont introduit le *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) comme nouvel agent de couplage. Depuis, un grand nombre de carbodiimides ont été mis au point et parmi les plus utilisés on trouve le *N*-(3-diméthylaminopropyl)-*N'*-éthylcarbodiimide (EDC), le *N,N'*-diisopropylcarbodiimide (DIC) ou encore le *N*-cyclohexyl-*N'*-isopropylcarbodiimide (CIC) (Schéma 56).²⁰⁴

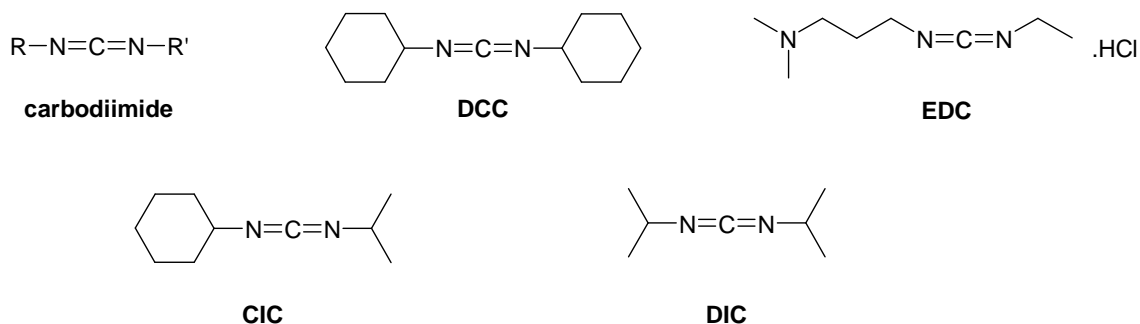


Schéma 56. Carbodiimides les plus employés lors des réactions de couplages peptidiques.

²⁰³ Sheehan, J. C.; Hess, G. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1067-1068.

²⁰⁴ Han, S.-Y.; Kim, Y.-A. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2447-2467.

Dans un premier temps, l'activation par un carbodiimide conduit au composé *O*-acyluré (Schéma 57).^{205,206}

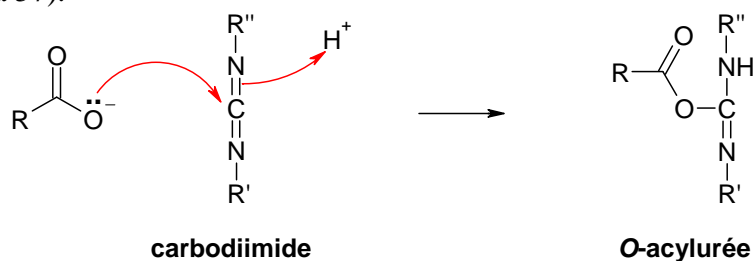


Schéma 57. Formation de la *O*-acylurée.

A partir de cet intermédiaire *O*-acyluré très réactif, un transfert du groupe acyle est possible et conduit à la *N*-acylurée (Schéma 58).

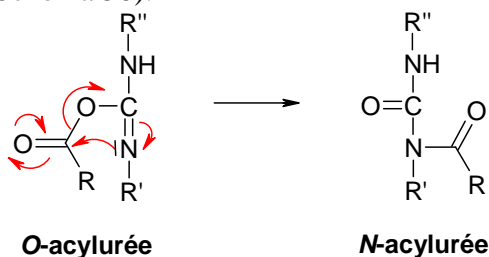


Schéma 58. Formation de la *N*-acylurée.

La *N*-acylurée n'est pas réactive face à l'aminolyse²⁰⁷ et constitue donc un produit secondaire non désiré. C'est pourquoi l'utilisation d'un nucléophile qui réagit très rapidement sur l'espèce activée *O*-acylurée s'est imposée. Les premiers résultats sont apparus dès 1966 avec l'utilisation de la *N*-hydroxysuccinimide²⁰⁸ puis du *N*-hydroxybenzotriazole en 1970 par W. König et R. Geiger.²⁰⁹ L'intérêt est d'obtenir des esters activés qui diminuent la durée de vie de l'intermédiaire *O*-acyluré et limitent les réactions secondaires de transfert d'acyle ou d'épimérisation (Schéma 59).

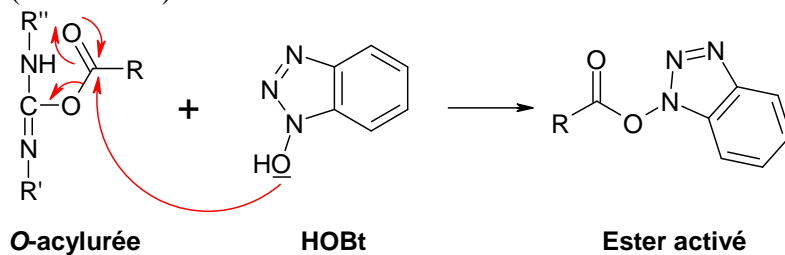


Schéma 59. Formation de l'ester activé.

Enfin, l'ester d'HOBt formé accélère l'étape d'aminolyse, ceci par une catalyse acido-basique mettant en jeu les azotes de HOBt (Schéma 60).

²⁰⁵ Rebek, J.; Feitler, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 4052-4053.

²⁰⁶ Rebek, J.; Feitler, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 1606-1607.

²⁰⁷ De Tar, D. F.; Silverstein, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 1013-1019.

²⁰⁸ Wünsch, E.; Drechs, F. *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 110-120.

²⁰⁹ König, W.; Geiger, R. *Chem. Ber.* **1970**, *103*, 788-798.

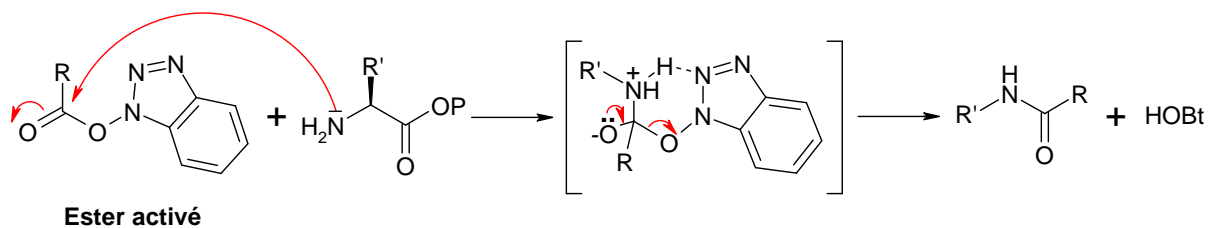


Schéma 60. Etape d'aminolyse.

En 1993, L. A. Carpino²¹⁰ a introduit un dérivé d'HOBT, le 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (HOAt). HOAt (pKa 3,28) a une réactivité accrue comparée à celle rencontrée avec HOBT (pKa 4,75). (Schéma 61)

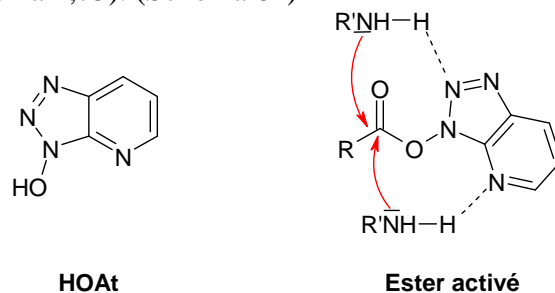


Schéma 61. Réactivité d'HOAt.

Depuis, de nombreux agents de couplage ont été développés. Nous pouvons citer les sels de phosphonium, d'uronium ou encore d'iminium.²⁰⁴ Parmi les sels de phosphonium, on trouve le benzotriazol-1-yl-oxy-tris(diméthylamino)-phosphonium hexafluorophosphate (BOP)²¹¹ et le benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate (PyBOP). De la même manière, des sels d'uronium ont été mis au point parmi lesquels le *O*-(benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tétraméthyluronium hexafluorophosphate (HBTU) ou son analogue le *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tétraméthyluronium hexafluorophosphate (HATU). (Schéma 62)

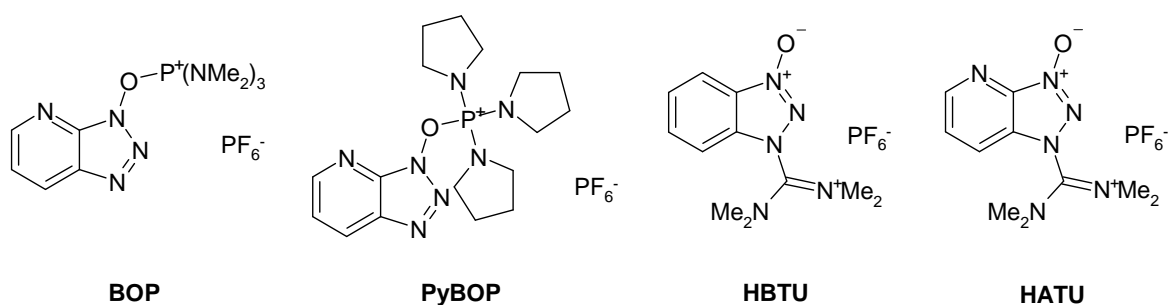


Schéma 62. Quelques agents de couplage.

Dans le cas de la synthèse des peptides d'acides aminés, l'équipe de D. Yang utilise généralement les conditions EDC, HOBT pour former la liaison *N*-oxy amide.²¹² Mais dans certains cas, les conditions EDC, HOAt sont aussi utilisées.^{18,213}

²¹⁰ Carpino, L. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398.

²¹¹ Castro, B.; Dormoy, J. R.; Evin, G.; Selve, C. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 1219-1222.

²¹² Yang, D.; Li, B.; Ng, F.-F.; Yan, Y.-L.; Qu, J.; Wu, Y.-D. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7303-7312.

²¹³ Yang, D.; Chang, X.-W.; Zhang, D.-W.; Jiang, Z.-F.; Song, K.-S.; Zhang, Y.-H.; Zhu, N.-Y.; Weng, L.-H.; Chen, M.-Q. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 4796-4805.

IV.2. Synthèse de dimères de thymidine liés par liaison *N*-oxy amide

Dans le but d'obtenir le dimère de thymidine **78**, nous avons placé la thymidine acide **88** et la thymidine oxyamine **82** dans les conditions de couplage peptidique (Schéma 63).

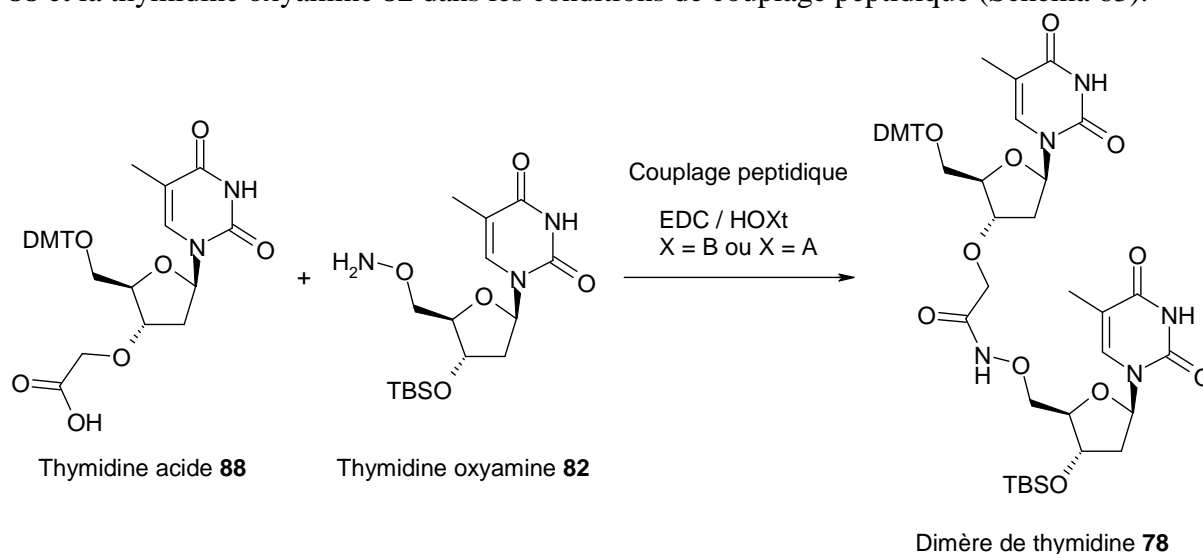


Schéma 63. Synthèse du dinucléoside **78**.

Les différents essais réalisés sont résumés dans le Tableau 8. Tout d'abord, une solution de thymidine acide **88** dans du DMF anhydre est préparée et placée sous atmosphère inerte à 0°C. De l'HOBT (1,3 éq) et de l'EDC (1,2 éq) sont ajoutés, et après 30 min de la thymidine oxyamine **82** (0,9 éq) est ajoutée. Après une nuit, plusieurs produits semblent formés et aucune des fractions isolées après purification ne correspond au produit désiré **78** (Essai 1 - Tableau 8). Nous avons donc répété ce protocole en remplaçant l'HOBT par son analogue plus réactif, l'HOAt (Essai 2). Ceci nous a permis d'obtenir le produit désiré **78** avec un rendement de 94%.

Essai	Agents de couplage	Résultat
1	EDC / HOBT	Plusieurs produits dinucléoside 78 non identifié
2	EDC / HOAt	Rdt = 94%

Tableau 8. Essais réalisés pour la synthèse du dinucléoside **78**.

De tels dimères de thymidine n'ont jamais été reportés dans la littérature. Cependant, l'équipe de K. Burgess²¹⁴ a reporté la synthèse de dimères de thymidine liés par liaison *N*-oxy amide, la fonction aminoxyle étant introduite en position 3' (composé **128**) et la fonction acide carboxylique en position 5' (composé **129**). Le couplage peptidique a été effectué en utilisant le BOP comme agent de couplage et le dinucléoside **130** a été obtenu avec un rendement de 72% (Schéma 64).

Le dinucléoside **130** a été introduit dans des séquences contenant dix monomères de thymidine, chaque séquence comportant un dinucléoside lié par liaison *N*-oxy amide. Le dinucléoside est incorporé en début ou au milieu de la séquence. Il est à noter que la liaison *N*-

²¹⁴ Burgess, K.; Gibbs, R. A.; Metzker, M. L.; Raghavachari, R. *Chem. Commun.* **1994**, 915-916.

oxy amide formée comporte un atome en moins que la liaison phosphodiester naturelle. Les séquences synthétisées forment des duplex stables avec des séquences d'adénosine. Les T_m mesurés pour les séquences contenant un dinucléoside lié par liaison *N*-oxy amide ont montré des stabilités légèrement inférieures à une séquence témoin ne contenant que des liaisons phosphodiester.

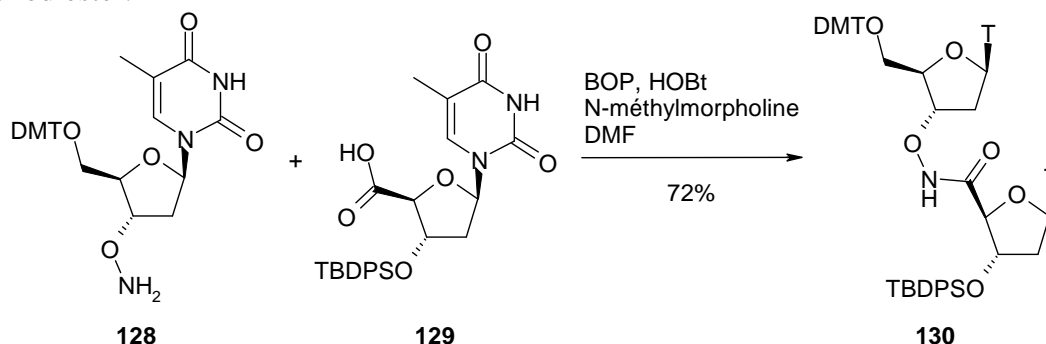


Schéma 64. Réaction décrite par K. Burgess *et al.*

Pour notre part, nous envisageons d'introduire le dimère de thymidine **78** dans des séquences ADN et d'observer la stabilité des complexes formés.

IV.3. Synthèse de dimères de thymidine liés par liaison oxime

Il nous a également semblé intéressant de synthétiser des dimères de thymidine liés par liaison oxime. La liaison oxime se forme par réaction de déshydratation entre un aldéhyde et une oxyamine. Etant donné que le monomère thymidine aldéhyde **119** est un intermédiaire dans la synthèse de la thymidine acide **88**, nous avons facilement pu faire des essais de condensation (Schéma 65).

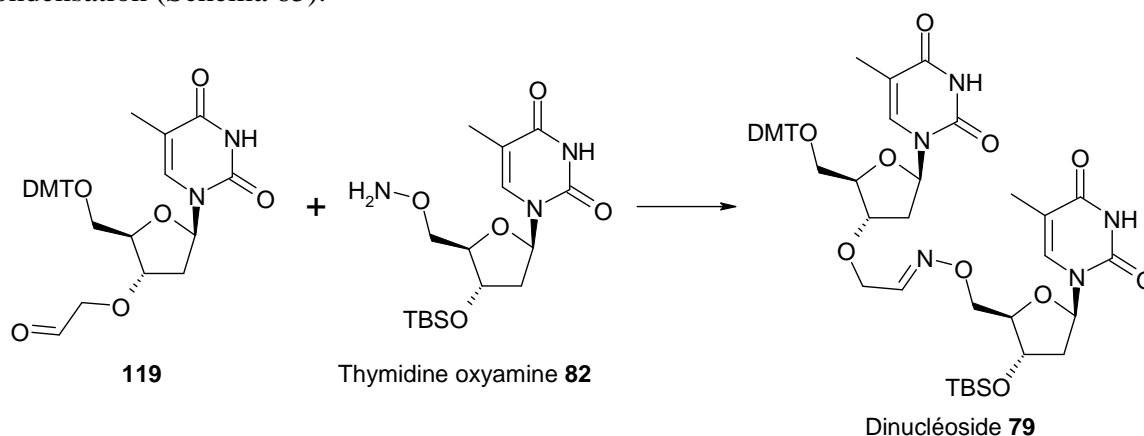


Schéma 65. Synthèse du dinucléoside **79**.

A notre connaissance, la liaison oxime comme liaison remplaçant la liaison phosphodiester de l'ADN n'a jamais été étudiée. Le dinucléoside **131** a toutefois été synthétisé et utilisé comme intermédiaire dans la synthèse d'un dinucléoside **132** lié par liaison méthylène(méthyl)imino (Schéma 66).¹³⁸

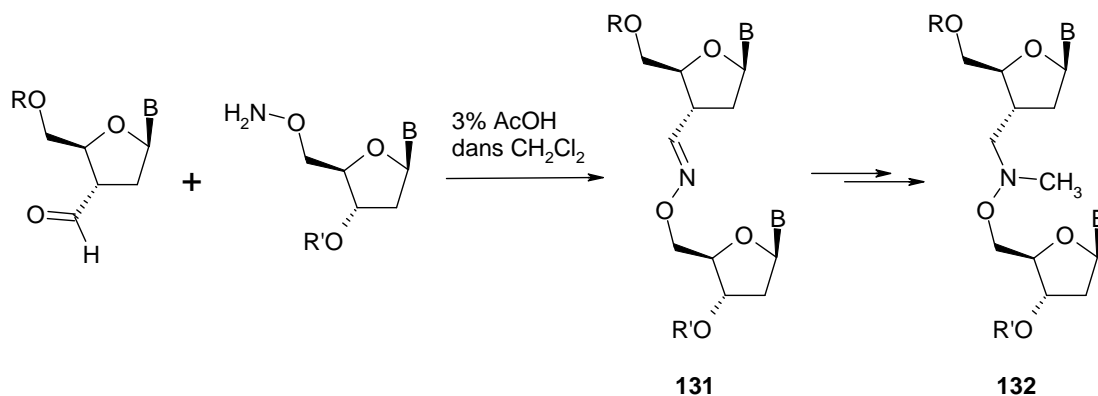


Schéma 66. Synthèse des dinucléosides **131** et **132** par S. Sanghvi *et al.*

En général, la liaison oxime est très utilisée pour fonctionnaliser des oligonucléotides en y accrochant, par exemple, des oligosaccharides, des peptides ou des groupements fluorescents.²¹⁵

La ligation oxime a été mise au point en 1994 par K. Rose en réalisant l'assemblage de deux peptides déprotégés portant à leur extrémité une fonction aldéhyde ou une fonction aminoxyle.²¹⁶ Le mécanisme général est une addition nucléophile suivie de l'élimination d'une molécule d'eau. La réaction s'effectue en milieu aqueux à pH 4,6. D'autres études^{217,218} ont montré qu'un pH plus acide peut accélérer la réaction mais également entraîner la formation de sous-produits. La réaction peut également être accélérée en présence de solvants organiques comme le DMF ou le DMSO. Enfin, la liaison oxime est stable pour des pH allant de 2 à 8. A pH 9, les peptides étudiés ont décomposé rapidement.²¹⁷

La conjugaison des oligonucléotides avec d'autres molécules a notamment été motivée par le fait que les oligonucléotides ont un faible pouvoir de pénétration à travers les membranes cellulaires. Les peptides peuvent permettre d'augmenter cette perméabilité. Des conjugués peptides-oligonucléotides (POC) ont montré leur capacité à améliorer la pénétration dans les cellules en augmentant la stabilité des séquences d'oligonucléotides modifiés.²¹⁹⁻²²¹

Pour notre part, nous avons donc voulu coupler deux nucléosides entre eux à l'aide de la liaison oxime. Le condensation entre l'aldéhyde **119** et la thymidine oxyamine **82** doit s'effectuer à pH acide pour former la liaison oxime. Cependant nous devons contrôler ce pH puisque le groupement DMT est un groupement acido-labile. Le premier essai effectué met en présence les deux nucléosides **119** et **82** dans un mélange tampon acétate pH 5 / THF 2:1.²²² Malgré la présence du THF, les nucléosides sont peu solubles et aucun nouveau produit n'est observé en CCM (Essai 1 – Tableau 9).

Nous avons ensuite tenté d'acidifier le milieu à l'aide d'acide acétique. En présence de 10% d'acide acétique dans du DMF anhydre, le produit **79** désiré est obtenu après purification par chromatographie sur colonne avec un rendement de 67% (Essai 2 – Tableau 9). En diminuant la quantité d'acide acétique à 1,5% (dans le but de limiter la déprotection de

²¹⁵ Zatssepina, T. S.; Stetsenko, D. A.; Gait, M. J.; Oretskaya, T. S. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 471-489.

²¹⁶ Rose, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 30-33.

²¹⁷ Shao, J.; Tam, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3893-3899.

²¹⁸ Rose, K.; Zeng, W.; Regamey, P.-O.; Chernushevich, I. V.; Standing, K. G.; Gaertner, H. F. *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 552-556.

²¹⁹ Tung, C.-H. *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 605-618.

²²⁰ Gait, M. J. *Cell. Mol. Life Sci.* **2003**, *60*, 844-853.

²²¹ Said Hassane, F.; Saleh, A. F.; Abes, R.; Gait, M. J.; Lebleu, B. *Cell. Mol. Life Sci.* **2010**, *67*, 715-726.

²²² Peri, F.; Cipolla, L.; Rescigno, M.; La Ferla, B.; Nicotra, F. *Bioconjugate Chem.* **2001**, *12*, 325-328.

l'hydroxyle en 5' du composé **119**), le rendement a été augmenté à 84%. L'utilisation du THF permet un traitement plus facile du milieu réactionnel (Essai 3). Lorsque la réaction est réalisée sur de plus grosses quantités (1,1 g), le rendement est un peu plus faible (71%). Plusieurs facteurs peuvent expliquer ce résultat : la pureté des produits de départ (les composés aldéhyde et oxyamine ne sont pas purifiés avant la réaction), la formation d'eau lors de la condensation peut diminuer la cinétique de la réaction.

Essai	Conditions	Résultat
1	Tampon acétate pH 5 THF	Pas de réaction
2	10% AcOH DMF anhydre	Rdt = 67%
3	1,5% AcOH THF anhydre	Rdt = 84% (150 mg de composé 119)
4	1,5% AcOH THF anhydre	Rdt = 71% (1,1 g de composé 119)

Tableau 9. Essais réalisés pour la synthèse du composé **79**.

La liaison oxime $\text{CH}_2\text{-CH=N-O}$ peut prendre une configuration E ou Z. Dans la littérature, il a été rapporté que le proton du CH a un déplacement chimique différent en RMN ^1H suivant si l'on est dans le cas de l'isomère E ou de l'isomère Z.^{223,224} Sur des chaînes lipidiques, le déplacement chimique du CH de l'oxime de configuration E a été décrit à 7,58 ppm en RMN du proton dans le méthanol- d_4 et à 6,91 ppm pour l'oxime de configuration Z.²²⁵

En ce qui concerne notre dinucléoside **79**, la RMN du ^1H dans l'acétone- d_6 montre la présence d'un mélange des deux isomères E et Z avec respectivement un pic à 7,6 ppm et un pic à 6,9 ppm. Ceci nous permet de déterminer un ratio E / Z 3/2.

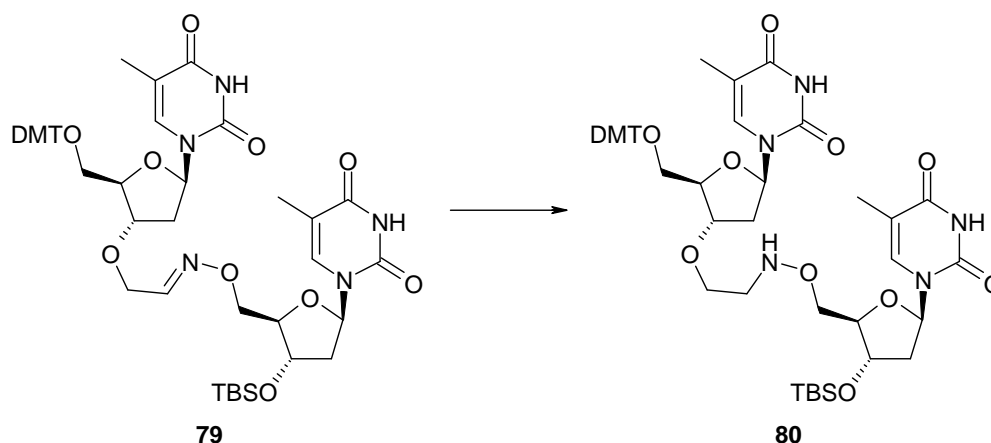
IV.4. Synthèse de dimères de thymidine liés par liaison aminoxy

La liaison oxime ($-\text{CH=N-O}$) peut être réduite en liaison aminoxy ($-\text{CH}_2\text{-NH-O}$). Nous envisageons donc de synthétiser des dimères de thymidine liés par liaison aminoxy (Schéma 67).

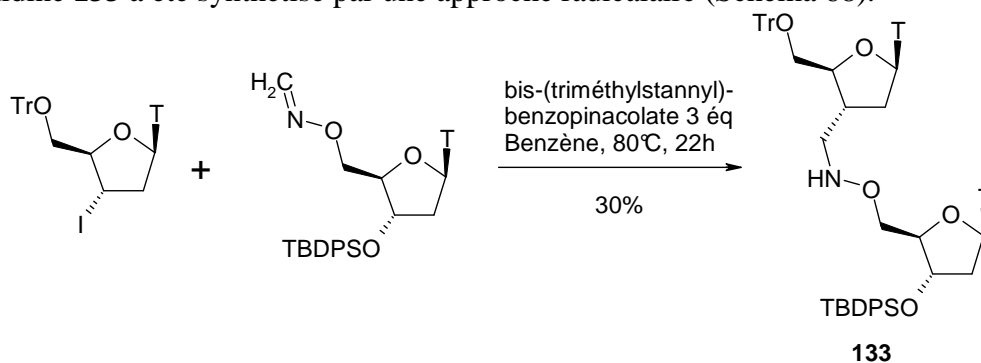
²²³ Pejkovic-Tadic, I.; Hranisavljevic-Jakovljevic, M.; Nestic, S.; Pascual, C.; Simon, W. *Helv. Chim. Acta* **1965**, *48*, 1157-1160.

²²⁴ Sun, R.; Lü, M.; Chen, L.; Li, Q.; Song, H.; Bi, F.; Huang, R.; Wang, Q. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 11376-11391.

²²⁵ Biswas, S.; Huang, X.; Badger, W. R.; Nantz, M. H. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1727-1729.

Schéma 67. Synthèse du dinucléoside **80**.

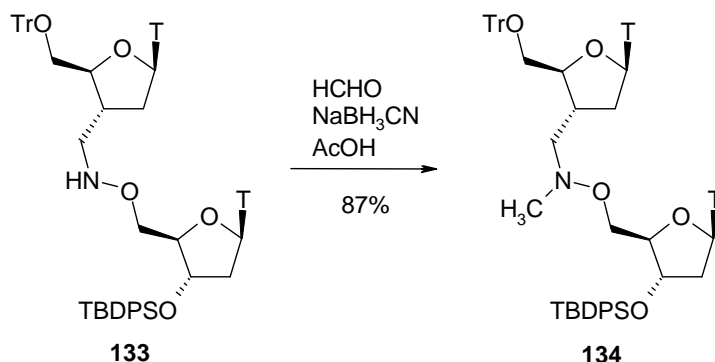
Dans le but de développer de nouveaux oligonucléotides modifiés pour la stratégie antisens, la liaison aminoxy a été étudiée en 1992 par une entreprise américaine.¹⁶⁵ Le dimère de thymidine **133** a été synthétisé par une approche radicalaire (Schéma 68).

Schéma 68. Synthèse du dinucléoside **133** par Y. S. Sanghvi *et al.*

Ce dinucléoside **133** a l'avantage d'être neutre à pH physiologique (pK_a $NH_2OH = 5,96$) et doit pouvoir mimer le lien phosphodiester.

Le dinucléoside a ensuite été méthylé ($-CH_2-NCH_3-O-$) et étudié (Schéma 69).¹³⁷ Les études d'hybridation indiquent que l'incorporation d'un dinucléoside **134** dans les séquences standards a peu d'effets sur la stabilité des duplex formés (valeurs similaires aux séquences non modifiées). Les données indiquent que l'appariement des bases selon Watson-Crick est aussi bon voire meilleur que dans le cas d'un ADN naturel. La demi-vie des oligonucléotides modifiés a également été étudiée. Sur des cellules HeLa, la demi-vie est de 16h alors que celle d'un oligonucléotide non modifié n'est que de 0,5h. Des études conformationnelles ont également été réalisées²²⁶ et ont montré la présence de deux conformères stables et une bonne flexibilité du lien méthylène méthyl imino (MMI).

²²⁶ Mohan, V.; Griffey, R. H.; Davis, D. R. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 6855-6868.

Schéma 69. Réaction décrite par Y. S. Sanghvi *et al.*

La synthèse d'oligonucléotides a ensuite été mise au point à l'aide d'un synthétiseur à ADN automatisé.¹³⁸ Cette procédure a permis la synthèse d'oligonucléotides allant jusqu'à 12 monomères pouvant ensuite être testés, dans le but de découvrir de nouveaux médicaments.

Pour notre part, nous avons synthétisé un dinucléoside ayant une longueur de chaîne différente de celle étudiée par Y. S. Sanghvi *et al.* et nous avons utilisé une voie de synthèse différente. En effet, le dinucléoside **80** est obtenu par réduction de la liaison oxime (Schéma 67).

La réduction de la liaison oxime s'effectue en présence de NaBH_3CN et d'acide acétique dans du THF anhydre (Tableau 10). Vu les faibles rendements obtenus, des essais CCM ont été réalisés dans le but d'optimiser la réaction. Ils ont montré que l'ajout de plusieurs équivalents (jusqu'à 10 éq) d'agent réducteur ne permet pas un meilleur avancement de la réaction (réaction toujours incomplète) et que l'ajout d'acide acétique (plus de 5% dans le THF) entraîne après 48h une dégradation du dinucléoside avec perte du groupement protecteur DMT en position 5'. Ces résultats restent donc à optimiser.

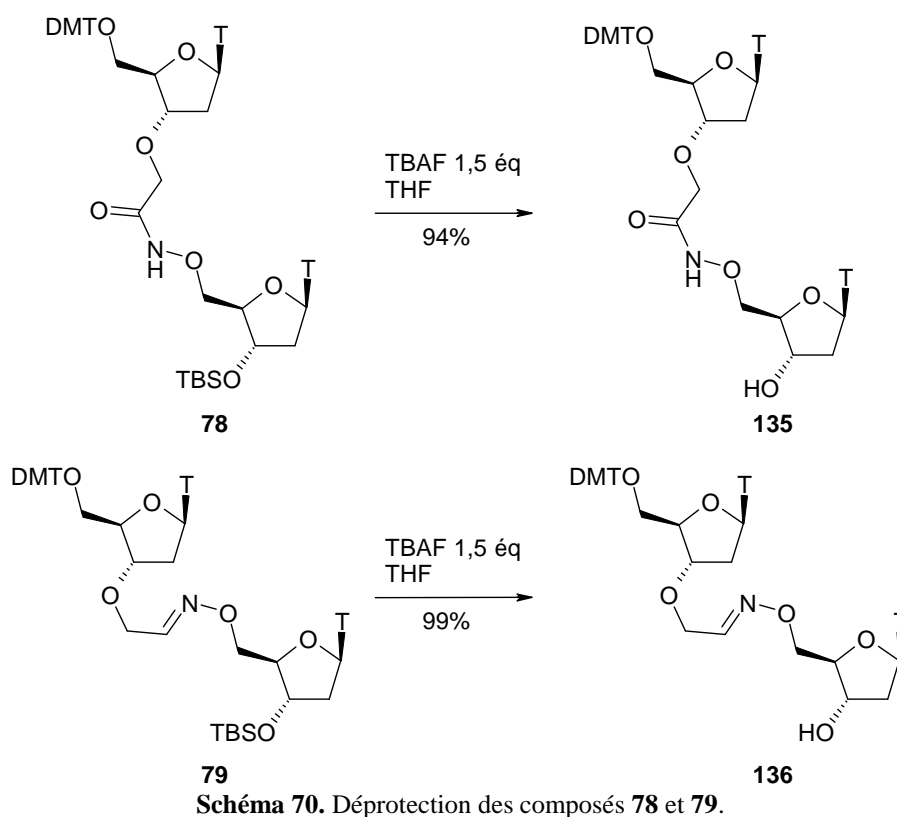
Essai	Conditions	Résultats
1	NaBH_3CN 6 éq 2,5% CH_3COOH THF	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Réaction incomplète ▪ Rdt = 66% sur 50 mg
2	NaBH_3CN 4 éq 3% CH_3COOH THF	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Réaction incomplète ▪ Rdt = 30% sur 500 mg

Tableau 10. Essais pour la synthèse du dinucléoside **80**.

Nous avons donc pu synthétiser trois dimères de thymidine liés par liaison *N*-oxyde, amide, oxime ou aminoxy. Après avoir phosphitylé en position 3', ces dinucléosides vont être intégrés dans des séquences ADN dans le but de tester l'influence des liaisons introduites sur la formation de duplex avec l'ADN naturel.

IV.5. Etude biologique des dinucléosides synthétisés

Dans un premier temps, nous avons partiellement déprotégé les dinucléosides **78** et **79** en présence de TBAF pour obtenir les composés **135** et **136** (Schéma 70).



Des tests préliminaires ont été réalisés sur les dinucléosides **78**, **79**, **80**, **135** et **136**. La cytotoxicité des molécules a été étudiée par un test basé sur la dégradation du MTT (3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium). Ce test rend compte de la viabilité cellulaire. Les résultats donnent la cytotoxicité des composés après 48h d'incubation sur des cellules de type HeLa P4 (Figure 71).

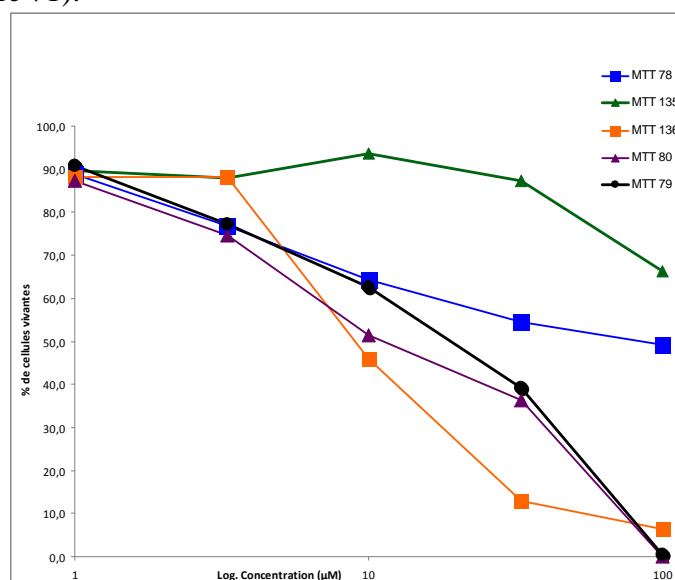


Figure 71. Résultats des tests de cytotoxicité.

Le test montre que les molécules **78**, **79**, **80** et **136** sont toxiques pour les cellules à forte concentration (100 µM). A plus faible concentration (10 µM), il reste 50 à 60% de cellules vivantes après 48h, ce qui signifie que ces molécules sont relativement toxiques. Seul le dinucléoside **135** lié par liaison N-oxy amide montre une faible toxicité pour les cellules jusqu'à une concentration de 33 µM (courbe en vert foncé).

Cette molécule a donc été testée contre le VIH. Le test effectué est basé sur la mesure de l'activité enzymatique de la β -galactosidase qui est présente dans les cellules que l'on infecte et dont l'expression est contrôlée par le LTR (Long Terminal Repeat) du VIH. Lors de la réplication du virus, des séquences particulières contenant les LTR sont créées aux extrémités de l'ADN proviral. Ainsi l'infection des cellules par le virus entraîne la production de séquences LTR et donc la production de β -galactosidase. Lors du test, on regarde donc l'activité de la β -galactosidase qui indique la réplication du virus. Les résultats du test montre une activité modérée du composé **135** avec 58% d'activité de la β -galactosidase à une concentration de 33 μ M par rapport au témoin ne contenant pas le composé **135** (Tableau 11).

Concentration (μ M)	0	0,33	1,0	3,3	10	33
% d'activité de la β -galactosidase	100,0	95,4	97,8	95,7	85,0	57,9

Tableau 11. Résultats du test HIV.

Des tests sur la molécule complètement déprotégée sont en cours.

V. Synthèse de dimères de thymidine à longueur de chaîne *N*-oxy amide modifiée

Dans un oligonucléotide naturel, trois atomes séparent les positions 3' et 5' de deux nucléotides successifs. Ces atomes constituent la liaison phosphodiester. Lorsque nous avons remplacé la liaison phosphodiester par la liaison *N*-oxy amide dans le dinucléoside **78**, la longueur de chaîne entre deux nucléosides successifs était de cinq atomes. Cette longueur de chaîne peut influencer l'appariement entre l'oligonucléotide modifié et son brin complémentaire d'ADN. C'est pourquoi nous proposons de synthétiser des dimères de thymidine avec une liaison *N*-oxy amide plus courte que dans le dinucléoside précédemment synthétisé (Figure 72).

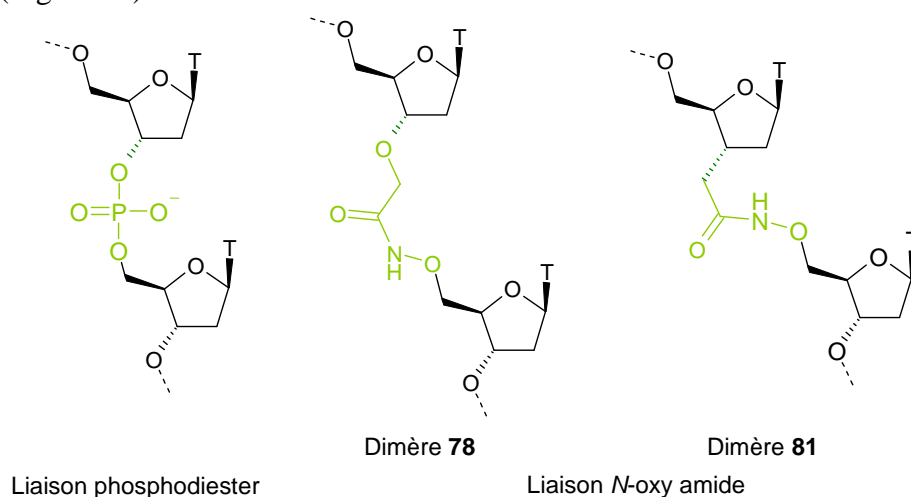


Figure 72. Présentation des différents dimères de thymidine liés par liaison *N*-oxy amide.

La synthèse du dinucléoside **81** peut être envisagée de la manière suivante : le monomère **137** comportant une fonction acide carboxylique en position 3' doit être synthétisé et couplé à la thymidine oxyamine **82** précédemment synthétisée.

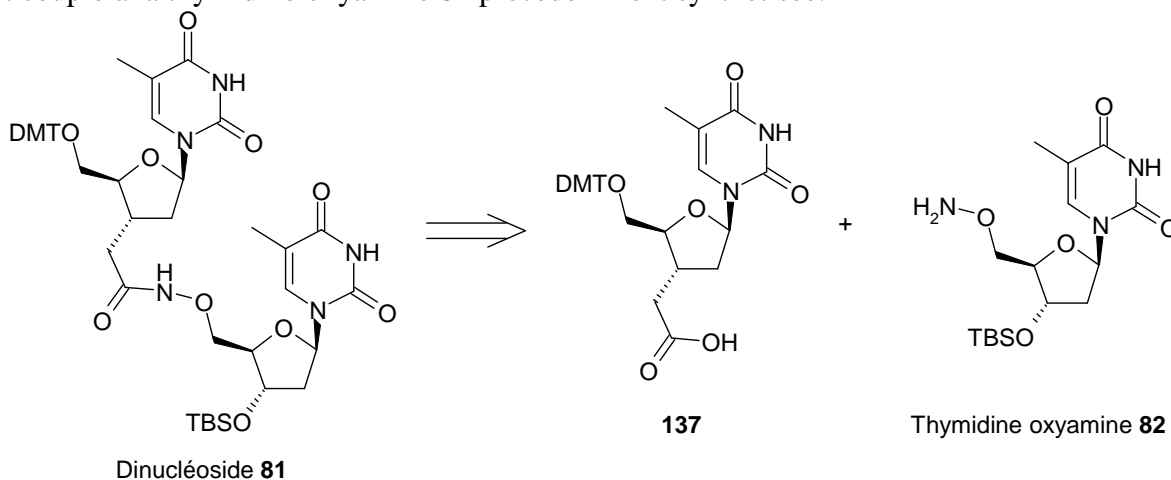


Schéma 71. Rétrosynthèse du dinucléoside **81**.

V.1. Synthèse de la 3'-carboxyméthyl-3'-désoxy-5'-O-diméthoxytritylthymidine

La 3'-carboxyméthyl-3'-désoxy-5'-O-diméthoxytritylthymidine **137** présente un carbone en position 3'. Un schéma de synthèse possible est l'oxydation de la fonction alcool en position 3' (composé **138**) suivie d'une réaction de Wittig permettant l'introduction d'un groupement ester (composé **139**) et puis une hydrogénation stéréosélective (Schéma 72).

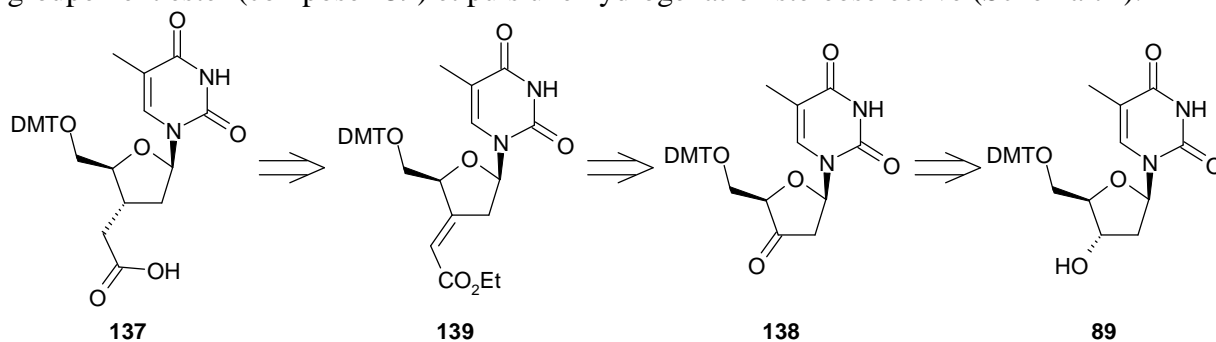


Schéma 72. Rétrosynthèse du composé **137**.

V.1.a. Etape d'oxydation

A partir du composé **89** précédemment synthétisé, la première étape est l'oxydation de la fonction alcool en 3'. Cette étape d'oxydation a été décrite dans la littérature.

En 1965, K. E. Pfitzner et J. G. Moffatt²²⁷ ont découvert par hasard l'instabilité des 3'-oxonucléotides. En voulant polymériser la 5'-O-phosphorylthymidine en présence de DCC, ils ont utilisé le solvant DMSO à la place de la pyridine et ils ont rapidement observé un milieu réactionnel coloré et un dégagement gazeux soufré. Le produit formé, isolé par cristallisation, a été identifié comme étant la thymine. Après 15 min seulement, tout le produit est dégradé et une coupure de la liaison N-glycosidique est observée.

Après étude, il s'avère que la réaction d'élimination se produit uniquement lorsque l'hydroxyle en 3' est libre, ce qui laisse envisager une élimination spontanée de la base lorsque la position 3' est oxydée en cétone (Schéma 73).

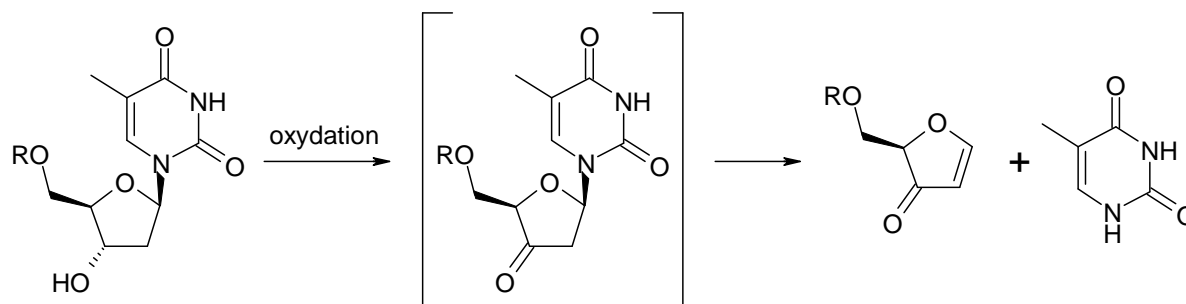


Schéma 73. Dégradation des composés 2'-désoxy-3'-oxonucléotides.

En 1965, l'équipe de A. S. Jones²²⁸ a rapporté l'oxydation de la 5'-O-tritylthymidine en présence de CrO₃ et de pyridine et ils ont également observé la réaction d'élimination avec perte de la thymine.

²²⁷ Pfitzner, K. E.; Moffatt, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5661-5670.

²²⁸ Jones, A. S.; Williamson, A. R.; Winkley, M. *Carbohydr. Res.* **1965**, *1*, 187-195.

En 1977, la première synthèse de 2'-désoxynucléosides oxydés en position 3' a été décrite.^{229,230} Un procédé photochimique est utilisé. La 5'-*O*-tritylthymidine **95** est mise en présence de chlorure de pyruvoyle dans un mélange benzène et pyridine. L'ester pyruvate **140** se forme immédiatement et quantitativement. Il est ensuite irradié pendant une heure sous atmosphère inerte avec une lampe à vapeur de mercure 450 W. Le solvant est évaporé sous vide à une température inférieure à 25°C (pour éviter tout risque d'élimination) et la 3'-oxo-5'-*O*-tritylthymidine **141** est obtenue avec un rendement de 57% (Schéma 74). Ce produit oxydé **141** a été observé comme instable dans certaines conditions, notamment en présence de triéthylamine ou sur gel de silice.

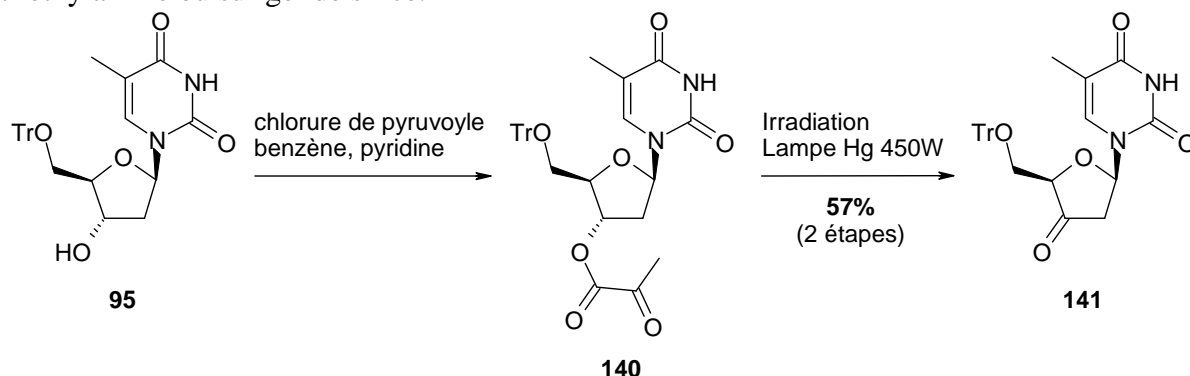


Schéma 74. Réaction d'oxydation décrite par R. W. Binkley, D. G. Hehemann et W. W. Binkley.

En 1983, une autre synthèse de la 3'-oxo-5'-*O*-tritylthymidine **141** a été mise en place par F. Hansske et M. J. Robins.²³¹ L'oxydation est réalisée à l'aide d'un complexe CrO_3 / pyridine / Ac_2O (1:2:1) dans du dichlorométhane pendant 45 min à TA. Un temps de réaction trop long entraîne une décomposition du produit oxydé formé. Les sels de chrome sont éliminés par filtration rapide sur silice du précipité obtenu dans l'acétate d'éthyle. Le filtrat est concentré sous vide à une température inférieure à 25°C et le produit oxydé désiré **141** est obtenu par précipitation à 0°C dans le chloroforme avec un rendement de 87% (Schéma 75).

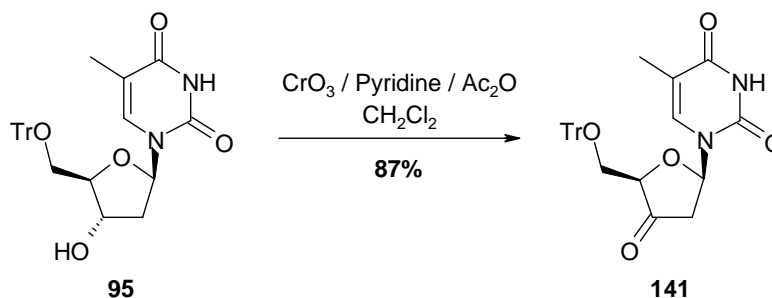


Schéma 75. Réaction d'oxydation décrite par F. Hansske et M. J. Robins.

En 1993, la synthèse de la 5'-*O*-diméthoxytrityl-3'-oxothymidine **138** a été décrite en présence de PDC dans le dichlorométhane.²³² La réaction est réalisée dans des conditions anhydres en présence de poudre de tamis moléculaire 3 Å. Après 2h à TA, les sels de chrome sont éliminés par filtration du précipité obtenu dans l'AcOEt, le produit désiré **138** est trituré dans de l' Et_2O et il est obtenu pur après filtration avec un rendement de 81% (Schéma 76).

²²⁹ Binkley, R. W.; Hehemann, D. G.; Binkley, W. W. *Carbohydr. Res.* **1977**, *58*, C10-C12.

²³⁰ Binkley, R. W.; Hehemann, D. G.; Binkley, W. W. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2573-2576.

²³¹ Hansske, F.; Robins, M. J. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1589-1592.

²³² Svendsen, M. L.; Wengel, J. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 11341-11352.

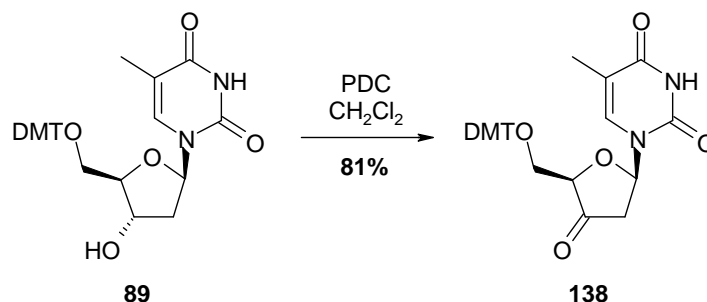


Schéma 76. Réaction d'oxydation décrite par M. L. Svendsen et J. Wengel.

Au vu de ces résultats, nous avons testé les deux dernières méthodes présentées ci-dessus dans le but d'obtenir la 5'-*O*-diméthoxytrityl-3'-oxothymidine **138** (Tableau 12).

Essai	Conditions	Résultats
1	PDC 2 éq CH ₂ Cl ₂ anhydre Tamis broyé 3Å	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Après 2h, réaction incomplète ▪ Traces du produit d'élimination
2	PDC 4 éq CH ₂ Cl ₂ anhydre Tamis broyé 3Å	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Après 2h, conversion ~50%
3	CrO ₃ / Pyridine / Ac ₂ O CH ₂ Cl ₂ anhydre	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 45 min à TA ▪ Mélange produit désiré et produit d'élimination
4	CrO ₃ / Pyridine / Ac ₂ O CH ₂ Cl ₂ anhydre	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 30 min à 15°C ▪ Rdt = 80% avec des traces du produit d'élimination
5	CrO ₃ / Pyridine / Ac ₂ O CH ₂ Cl ₂ anhydre	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 30 min à 5°C ▪ Rdt = 85%

Tableau 12. Essais d'oxydation du composé **89**.

Tout d'abord, en présence de PDC, nous n'avons pas réussi à obtenir le produit désiré. Lors du premier essai, au bout de 2h, la réaction est incomplète et des traces du produit d'élimination sont visibles en CCM. En ajoutant davantage de réactif (Essai 2), la réaction n'est toujours pas complète après 2h. Nous avons alors utilisé les conditions décrites par F. Hansske et M. J. Robins.²³¹ Ces conditions nous ont permis d'obtenir une conversion totale et en abaissant la température du milieu réactionnel (Essais 4 et 5), nous avons pu obtenir le produit désiré avec de bons rendements. Lors du traitement, des précautions ont été prises, notamment lors de l'élimination sous vide des solvants. Si le milieu réactionnel est chauffé, une dégradation du produit oxydé **138** peut être observée, c'est pourquoi nous avons utilisé une pompe à palette et nous avons gardé le bain de l'évaporateur rotatif à TA.

V.1.b. Réaction de Wittig

Afin d'introduire le groupement ester en position 3' du composé **138**, nous envisageons une réaction de Wittig (Schéma 77).

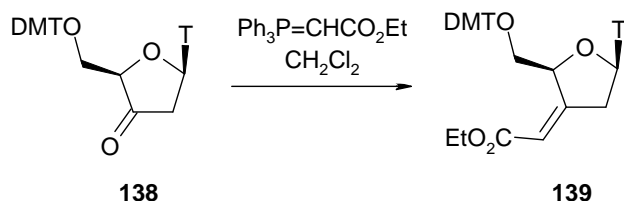


Schéma 77. Réaction de Wittig envisagée.

Cependant, l'ylure nécessaire à cette réaction, $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}-\text{CO}_2\text{Et}$, a des propriétés basiques, ce qui nous mène au produit d'élimination **142** et non au produit désiré **139** (Schéma 78).

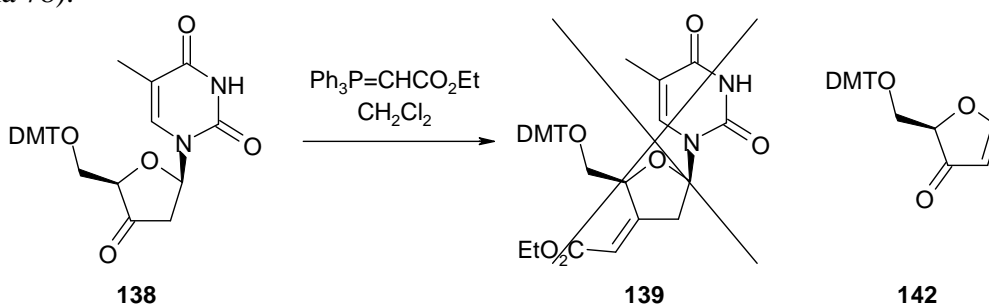


Schéma 78. Réaction de Wittig.

Dans la littérature, l'introduction d'un groupement méthylène en position 3' a été décrite en utilisant des conditions différentes des conditions de Wittig classiquement utilisées. Les conditions $\text{Zn} / \text{CH}_2\text{Br}_2 / \text{TiCl}_4$, décrites par K. Oshima *et al.* en 1978,²³³ et utilisées par L. Lombardo²³⁴ en 1982 ont été appliquées aux nucléosides. A partir du composé **141** ou du composé **138**, le composé **143** est obtenu avec un rendement de 60%²³⁵ et le composé **144** avec un rendement de 79%²³² après traitement et purification par chromatographie sur colonne (Schéma 79).

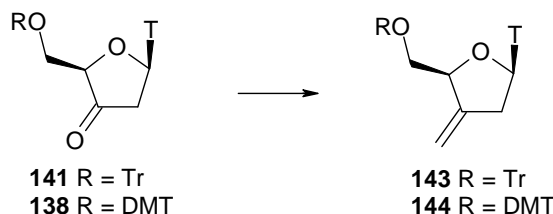


Schéma 79. Introduction d'un groupement méthylène en position 3'. Réactifs et conditions : Zn , CH_2Br_2 , TiCl_4 , THF, 60% pour **143** et 79% pour **144**.

En raison des résultats obtenus et des synthèses décrites dans la littérature, nous avons décidé de changer notre voie de synthèse, ce qui induit un changement au niveau de la molécule cible. En effet, en introduisant un groupement méthylène en position 3', nous pouvons ensuite envisager une réaction d'hydroboration pour obtenir le composé **145** qui peut ensuite être oxydé pour donner le monomère **146** (Schéma 80). Le monomère **146** comporte un carbone en moins sur la chaîne en position 3' en comparaison avec la molécule cible **137**.

²³³ Takai, K.; Hotta, Y.; Oshima, K.; Nozaki, H. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 2417-2420.

²³⁴ Lombardo, L. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 4293-4296.

²³⁵ Sharma, M.; Bobek, M. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5839-5842.

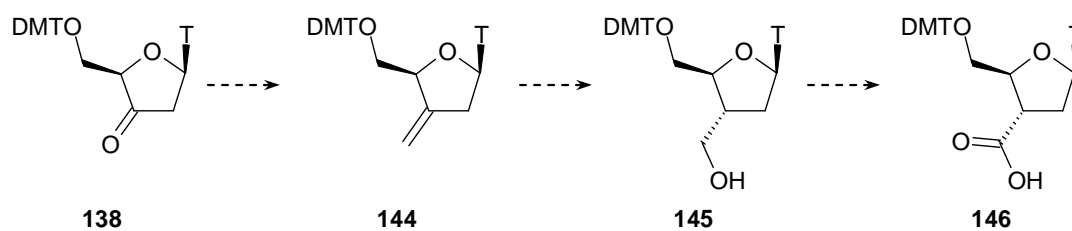
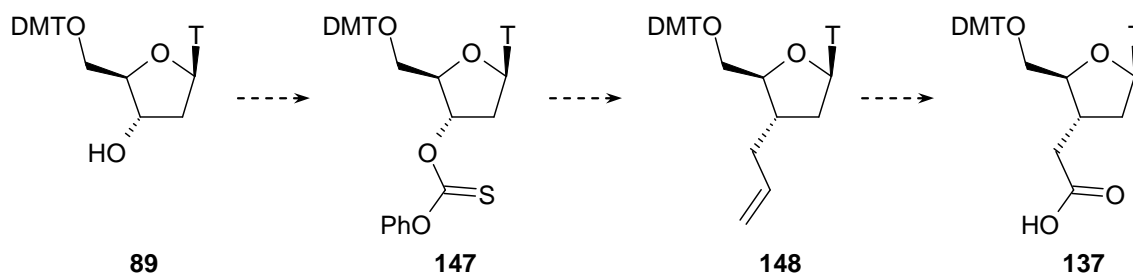


Schéma 80. Voie de synthèse envisagée.

Cependant, en réalisant la réaction sur de petites quantités (100 ou 200 mg), la quantité de TiCl_4 à introduire est difficile à contrôler et nous n'avons pas pu obtenir le composé **144** désiré. Par manque de temps, nous n'avons malheureusement pas pu réaliser d'autres essais et poursuivre cette voie de synthèse.

V.2. Autre voie de synthèse envisageable de la 3'-carboxyméthyl-3'-désoxy-5'-O-diméthoxytritylthymidine

Au vu des difficultés rencontrées avec la 3'-oxothymidine, une autre voie de synthèse mettant en jeu des conditions radicalaires pourrait être développée (Schéma 81). Cette synthèse s'appuie sur des réactions déjà étudiées dans la littérature.

Schéma 81. Synthèse possible du composé **137**.

En 1989, la synthèse du 3'-allyl-3'-désoxy-5'-O-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine a été mise au point.²³⁶ Après avoir tenté, sans succès, d'introduire un groupement allyle en position 3' de la 3'-oxothymidine avec le réactif de Grignard approprié, une méthode radicalaire a été utilisée.²³⁷ A partir du composé **149** substitué par un groupement phénoxythiocarbonyle, le composé 3'-allyl-3'-désoxythymidine **150** est synthétisé à l'aide d'allyltributyl étain dans le benzène ou le toluène en présence d'un initiateur de radicaux (AIBN). Le produit **150** est formé avec rétention de configuration. Cette stéréosélectivité a été attribuée à l'encombrement du groupement TBS en position 5' du nucléoside (Schéma 82).

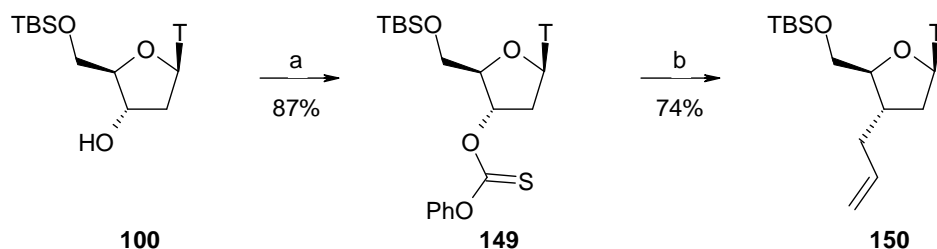


Schéma 82. Synthèse décrite par C. K. Chu *et al.* Réactifs et conditions : a) chlorothionoformate de phényle 2,9 éq, CH_2Cl_2 / pyridine 4:1, 0°C ; b) allyltributylétain 5,7 éq, AIBN 0,2 éq, toluène, 80°C .

²³⁶ Chu, C. K.; Doboszewski, B.; Schmidt, W.; Ullas, G. V. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2767-2769.

²³⁷ Keck, G. E.; Enholm, E. J.; Yates, J. B.; Wiley, M. R. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 4079-4094.

En 1990, dans le but de synthétiser des analogues de l'AZT et de tester leur activité, la procédure précédente permettant l'introduction d'un substituant carboné en position 3' de 2',3'-didésoxynucléosides a été reprise. Le groupement allyle a ensuite été converti en groupements propargyle, aldéhyde, oxime et nitrile,²³⁸ ce qui montre la diversité de fonctions accessibles à partir de cette stratégie.

Cette stratégie de synthèse a ensuite été réutilisée pour la synthèse de dimères de thymidine comportant une fonction amide dans le but d'étudier l'influence de la longueur de la chaîne (Schéma 83).²³⁹

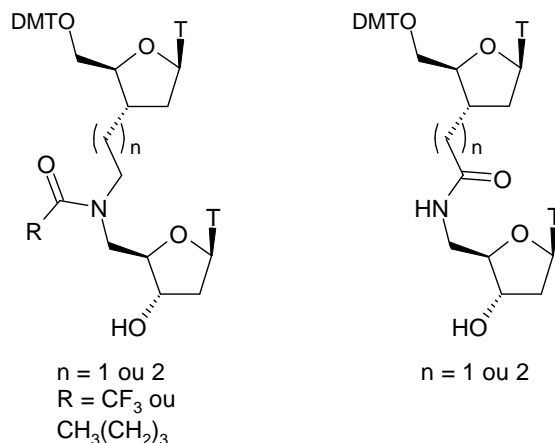


Schéma 83. Dimères de thymidine comportant une fonction amide.

Plus récemment, l'introduction d'un groupement allyle en position 3' *via* une réaction radicalaire a permis la synthèse des dinucléosides liés par un diène *E-E* ou un diène *Z-Z*.²⁴⁰

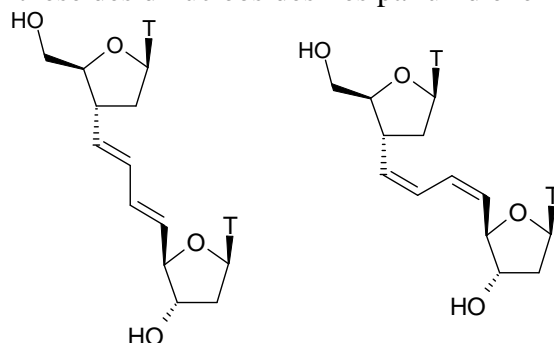


Schéma 84. Dimères de thymidine liés par un diène *E-E* ou *Z-Z*.

Nous pouvons donc envisager une autre voie de synthèse utilisant des conditions radicalaires afin d'introduire un groupement allyle en position 3'. Ensuite, les conditions d'oxydation utilisées pour obtenir la thymidine acide **88** pourront être appliquées et doivent nous permettre d'obtenir le monomère **137** (Schéma 81).

²³⁸ Flandor, J.; Tam, S. Y. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 597-600.

²³⁹ Stork, G.; Zhang, C.; Gryaznov, S.; Schultz, R. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 6387-6390.

²⁴⁰ Fargeas, V.; Ané, A.; Dubreuil, D.; Lebreton, J. *Synlett* **2009**, 3341-3345.

VI. Vers la synthèse de la thymidine aminoxy acide pour la synthèse d'oligonucléosides

Nous nous sommes ensuite intéressés à la synthèse de la thymidine aminoxy acide **151** afin de pouvoir synthétiser des oligomères de nucléosides aminoxy acide (Schéma 85).

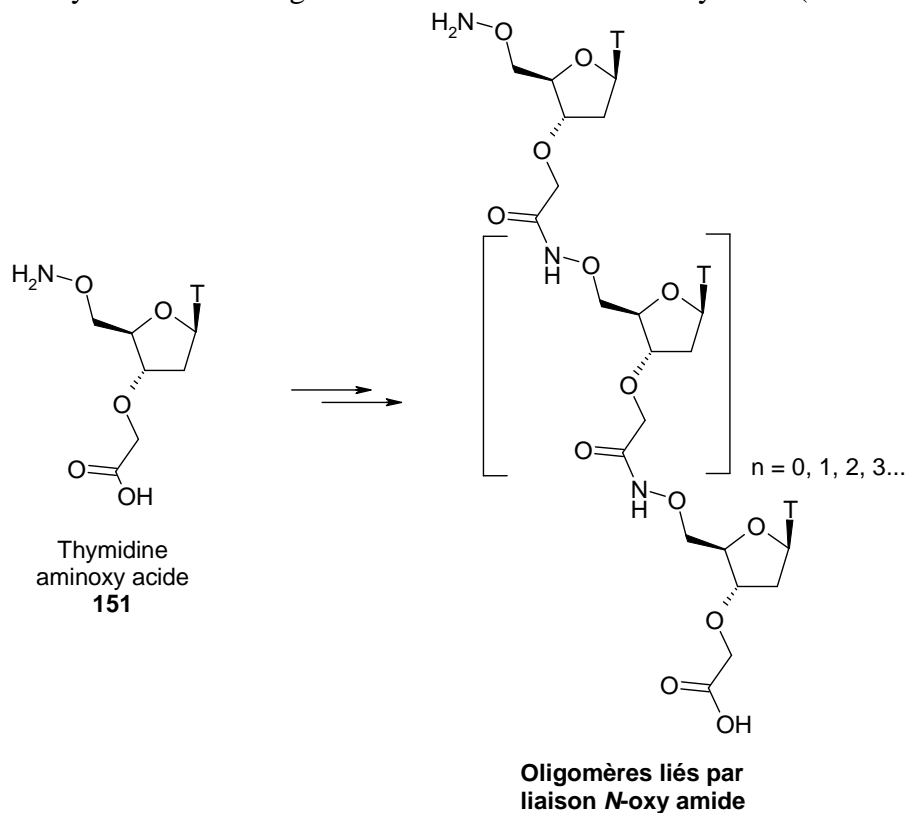


Schéma 85. Synthèse d'oligomères liés par liaison N-oxy amide.

La thymidine aminoxy acide **151** peut être obtenue à partir du composé protégé **152**, lui-même obtenu à l'aide d'une réaction d'alkylation sur le composé **83** précédemment synthétisé (Schéma 86).

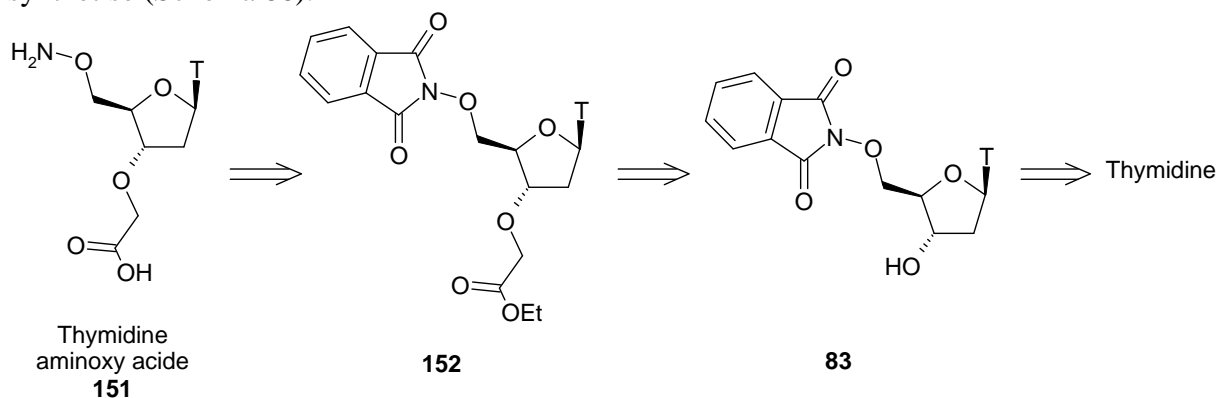


Schéma 86. Rétrosynthèse de la thymidine aminoxy acide **151**.

VI.1. Etape d'alkylation

VI.1.a. Synthèse de la 5'-O-phthalimido-3'-O-éthoxycarbonylméthyl thymidine

La réaction d'alkylation en position 3' du composé 5'-O-phthalimidothymidine **83** n'a, à notre connaissance, jamais été décrite dans la littérature. Nous avons donc commencé par utiliser les conditions classiques, NaH, α -bromoacétate d'éthyle. Au vu des études réalisées sur l'influence des solvants^{180,241} et des résultats précédemment obtenus (Paragraphe III.2.d, p. 96), nous avons réalisé la réaction dans du THF anhydre (Essai 1 - Tableau 13). Le produit di-alkylé **153** a été obtenu majoritairement.

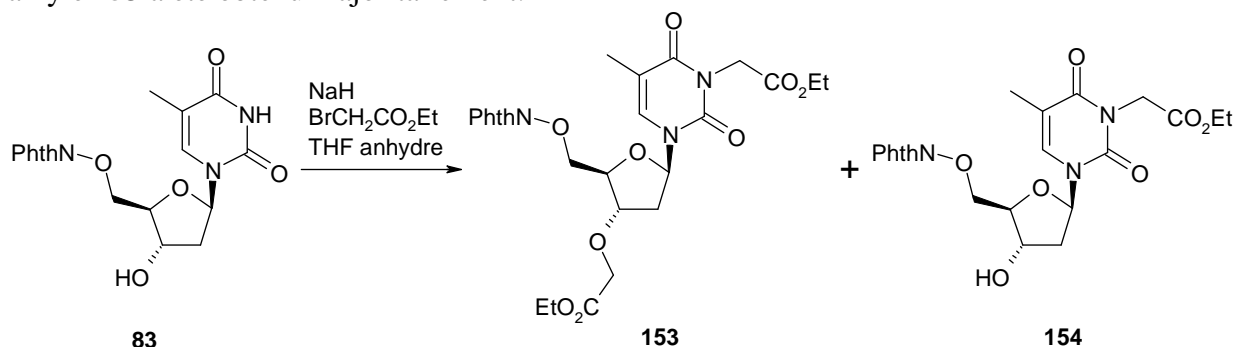


Schéma 87. Essai d'alkylation du composé **83**.

Un autre essai a été réalisé en réduisant la quantité d' α -bromo ester à 1 éq (Essai 2 – Tableau 13), un mélange de produits a alors été obtenu, le produit N-alkylé étant majoritaire. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans le cadre des essais d'alkylation réalisés sur la 5'-O-diméthoxytritylthymidine **89** (Paragraphe III.2.a, p. 88).

Nous avons alors utilisé un autre agent alkylant, le bromure d'allyle (Essai 3), mais ceci ne nous a pas permis d'obtenir le produit O-alkylé contrairement au résultat obtenu sur la 5'-O-diméthoxytritylthymidine **89** (p. 96).

Essai	Conditions	Résultats
1	NaH 2,4 éq BrCH ₂ CO ₂ Et 2,4 éq THF	▪ Produit di-alkylé 153 majoritaire
2	NaH 2,4 éq BrCH ₂ CO ₂ Et 1,0 éq THF	▪ Mélange de produits ▪ Produit N-alkylé 154 majoritaire (68%)
3	NaH 2,6 éq BrCH ₂ CH=CH ₂ 2,5 éq THF	▪ 50% de produit de départ 83

Tableau 13. Essais d'alkylation du composé **83**.

²⁴¹ Lucas, R.; Teste, K.; Zerrouki, R.; Champavier, Y.; Guilloton, M. *Carbohydr. Res.* **2010**, 345, 199-207.

VI.1.b. Protection de la base

Afin d'éviter la formation du produit de N-alkylation, nous avons ensuite voulu protéger le NH de la thymidine. Pour cela, nous avons repris les conditions mises au point précédemment (Paragraphe III.2.b, p. 91). Ces conditions permettent, en une étape, l'introduction d'un groupement benzoyle en position N-3 de la thymidine (Schéma 88).

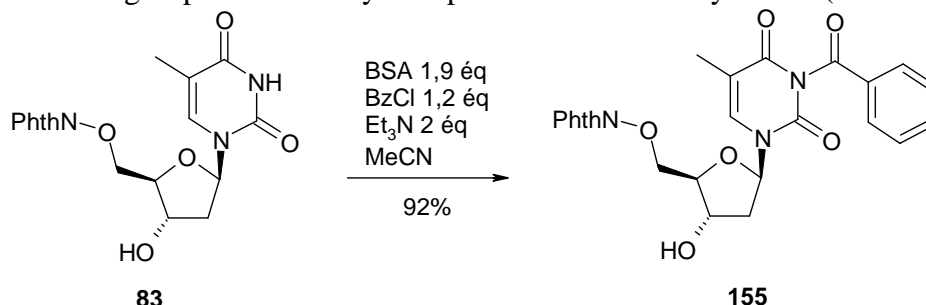


Schéma 88. Protection du N-3 de la thymidine.

La conversion du composé **83** en **155** s'effectue avec un rendement de 92%. La position 3' est d'abord protégée temporairement en présence de 1,9 éq de BSA, puis l'introduction du groupement benzoyle s'effectue en présence de 2 éq de triéthylamine et de 1,2 éq de chlorure de benzoyle pendant une nuit à TA. Le traitement de la réaction en milieu acide (HCl 1 N) permet la déprotection du groupement silyle. Le produit désiré **155** est alors obtenu pur après chromatographie sur colonne.

VI.1.c. Essai d'alkylation

Des essais d'alkylation ont donc été réalisés sur le composé protégé **155**.

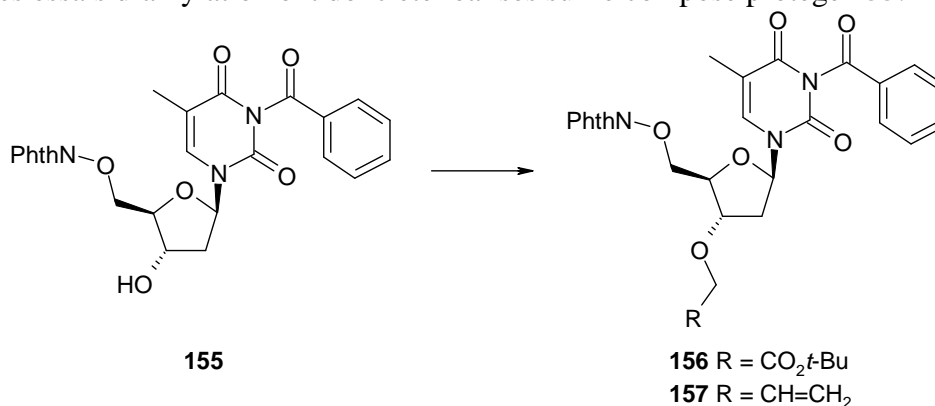


Schéma 89. Essais d'alkylation du composé **155**.

Le premier essai a été réalisé en présence de 1,4 éq de NaH, 1,2 éq de α -bromoacétate de *tert*-butyle dans un mélange anhydre de THF / DMF 2:1. Cet essai n'a pas conduit au composé désiré mais à un mélange de produits qui n'a pas été purifié (Essai 1 - Tableau 14). La réaction a ensuite été conduite dans du DMF anhydre. Après traitement et chromatographie, une fraction pouvant correspondre au produit désiré **156** a été isolée (Essai 2). Malheureusement, l'étude RMN a montré qu'il s'agissait d'un mélange de deux produits que nous n'avons pas pu identifier. Lorsque la réaction a été réalisée dans du THF anhydre (Essai 3), nous n'avons également pas pu isoler le produit attendu. Enfin, nous avons tenté l'introduction du groupement allyle (Essai 4), et le résultat a été le même que pour les essais précédents.

Essai	Conditions	Résultat
1	NaH 1,4 éq BrCH ₂ CO ₂ t-Bu 1,2 éq THF / DMF 2:1	▪ Plusieurs spots en CCM
2	NaH 1,4 éq BrCH ₂ CO ₂ t-Bu 1,2 éq DMF	▪ ~20% d'un mélange de 2 produits non identifiés
3	NaH 3éq BrCH ₂ CO ₂ t-Bu 2 éq THF	▪ Plusieurs spots en CCM
4	NaH 2 éq BrCH ₂ CH=CH ₂ 5 éq THF	▪ Plusieurs spots en CCM

Tableau 14. Essais d'alkylation du composé 155.

VI.1.d. Utilisation du groupement Boc comme protecteur de la fonction aminoxyle

En raison des difficultés rencontrées lors des essais d'alkylation, nous avons pensé à changer le groupement protecteur de la fonction aminoxyle. En effet, des études précédentes menées au laboratoire ont montré que le groupement phthalimido pouvait être sensible en milieu basique (Schéma 90).²⁴²

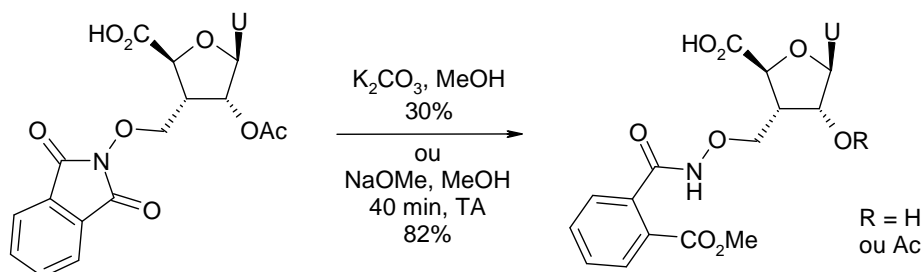


Schéma 90. Ouverture du groupement phthalimido en milieu basique.

Le groupement protecteur phthalimido peut être remplacé par un groupement *tert*-butoxycarbonyle (Boc). Nous avons donc voulu déprotéger le composé 83. En présence de 3 éq d'hydrazine hydrate dans du MeOH, la déprotection se fait en 2h (Schéma 91).

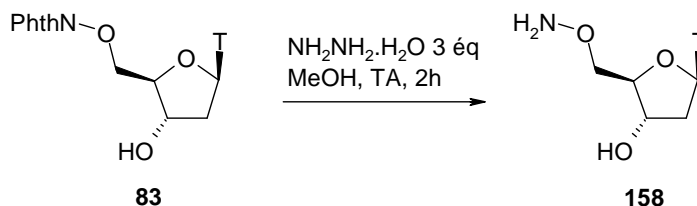


Schéma 91. Déprotection du composé 83.

²⁴² Gong, Y.; Peyrat, S.; Sun, H.; Xie, J. *Tetrahedron* **2011**, 67, 7114-7120.

Cependant, le produit obtenu étant très polaire, nous n'avons pas pu l'isoler au moment de l'extraction. C'est pourquoi nous avons utilisé la thymidine oxyamine **82** protégée en position 3' par un groupement TBS pour obtenir le produit désiré **160** (Schéma 92).

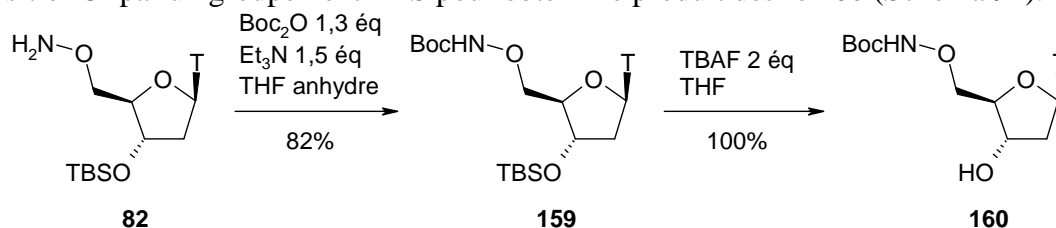


Schéma 92. Synthèse du composé **160** ayant la fonction aminoxyle protégée par un groupement Boc.

Le composé **160** est donc obtenu en deux étapes à partir de la thymidine oxyamine **82** précédemment synthétisée (Paragraphe II.3.b, p. 80). La première étape s'effectue en présence d'anhydride de *tert*-butoxycarbonyle et de triéthylamine pour donner le composé **159** avec un rendement de 82%. La déprotection de l'hydroxyle en position 3' s'effectue ensuite en présence de 2 équivalents de TBAF dans le THF. Le produit désiré **160** est obtenu avec un rendement quantitatif. Il est suffisamment pur pour être engagé dans l'étape suivante sans purification.

La réaction d'alkylation a ensuite été menée dans les conditions décrites par J. Chattopadhyaya *et al.*,¹⁸⁹ qui nous ont permis d'obtenir la 3'-*O*-allyl-5'-*O*-diméthoxytritylthymidine **118**. En présence de 2,5 équivalents de NaH dans du THF anhydre, le composé **160** est activé pendant 20 min aux ultrasons puis du bromure d'allyle (2,7 équivalents) est ajouté. Après 48 h à TA, le composé isolé n'est pas le produit attendu **161** mais le composé **162** ayant subi plusieurs alkylations (Schéma 93).

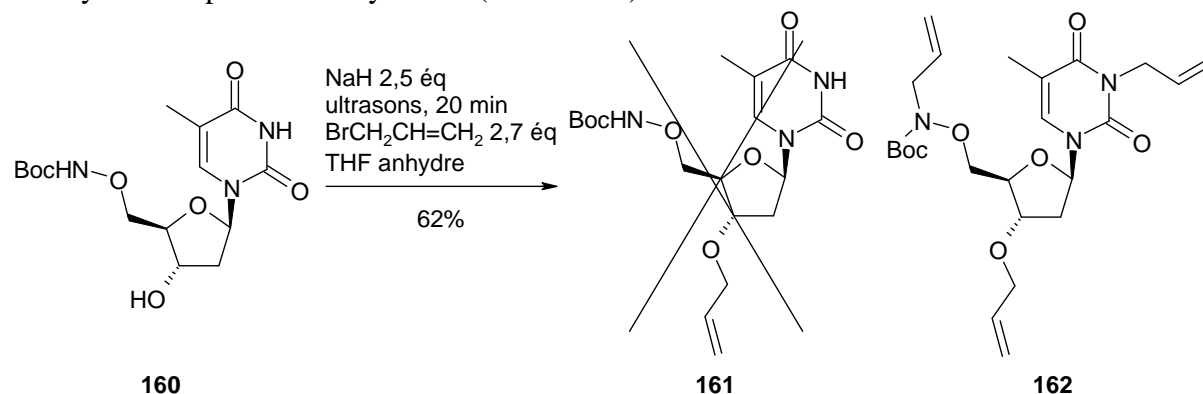


Schéma 93. Etape d'alkylation du composé **160**.

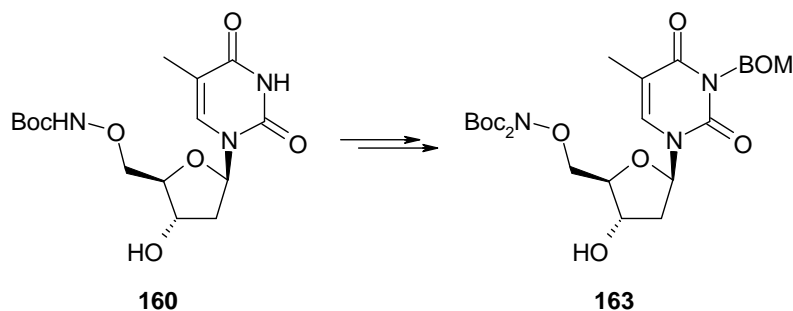
Au vu de ces résultats, nous pouvons penser à protéger les atomes d'azote sur la base et sur la fonction aminoxyle (Schéma 94).

Au niveau de la fonction aminoxyle, le composé **160** peut être protégé par un second groupement Boc. En effet, la protection de la fonction aminoxyle par deux groupements Boc a déjà été réalisée afin d'empêcher les réactions parasites lors de couplages peptidiques.²⁴³ Les conditions utilisées sont celles de K. Gunnarsson et de U. Ragnarsson qui permettent l'introduction du second groupement Boc en présence de DMAP cat. et de Boc₂O.²⁴⁴

Afin de protéger le NH de la base, nous pouvons envisager d'introduire le groupement protecteur BOM, utilisé dans la littérature par P. D. Cook¹⁸¹ et B. Cuenoud¹⁸² comme nous l'avons vu précédemment (Paragraphe III.2.b, p. 89).

²⁴³ Brask, J.; Jensen, K. J. *J. Peptide Sci.* **2000**, *6*, 290-299.

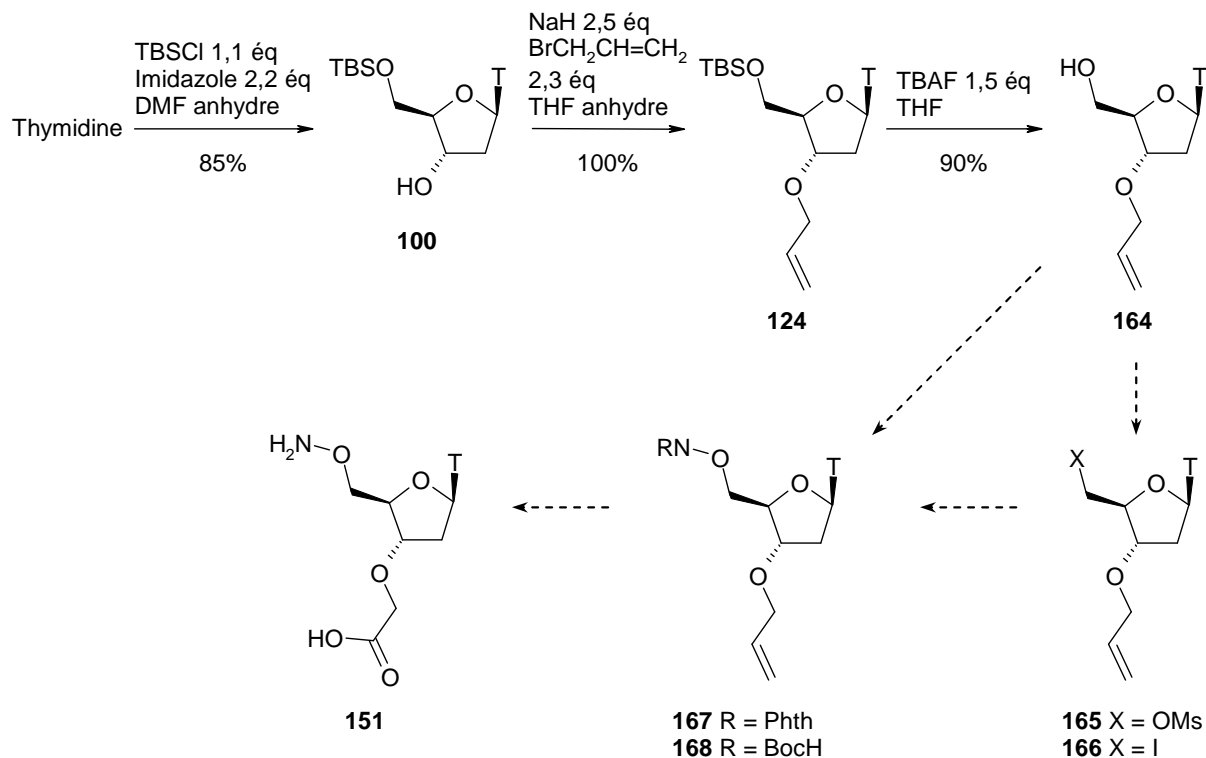
²⁴⁴ Gunnarsson, K.; Ragnarsson, U. *Acta Chem. Scand.* **1990**, *44*, 944-951.

Schéma 94. Protection du composé **160**.

Nous n'avons pas réalisé la synthèse du composé **163** par manque de temps.

VI.2. Seconde voie de synthèse envisagée pour la thymidine aminoxy acide

Nous avons alors envisagé une nouvelle voie de synthèse permettant l'obtention de la thymidine aminoxy acide **151** (Schéma 95).

Schéma 95. Seconde voie pour la synthèse de la thymidine aminoxy acide **151**.

Etant donné qu'il est difficile de réaliser la réaction d'alkylation, nous envisageons de commencer par l'introduction du groupement allyle sur la thymidine **100** protégée en position 5' par un groupement TBS.¹⁸⁰ Le choix du groupement protecteur s'est porté sur le TBS car il est facile à introduire, moins coûteux que le DMTCl et il peut être clivé sélectivement.

Le composé **100** a été précédemment obtenu avec un rendement de 85% (Paragraphe III.2.a, p. 86). Nous avons ensuite obtenu le composé **124** décrit dans la littérature par les équipes de J. Lebreton¹⁹¹ et R. Zerrouki¹⁸⁰. Après obtention du composé **124** avec un rendement de 100%, nous avons déprotégé l'hydroxyle en position 5' et obtenu le composé **164** avec un rendement de 90%.

Nous pouvons alors envisager deux stratégies. La première a été développée lors de la synthèse de la thymidine oxyamine **82**. Elle permet l'introduction du groupement phthalimidoxyle soit *via* la réaction de Mitsunobu (Paragraphe II.2, p. 77), soit *via* l'activation par un mésylate (Paragraphe II.4.b, p. 81). Les conditions que nous pouvons également envisager pour une seconde stratégie seront développées dans le chapitre suivant. La fonction aminoxy protégée par un groupement Boc peut être introduite à partir du dérivé iodé **166**.

La déprotection des composés **167** et **168** permettra ensuite de libérer la fonction aminoxy désirée. La fonction acide carboxylique peut, elle, être obtenue par coupure oxydante de l'allyle comme cela a été précédemment décrit lors de la synthèse de la thymidine acide **88** (Paragraphe III.2.e et f, p. 97 et 98).

Malheureusement, nous n'avons pas pu développer ces stratégies par manque de temps.

VII. Conclusion

En série ADN, à partir de la thymidine, nous avons développé plusieurs voies de synthèse menant aux différents monomères de thymidine portant des fonctions acide carboxylique, aldéhyde ou oxyamine.

La synthèse du monomère thymidine acide **88** a nécessité de nombreuses adaptations. Tout d'abord, les conditions de tritylation par le groupement DMT ont dû être mises au point. En effet, les conditions classiquement utilisées (DMAP, DMTCl, pyridine à TA) ne permettent pas l'obtention du composé **89** avec de bons rendements. Le chauffage à reflux du milieu pendant 1h30 en présence de triéthylamine a permis l'obtention du produit désiré avec un bon rendement de 82% tout en limitant la formation de produit di-tritylé.

L'introduction de la fonction ester en position 3' a elle aussi posé problème. En effet, l'utilisation des conditions classiques d'alkylation (NaH, THF ou DMF) en présence d' α -bromoacétate d'éthyle n'a pas conduit au produit O-alkylé **90** mais au produit de N-alkylation. La régiosélectivité est difficile à contrôler. Nous avons alors décidé d'introduire le groupement allyle en position 3' puis de l'oxyder. Cette voie nous a permis d'obtenir la thymidine acide **88** en cinq étapes avec un rendement de 43% à partir de la thymidine (Schéma 96).

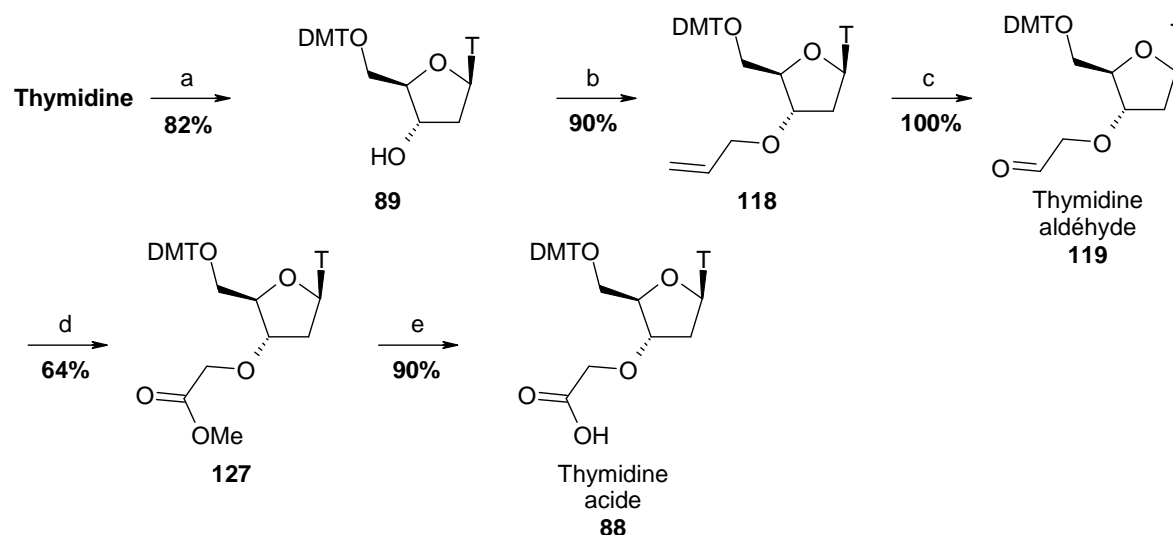


Schéma 96. Synthèse de la thymidine acide **88**. Réactifs et conditions : a) DMTCl, Et₃N, pyridine, reflux, 1h30 ; b) NaH (ultrasons 20 min), BrCH₂CH=CH₂, THF ; c) i- NMO, OsO₄, *t*-BuOH, acétone / eau 3:1 ; ii- NaIO₄, acétone, tampon phosphate pH 7 ; d) i- TEMPO, BAIB, MeCN / H₂O 1:1 ; ii- NaHCO₃, Cs₂CO₃, MeI, DMF ; e) LiOH, MeOH.

La synthèse de la thymidine oxyamine **82** a pu être réalisée après la mise au point de l'étape clef d'introduction du groupement phthalimidoxyle. Les facteurs clefs de cette réaction de Mitsunobu sur la thymidine sont : des quantités suffisamment importantes de matière première pour pouvoir travailler en milieu suffisamment concentré afin d'introduire du DIAD par un goutte à goutte lent dans le milieu refroidi à 0°C. Le contrôle de la réaction nous a permis d'optimiser le rendement de cette étape. Le monomère thymidine oxyamine **82** a finalement été obtenu en trois étapes avec un rendement de 82% (Schéma 97).

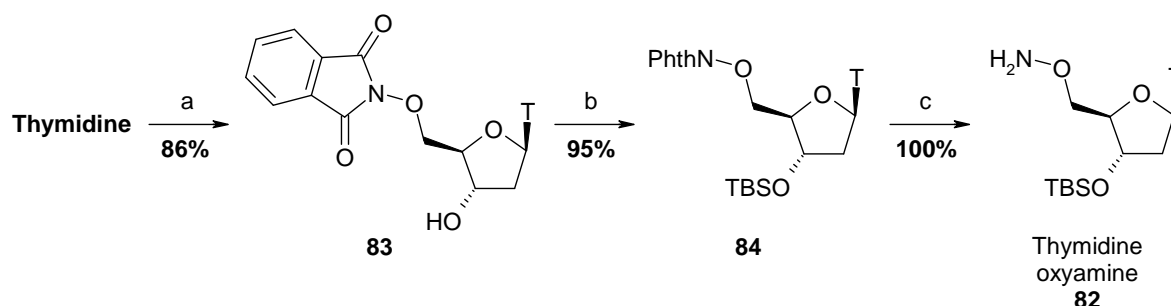


Schéma 97. Synthèse de la thymidine oxyamine **82**. Réactifs et conditions : a) *N*-hydroxyphthalimide, PPh₃, DIAD, DMF ; b) TBSCl, imidazole, DMF ; c) hydrazine hydrate, MeOH.

Les différents monomères ont ensuite été couplés entre eux pour conduire à des dimères de thymidine (composés **78**, **79** et **80**) liés par liaison *N*-oxy amide, par liaison oxime et par liaison aminoxy (Schéma 98). Ces dinucléosides vont pouvoir être incorporés dans des séquences ADN afin de tester l'influence des liaisons *N*-oxy amide, oxime et aminoxy introduites.

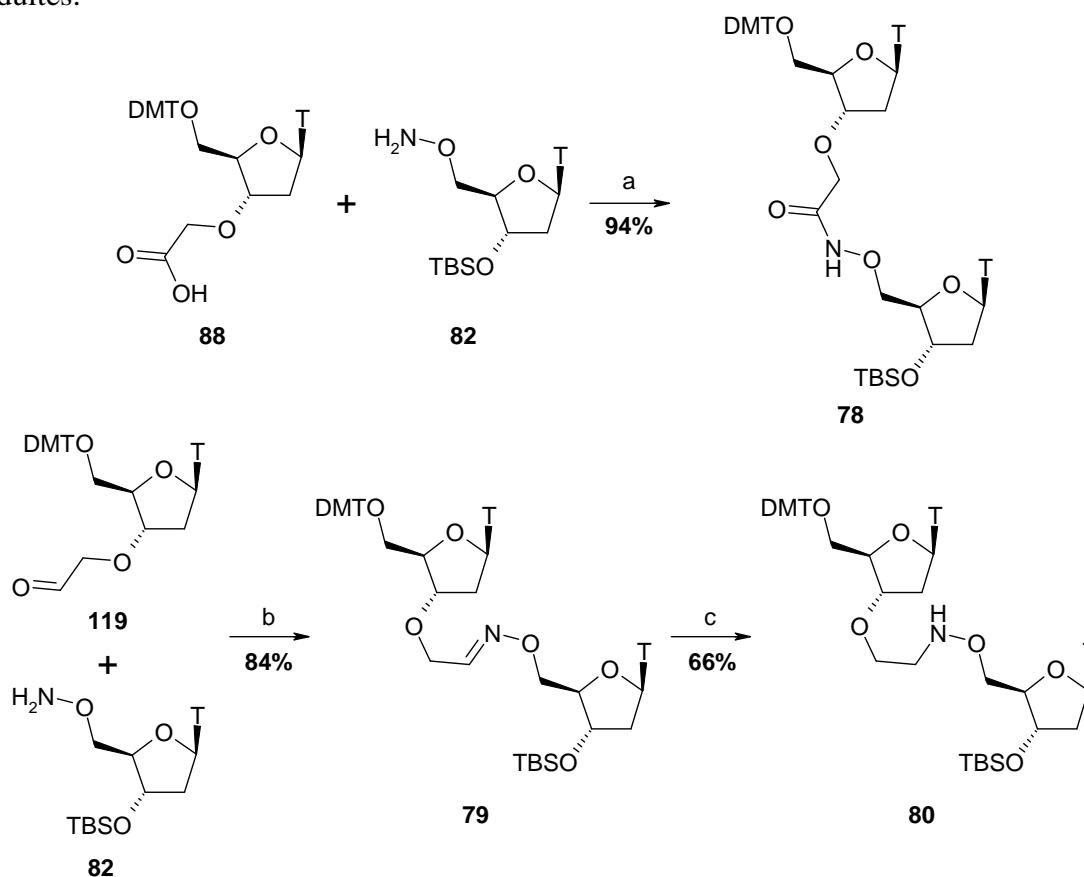


Schéma 98. Synthèse des différents dinucléosides. Réactifs et conditions : a) HOAt, EDC, DMF ; b) CH₃COOH, THF ; c) NaBH₃CN, CH₃COOH, MeOH

Nous avons également tenté de développer des dinucléosides avec des chaînes plus courtes qui peuvent être synthétisés à partir du monomère acide **137** et de la thymidine oxyamine **82**.

La synthèse envisagée pour le composé **137** passe par un intermédiaire 3'-oxothymidine sur lequel est introduit la fonction ester par une réaction de Wittig. Cependant, l'instabilité des dérivés 3'-oxothymidine en milieu basique ne nous a pas permis d'obtenir le composé désiré **139** (Schéma 99). Une synthèse à envisager passe par l'utilisation de conditions radicalaires permettant l'introduction du groupement allyle en position 3' puis par l'oxydation en dérivé

acide **137**. Nous pouvons également envisager d'introduire la fonction aminoxy en position 5' après déprotection du groupement protecteur, ceci nous conduisant à une nouvelle thymidine aminoxy acide (Schéma 99).

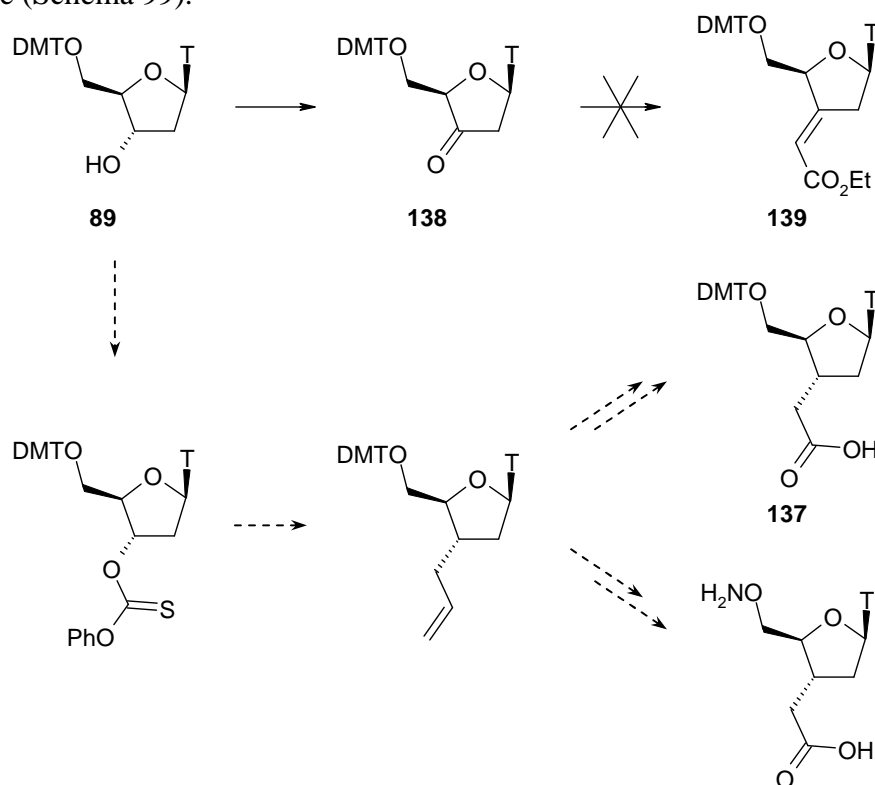


Schéma 99. Synthèse envisagée du composé **137**.

Enfin, la synthèse de la thymidine aminoxy acide **151** n'a pas pu être réalisée aussi facilement que la rétrosynthèse initiale le laissait envisager en raison des difficultés liées à l'étape d'alkylation sur la 5'-*O*-phthalimidothymidine. La dernière voie de synthèse présentée (Schéma 95) est cependant prometteuse.

Chapitre IV :

Les nucléosides aminoxy acides en série ARN :

Synthèse à partir de l'uridine

I. Introduction

Dans ce chapitre, nous allons développer les travaux effectués en série ARN. Nous avons choisi de travailler sur l'uridine, l'analogue de la thymidine en série ARN. L'uridine comporte un groupement hydroxyle en plus sur la position 2' par rapport à la thymidine. L'uridine présente donc une fonction alcool primaire en position 5' et deux fonctions alcools secondaires en positions 2' et 3'. Ces deux fonctions alcools secondaires sont difficiles à différencier et vont donc déterminer les stratégies à utiliser.

L'objectif est de préparer des oligonucléosides liés par liaison *N*-oxy amide en série ARN. Plusieurs séries sont envisagées, chaque série étant obtenue à partir d'un monomère différent (Schéma 100).

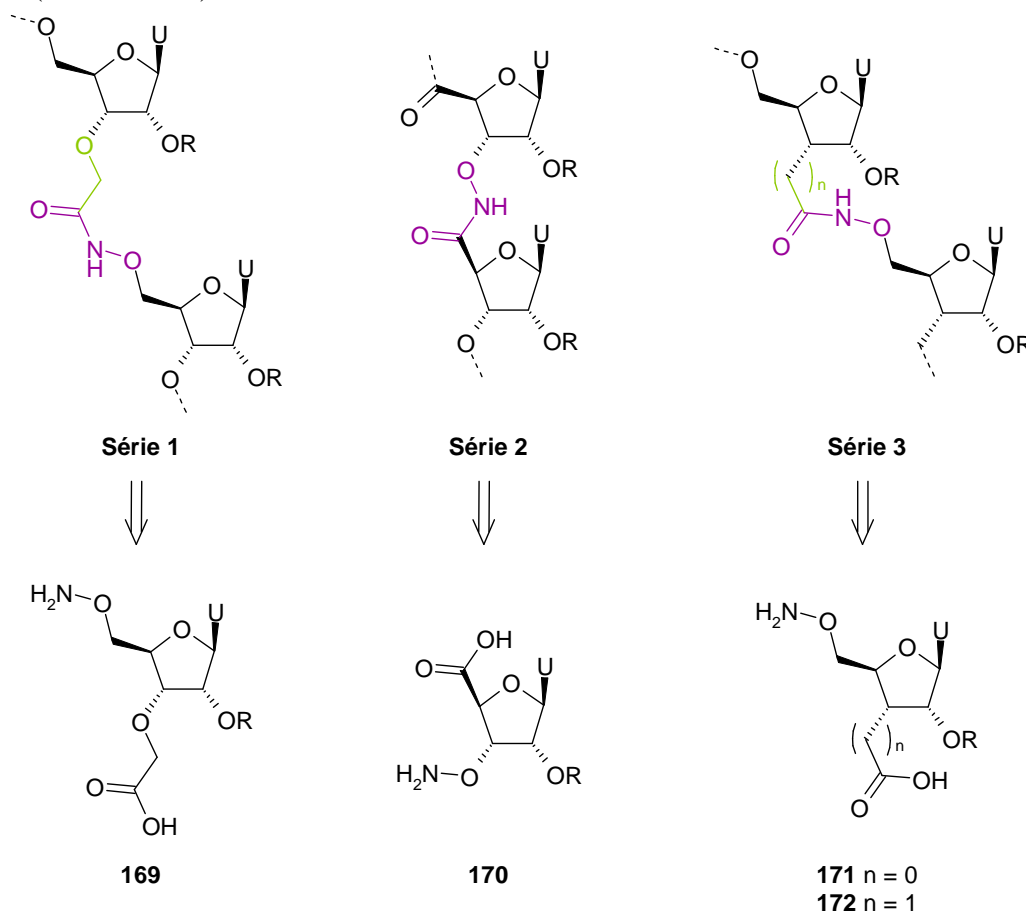


Schéma 100. Présentation des différentes séries envisagées.

La synthèse de la série 1 est envisagée à partir du monomère **169**. Ce monomère est comparable au monomère **151** de la série thymidine : il porte une fonction aminoxyle en position 5' et une fonction acide carboxylique en position 3' introduite par une réaction de *O*-alkylation. En ce qui concerne la série 2, le monomère **170** porte une fonction acide carboxylique en position 5' et une fonction aminoxyle en position 3'. Lors de la formation de l'oligomère, la chaîne reliant deux nucléosides est beaucoup plus courte et ne comporte que trois chaînons. Enfin, la synthèse des oligonucléosides de la série 3 nécessite l'obtention des monomères **171** et **172**. Ces monomères comportent un carbone en position 3' et deux longueurs de chaînes sont envisagées ($n=0$ et $n=1$).

En parallèle de la synthèse des oligonucléosides, pour les séries 1 et 3, nous nous intéressons à la synthèse de dinucléosides (Schéma 101) qui pourront ensuite être incorporés dans des séquences ARN.

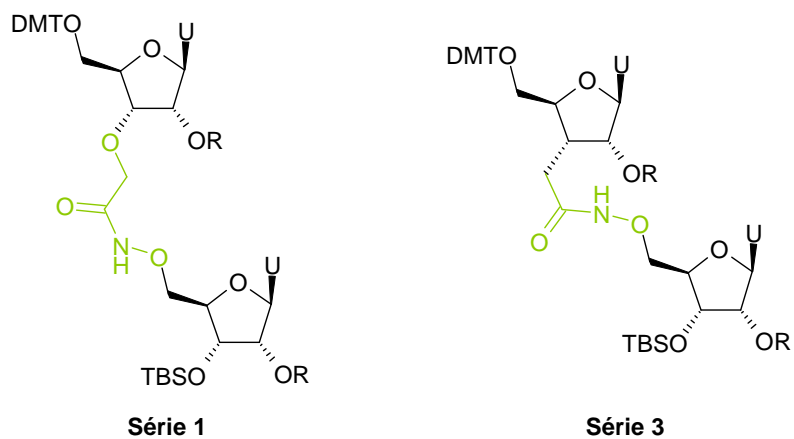


Schéma 101. Dinucléosides envisagés pour les séries 1 et 3.

II. Synthèse des oligonucléosides de la série 1

Dans cette partie, nous allons développer la synthèse de l'uridine aminoxy acide **169** qui permet l'obtention des oligonucléosides de la série 1 (Schéma 102).

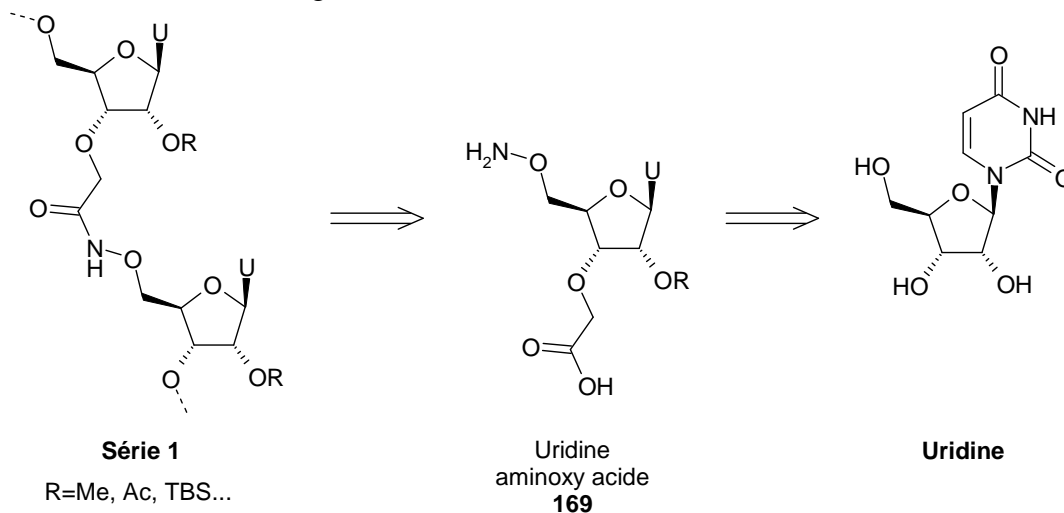


Schéma 102. Rétrosynthèse des oligonucléosides de la série 1.

La synthèse du monomère **169** peut être envisagée de différentes façons. En effet, nous devons penser à introduire la fonction aminoxy en position 5' et nous devons également penser à différencier les groupements hydroxyle secondaire en positions 2' et 3'. Deux voies de synthèse s'offrent à nous. La première voie (voie A) consiste donc à réaliser une réaction de Mitsunobu sur la position 5' puis à introduire la fonction acide carboxylique par une réaction d'alkylation et à séparer les deux isomères obtenus par chromatographie sur colonne²⁴⁵ (Schéma 103).

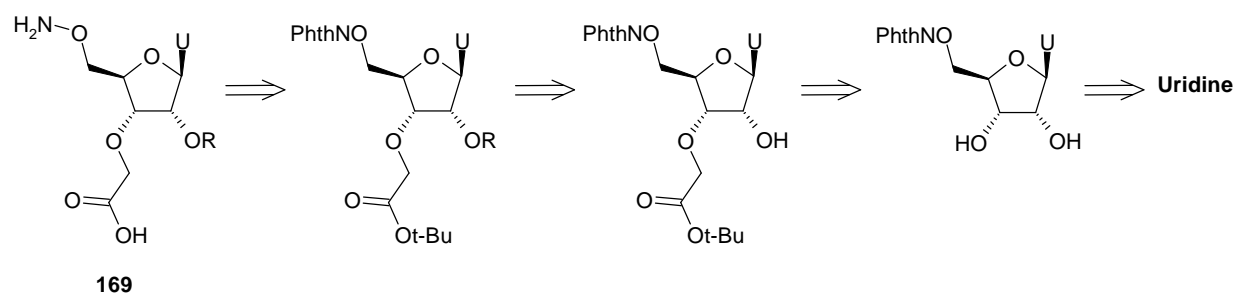
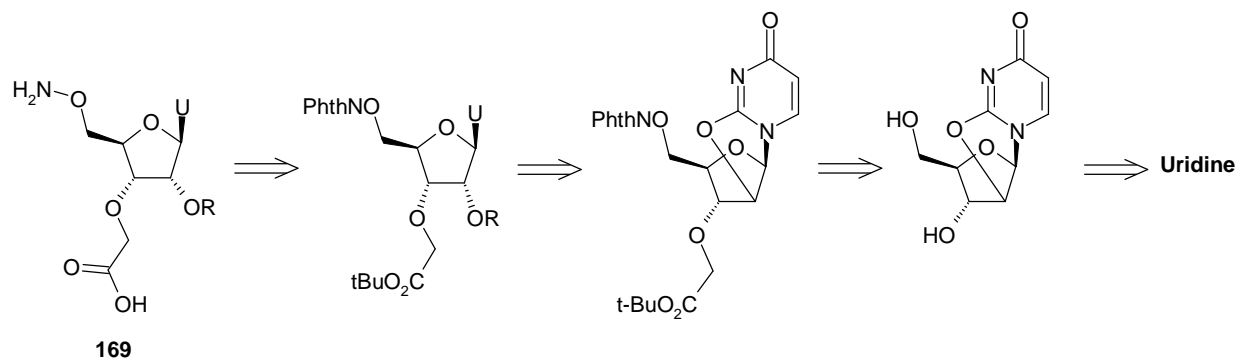


Schéma 103. Rétrosynthèse du monomère **169** via la voie A.

La seconde voie envisageable (voie B) implique le passage par un anhydronucléoside 2,2'. La fonction hydroxyle primaire peut être transformée en fonction aminoxy. L'alcool secondaire non impliqué dans la formation de l'anhydro peut ensuite subir une O-alkylation. Il reste ensuite à ouvrir l'anhydronucléoside par un nucléophile (Schéma 104). Cette approche nous donne ainsi un moyen efficace de différencier les positions 2' et 3'.

²⁴⁵ Lavergne, T.; Bertrand, J.-R.; Vasseur, J.-J.; Debart, F. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 9135-9138.

Schéma 104. Rétrosynthèse du monomère **169** via la voie B.

II.1. Synthèse de l'uridine aminoxy acide via la voie A

II.1.a. Réaction de Mitsunobu

La première étape de la voie de synthèse A est une réaction de Mitsunobu. Elle permet l'introduction de la fonction aminoxy protégée par un groupement phthalimido (Schéma 105).

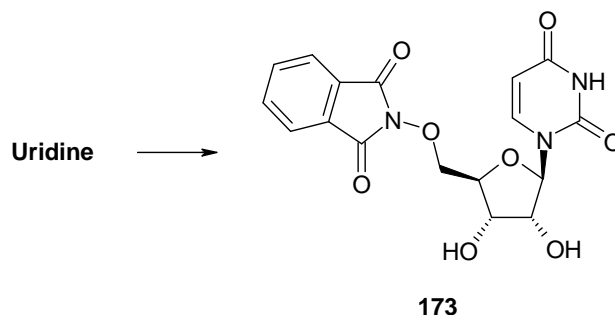
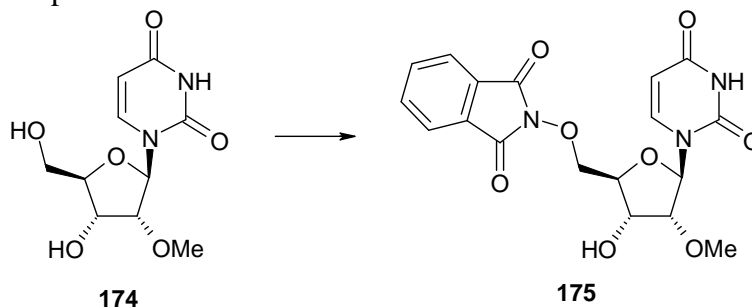


Schéma 105. Réaction de Mitsunobu sur l'uridine.

Dans la littérature, cette réaction n'a pas été décrite sur l'uridine mais sur la 2'-O-méthyluridine. En présence de *N*-hydroxyphthalimide, de triphénylphosphine et de DEAD dans du THF, le composé désiré **175** est obtenu avec un rendement de 69% (Schéma 106).¹³⁹

Schéma 106. Réaction de Mitsunobu sur la 2'-O-méthyluridine **174**.

En 1999, M. J. Miller *et al.*²⁴⁶ ont décrit la réaction de BocNHOCbz avec l'uridine dans des conditions de Mitsunobu (Schéma 107). Dans un mélange DMF / THF 1:10, le produit majoritaire obtenu n'est pas le produit désiré **176** mais l'anhydrouridine **177** ayant subi une réaction intramoléculaire. En réalisant la réaction dans le THF, malgré la faible

²⁴⁶ Li, H.; Miller, M. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9289-9293.

solubilité de l'uridine dans ce solvant, la formation du produit désiré **176** est favorisée par rapport à la formation du sous-produit **177**.

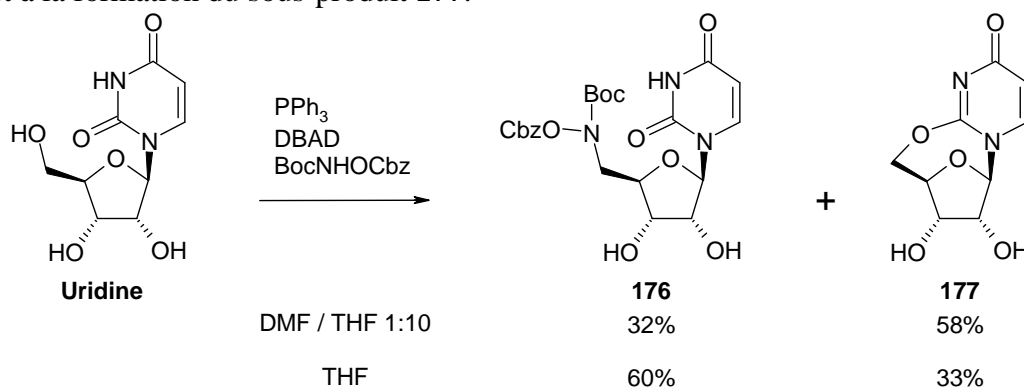


Schéma 107. Influence du solvant.

La formation de l'anhydrouridine avait été décrite auparavant. En effet, en 1972, M. Wada et O. Mitsunobu ont également réalisé une réaction de Mitsunobu sur un dérivé de l'uridine.²⁴⁷ Bien que la réaction soit réalisée dans le THF, le produit majoritaire obtenu fût le dérivé anhydro.

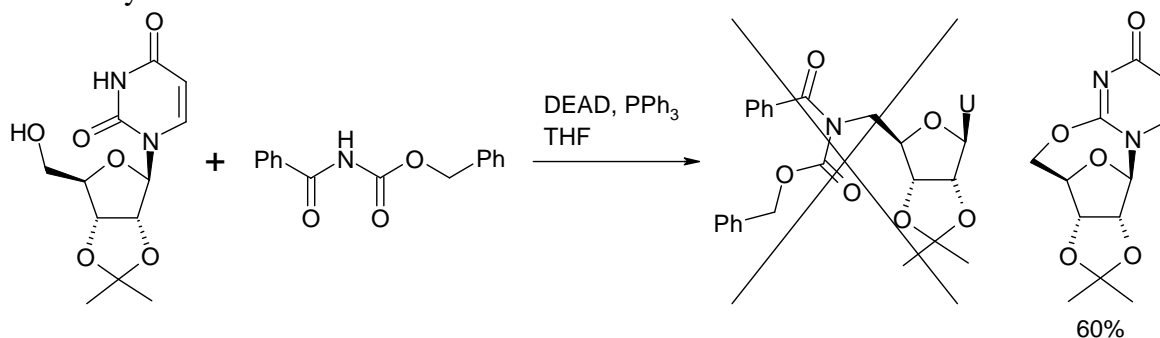


Schéma 108. Réaction de Mitsunobu dans le THF sur la 2',3'-*O,O*-isopropylidèneuridine.

La formation du composé anhydro peut être expliquée par le mécanisme suivant (Schéma 109) :

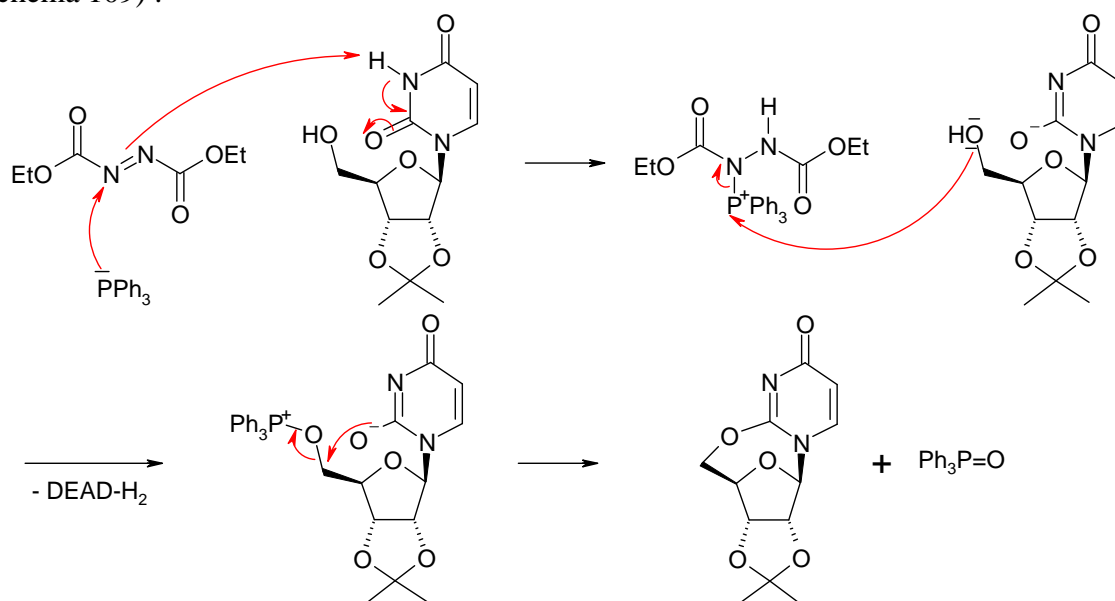


Schéma 109. Mécanisme de la formation de l'anhydrouridine.

²⁴⁷ Wada, M.; Mitsunobu, O. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 1279-1282.

II.1.b. Synthèse de la 5'-*O*-phthalimidouridine

Nous avons donc réalisé la réaction de Mitsunobu sur l'uridine afin d'obtenir le composé **173**. Les résultats sont résumés dans le Tableau 15. En présence de *N*-hydroxyphthalimide, de DIAD et de triphénylphosphine, la réaction a tout d'abord été testée dans le THF (Essai 1). L'uridine est insoluble dans ce solvant et après une nuit, aucun avancement n'est observé. En réalisant la réaction dans un mélange THF / DMF 6:1 (Essai 2), le produit obtenu correspond à l'anhydrouridine **177** (Schéma 110). Il en est de même lorsque la réaction est effectuée dans le DMF (Essai 3).

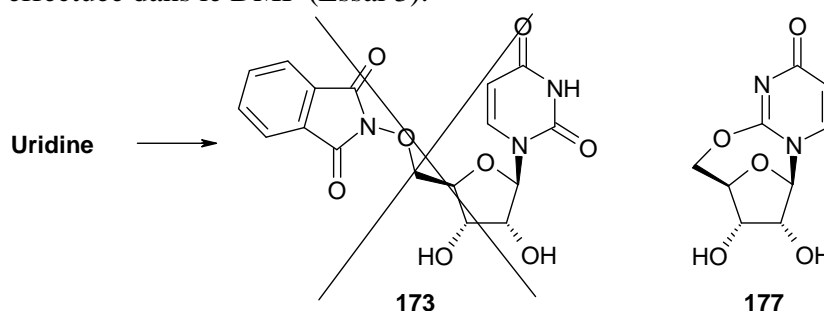


Schéma 110. Réaction de Mitsunobu sur l'uridine.

Essai	Solvants	Résultat
1	THF	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Uridine insoluble ▪ Pas d'avancement de la réaction
2	THF / DMF 6:1	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Formation de l'anhydrouridine ▪ Rdt = 54%
3	DMF	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Formation de l'anhydrouridine

Tableau 15. Essais de réaction de Mitsunobu sur l'uridine.

Nous avons donc voulu augmenter la solubilité de l'uridine dans le THF. Pour cela, nous avons envisagé une nouvelle voie de synthèse (voie A') passant par la protection des groupements hydroxyle secondaire par un isopropylidène.

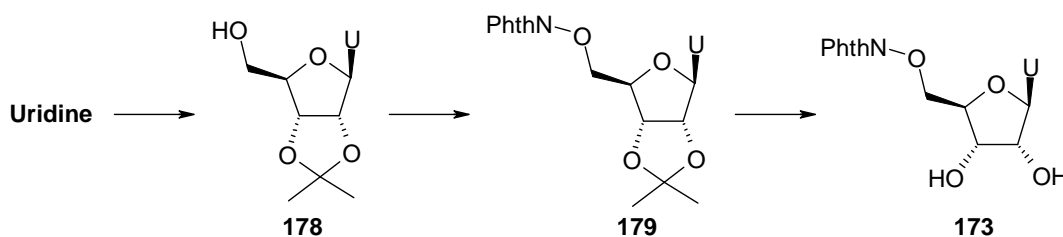


Schéma 111. Nouvelle voie de synthèse envisagée (voie A').

L'étape de protection de l'uridine par un isopropylidène s'effectue en présence de 1 éq de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ dans l'acétone et le composé **178** est obtenu avec un rendement de 74%.²⁴⁸

La seconde étape est l'introduction du groupement phthalimidoxyle en position 5'. En présence de 1,5 éq de *N*-hydroxyphthalimide, 1,5 éq de PPh_3 et 1,5 éq de DEAD dans du DMF, le composé désiré **179** est obtenu avec des rendements allant de 35 à 52%. Les

²⁴⁸ Beck, A. K.; Gysi, P.; La Vecchia, L.; Seebach, D. *Org. Synth.* **2004**, *10*, 349-354.

rendements diminuent lorsque la réaction est réalisée sur de plus grandes quantités. En effet, il est difficile de séparer le composé désiré des sous-produits de la réaction et la quantité de produit pur obtenu s'en trouve donc réduite.

La troisième étape est la déprotection du composé **179**. Les essais réalisés sont résumés dans le Tableau 16. En utilisant du TFA ou de l'acide acétique pour déprotéger le groupement isopropylidène, le composé de départ **179** se dégrade rapidement (Essais 1, 2 et 3). En utilisant des conditions plus douces (Résine H⁺, APTS), soit aucune réaction ne se produit (Essai 4), soit plusieurs produits se forment et aucun n'a pu être identifié comme étant le produit désiré **173** (Essai 5).

D'autres conditions moins classiques ont ensuite été testées. Une méthode mise au point en 1986 utilise une solution d'iode dans le méthanol pour la déprotection d'acétals présents sur des sucres.²⁴⁹ En utilisant ces conditions (Essai 6), nous avons observé une dégradation du produit de départ. Il en est de même avec les conditions décrites par V. K. Singh *et al.*²⁵⁰ qui utilisent du chlorure de cuivre (II) dans l'acétonitrile (Essai 7). Du chlorure d'étain peut également être utilisé pour la déprotection d'aldéhydes.²⁵¹ Ces conditions ne nous ont pas permis d'observer la formation d'un nouveau produit (Essai 8). Enfin, l'utilisation de chlorure de fer (III) adsorbé sur de la silice dans du dichlorométhane²⁵² ne nous a pas non plus permis d'obtenir le produit déprotégé **173** (Essai 9).

Essai	Conditions	Résultat
1	TFA / H ₂ O 8:2 10 min à TA	Dégradation
2	10% TFA dans CH ₂ Cl ₂	Dégradation
3	AcOH 80%	Dégradation
4	Résine H ⁺ , MeOH	Pas d'avancement
5	APTS, AcOEt, MeOH	Plusieurs produits formés non identifiés
6	I ₂ , MeOH	Dégradation
7	CuCl ₂ .H ₂ O, MeCN	Dégradation
8	SnCl ₂ .2H ₂ O, CH ₂ Cl ₂	Pas d'avancement
9	FeCl ₃ , SiO ₂ , CH ₂ Cl ₂	Pas d'avancement

Tableau 16. Essais réalisés pour la déprotection du composé **179**.

²⁴⁹ Szarek, W. A.; Zamojski, A.; Tiwari, K. N.; Ison, E. R. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 3827-3830.

²⁵⁰ Saravanan, P.; Chandrasekhar, M.; Vijaya Anand, R.; Singh, V. K. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 3091-3092.

²⁵¹ Ford, K. L.; Roskamp, E. J. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 1135-1138.

²⁵² Kim, K.-S.; Song, Y. H.; Lee, B. H.; Hahn, C. S. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 404-407.

II.1.c. Mise en place de la voie A'' par l'approche de l'uridine di-silylée

En raison des difficultés rencontrées, tout d'abord pour introduire le groupement phthalimidoxyle et ensuite pour réaliser la déprotection de l'isopropylidène, nous envisageons une nouvelle voie de synthèse (voie A'' - Schéma 112) qui s'appuie sur la préparation de l'uridine di-silylée en position 2'/5'. L'alcool restant peut ensuite être utilisé dans des réactions de O-alkylation et par déprotection sélective, la position 5' peut être fonctionnalisée pour fournir le monomère désiré **169**.

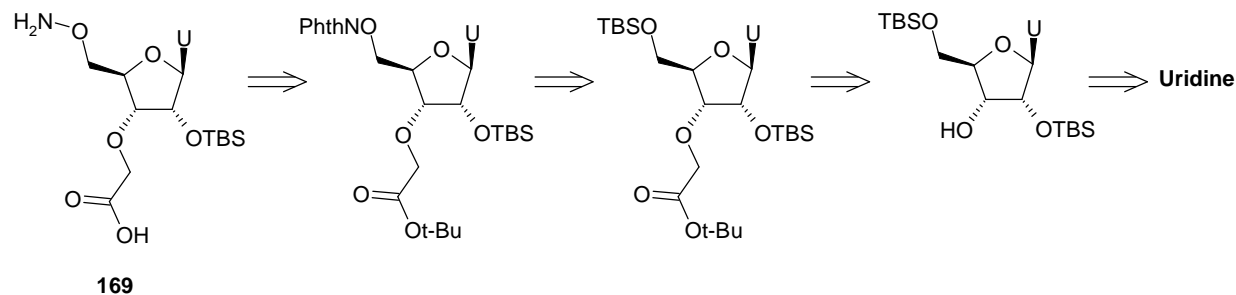


Schéma 112. Rétrosynthèse du monomère **169** via la voie A''.

Afin de réaliser la protection sélective des groupements hydroxyle en position 2' et 5' de l'uridine, le groupement *tert*-butyldiméthylsilyl semble être le groupement le plus approprié. En effet, il est bien plus résistant que le triméthylsilyl et moins onéreux et encombrant que le *tert*-butyldiphénylsilyl ou le triisopropylsilyl.

Après optimisation, l'équipe de K. O. Ogilvie a réalisé la synthèse de la 2',5'-bis-*O*-(*tert*-butyldiméthylsilyl)uridine à partir de l'uridine en présence de 2,2 éq d'AgNO₃ et de TBSCl, 5 éq de pyridine dans le THF en 1h à TA avec un rendement de 90% (Schéma 113).^{167,253}

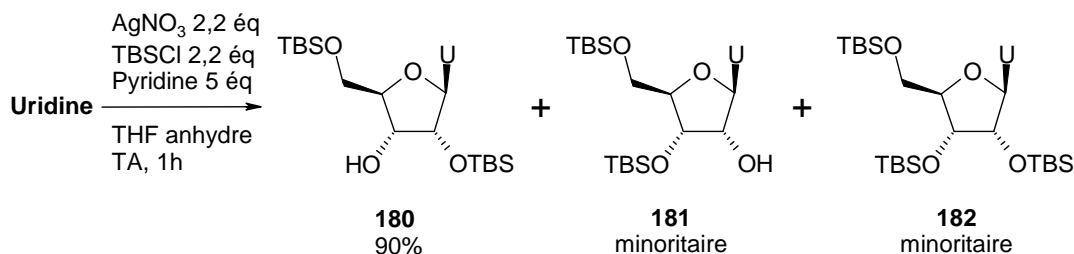


Schéma 113. Synthèse du composé **180** décrite par K. O. Ogilvie *et al.*

En appliquant la procédure, nous avons obtenu le produit mono-silylé en position 5' avec un rendement de 44% puis de 62% en augmentant le temps de réaction (Essais 1 et 2 - Tableau 17). Dans ce protocole, l'ordre d'introduction des réactifs est le suivant : à une solution d'uridine dans du THF, sont ajoutés de la pyridine (5 éq), du nitrate d'argent (2,2 éq) et après dissolution complète des réactifs, du TBSCl (2,2 éq). Contrairement à ce qui est décrit, le nitrate d'argent ne se dissout pas dans le milieu réactionnel et cela semble poser problème.

Nous nous sommes alors tournés vers la procédure décrite par M. Chemama dans son manuscrit de thèse.²⁵⁴ La synthèse de la 2',5'-bis-*O*-(*tert*-butyldiméthylsilyl)adénosine est décrite avec un ordre d'introduction des réactifs différents. A une solution de nitrate d'argent (2 éq) dans de la pyridine, une solution d'adénosine dans du THF anhydre est ajoutée. Le

²⁵³ Ogilvie, K. K.; Beaucage, S. L.; Schifman, A. L.; Theriault, N. Y.; Sadana, K. L. *Can. J. Chem.* **1978**, *56*, 2768-2780.

²⁵⁴ Chemama, M., Synthèse d'analogues d'aminoacyl-ARNt pour l'étude et l'inhibition d'une transférase de type Fem, Paris: Université Pierre et Marie Curie, 2009, 320 pages.

mélange est agité jusqu'à dissolution complète du nitrate d'argent puis du TBSCl (2 éq) est ajouté. Après 24h à température ambiante, le produit di-silylé en positions 2',5' est obtenu avec un rendement de 53%. En adaptant ce protocole à l'uridine, nous obtenons un mélange de produits tri-substitué et di-substitués en positions 2',5' et en positions 3' et 5' (Essai 3). Ces produits sont séparables par chromatographie sur colonne mais par soucis d'efficacité, nous avons voulu optimiser la sélectivité de cette réaction.

En utilisant 3 éq d'AgNO₃ et de TBSCl, en 1h15 (Essai 4), nous pouvons obtenir le composé **180** avec un rendement de 63%, le reste étant converti en produit **181** di-substitué en positions 3' et 5' (13%) et en produit **182** tri-substitué (7%). En augmentant légèrement la quantité de pyridine dans le THF, en réduisant le temps de réaction à 1h et en contrôlant bien la purification, nous avons pu obtenir le produit désiré **180** avec un rendement de 86% et seulement 6% de produit tri-silylé **182** (Essai 6). Le contrôle du temps de réaction est important ; en effet, un temps de réaction plus long entraîne la formation du composé tri-substitué **182**.

Essai	Conditions	Résultats
1	Uridine dans THF Pyridine 5 éq, AgNO ₃ 2,2 éq Puis TBSCl 2,2 éq	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 1h30 à TA ▪ Produit monosubstitué en 5' ▪ Rdt = 44%
2	Uridine dans THF Pyridine 5 éq, AgNO ₃ 2,2 éq Puis TBSCl 2,2 éq	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 1 nuit à TA ▪ Produit monosubstitué en 5' ▪ Rdt = 62%
3	AgNO ₃ 2 éq dans pyridine Puis Uridine dans THF Puis TBSCl 2 éq	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 1 nuit à TA ▪ Pyridine / THF 1:6 ▪ Mélange des 3 produits 180, 181 et 182
4	AgNO ₃ 3 éq dans pyridine Puis Uridine dans THF Puis TBSCl 3 éq	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 1h15 à TA ▪ Pyridine / THF 1:6 ▪ Rdt = 63% ▪ 7% de 182 et 13% de 181
5	AgNO ₃ 3 éq dans pyridine Puis Uridine dans THF Puis TBSCl 3 éq	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 1h05 à TA ▪ Pyridine / THF 3:14 ▪ Rdt = 81% (et 8% de 182)
6	AgNO ₃ 3 éq dans pyridine Puis Uridine dans THF Puis TBSCl 3 éq	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 1h à TA ▪ Pyridine / THF 3:14 ▪ Rdt = 86% (et 6% de 182)

Tableau 17. Optimisation de la synthèse du composé **180**.

Des essais d'O-alkylation sont alors effectués sur le composé **180** (Schéma 114). En présence de 2,5 éq de NaH et d' α -bromoacétate de *tert*-butyle dans du THF, après 20h d'agitation, un mélange de produits est obtenu. Ce mélange contient du produit de départ mais aussi des produits provenant de la réaction de N-alkylation non désirée. Comme dans le

chapitre précédent, des essais de protection du NH de l'uracile par un groupe benzoyle ont été effectués et se sont révélés non concluants.

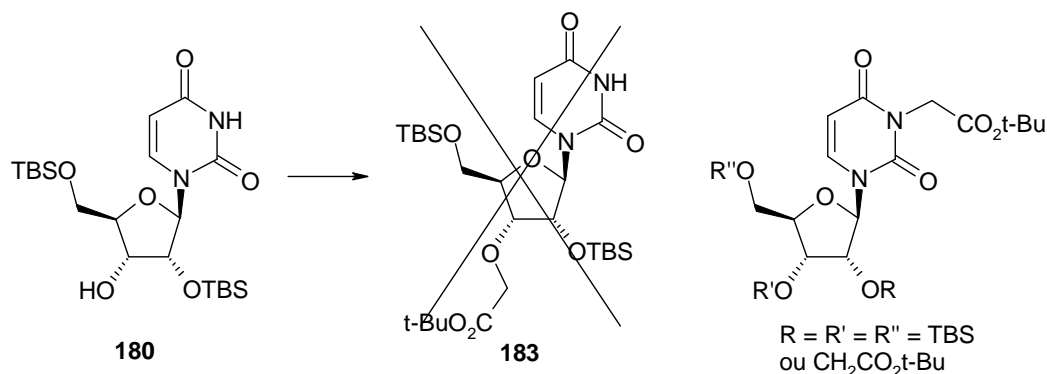


Schéma 114. Essai d'O-alkylation sur le composé 180.

Après analyse détaillée du brut réactionnel obtenu lors des essais d'O-alkylation, nous nous sommes aperçus de la formation de tout un mélange de produits ayant des polarités très proches. Or nous devrions observer seulement trois nouveaux produits (un composé N-alkylé, un O-alkylé et un di-alkylé en positions N et O). En fait, il existe aussi des problèmes de transsilylation. S. S. Jones et C. B. Reese²⁵⁵ ont rapporté que des dérivés isomères 2' et 3'-O-TBS-ribonucléoside subissent une interconversion par une réaction équilibrée. Cette réaction se produit particulièrement dans du méthanol et est catalysée en présence de base. Le mécanisme de migration du groupement TBS est indiqué ci-dessous (Schéma 115) :

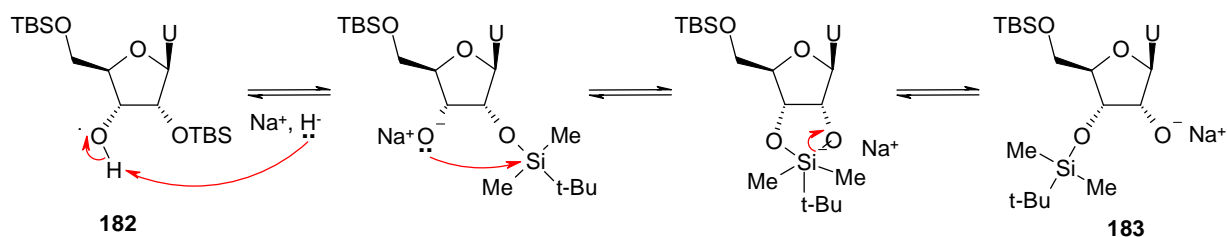


Schéma 115. Mécanisme de la migration du groupement TBS de la position 2' à la position 3'.

La migration peut aussi avoir lieu avec la position 5'. Cette transsilylation explique donc la formation de plusieurs produits. Pour l'éviter, nous pouvons ajouter un sel de lithium. Des essais utilisant un équivalent de bromure de lithium ou de chlorure de lithium dans du THF ont conduit à une réaction plus propre, mais présentant toujours quatre produits. L'isolation de ces produits a montré qu'ils étaient tous N-alkylés, le produit majoritaire étant uniquement N-alkylé (Tableau 18).

²⁵⁵ Jones, S. S.; Reese, C. B. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1979**, 2762-2764.

Essai	NaH	BrCH ₂ CO ₂ t-Bu	LiX	Résultats
1	2,5 éq	2,5 éq	/	Nombreux produits dus aux réactions de N/O-alkylations et de transsilylation
2	1,5 éq	1,5 éq	LiBr 1 éq	3 produits N, O et/ou di-alkylés Produit majoritaire N-alkylé
3	1,5 éq	1,5 éq	LiCl 1 éq	3 produits N, O et/ou di-alkylés Produit majoritaire N-alkylé
4	2,5 éq	1,1 éq	LiCl 2 éq	Plusieurs produits tous N-alkylés

Tableau 18. Récapitulatif des différents essais d'O-alkylation sur le composé **180**.

Au vu de ces problèmes de régiosélectivité, nous avons préféré développer la voie de synthèse B qui passe par la formation d'un anhydronucléoside.

II.2. Synthèse de l'uridine aminosy acide via la voie B

La voie de synthèse B (Schéma 116) présente plusieurs avantages. En effet, les principales difficultés rencontrées précédemment concernent des problèmes de régiosélectivité. La formation de la 2,2'-anhydrouridine **184** permet de bloquer les positions 2'-O et 3-N.

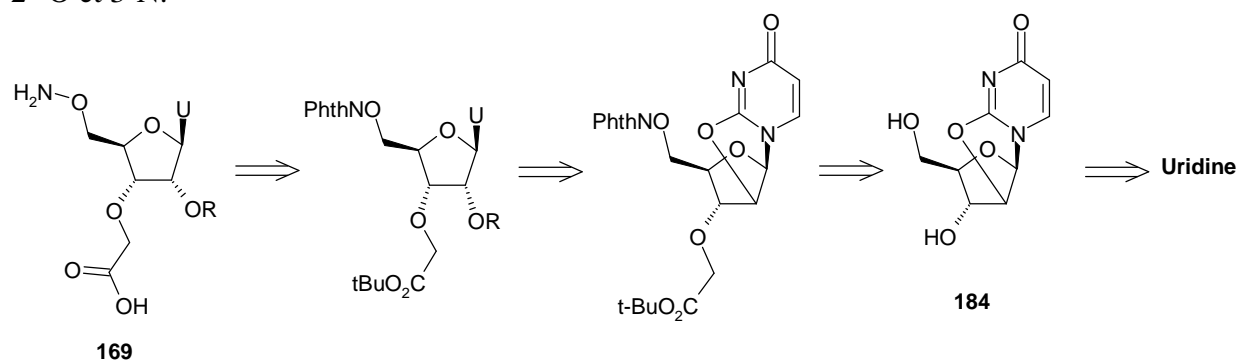


Schéma 116. Rétrosynthèse de l'uridine aminosy acide **169** via la voie de synthèse B.

II.2.a. Synthèse de la 2,2'-anhydro-5'-O-phthalimidouridine

La synthèse de la 2,2'-anhydrouridine **184** a été décrite pour la première fois en 1966,²⁵⁶ puis une synthèse améliorée donnant le composé **184** avec un rendement de 84% a été rapportée en 1996 par l'équipe de G. McGee.²⁵⁷ En reprenant ces dernières conditions (carbonate de diphenyle 1,1 éq, uridine 80°C puis NaHCO₃ 0,03 éq, 120°C, 5h), le produit désiré est obtenu par précipitation avec un rendement de 82%.

²⁵⁶ Hampton, A.; Nichol, A. W. *Biochemistry* **1966**, *5*, 2076-2082.

²⁵⁷ McGee, D. P. C.; Vaughn-Settle, A.; Vargeese, C.; Zhai, Y. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 781-785.

La seconde étape est l'introduction du groupement phthalimidoxyle à l'aide de la réaction de Mitsunobu (Schéma 117).

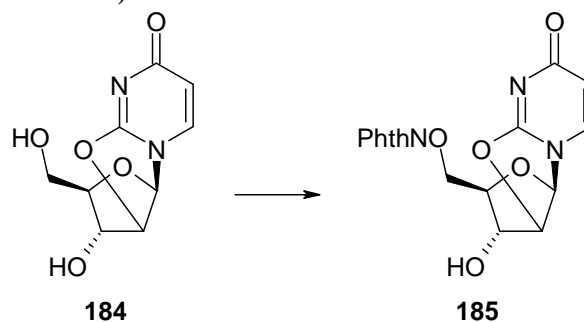


Schéma 117. Réaction de Mitsunobu sur le composé **184**.

La réaction a tout d'abord été réalisée dans les conditions classiques (*N*-hydroxyphthalimide, PPh₃, DIAD) dans le DMF (Essai 1 - Tableau 19). Cependant, le composé **184** est insoluble dans ce solvant et aucun avancement de la réaction n'est observé. Afin de solubiliser le produit de départ, du THF et du toluène sont ajoutés, sans succès. L'ajout de DMSO permet de solubiliser le mélange. Après 2 semaines à TA, la réaction reste incomplète mais un nouveau produit s'est formé. L'ajout de réactifs (PPh₃, DIAD) ne permet pas une meilleure conversion. Après traitement du milieu et purification par chromatographie sur colonne, le produit désiré **185** est obtenu avec un rendement de 35% (Essai 2). En utilisant le DMSO pur comme solvant (Essai 3), aucune réaction ne se produit. Malheureusement, nous n'avons jamais pu reproduire cette réaction.

Essai	Solvants	Résultats
1	DMF	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Anhydrouridine 184 insoluble ▪ Pas de réaction
2	Mélange DMF, THF, toluène et DMSO	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Formation du composé 185 ▪ Rdt = 35%
3	DMSO	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Anhydrouridine 184 soluble ▪ Pas de réaction

Tableau 19. Essais de réaction de Mitsunobu sur le composé **184**.

II.2.b. Synthèse de la 2,2'-anhydro-5'-*O*-diméthoxytrityluridine

Nous avons alors envisagé d'introduire le groupement DMT en position 5'. Ceci permet, d'une part, d'introduire le groupement phthalimidoxyle plus tard dans la synthèse, et d'autre part, d'accéder à la formation de dimères d'uridine liés par liaison *N*-oxy amide (Schéma 118).

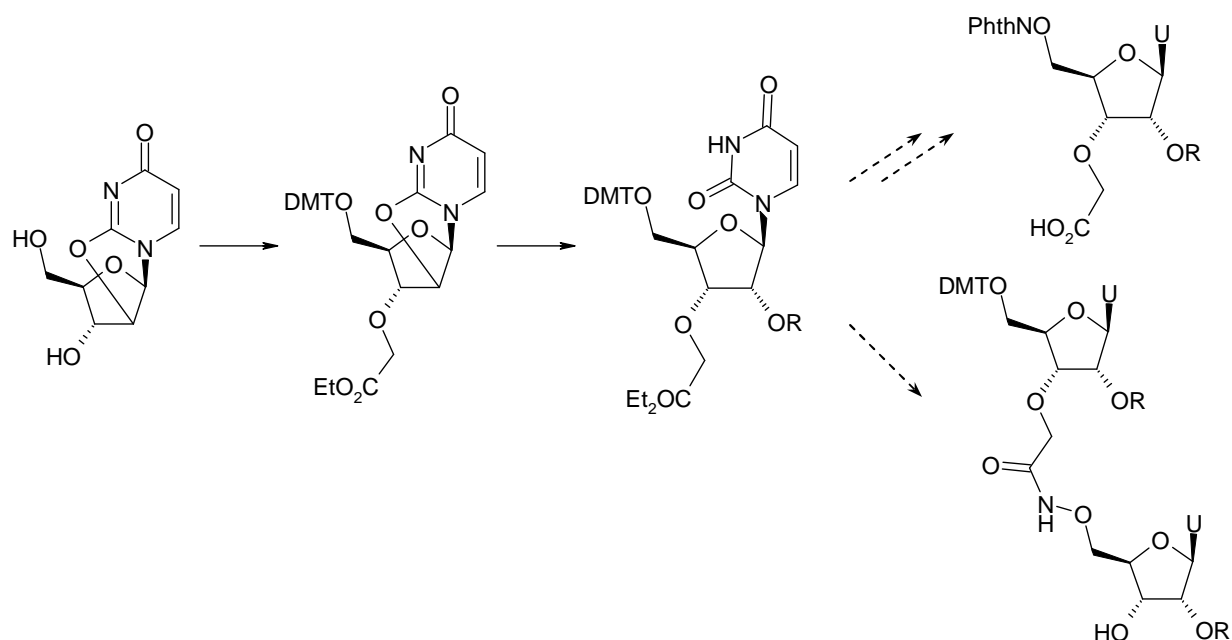
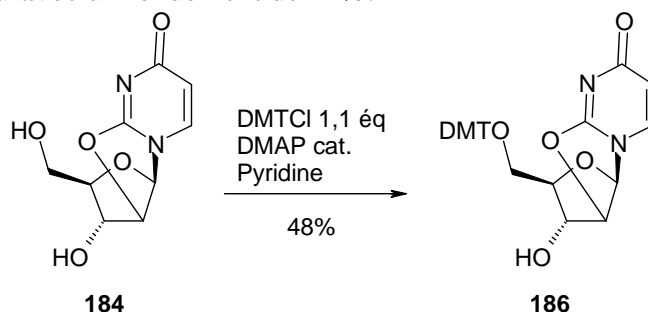


Schéma 118. Voie de synthèse B' envisagée.

L'introduction du groupement DMT se fait en présence de DMAP en quantité catalytique et de DMTCI (1,1 éq) dans la pyridine (Schéma 119), le rendement est plutôt faible (48% contre 56% dans la littérature pour D. P. C. McGee *et al.*²⁵⁷ et 70% pour A. Patra *et al.*²⁵⁸ avec le même protocole), ceci s'expliquant par la formation du produit di-substitué. Afin d'essayer d'améliorer ce résultat, un autre essai a été réalisé en utilisant les conditions appliquées à la thymidine (Chapitre 3, Paragraphe III.1, p. 83), c'est-à-dire 2 éq de triéthylamine et 1,1 éq de DMTCI dans la pyridine à reflux pendant 1h30, mais le composé **186** n'a été obtenu qu'avec un rendement de 42%.

Schéma 119. Introduction du groupement DMT sur le composé **184**.

II.2.c. Synthèse de la 2,2'-anhydro-5'-O-diméthoxytrityl-3'-O-éthoxycarbonylméthyluridine

Afin d'obtenir le composé désiré **187**, une réaction d'O-alkylation est nécessaire (Schéma 120).

²⁵⁸ Patra, A.; Richert, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 12671-12681.

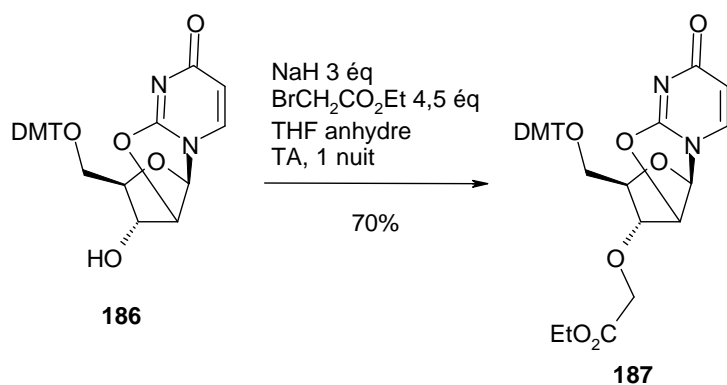


Schéma 120. Réaction d'O-alkylation.

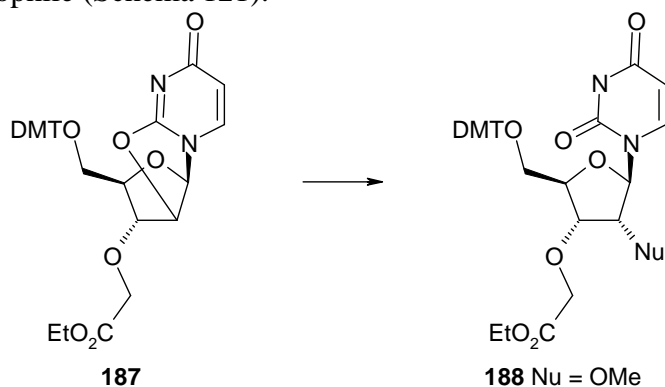
Cette réaction d'O-alkylation n'a, à notre connaissance, jamais été décrite dans la littérature sur un composé de type 2,2'-anhydrouridine. Afin de synthétiser le composé **187**, nous avons utilisé les conditions classiques NaH, α -bromoacétate d'éthyle ou de *tert*-butyle dans le THF. En augmentant les quantités de réactifs, nous sommes parvenus à améliorer le rendement de 53 à 70% (Tableau 20).

Essai	Conditions	Rendement
1	NaH 3,2 éq BrCH ₂ CO ₂ t-Bu 1,4 éq	53%
2	NaH 3 éq BrCH ₂ CO ₂ Et 4,5 éq	70%
3	NaH 4,5 éq BrCH ₂ CO ₂ Et 6 éq	68%

Tableau 20. Optimisation des conditions de la réaction d'O-alkylation sur le composé **186**.

II.2.d. Synthèse de la 5'-O-diméthoxytrityl-3'-O-éthoxycarbonylméthyl-2'-O-méthyluridine

L'étape suivante est l'ouverture de l'anhydronucléoside **187**. Cette étape s'effectue en présence d'un nucléophile (Schéma 121).

Schéma 121. Etape d'ouverture de l'anhydronucléoside **187**.

Dans la littérature, l'ouverture des 2,2'-anhydronucléosides a largement été étudiée. L'ouverture peut mener à des nucléosides de configurations différentes. Comme nous allons le voir dans les exemples suivants, l'ouverture avec des groupements azido, halogène ou thiol mène à une configuration ribofuranose alors que l'ouverture en présence de soude ou d'ammoniaque conduit à une configuration arabinofuranose.

Dans le but d'introduire une fonction amino en position 2', une voie de synthèse utilisée est le passage par l'anhydronucléoside puis l'ouverture par un azoture et enfin la réduction de l'azide en amine (Schéma 122). Cette procédure a notamment été utilisée par B. Greiner et W. Pfeleiderer²⁵⁹ en 1998 et par A. Patra et C. Richert²⁵⁸ en 2009. Les premiers ont réalisé l'ouverture en présence de l'azoture de lithium (5 éq) dans le DMF à 120°C pendant 16h et ils ont obtenu le produit désiré avec un rendement de 66%. Les seconds ont utilisé de l'azoture de sodium en présence d'éther couronne 15-crown-5 dans le DMF à 120°C et le rendement a été amélioré à 89%.

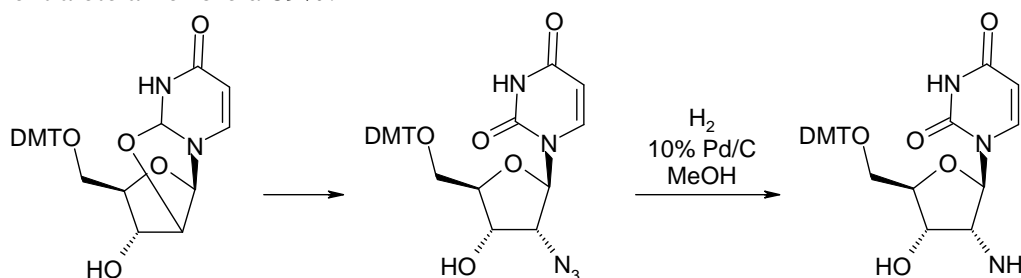


Schéma 122. Ouverture de l'anhydronucléoside par un azoture afin de fonctionnaliser le nucléoside en position 2' par un groupement amine.

Les nucléosides fluorés ont des propriétés biologiques intéressantes (Chapitre II, Paragraphe III.4, p. 55). C'est pourquoi l'introduction du groupement fluorure par l'ouverture d'un 2,2'-anhydronucléoside a été étudiée.²⁶⁰ C'est une approche simple, courte et directe comparée à la fluorination par le passage par un arabinonucléoside. L'ouverture peut se faire en présence de HF-pyridine dans le dioxane à 120°C pendant 18h ou en présence de KF, dibenzo-[18]-crown-6 dans le DMF à 120°C pendant 4h (Schéma 123).

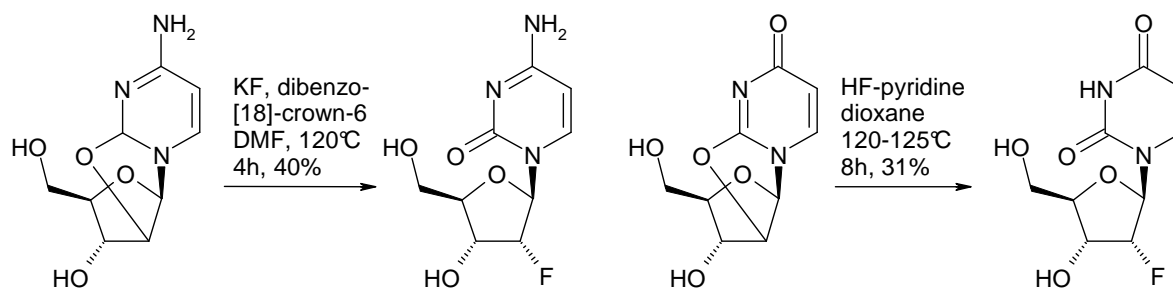


Schéma 123. Ouverture de l'anhydronucléoside par un fluorure.

Lorsque cette approche ne donne pas des résultats satisfaisants, l'anhydronucléoside est ouvert en présence de soude 1N pour donner le nucléoside de configuration arabinofuranose puis le fluor est introduit en présence de DAST (Schéma 124).

²⁵⁹ Greiner, B.; Pfeleiderer, W. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 1528-1544.

²⁶⁰ Shi, J.; Du, J.; Ma, T.; Pankiewicz, K. W.; Patterson, S. E.; Tharnish, P. M.; McBrayer, T. R.; Stuyver, L. J.; Otto, M. J.; Chu, C. K.; Schinazi, R. F.; Watanabe, K. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1641-1652.

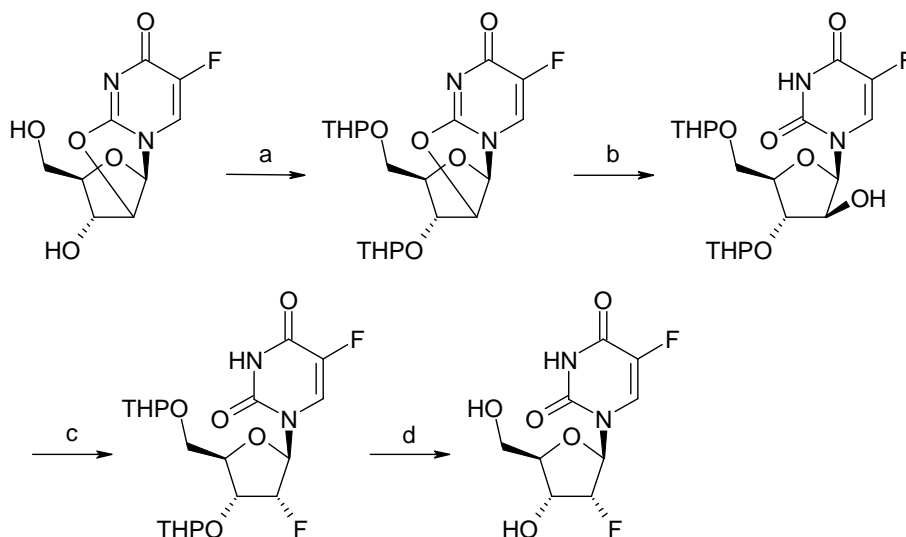


Schéma 124. Introduction du groupement fluorure en passant par un arabinonucléoside. Réactifs et conditions : a) DMF, 3,4-dihydro-2*H*-pyrane, *p*-TsOH, 0°C, 4h, 76% ; b) NaOH 1N, MeOH, H₂O, TA, 2h, 100% ; c) DAST, CH₂Cl₂, pyridine, -70°C à reflux, 4h, 96% ; d) *p*-TsOH, MeOH, TA, 3h, 95%.

Un autre exemple est l'ouverture par un thiol. La 2,2'-anhydrouridine est chauffée avec du 2-(triméthylsilyl)éthanethiol à 120°C dans le DMF en présence de carbonate de potassium pendant 3h et le produit 2'-sulfide est obtenu avec un rendement de 88% (Schéma 125).²⁶¹

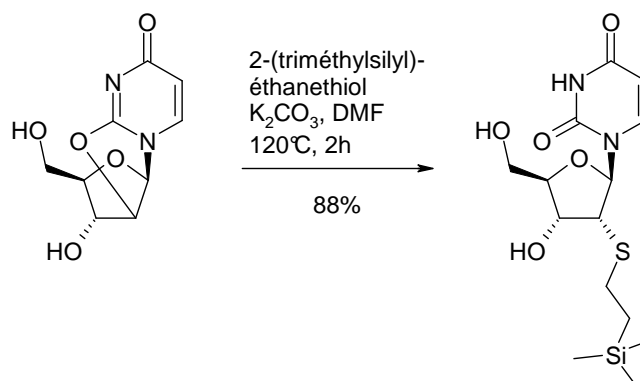


Schéma 125. Ouverture par un thiol.

Enfin, un groupement alkyle peut être introduit en utilisant un acide de Lewis (Schéma 126). L'utilisation de triméthyl borate dans le méthanol dans des conditions de haute température et de haute pression (150°C, 200 psi) permet l'introduction d'un groupement méthyle.²⁶² En présence de BH₃.THF et d'éthylène glycol à 150°C sous pression, un hydroxy alkyle a été introduit.²⁶³ Ceci peut nous permettre d'introduire la fonction acide carboxylique sur un nucléoside afin d'envisager une nouvelle série d'oligonucléosides portant la fonction acide carboxylique en position 2'.

²⁶¹ Chambert, S.; Gautier-Luneau, I.; Fontecave, M.; Décout, J.-L. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 249-253.

²⁶² Ross, B. S.; Springer, R. H.; Tortorici, Z.; Dimock, S. *Nucleosides Nucleotides* **1997**, *16*, 1641-1643.

²⁶³ Prakash, T. P.; Kawasaki, A. M.; Fraser, A. S.; Vasquez, G.; Manoharan, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 357-369.

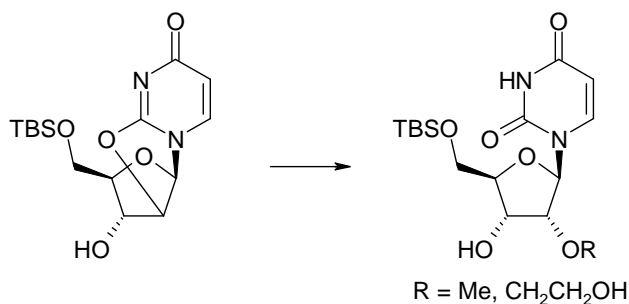
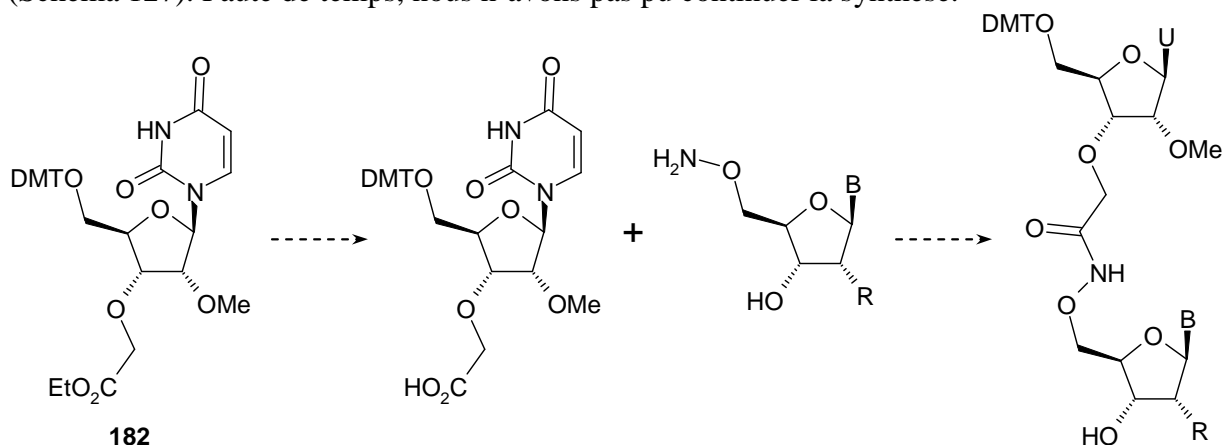


Schéma 126. Ouverture par un alcool.

Afin d'introduire un groupement méthyle en position 2', nous avons choisi une autre procédure qui est réalisée en présence de diméthoxymagnésium Mg(OCH₃)₂.²⁶⁴ Mg(OCH₃)₂ est une base faible, ce qui élimine la possibilité de former l'époxyde avec l'hydroxyle en position 3' et par conséquent, la formation de la structure arabinofuranosyle.²⁶⁵ La seule réaction possible est l'attaque en C-2' et la formation de la structure de type ribofuranoside. Il est également important de noter que le Mg(OCH₃)₂ doit être préparé fraîchement en présence de copeaux de magnésium dans du méthanol.

Nous avons donc mis le composé **187** en présence de Mg(OCH₃)₂ fraîchement préparé et nous avons pu obtenir le produit désiré **188** avec un rendement de 60%.

Après saponification, ce nucléoside pourra être couplé avec un nucléoside portant une fonction aminoxyle en position 5' afin d'obtenir un dinucléoside lié par liaison *N*-oxy amide (Schéma 127). Faute de temps, nous n'avons pas pu continuer la synthèse.

Schéma 127. Synthèse envisagée pour la synthèse d'un nouveau dinucléoside lié par liaison *N*-oxy amide.

²⁶⁴ Roy, S. K.; Tang, J.-Y. *Org. Process Res. Dev.* **2000**, *4*, 170-171.

²⁶⁵ Grant Buchanan, J.; Clark, D. R. *Carbohydr. Res.* **1979**, *68*, 331-341.

III. Synthèse des oligonucléosides de la série 2

Parallèlement, nous avons entrepris la synthèse des oligonucléosides de la série 2. Cette série d'oligonucléosides comporte une chaîne internucléosidique plus courte que la série précédente. La synthèse du monomère **170** portant une fonction acide carboxylique en position 5' et une fonction aminoxyle en position 3' doit être réalisée (Schéma 128).

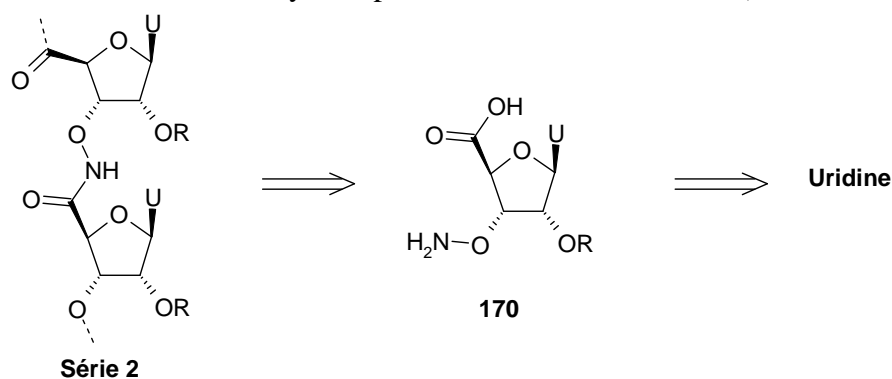


Schéma 128. Rétrosynthèse des oligonucléosides de la série 2.

La synthèse du monomère **170** peut être envisagée à partir de l'intermédiaire clef **189** par déprotection du groupement benzoyle et réaction d'oxydation. L'intermédiaire clef **189** pourrait être obtenu par ouverture de l'anhydronucléoside **190** à l'aide du nucléophile BocNHOH. Le composé **190** peut être obtenu à partir de l'uridine.

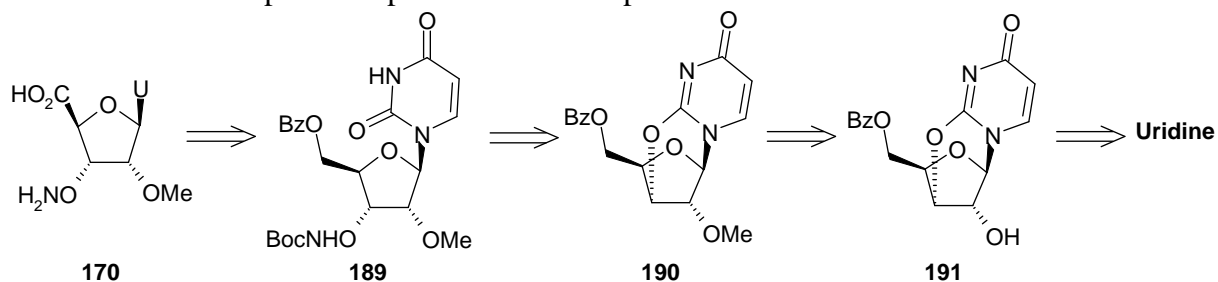


Schéma 129. Rétrosynthèse du monomère **170**.

III.1. Synthèse de la 2,3'-anhydro-5'-O-benzoyl-2'-O-méthyluridine

La synthèse de la 2,3'-anhydro-5'-O-benzoyl-2'-O-méthyluridine **190** s'effectue en deux étapes à partir de l'uridine (Schéma 130). La première étape consiste en une réaction de Mitsunobu qui permet, à la fois d'introduire le groupement benzoyle en position 5' et de former l'anhydronucléoside. La seconde étape est la protection de l'hydroxyle en position 2' par un groupement méthyle.

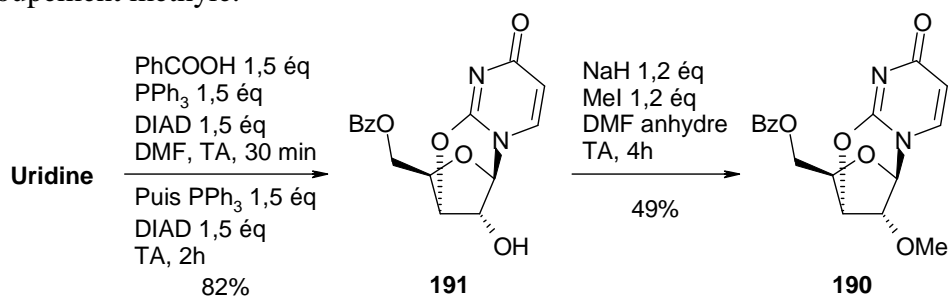


Schéma 130. Synthèse de la 2,3'-anhydro-5'-O-benzoyl-2'-O-méthyluridine **190**.

Dans la littérature, la synthèse de la 2,3'-anhydro-5'-*O*-benzoyl-2'-désoxyuridine est décrite. Il s'agit d'une réaction one-pot en deux étapes dans laquelle une réaction de Mitsunobu intramoléculaire permet la cyclisation. La réaction s'effectue en deux temps, tout d'abord, du DEAD, de la triphénylphosphine et de l'acide benzoïque permettent l'introduction de l'ester benzoate en position 5' et, ensuite, l'ajout de quantités supplémentaires de DEAD et de triphénylphosphine permet la cyclisation intramoléculaire.²⁶⁶

Nous avons donc réalisé la réaction sur l'uridine et ces conditions nous ont permis d'obtenir le produit désiré **191**. Le premier essai, réalisé sur 100 mg, donne le produit **191** avec un rendement de 57%. En augmentant les quantités (réaction réalisée sur 500 mg), nous avons pu obtenir un rendement de 82%.

La seconde étape est une étape de *O*-alkylation. Elle s'effectue en présence de NaH (1,2 éq) et de iodure de méthyle (1,2 éq) dans le DMF pour donner le produit **190** avec un rendement de 49%.

III.2. Ouverture de l'anhydronucléoside

L'étape clef de la synthèse est l'ouverture de l'anhydronucléoside par un nucléophile. Nous voulons introduire en position 3' un groupement contenant la fonction aminoxyle O-NH₂. Tout d'abord, nous allons voir quelles sont les principales méthodes utilisées dans la littérature pour ouvrir cet anhydronucléoside.

III.2.a. Introduction bibliographique

Les conditions d'ouverture utilisées dans le cas des 2,3'-anhydronucléosides sont similaires à celles utilisées dans le cas des 2,2'-anhydronucléosides. L'ouverture par des groupements azido et thiol a été décrite dans la littérature.

La méthode de synthèse passant par un anhydronucléoside a notamment permis l'élaboration d'une nouvelle voie de synthèse de l'AZT. Cette méthode est rapide, efficace et donne de bons rendements (Schéma 131).²⁶⁷ L'ouverture s'effectue en présence de LiN₃ (1,5 éq) dans le DMF en chauffant 5h à 125°C pour donner le composé désiré **192** avec un rendement de 90%.

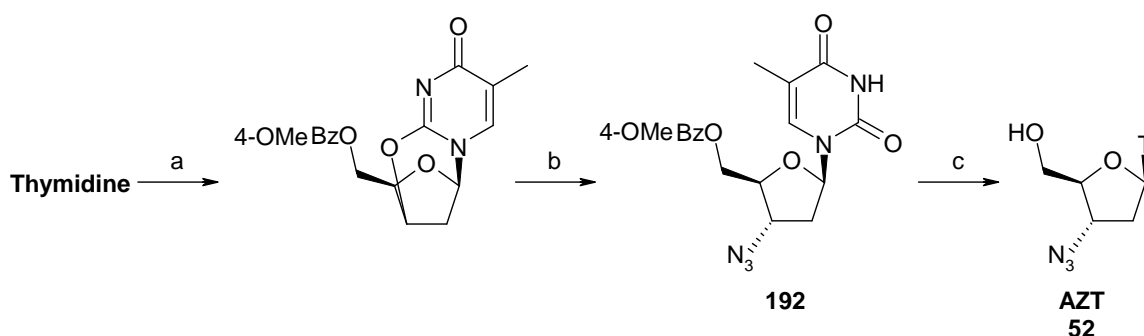


Schéma 131. Synthèse de l'AZT par S. Czernecki et J.-M. Valéry. Réactifs et conditions : a) DIAD 1,5 éq, PPh₃ 1,5 éq, 4-MeOC₆H₄CO₂H 1,5 éq, DMF, TA, 15 min puis DIAD 1,5 éq, PPh₃ 1,5 éq, DMF, TA, 30 min, 86% ; b) LiN₃ 1,5 éq, DMF, 125°C, 5h, 90% ; c) NaOMe, MeOH, TA, 12h, 94%.

²⁶⁶ Czernecki, S.; Valéry, J. M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1990**, 801-802.

²⁶⁷ Czernecki, S.; Valéry, J. M. *Synthesis* **1991**, 239-240.

D'autres exemples décrivent la synthèse de la 3'-azido-3'-désoxy-5'-*O*-diméthoxytritylthymidine **194**. L'ouverture du composé **193** est réalisée dans un mélange DMF / HMPA avec 7,2 éq de NaN₃ pendant une nuit à 100°C. L'azido **194** est ensuite réduit en présence de NaBH₄ dans l'isopropanol à reflux pendant 24h. Le produit 3'-amino-3'-désoxy-5'-*O*-diméthoxytritylthymidine **195** est ainsi obtenu avec un rendement de 81% sur deux étapes (Schéma 132).²⁶⁸ Les conditions LiN₃ (3 éq) dans du DMF anhydre pendant 8h à 135°C peuvent aussi être utilisées et donnent le produit désiré avec un rendement de 79%.²⁶⁹

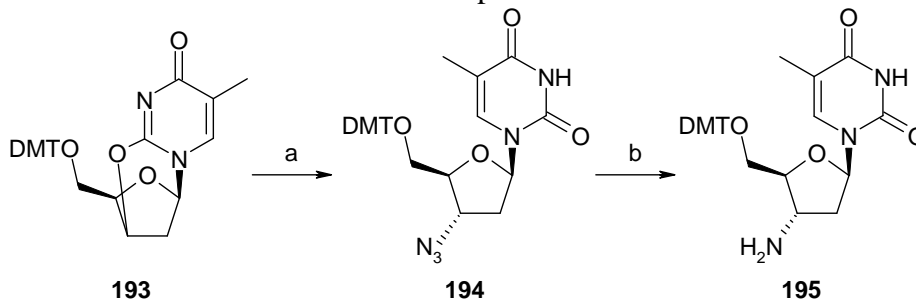


Schéma 132. Ouverture par un groupement azido. Réactifs et conditions : NaN₃, DMF, HMPA, 100°C, 1 nuit ; b) NaBH₄, *i*PrOH, reflux, 24h, 81%.

Le passage par un 2,3'-anhydronucléoside a également permis d'introduire facilement un atome de soufre en position 3' du nucléoside (Schéma 133). Ici, la synthèse de nucléoside disulfide **197** a pu être réalisée.²⁷⁰

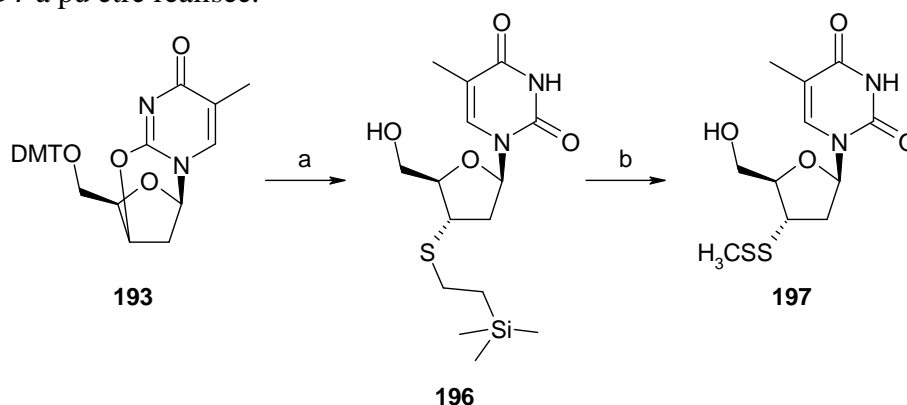


Schéma 133. Ouverture par un groupement thiol. Réactifs et conditions : a) *i*-NaH 1,2 éq, (CH₃)₃SiCH₂CH₂SH 1,2 éq, DMF, 90°C, 24h ; ii-Cl₂CHCOOH, CH₂Cl₂, 56% ; b) (CH₃)₂CH₂SS⁺BF₄⁻ 2 éq, CH₃SSH 40 éq, THF, TA, 48h, 74%.

III.2.b. Synthèse de la 5'-*O*-benzoyl-2'-*O*-méthyl-3'-*O*-*tert*-butoxycarbonylaminouridine

Pour notre part, nous voulons introduire la fonction aminoxyle lors de l'ouverture de l'anhydronucléoside. Nous pouvons donc utiliser le BocNHOH en présence d'une base (DBU) pour réaliser la réaction (Schéma 134). Dans le DMF, à température ambiante, aucune réaction n'a lieu. Lorsque l'on chauffe le milieu réactionnel, aucun avancement n'a été observé pour des températures allant de 40 à 110°C. Par la suite, le milieu réactionnel a été chauffé à 140°C et au bout de quelques heures le produit s'est dégradé (apparition de nombreuses tâches en CCM).

²⁶⁸ Chen, J.-K.; Schultz, R. G.; Lloyd, D. H.; Gryaznov, S. M. *Nucleic Acids Res.* **1995**, *23*, 2661-2668.

²⁶⁹ Avino, A.; Güimil Garcia, R.; Albericio, F.; Mann, M.; Wilm, M.; Neubauer, G.; Eritja, R. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 1649-1658.

²⁷⁰ Gerland, B.; Désiré, J.; Balzarini, J.; Décout, J.-L. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 6824-6831.

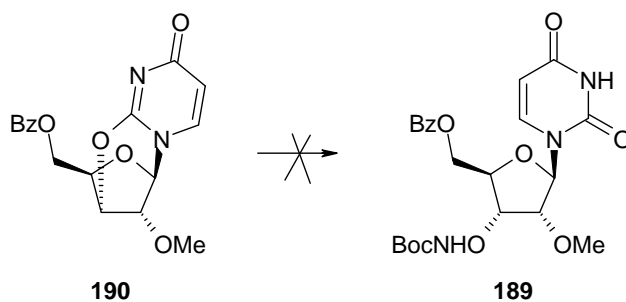


Schéma 134. Essais d'ouverture à l'aide de DBU et de BocNHOH.

Nous avons alors envisagé d'introduire le groupement phthalimidoxy (Schéma 135). Cependant en utilisant les mêmes conditions, aucune réaction n'a été observée.

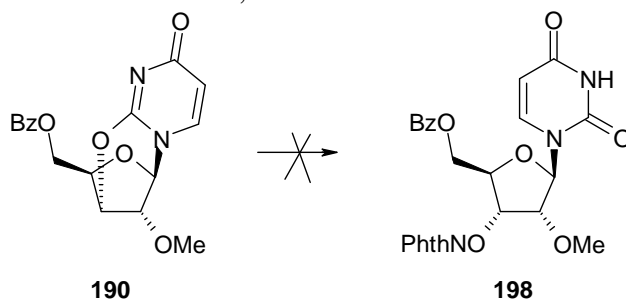


Schéma 135. Essais d'ouverture à l'aide de DBU et de *N*-hydroxyphthalimide.

En raison de l'impossibilité d'ouvrir le nucléoside avec un nucléophile approprié, nous avons abandonné cette voie de synthèse pour le moment pour nous consacrer à la synthèse des oligonucléosides de la série 3.

IV. Synthèse des oligonucléosides de la série 3

Dans cette partie, nous allons développer la synthèse des monomères **171** et **172** qui permettent l'obtention des oligonucléosides de la série 3. Ces travaux ont été effectués par Laura Nodin pendant son stage de Master 2.

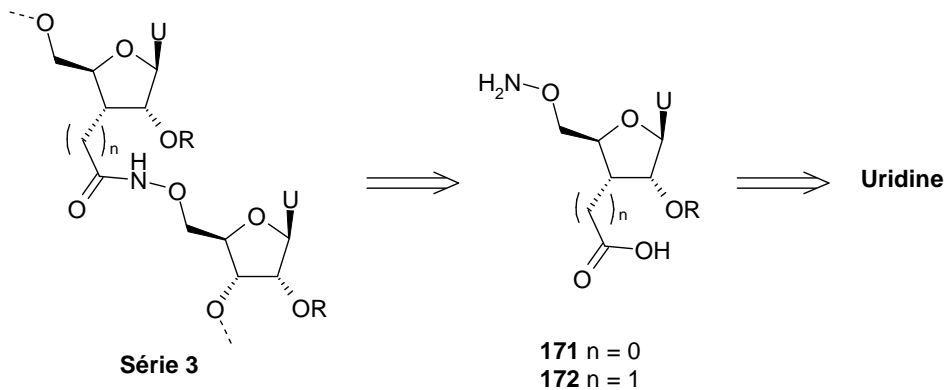


Schéma 136. Rétrosynthèse des oligonucléosides de la série 3.

Les monomères **171** et **172** présentent un carbone en position 3'. A partir du composé **180** protégé sélectivement en positions 2' et 5', la synthèse des monomères **171** et **172** peut être envisagée par l'oxydation de la fonction alcool libre en position 3' (formation du composé **199**) suivie d'une réaction de Wittig. L'hydrogénation ou l'hydroboration qui suit doit être stéréosélective afin d'obtenir la configuration ribofuranose désirée. Il reste alors à introduire la fonction aminoxyle en position 5' (Schéma 137).

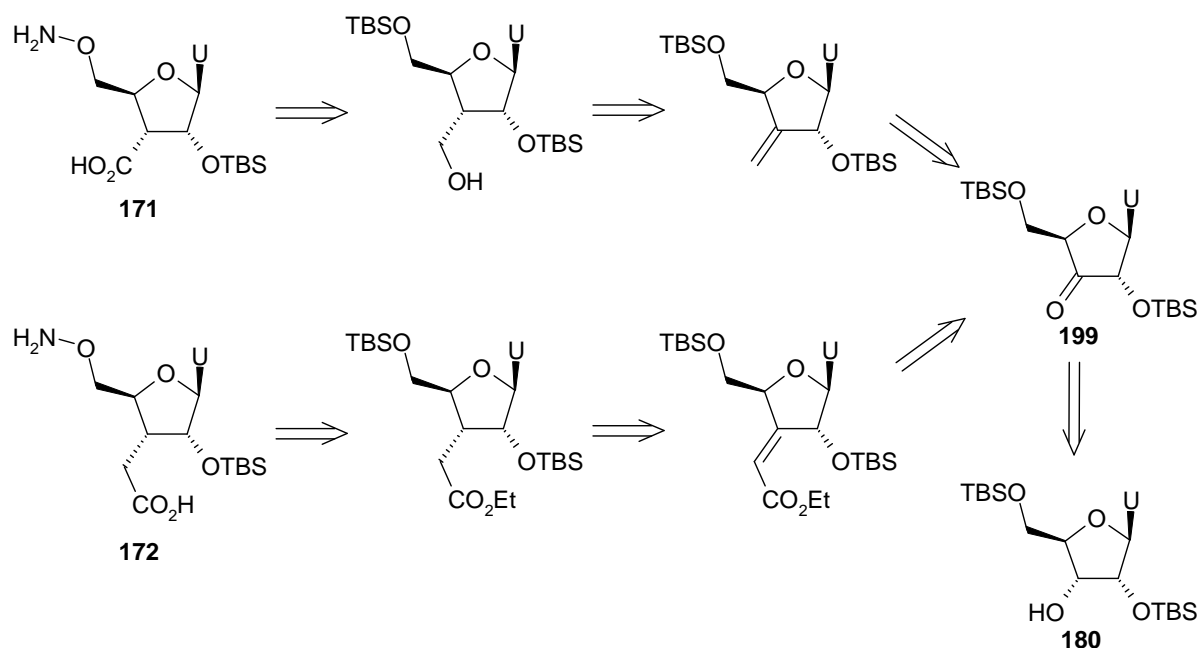


Schéma 137. Rétrosynthèse des uridine aminoxy acides **171** et **172**.

IV.1. Synthèse de l'intermédiaire oxydé en position 3'

A partir du composé **180** précédemment synthétisé, la première étape est l'oxydation de la fonction alcool en position 3' pour conduire au composé **199**. Dans la littérature, plusieurs méthodes d'oxydation ont été rapportées.

En 1967, A. F. Cook et J. G. Moffatt²⁷¹ ont décrit pour la première fois l'oxydation de la 2',5'-di-*O*-trityluridine avec le DMSO. Ils ont mis au point une méthode décrivant l'oxydation en présence de DMSO et de DCC. La 2',5'-di-*O*-trityluridine est dissoute dans un mélange de DMSO anhydre et de benzène (1:1) contenant 3 éq de DCC, 1 éq de pyridine et 0,5 éq de TFA. Après traitement et purification, le composé oxydé désiré est obtenu avec un rendement de 66%.

Cette méthode est comparée à d'autres méthodes d'oxydation. Ces méthodes, utilisant également le DMSO, sont l'oxydation en présence de pentoxyde de phosphore (P₂O₅) décrite par K. Onodera *et al.*²⁷² et l'oxydation en présence d'anhydride acétique rapportée par J. D. Albright *et al.*²⁷³ La première méthode s'effectue en chauffant à 60°C un mélange contenant le composé de départ et du P₂O₅ (1,2 éq) dans le DMSO et permet l'obtention du composé oxydé avec un rendement de 57%. La seconde méthode donne le composé oxydé avec un rendement de 44%

L'utilisation du DMSO permet donc la synthèse de la 3'-oxouridine avec des rendements moyens.

L'oxydation a aussi été décrite sur la position 2' de l'uridine dont les positions 3' et 5' sont protégées par un groupement TIPS. Les conditions utilisées sont celles de Swern (DMSO, chlorure d'oxalyle et Et₃N).²⁷⁴ Elles permettent d'obtenir le composé oxydé avec un meilleur rendement que ceux obtenus par J. G. Moffatt *et al.* En effet, le produit désiré est obtenu avec un rendement de 77% par précipitation.

En 1984, F. Hansske²⁷⁵ a décrit l'oxydation de la 2',5'-bis-*O*-TBS-uridine **180** en présence d'un mélange CrO₃ / pyridine / Ac₂O 1:2:1. Ce procédé permet la synthèse du composé oxydé **199** avec un rendement de 89%.

En 1990, une autre méthode qui utilise le réactif de Dess-Martin a été rapportée (Schéma 138). Elle permet la synthèse du composé **199** avec un rendement de 93%.

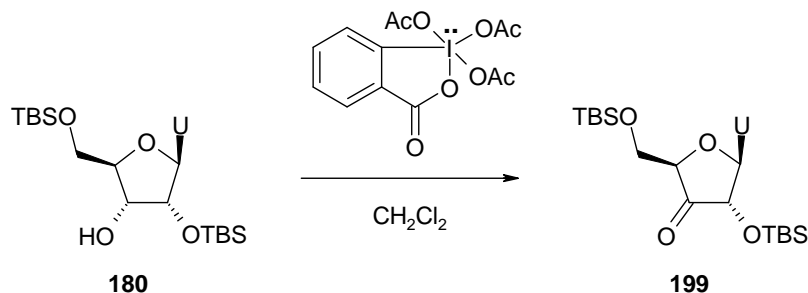


Schéma 138. Synthèse du composé **199** décrite par F. Hansske *et al.*

Pour notre part, nous avons choisi d'utiliser le 2,2,6,6-tétraméthyl-1-pipéridine nitroxyle (TEMPO), en milieu biphasique, en présence d'hypobromite de sodium qui permet une oxydation douce dans des conditions radicalaires. Ce procédé permet des oxydations rapides, sélectives et avec de très bons rendements.²⁷⁶

La réaction s'effectue donc à 0°C dans le dichlorométhane en présence de 0,1 éq de KBr, d'une solution de NaHCO₃ à 5% pour tamponner le milieu, de 1 éq de TEMPO et d'une

²⁷¹ Cook, A. F.; Moffatt, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2697-2705.

²⁷² Onodera, K.; Hirano, S.; Kashimura, N. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 4651-4652.

²⁷³ Albright, J. D.; Goldman, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 4214-4216.

²⁷⁴ Ueda, T.; Shuto, S.; Satoh, M.; Inoue, H. *Nucleosides Nucleotides* **1985**, *4*, 401-409.

²⁷⁵ Hansske, F.; Madej, D.; Robins, M. J. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 125-135.

²⁷⁶ Anelli, P. L.; Biffi, C.; Montanari, F.; Quici, S. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2559-2562.

solution commerciale d'eau de Javel (Schéma 139). La réaction est totale, très propre et fournit le produit désiré avec un excellent rendement (82 à 92%). Il est à noter que la qualité de l'eau de Javel commerciale est importante puisqu'elle fournit l'oxydant NaOCl et qu'une eau de Javel un peu vieille peut entraîner des chutes de rendement.

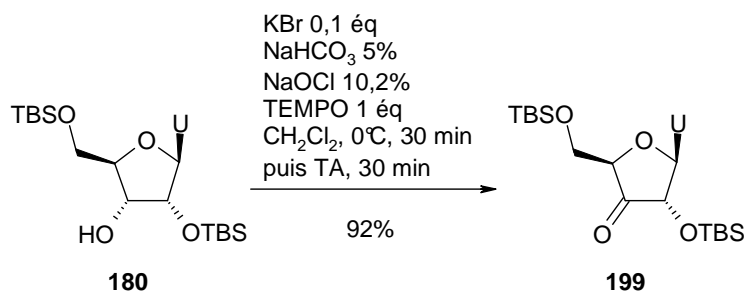


Schéma 139. Synthèse du composé 199.

IV.2. Réaction de Wittig

L'étape suivante est une réaction de Wittig, elle permet, dans un cas, l'introduction de la fonction ester, et dans l'autre, l'introduction d'un groupement méthylène qui pourra après réactions d'hydroboration, d'hydroxylation et d'oxydation conduire à une fonction acide carboxylique.

IV.2.a. Synthèse de la 3'-désoxy-3'-éthoxycarbonylméthylène-2',5'-di-*O*-(*tert*-butyldiméthylsilyl)uridine

L'introduction d'un groupement ester en position 3' d'un nucléoside a préalablement été décrite dans la littérature. Cette réaction de Wittig s'effectue avec un rendement de 70% en présence de 1,2 éq de phosphorane dans le THF à 65°C pendant 14h (Schéma 140).²⁷⁷

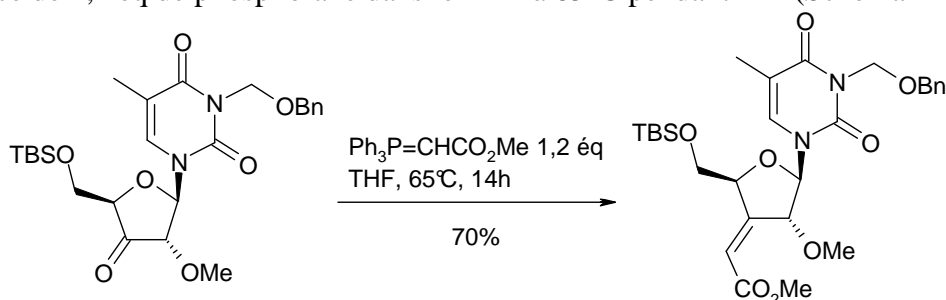


Schéma 140. Réaction décrite par P. Von Matt *et al.*

La réaction de Wittig permettant de préparer la 3'-désoxy-3'-éthoxycarbonylméthylène-2',5'-di-*O*-(*tert*-butyldiméthylsilyl)uridine **200** s'effectue donc en présence du phosphorane adapté dans le THF (Schéma 141).

Le phosphorane, préalablement synthétisé, est utilisé en léger excès (1,5 éq) afin de garantir le meilleur résultat possible. Nous avons choisi de réaliser la réaction à température ambiante, ce qui nécessite un temps de réaction plus long. En effet, la réaction est incomplète au bout d'une nuit et nécessite 24h supplémentaires pour atteindre une conversion de 100%. Après purification, une huile transparente est obtenue avec un rendement de 78%. Nous avons

²⁷⁷ Von Matt, P.; Lochmann, T.; Kesselring, R.; Altmann, K.-H. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 1873-1876.

obtenu un seul isomère mais nous n'avons pas cherché à déterminer sa configuration puisque l'étape qui suit est une hydrogénation.

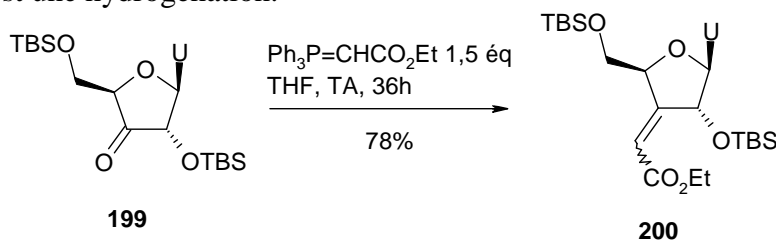


Schéma 141. Synthèse du composé 200.

Des recherches supplémentaires dans la littérature ont montré que la synthèse du composé 200 a été décrite avec un rendement de 96% en portant le milieu réactionnel à reflux dans le dichlorométhane pendant 16h.²⁷⁸ Ces conditions pourront donc être testées afin d'améliorer le rendement de cette étape.

IV.2.b. Synthèse de la 3'-désoxy-3'-méthylène-2',5'-di-O-(tert-butylidiméthylsilyl)uridine

Une réaction de Wittig permet également de préparer la 3'-désoxy-3'-méthylène-2',5'-di-O-(tert-butylidiméthylsilyl)uridine 201 (Schéma 142).

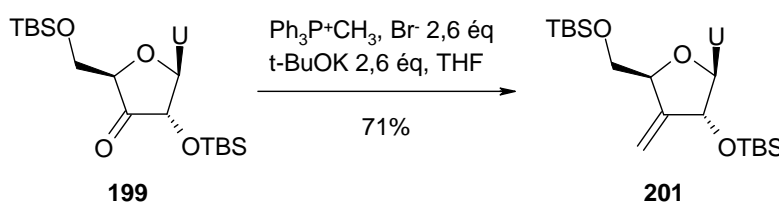


Schéma 142. Réaction de Wittig permettant la synthèse du composé 201.

Afin de réaliser cette réaction, nous avons utilisé une procédure de A. Rosenthal *et al.*²⁷⁹ reprise ensuite au laboratoire.³⁸ L'ylure de phosphore est généré *in situ* par action du tert-butanolate de potassium (2,2 équ) sur le sel de phosphonium $\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_3, \text{Br}^-$ (2,6 équ) dans le THF anhydre. Le produit est obtenu sous forme d'une huile légèrement jaune avec un rendement de 71%.

IV.3. Etape d'hydrogénation et d'hydroboration

IV.3.a. Hydrogénation de la 3'-désoxy-3'-éthoxycarbonylméthylène-2',5'-di-O-(tert-butylidiméthylsilyl)uridine

La suite de la synthèse consiste en l'hydrogénation de la double liaison C=C du composé 200 précédemment synthétisé (Schéma 143). Classiquement, la réduction s'effectue en présence de Pd/C activé commercial dans le méthanol.^{277,278,280} Cependant, une nouvelle méthode a été récemment reportée dans la littérature par F.-X. Felpin et E. Fouquet.²⁸¹ Le

²⁷⁸ Peterson, M. A.; Nilsson, B. L.; Sarker, S.; Doboszewski, B.; Zhang, W.; Robins, M. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8183-8192.

²⁷⁹ Rosenthal, A.; Sprinzl, M. *Can. J. Chem.* **1969**, *47*, 3941-3946.

²⁸⁰ Lee, K.; Wiemer, D. F. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 7808-7812.

²⁸¹ Felpin, F.-X.; Fouquet, E. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 12440-12445.

catalyseur Pd⁰/C est généré *in situ* à partir de charbon actif (charcoal) et d'acétate de palladium. La réaction d'hydrogénation a lieu dans le méthanol sous une atmosphère d'hydrogène et a l'avantage d'employer des conditions douces et peu de palladium. Nous avons donc dans un premier temps adapté ce protocole. Pour cela, à une solution de **200** dans du MeOH, est ajoutée une pointe de spatule d'acétate de palladium et de charbon. Le milieu est soumis à un léger flux de dihydrogène (ballon, 1 atmosphère) pendant 36h. Le produit désiré **202** semble se former mais la réaction demeure incomplète, même en ajoutant du Pd⁰/C (Schéma 143).

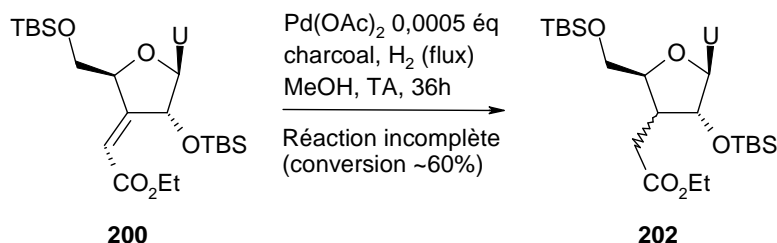


Schéma 143. Réaction d'hydrogénation du composé **200**.

Etant donné que la réaction semble bloquer, nous avons utilisé un autre protocole utilisant 0,05 éq de Pd/C activé à 10% en masse ainsi que de l'acide acétique. La réaction est alors complète et nous obtenons un produit plus polaire que le produit désiré formé sans ajout d'acide acétique. L'isolation de ce produit montre que le groupement TBS en position 5' a été déprotégé, ce qui permet de gagner une étape. Le produit **203** est obtenu avec un bon rendement de 79% (Schéma 144).

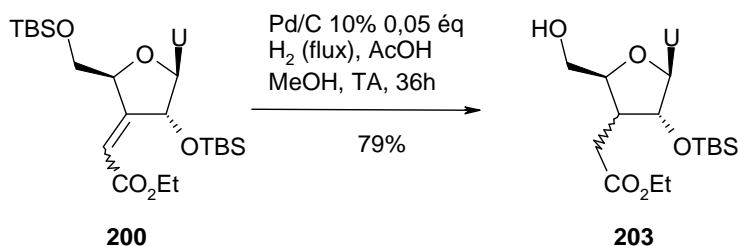


Schéma 144. Réaction d'hydrogénation du composé **200**.

La configuration de l'atome C3' doit être vérifiée. En effet, nous désirons obtenir le composé de configuration ribofuranose. Pour cela, un spectre RMN 2D NOESY est envisageable. Comme nous le verrons par la suite, ceci sera rendu inutile par une réaction détaillée paragraphe IV.4.b, p. 161.

IV.3.b. Hydroboration de la 3'-désoxy-3'-méthylène-2',5'-di-*O*-(*tert*-butyldiméthylsilyl)uridine

Afin d'envisager la synthèse du monomère **171**, le composé **201** doit subir une réaction d'hydroboration puis d'hydroxylation, ce qui nous permet d'introduire une fonction alcool en position 3' qui pourra par la suite être oxydée (Schéma 145).

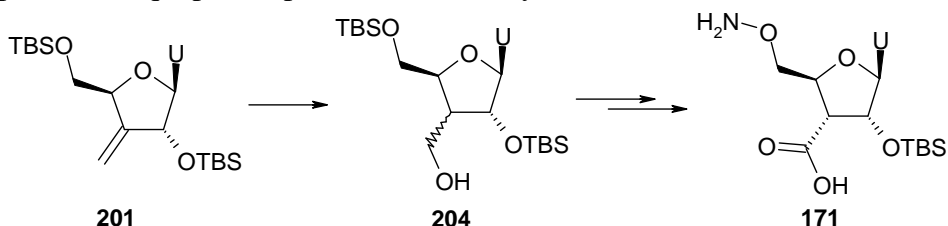


Schéma 145. Réaction d'hydroboration du composé **201**.

Les conditions utilisées pour la synthèse du composé **204** s'appuient sur des travaux précédemment effectués au laboratoire.³⁸ La réaction s'effectue en deux étapes, la première étape est réalisée en présence de BH_3 (2,4 éq) dans un mélange THF / H_2O 1:1 et la seconde en présence de soude 2N et d'eau oxygénée. Ces conditions ne nous ont pas permis d'obtenir le produit désiré **204**. De plus, nous souhaitons obtenir le composé ribo et non le composé xylo, ce qui implique un contrôle de la stéréosélectivité de la réaction.

Dans la littérature, la stéréosélectivité de la réaction d'hydroboration de composés dérivés du 3'-désoxy-3'-méthylèneuridine a été étudiée.²⁸² La formation de l'isomère ribo ou xylo dépend de plusieurs facteurs. Les facteurs étudiés sont l'importance du groupement protecteur en position 5' (TBS ou MMT), le borane utilisé ($\text{BH}_3\cdot\text{Me}_2\text{S}$ ou 9-BBN-H) et enfin le solvant utilisé (THF, toluène ou hexane). L'étude a montré que le groupement protecteur a une influence stérique et que le groupement MMT favorise la formation du composé de configuration ribo. De même, l'utilisation de $\text{BH}_3\cdot\text{Me}_2\text{S}$ favorise la formation de l'isomère xylo, alors que l'utilisation de 9-BBN-H favorise la formation de l'isomère ribo. Enfin, les meilleurs résultats concernant l'obtention de l'isomère ribo ont été obtenus dans le solvant le moins polaire, l'hexane.

Finalement, l'utilisation du 9-BBN-H dans l'hexane sur le composé **205** portant un groupement MMT en position 5' leur a permis d'obtenir le composé ribo **206** avec un ratio 82:18 et un rendement, après purification, de 64%.

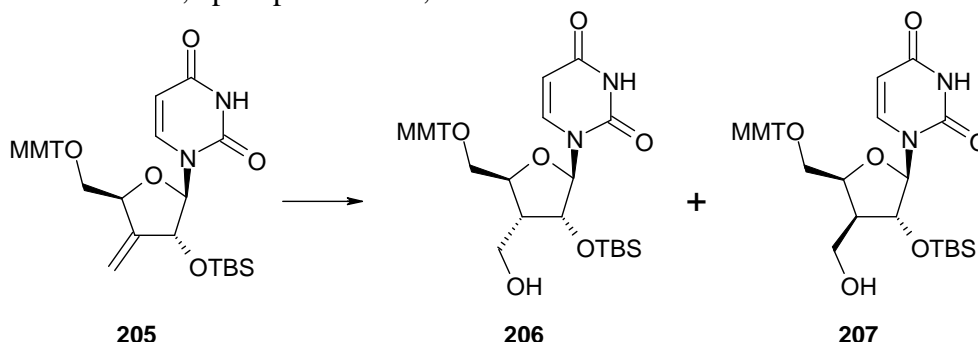


Schéma 146. Etude de la réaction d'hydroboration par A. Winqvist et R. Strömberg. Réactifs conditions : i-9-BBN-H, hexane, 20°C, 20h, ii- $\text{NaBO}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, THF / H_2O / CH_3OH 5:2:3, 64%.

Il a également été montré que l'utilisation d'eau oxygénée dans une solution alcaline cause des réactions secondaires, notamment la perte des groupements TBS, c'est pourquoi l'utilisation de $\text{NaBO}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ a été préférée.

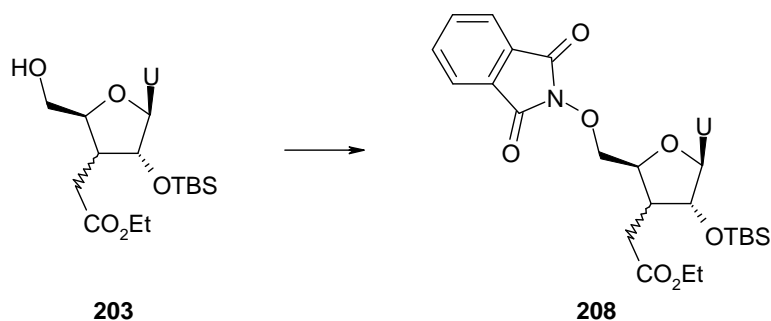
Ces travaux ont donc montré que pour obtenir une bonne sélectivité, il est nécessaire d'introduire en position 5' un groupement protecteur adapté et par la suite nous tenterons d'introduire un groupement diméthoxytrityle (Paragraphe II.1, p. 165).

IV.4. Introduction de la fonction aminoxyle en position 5'

IV.4.a. Introduction d'un groupement phthalimidoxyle

A partir du composé **203** précédemment synthétisé, nous pouvons envisager l'introduction de la fonction aminoxyle en position 5' par une réaction de Mitsunobu mettant en jeu le *N*-hydroxyphthalimide.

²⁸² Winqvist, A.; Strömberg, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 4305-4311.

Schéma 147. Réaction de Mitsunobu sur le composé **203**.

Différents essais ont donc été réalisés afin de synthétiser le composé **208** (Tableau 21). Tout d'abord, les conditions optimisées (ajout lent et dilué du DIAD, conditions anhydres et grosses quantités) utilisées pour la synthèse de la 5'-*O*-phthalimidothymidine **83** ont été appliquées ici (Essais 1 à 4). Nous avons tenté de voir si le solvant utilisé avait une influence sur la réaction mais, dans tous les cas, aucune réaction n'a été observée.

Essai	Solvant	Conditions	Résultats
1	THF anhydre	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ajout lent et dilué du DIAD ▪ Ajout supplémentaire de 1,5 éq de DIAD et de PPh₃ 	Produit de départ
2	Toluène anhydre	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ajout lent et dilué d'une solution de DIAD à 40% dans le toluène 	Produit de départ
3	THF anhydre	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Réaction en plus grande quantité pour permettre un ajout très lent et dilué du DIAD 	Produit de départ
4	DMF anhydre	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ajout lent et dilué du DIAD 	Produit de départ
5	THF anhydre	<ul style="list-style-type: none"> ▪ N-hydroxyphthalimide 2 éq ▪ PPh₃ et DBAD 1,5 éq 	Produit de départ
6	THF anhydre	<ul style="list-style-type: none"> ▪ N-hydroxyphthalimide et PPh₃ 2 éq ▪ DBAD 3 éq ▪ Chauffage à 80°C 	Produit de départ
7	THF anhydre	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Utilisation d'ADDP et de PBU₃ 	Produit de départ

Tableau 21. Essais de réaction de Mitsunobu sur le composé **203**.

Il était alors intéressant de se tourner vers l'utilisation du di-*tert*-butylazodicarboxylate DBAB, qui est rapporté pour être plus réactif que le DIAD.²⁴⁶ L'essai 5 n'a pas donné de résultats positifs. Les quantités de réactifs ont donc été augmentées et le milieu chauffé à 80°C (Essai 6) mais seul le produit de départ **203** a été récupéré.

Un dernier essai (Essai 7) a été réalisé en utilisant de la tributylphosphine associée à de la 1,1'-(azodicarbonyl)dipipéridine ADDP comme cela a été décrit dans la littérature par J. D'onofrio *et al.*²⁸³ Mais aucune réaction n'a pu être observée.

Afin de comprendre les difficultés rencontrées et l'encombrement stérique de la position 5', des études cristallographiques sont envisagées avec le laboratoire de cristallographie de l'Université Jagellone à Cracovie (Pologne).

IV.4.b. Passage par un intermédiaire halogéné

T. R. Burke Jr. *et al.*³⁹ ont décrit la préparation de certains aminoxy acides à partir de dérivés bromés ou de composés métylés. Cela nous a conduit à nous intéresser à la formation du composé bromé en position 5'.

J. P. H. Verheyden et J. G. Moffatt²⁸⁴ ont reporté le remplacement de la fonction hydroxyle en 5' du 2',3'-O,O-isopropylidèneuridine par des groupements chloro, bromo ou iodo en utilisant de la triphénylphosphine et du CCl₄, CBr₄ ou CI₄ dans du DMF à température ambiante.

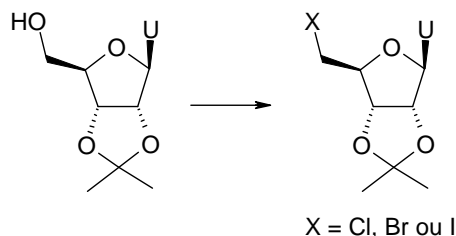


Schéma 148. Réaction décrite par J. P. H. Verheyden et J. G. Moffatt. Réactifs et conditions : CX₄ 1 éq, PPh₃ 1 éq, DMF, TA, 18h, 70%, 55% et 17% respectivement pour X = Cl, Br et I.

Dans le but de synthétiser le composé **209** possédant un groupement bromo en position 5', le protocole de J. G. Moffatt *et al.* a été adapté. A une solution de **203** dans du DMF anhydre, 2 éq de PPh₃ et de CBr₄ sont ajoutés. Après agitation pendant une nuit à température ambiante, le milieu est devenu orange. On observe l'apparition d'une tâche moins polaire mais il reste toujours du produit de départ. 24h supplémentaires n'ont pas permis d'obtenir une conversion complète. En chauffant à 90°C pendant 6h, le réactif de départ ainsi que le produit précédemment formé disparaissent au profit d'un unique produit plus polaire. Le nouveau produit a pu être isolé avec un rendement de 86% et identifié comme étant la lactone **210**.

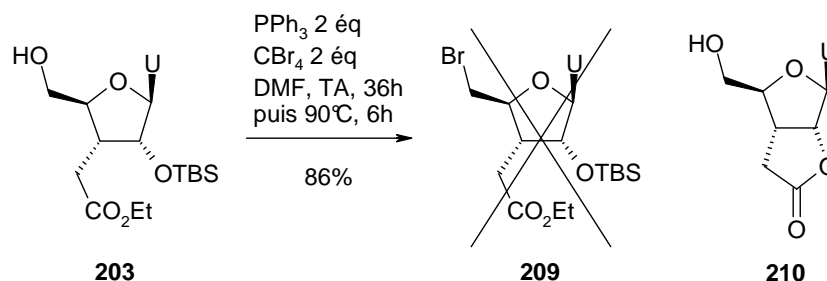


Schéma 149. Obtention de la lactone **210** à la place du dérivé bromé **209**.

²⁸³ D'Onofrio, J.; De Napoli, L.; Di Fabio, G.; Montesarchio, D. *Synthesis* **2006**, 845-848.

²⁸⁴ Verheyden, J. P. H.; Moffatt, J. G. *J. Org. Chem.* **1972**, 2289-2299.

Cette lactone est connue dans la littérature où elle est obtenue par la réaction de déprotection du groupement silyle en position 2' (Schéma 150).²⁷⁸

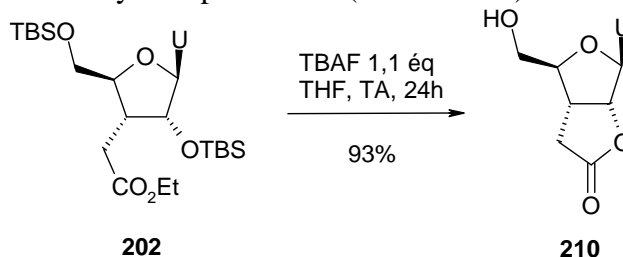


Schéma 150. Réaction décrite par M. J. Robins *et al.*

La formation de la lactone **210** nous a permis de vérifier la configuration absolue du carbone C_{3'} du composé **203**. En effet, cela nous indique que le composé **203** a bien une configuration de type ribo.

Le but étant d'obtenir le composé bromé en position 5', nous avons tenté de convertir la lactone **210** en composé **211**. En utilisant 1,5 éq de PPh₃ et 1,5 éq de CBr₄, le produit **211** bromé en position 5' se forme mais la réaction est incomplète. Des ajouts supplémentaires de PPh₃ et de CBr₄ ainsi qu'un chauffage à 50°C ne permettent pas une meilleure conversion.

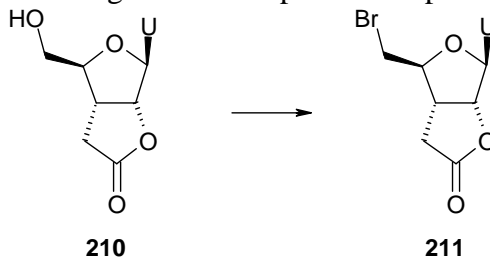


Schéma 151. Synthèse du composé **211**. Réaction incomplète en présence de PPh₃ et de CBr₄ dans le DMF.

Afin de mettre au point cette réaction de bromation, nous nous sommes tournés vers le protocole de S. Hanessian *et al.*²⁸⁵ décrivant une halogénéation efficace de la 2,3'-*O,O*-isopropylidèneuridine par traitement avec de la triphénylphosphine et du *N*-bromo- ou *N*-iodosuccinimide avec des rendements respectifs de 79 et 67%.

Dans un premier temps, nous avons appliqué les conditions au composé **203**. Le rendement de la réaction n'a pas excédé 40% en raison de la conversion incomplète de la réaction et de la formation d'un produit secondaire (Schéma 152).

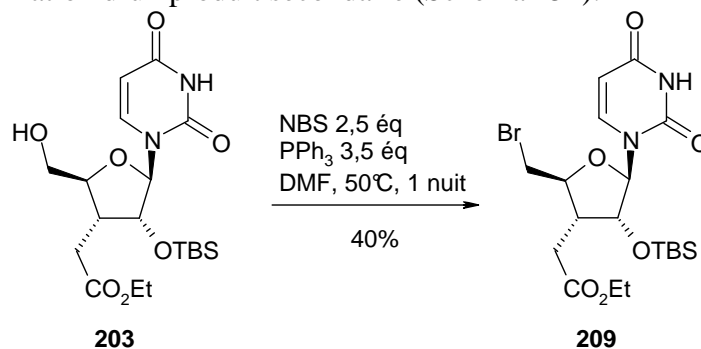


Schéma 152. Synthèse du composé **209**.

Nous avons donc observé la formation d'un sous-produit, plus polaire que le produit désiré **209**. Ce sous-produit peut correspondre au produit bromé en position 5 de la base. En

²⁸⁵ Hanessian, S.; Ponpipom, M. M.; Lavalley, P. *Carbohydr. Res.* **1972**, *24*, 45-46.

effet, dans la littérature, la bromation de la base a été reportée à température ambiante en présence de *N*-bromosuccinimide (Schéma 153).²⁸⁶

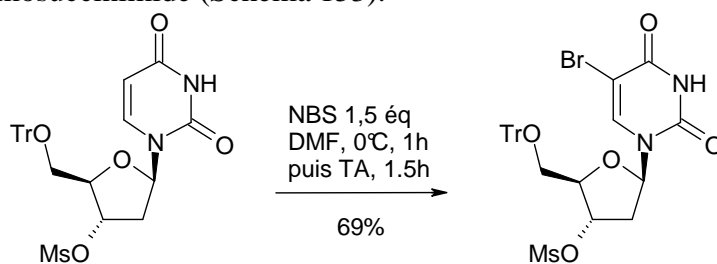


Schéma 153. Réaction décrite par R. Kumar *et al.*

L'étape suivante est la substitution nucléophile par le BocNHOH sur le composé halogéné. Or, l'ion iodure est un meilleur nucléophile que les ions bromure et chlorure de part sa grande polarisabilité. Nous avons donc également préparé le composé iodé **212** en utilisant de la triphénylphosphine et NIS (Schéma 154). Le rendement (74%) est bien meilleur que pour le composé bromé **209** même s'il se forme également un peu de sous-produit iodé en position 5 de la base.

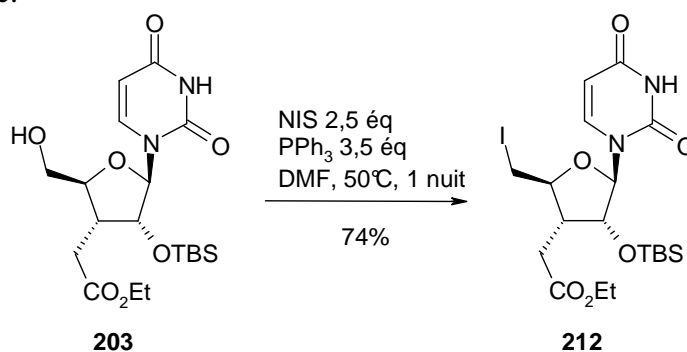


Schéma 154. Synthèse du composé **212**.

IV.4.c. Introduction de la fonction aminoxyle par substitution nucléophile

A partir des composés **209** et **212** portant un halogène en position 5', nous envisageons donc une réaction de substitution nucléophile par le *N*-Boc-hydroxylamine afin d'introduire la fonction aminoxyle en position 5'. Pour cela, le protocole décrit par T. R. Burke Jr. *et al.*³⁹ est utilisé (Schéma 155).

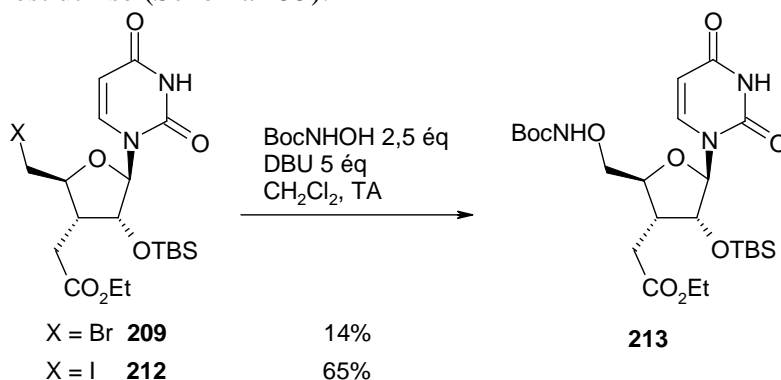


Schéma 155. Synthèse du composé **213**.

²⁸⁶ Srivastav, N. C.; Shakya, N.; Mak, M.; Agrawal, B.; Tyrrell, D. L.; Kumar, R. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7156-7166.

Sur le composé bromé **209**, la réaction est très incomplète au bout d'une nuit et ne fournit le produit désiré **213** qu'avec un rendement de 14%. En revanche, pour le composé iodé **212**, le produit désiré **213** est obtenu avec un rendement de 51%. En augmentant les quantités de réactifs (6 éq de DBU et 4 éq de BocNHOH), nous avons pu améliorer le rendement à 65%.

En raison des meilleurs rendements obtenus pour les étapes d'halogénéation et de substitution, le passage par le dérivé iodé **212** sera privilégié pour la suite.

IV.4.d. Déprotection de la fonction aminoxyle

Afin d'être utilisée ultérieurement dans des réactions de couplage, la fonction aminoxyle du composé **213** doit être déprotégée (Schéma 156). Cette réaction de déprotection du groupement Boc peut être réalisée en milieu acide, ce qui nécessite un contrôle précis de la réaction puisque le groupement TBS en position 2' se déprotège également en milieu acide.

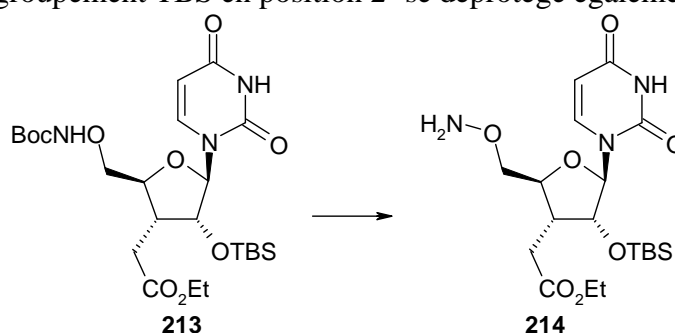


Schéma 156. Synthèse du composé **214** par déprotection du groupement protecteur Boc.

Nous avons donc tenté de réaliser la déprotection en présence de TFA et à 0°C. Les différents essais sont regroupés dans le Tableau 22.

Essai	Conditions	Résultats
1	<ul style="list-style-type: none"> ▪ TFA 29 éq, THF / eau ▪ 15 min à 0°C 	Produit de départ
2	<ul style="list-style-type: none"> ▪ TFA 29 éq, THF / eau ▪ 1 h à 0°C 	Produit de départ
3	<ul style="list-style-type: none"> ▪ TFA 58 éq, THF / eau ▪ 1h30 à 0°C puis 30 min à TA 	Produit de départ
4	<ul style="list-style-type: none"> ▪ TFA 10%, DCM ▪ 1h à 0°C 	Produit de départ
5	<ul style="list-style-type: none"> ▪ H₂SO₄ 10%, dioxane 	Décomposition

Tableau 22. Essais de déprotection du groupement Boc du composé **213**.

La réaction est difficile à suivre en CCM (le produit traîne sur la plaque) et l'on pense avoir réalisé la déprotection lorsqu'une nouvelle tâche plus polaire apparaît. En réalité, il semble s'agir du produit protoné puisqu'après neutralisation du milieu réactionnel, cette tâche disparaît et la tâche principale correspond au produit de départ.

La réalisation de la réaction en présence de TFA (Essais 1 à 4) ne nous a pas permis d'obtenir le produit désiré **214**, seul le produit de départ **213** a pu être identifié. L'utilisation de 10% d'acide sulfurique dans le dioxane (Essai 5) a conduit à l'élimination de la base.

Pour l'instant, nous n'avons pas trouvé les conditions permettant d'obtenir le composé **214**. D'autres essais doivent être réalisés notamment en augmentant les quantités de TFA (exemple : TFA / CH₂Cl₂ 1:1).

IV.4.e. Déprotection de la fonction acide

En parallèle, nous cherchons également à saponifier la fonction ester du composé **213** (Schéma 157).

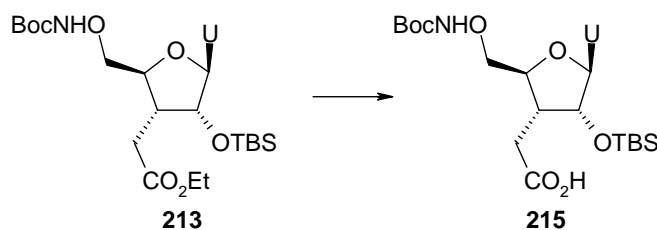


Schéma 157. Synthèse du composé **215** par saponification.

Les conditions utilisées pour la synthèse du dérivé thymidine acide **88** ont été appliquées ici. En présence de 2 éq d'hydroxyde de lithium dans du méthanol, le composé **213** est partiellement transformé en composé **215**. Les ajouts supplémentaires de LiOH (2 puis 1 éq) n'ont pas permis d'obtenir une conversion totale. Afin d'améliorer la réaction, un essai CCM a été réalisé en présence de LiOH 3 éq dans un mélange dioxane / eau 1:15. Le produit de départ a complètement disparu. Des essais supplémentaires sont à réaliser pour confirmer ce résultat.

IV.5. Protection de la position 5' par un groupement DMT

Nous avons voulu, en parallèle, introduire le groupement protecteur DMT en position 5' dans le but de synthétiser des dinucléosides liés par liaison *N*-oxy amide à partir des composés **216** et **217** (Schéma 158).

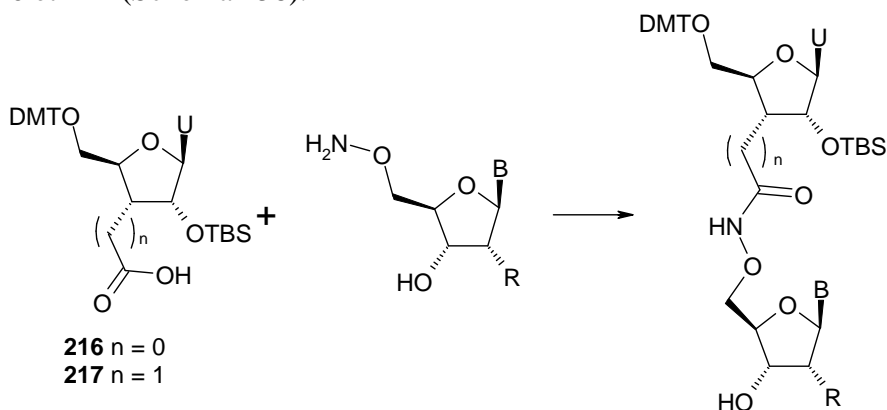


Schéma 158. Synthèse de dinucléosides liés par liaison *N*-oxy amide à partir des composés **216** et **217**.

Le groupement DMT peut être introduit soit en début de synthèse directement sur l'uridine, soit plus tard dans la synthèse, après déprotection du groupement TBS en position 5'.

IV.5.a. Synthèse de la 5'-*O*-diméthoxytrityl-2'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyluridine

Nous pouvons envisager d'introduire le groupement DMT en début de synthèse, sur l'uridine, afin d'obtenir le composé **218** qui sera un intermédiaire commun à la synthèse des composés **216** et **217** (Schéma 159).

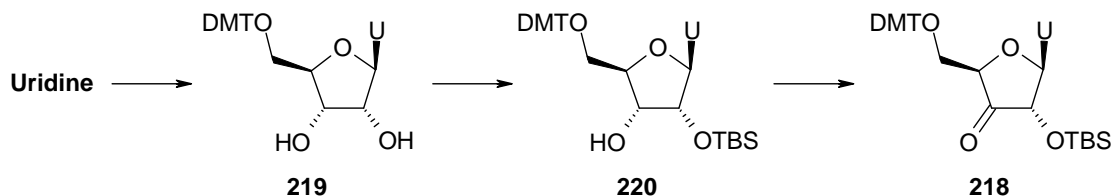


Schéma 159. Introduction du groupement DMT.

K. K. Ogilvie *et al.*¹⁶⁷ ont décrit la préparation de la 5'-*O*-diméthoxytrityluridine **219** à partir de l'uridine en présence de 1 éq de nitrate d'argent, 1 éq de DMTCl et 5 éq de pyridine dans le THF ainsi que la silylation sélective en position 2' en utilisant 1,2 éq de nitrate d'argent, 1,3 éq de TBSCl et 3,7 éq de pyridine.

Nous avons donc utilisé ce protocole et nous avons pu obtenir le composé **219** avec un rendement de 64%. Cependant, les conditions décrites pour la silylation sélective en position 2' ne nous ont pas permis d'obtenir le composé désiré **220**. En effet, dans les conditions de la publication, après 1h30, la réaction est relativement propre mais il reste beaucoup de produit de départ **219**. Si on augmente le temps de réaction et/ou la quantité de réactifs, plusieurs produits se forment sans pour autant consommer entièrement le produit de départ.

Nous avons alors changé l'ordre d'introduction des réactifs en adoptant le protocole utilisé dans la préparation du composé **180** di-silylé en positions 2' et 5' (ajout d'une solution de 5'-*O*-diméthoxytrityluridine dans du THF anhydre dans une solution d'AgNO₃ dans de la pyridine, puis ajout de TBSCl). La réaction reste incomplète et plusieurs produits se forment dès que le temps de réaction dépasse 1h30.

Etant donné qu'il semble difficile d'obtenir le composé **220** par cette voie de synthèse de manière sélective et avec de bons rendements, nous avons décidé d'introduire le groupement DMT plus tard dans la synthèse.

IV.5.b. Synthèse de la 3'-désoxy-5'-*O*-diméthoxytrityl-3'-éthoxycarboxyméthyl-2'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyluridine

La synthèse de la 3'-désoxy-5'-*O*-diméthoxytrityl-3'-éthoxycarboxyméthyl-2'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyluridine **221** est réalisée à partir du composé **203** précédemment synthétisé (Schéma 160).

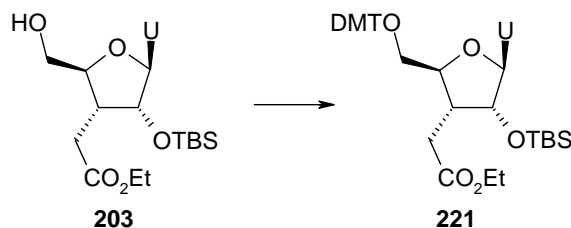


Schéma 160. Synthèse du composé **221** à partir du composé **203**.

Afin de réaliser cette réaction de tritylation, nous avons tout d'abord employé les conditions qui nous ont permis de synthétiser la 5'-*O*-diméthoxytrityluridine **219**. Ces

conditions (AgNO_3 , DMTCl , pyridine, THF), décrites par K. K. Ogilvie,¹⁶⁷ ne nous ont pas permis d'obtenir une conversion complète (Essai 1 - Tableau 23).

Nous avons alors utilisé les conditions classiques DMTCl , DMAP en quantité catalytique (Essai 2), mais sans observer d'amélioration par rapport à l'essai précédent.

Nous nous sommes ensuite tournés vers les conditions utilisées pour la synthèse de la 5'-*O*-diméthoxytritylthymidine **89** qui impliquent l'utilisation de triéthylamine et un chauffage à reflux (Essai 3 et 4). Une nouvelle fois, la conversion de la réaction est faible. Il est à noter que la co-évaporation du substrat avec de la pyridine, comme cela est parfois décrit,^{174,287} ne nous a pas permis d'améliorer ces résultats.

Les différents bruts réactionnels obtenus (Essais 1 à 4) ont été rassemblés et purifiés et le composé désiré **221** a été obtenu avec un rendement de 19%.

En étudiant de près les modes opératoires décrits par N.-S. Li et J. A. Piccirilli,²⁸⁸ nous avons pu voir que l'introduction du groupement DMT en position 5' de l'uridine nécessite l'utilisation de large excès de réactifs (jusqu'à 4 éq de DMAP et de DMTCl). De plus, la co-évaporation du produit de départ avec de la pyridine et l'utilisation de solvants et de réactifs anhydres semblent être des conditions nécessaires. Ainsi, en appliquant ces conditions (Essai 5), le produit désiré **221** a pu être obtenu avec un rendement de 74%.

Essai	Conditions	Résultats
1	AgNO_3 1 éq DMTCl 1 éq Pyridine 5 éq THF	<ul style="list-style-type: none"> Formation du produit désiré 221 Réaction incomplète même après ajouts supplémentaires d'AgNO_3 et de DMTCl
2	DMAP 0,2 éq DMTCl 1,1 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> Formation du produit désiré 221 Réaction incomplète même après ajout de 0,5 éq de DMAP et de DMTCl et chauffage à 65°C, puis 100°C puis 140°C
3	DMTCl 1,1 éq Et_3N 2 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> Formation du produit désiré 221 Réaction incomplète même après ajout de 0,5 éq de DMTCl et de 1 éq de Et_3N et chauffage à 65°C, puis 100°C puis 140°C
4	DMTCl 1,1 éq Et_3N 2 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> Chauffage à 140°C pendant 6h Réaction incomplète
5	DMAP 2,3 éq DMTCl 5,3 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> Rdt = 74%

Tableau 23. Essais de réaction de tritylation du composé **203**.

Il est à noter qu'en plus des difficultés de synthèse, se sont ajoutées des difficultés d'ordre pratique. En effet, la présence de traces d'acide (silice, traces d'acide dans

²⁸⁷ Moyroud, E.; Biala, E.; Strazewski, P. *Tetrahedron* **2000**, 56, 1475-1484.

²⁸⁸ Li, N.-S.; Piccirilli, J. A. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 1198-1210.

l'évaporateur rotatif) suffit à déprotéger le produit formé. Par conséquent, le suivi de la réaction par CCM a parfois été fossé par le fait que l'acidité de la silice pouvait suffire à déprotéger le produit formé. L'ajout de triéthylamine dans l'éluant nous a permis de résoudre ce problème. Il en a été de même avec les purifications par chromatographie sur colonne.

IV.5.c. Synthèse de la 5'-*O*-diméthoxytrityl-3'-oxo-2'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyluridine

Face aux difficultés rencontrées, nous avons également essayé d'introduire le groupement DMT à une étape antérieure, en particulier après l'oxydation de la position 3', ce qui correspond à la dernière étape avant la séparation des voies de synthèse des composés **216** et **217**.

Avant de réaliser l'étape de tritylation, il est nécessaire de déprotéger la position 5' du nucléoside **199** (Schéma 161).

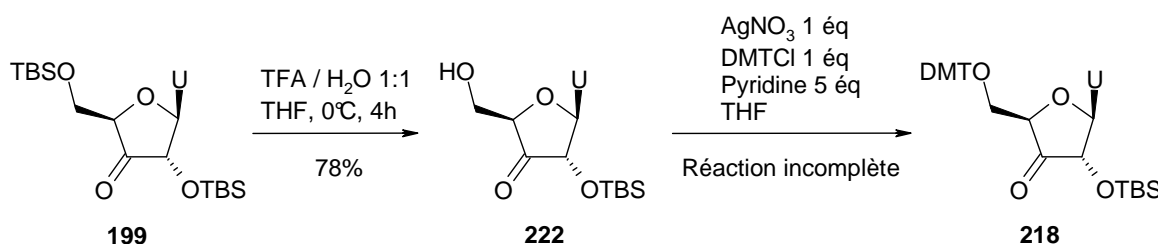


Schéma 161. Synthèse du composé **218**.

La déprotection du groupement TBS en position 5' s'effectue à 0°C. En effet, il s'agit de trouver le bon compromis entre une conversion totale et la « non-déprotection » du groupement TBS en position 2'. Une solution TFA / H₂O 1:1 dans le THF à 0°C permet l'obtention du composé **222** avec un rendement de 78%.

Concernant les essais de protection par le groupement DMT, les conditions testées (DMTCl, AgNO₃, pyridine, THF) ne nous ont pas permis d'obtenir une conversion complète.

IV.5.d. Synthèse de la 3'-désoxy-3'-méthylène-2'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl-5'-*O*-trityluridine

Nous avons également réalisé des essais de tritylation sur le composé **223** portant un groupement méthylène en position 3'. En effet, le groupement trityle doit permettre d'orienter la réaction d'hydroboration sur le composé **224** vers la formation du composé ribo **225** (Schéma 162).

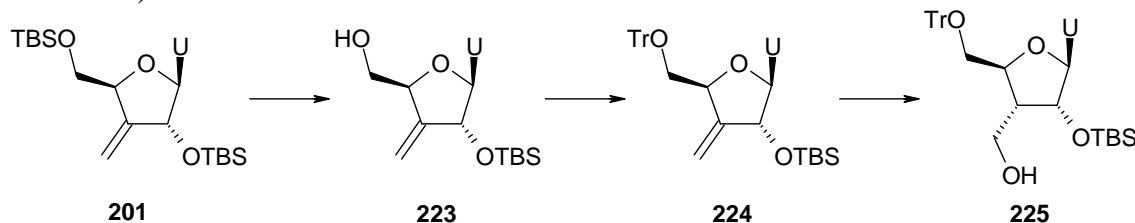


Schéma 162. Introduction d'un groupement trityle en position 5' dans le but d'orienter la réaction d'hydroboration.

Le composé **223** est synthétisé par déprotection du composé **201** avec un rendement de 65% en utilisant la méthode précédemment décrite (TFA / H₂O 1:1 dans THF à 0°C, 2h).

Dans un premier temps, nous avons réalisé les essais de protection avec le TrCl plutôt qu'avec le DMTCl pour des raisons de coût des réactifs.

Les différents essais réalisés pour la protection du composé **223** sont résumés dans le Tableau 24.

Essai	Conditions	Résultats
1	TrCl 1,2 éq Pyridine Reflux	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Réaction incomplète après 5h à reflux ▪ Ajout de 1 éq de TrCl et reflux une nuit : pas d'avancement supplémentaire
2	TrCl 1,2 éq DMAP 0,3 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Une nuit à TA : réaction incomplète ▪ 2 ajouts de 2 éq de DMAP et 0,3 éq de TrCl ▪ Réaction incomplète
3	TrCl 1,2 éq DMAP 4 éq Pyridine	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Réaction incomplète après une nuit à TA ▪ Ajout de 2 éq de DMAP et 0,3 éq de TrCl ▪ Réaction incomplète

Tableau 24. Essais de tritylation du composé **223**.

Ces différents essais ne montrent pas d'amélioration par rapport à la protection avec le DMTCl.

IV.5.e. Utilisation du tétrafluoroborate de diméthoxytrityle

C. J. Schofield *et al.*²⁸⁹ ont travaillé sur l'introduction du groupement DMT en position 5' de la 5-méthyl-2'-désoxycytidine. Ils ont également observé des conversions incomplètes et de faibles rendements lors de l'utilisation des conditions classiques telles que DMTCl / DMAP cat. / pyridine ou AgNO₃ / DMTCl / pyridine / THF. Ils se sont alors penchés sur l'utilisation du tétrafluoroborate de diméthoxytrityle (DMT⁺BF₄⁻), très bon réactif employé dans des protections « difficiles » de nucléosides. Ce dernier, associé avec Li₂CO₃ dans du THF conduit à des réactions complètes.

La synthèse du tétrafluoroborate de diméthoxytrityle **226** s'effectue en deux étapes à partir du DMTCl.²⁹⁰ La première étape conduit au composé **227** en présence de soude dans un mélange THF / eau 1:1 avec un rendement quantitatif. La seconde étape permet l'obtention d'un précipité rouge foncé de DMT⁺BF₄⁻ **226** avec un rendement de 99%.

²⁸⁹ Hansen, A. S.; Thalhammer, A.; El-Sagheer, A. H.; Brown, T.; Schofield, C. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 1181-1184.

²⁹⁰ Bleasdale, C.; Ellwood, S. B.; Golding, B.-T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 803-805.

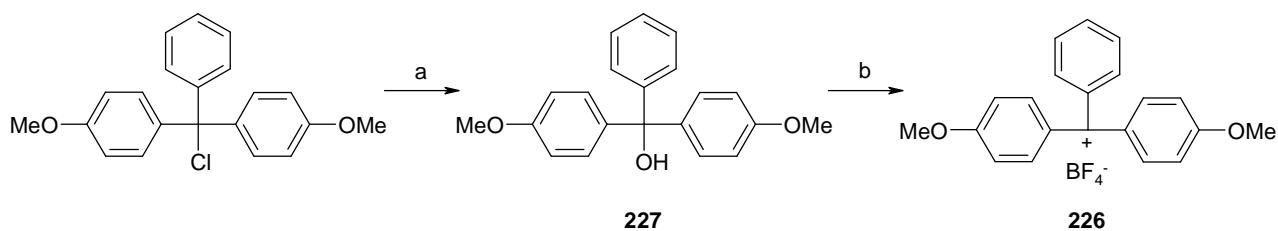


Schéma 163. Synthèse du $\text{DMT}^+\text{BF}_4^-$ **226**. Réactifs et conditions : a) NaOH 2 éq, THF / H_2O 1:1, 100% ; b) HBF_4 48% dans H_2O 2,5 éq, anhydride acétique 20 éq, 99%.

Nous avons donc utilisé les conditions décrites par C. J. Schofield *et al.*,²⁸⁹ afin d'introduire le groupement DMT en position 5' du composé **223** (Schéma 164).

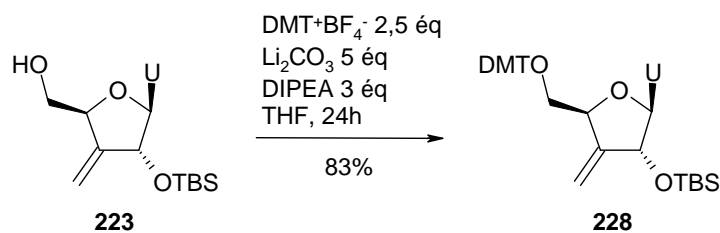


Schéma 164. Synthèse du composé **228** en utilisant les conditions décrites par C. J. Schofield *et al.*

Les travaux initiaux indiquent l'utilisation de 1,5 à 2 éq de $\text{DMT}^+\text{BF}_4^-$ dans du THF, en ayant séché au préalable le nucléoside et le carbonate de lithium sous vide, le temps de réaction étant d'environ 4h. La réaction menée dans ces conditions sur le produit **223** est incomplète. N'ayant pas de problème de sélectivité, nous avons ajouté des équivalents supplémentaires et augmenté le temps de réaction (Essai 1 - Tableau 25). Le rendement obtenu (72%) est bon malgré le fait que la solubilité des produits dans le milieu n'était pas totale. Afin d'augmenter la solubilité, une réaction a été menée dans le DMF (Essai 2), mais aucune amélioration significative n'a été notée. Enfin, en réalisant la réaction sur de plus grandes quantités et en utilisant du THF fraîchement distillé (Essai 3), nous avons pu diminuer le nombre d'équivalents de réactif tout en augmentant le rendement. Nous avons donc obtenu le composé **228** avec un rendement de 83%.

Essai	$\text{DMT}^+\text{BF}_4^-$	Temps de réaction	Solvant	Résultats
1	4 éq par portion de 0,25 éq	48h	THF	Milieu réactionnel trouble Rdt = 72%
2	2 éq par portion de 0,25 éq	4h	DMF	Pas d'amélioration significative par rapport au THF
3	2,5 éq par portion de 0,25 éq	36h	THF fraîchement distillé	Milieu réactionnel trouble Rdt = 83%

Tableau 25. Essais de tritylation à l'aide du $\text{DMT}^+\text{BF}_4^-$.

Les conditions optimisées ont donc été appliquées à la synthèse du composé **221** (Schéma 165).

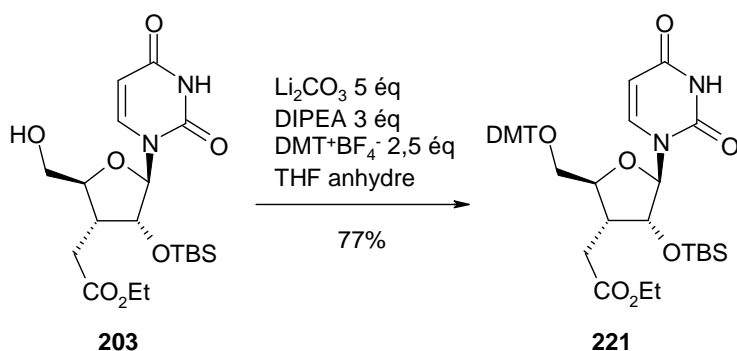


Schéma 165. Synthèse du composé 221.

Le composé **221** a donc pu être obtenu plus facilement et avec un meilleur rendement en comparaison des résultats obtenus à partir des voies de protection « classiques ».

IV.6. Hydroboration de la 3'-désoxy-5'-O-diméthoxytrityl-3'-méthylène-2'-O-tert-butylidiméthylsilyluridine

Le composé **228** portant un groupement DMT en position 5' peut maintenant être utilisé dans des réactions d'hydroboration sélectives en utilisant le protocole de A. Winqvist et R. Strömberg.²⁸² A une solution du composé **228** dans du THF à 0°C, est ajouté du 9-BBN-H (6 éq, solution 1 mol/L dans du THF). Le milieu est agité une nuit à TA. Il est refroidi à 0°C puis du méthanol est ajouté goutte à goutte. Quand le dégagement gazeux cesse, de l'eau distillée puis du $\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ sont ajoutés. Après 20h à TA, on note l'apparition en CCM de deux produits plus polaires ne comportant plus le groupement protecteur DMT. Un de ces deux produits est fortement majoritaire mais nous n'avons pas pu identifier le produit désiré **229** (Schéma 166).

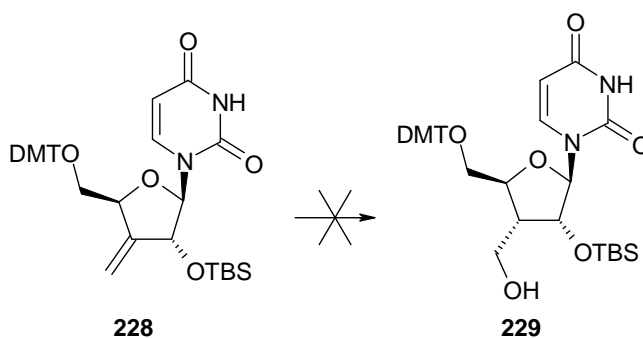


Schéma 166. Essais de réaction d'hydroboration sur le composé 228.

Nous avons réalisé la même réaction en ajoutant un équivalent de base (DIPEA) afin d'empêcher la déprotection du DMT, mais le résultat reste inchangé. Afin de pouvoir réaliser la réaction d'hydroboration, d'autres essais sont à réaliser, notamment en introduisant le groupement MMT en position 5'.

IV.7. Synthèse du dérivé uridine acide

Afin de pouvoir utiliser le composé **221** dans des réactions de couplage, l'ester en position 3' du nucléoside doit être saponifié (Schéma 167)

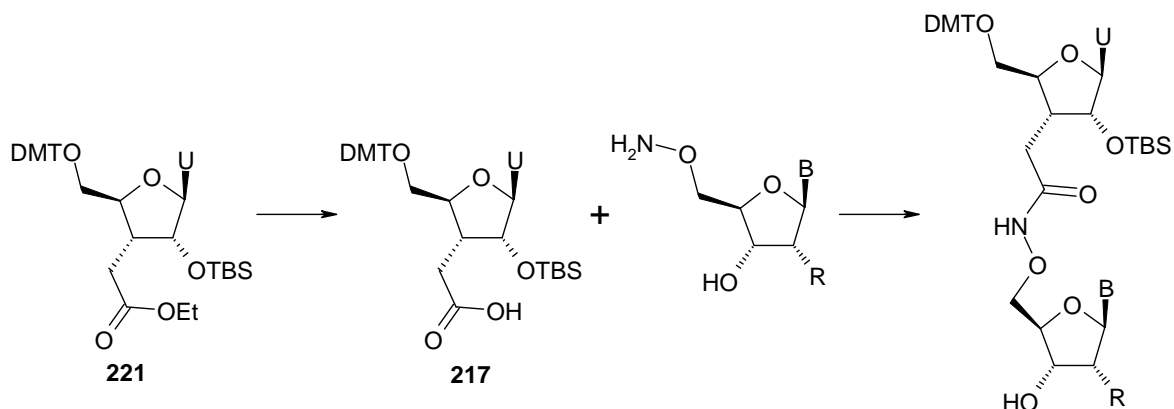


Schéma 167. Synthèse du composé **217** dans le but de former des dinucléosides liés par liaison *N*-oxy amide.

Le premier essai de saponification a été réalisé sur le composé **203** en utilisant de l'hydroxyde de lithium dans du méthanol (Schéma 168). Après neutralisation du milieu par résine échangeuse de cations, le composé **230** a été obtenu avec un rendement de 98%.

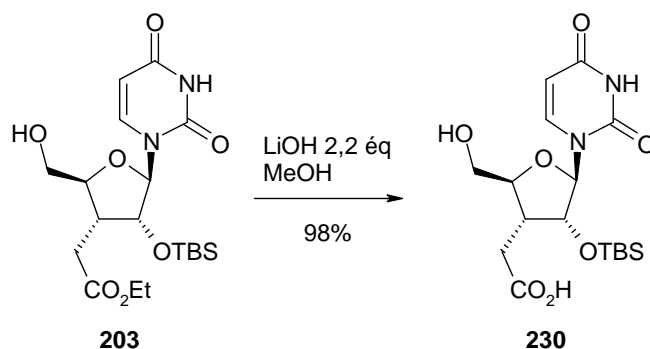


Schéma 168. Synthèse du composé **230** par réaction de saponification.

Par la suite, nous avons réalisé la saponification sur le composé **221** (Schéma 169). La conversion est totale après 3 jours et la neutralisation du milieu s'effectue à l'aide d'une solution saturée en NH_4Cl comme pour le dérivé thymidine acide **88**. En effet, un milieu acide (même faiblement) suffit à déprotéger le groupement DMT.

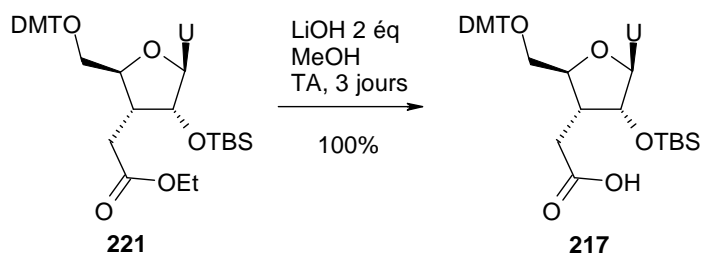


Schéma 169. Synthèse du composé **217** par saponification.

Le produit **217**, obtenu avec un rendement de 100%, peut maintenant être utilisé dans des réactions de couplage.

IV.8. Synthèse de dinucléosides liés par liaison *N*-oxy amide

Nous nous intéressons maintenant à la formation de dinucléosides qui donneront, après passage dans le synthétiseur, des oligonucléotides.

N'ayant pas pu obtenir le dérivé uridine oxyamine, nous avons décidé d'effectuer le couplage entre le dérivé uridine acide **217** et le dérivé thymidine oxyamine **82** précédemment synthétisé (Paragraphe II.3.b, p. 80). Nous avons repris les conditions utilisées (EDC, HOAt) pour l'obtention du dimère de thymidine **78**. Ceci nous a permis d'obtenir un nouveau produit que semble être le dinucléoside **231** (Schéma 170).

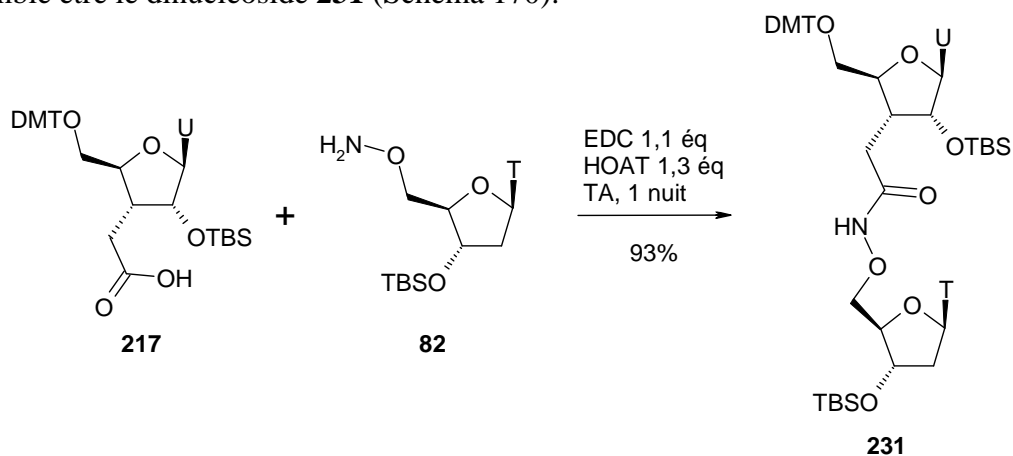


Schéma 170. Synthèse du dinucléoside **231**.

Nous envisageons de reproduire cette synthèse avec des quantités plus importantes et d'introduire le dinucléoside synthétisé dans des séquences ADN / ARN afin d'étudier l'influence des modifications effectuées.

V. Conclusions et perspectives

Dans ce chapitre, nous avons étudié la synthèse de trois types d'uridine aminoxy acides (composés **169** à **172**).

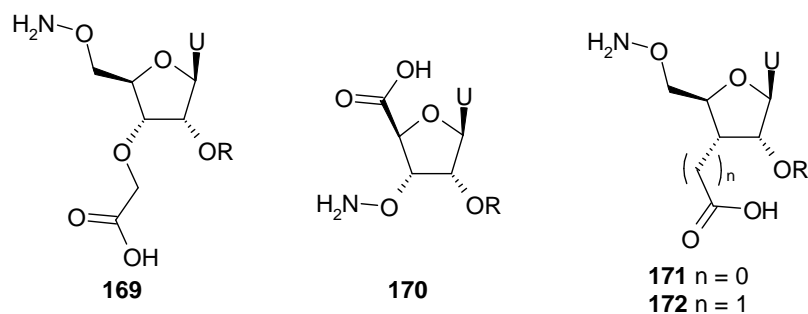


Schéma 171. Monomères de type uridine aminoxy acide.

La synthèse du monomère **169** a été étudiée *via* plusieurs approches.

Etant donné que la réaction de Mitsunobu sur l'uridine ne permet pas d'introduire le groupement phthalimidoxyle en position 5' (Voie A - Schéma 172), nous avons protégé les hydroxyles secondaires sous forme d'isopropylidène et nous avons pu réaliser la réaction de Mitsunobu. Cependant, la déprotection de l'isopropylidène n'a pas pu être réalisée (Voie A'). Nous avons alors envisagé une seconde approche *via* la protection des positions 2' et 5' par le groupement TBS. Cette voie de synthèse n'a pas non plus pu aboutir en raison des difficultés liées à la réaction d'O-alkylation (Voie A'').

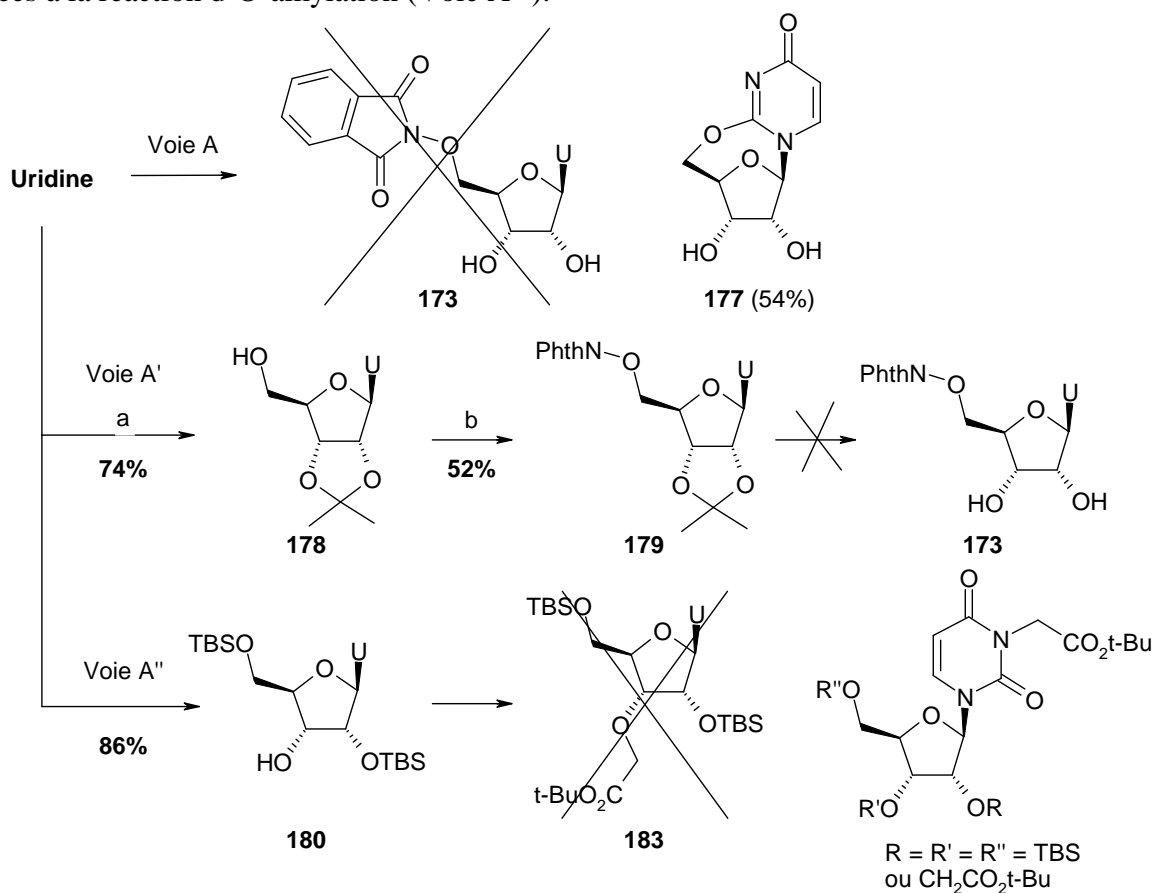


Schéma 172. Résumé des essais de synthèse du monomère **170**. Réactifs et conditions : Voie A – *N*-hydroxyphthalimide 1,2 éq, PPh₃ 1,4 éq, DEAD 1,3 éq, THF / DMF 6:1 ; Voie A' – a) BF₃.OEt₂ 1,2 éq, acétone ; b) *N*-hydroxyphthalimide 1,5 éq, PPh₃ 1,5 éq, DEAD 1,5 éq, DMF ; Voie A'' – AgNO₃ 3 éq, pyridine, TBSCl 3 éq, THF, 1h.

La synthèse du monomère **169** a donc été entreprise par la formation d'un 2,2'-anhydronucléoside qui nous a permis d'obtenir le dérivé ester **188** en 4 étapes avec un rendement de 17 % (Schéma 173).

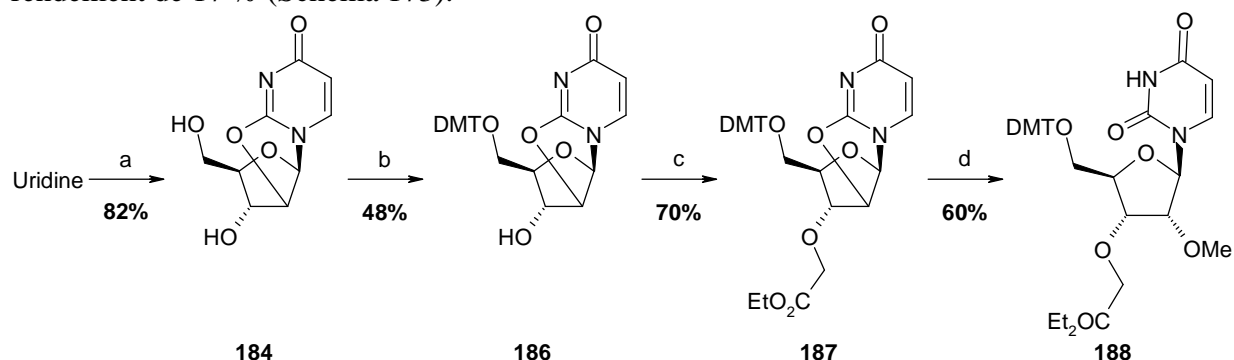


Schéma 173. Synthèse du composé **188**. Réactifs et conditions : a) Ph_2CO 1,1 éq, NaHCO_3 0,03 éq, DMF ; b) DMTCl 1,2 éq, DMAP cat., pyridine ; c) NaH 3 éq, $\text{BrCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ 4,5 éq, THF anhydre ; d) $\text{Mg}(\text{OCH}_3)_2$, MeOH.

Après saponification, ce monomère pourra être engagé dans des réactions de couplage afin de former un nouveau dinucléoside lié par liaison *N*-oxy amide (Schéma 174).

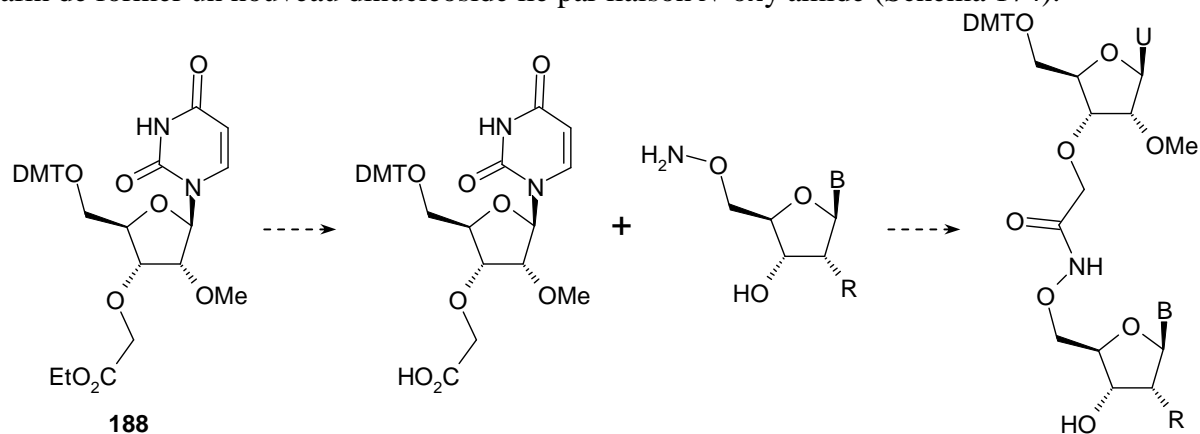


Schéma 174. Synthèse de dinucléosides à partir du composé **188**.

L'introduction de la fonction aminoxyle en position 5' peut également être envisagée, notamment en utilisant l'approche mise en œuvre dans la synthèse du monomère **172**. Après déprotection de l'hydroxyle en position 5', la fonction aminoxyle pourra être introduite en deux étapes à l'aide du composé iodé correspondant. La déprotection des fonctions aminoxyle et acide carboxylique conduira au monomère **169** (Schéma 175).

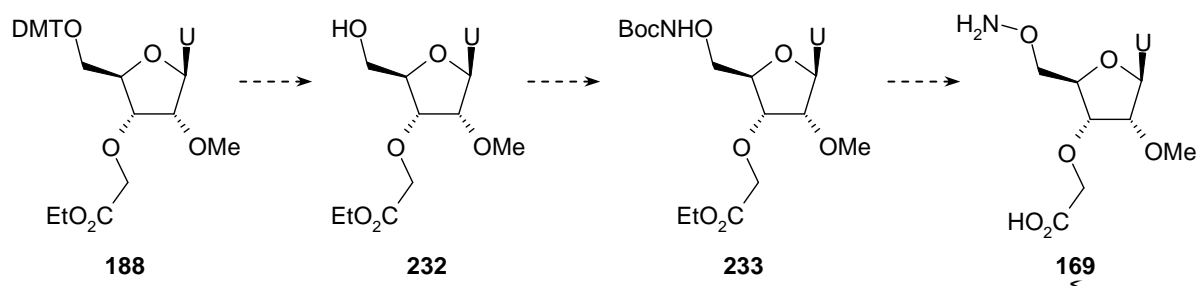


Schéma 175. Synthèse envisagée pour le monomère **169**.

La synthèse des oligonucléosides de la série 2 ayant la chaîne internucléotidique la plus courte n'a pas pu être menée à bien. En effet, la synthèse du monomère **170** n'a pas pu être réalisée par la voie de synthèse envisagée. L'introduction de la fonction aminoxyle en

position 3' par ouverture de l'anhydronucléoside **190** n'a pas conduit aux produits désirés **189** ou **198** (Schéma 176).

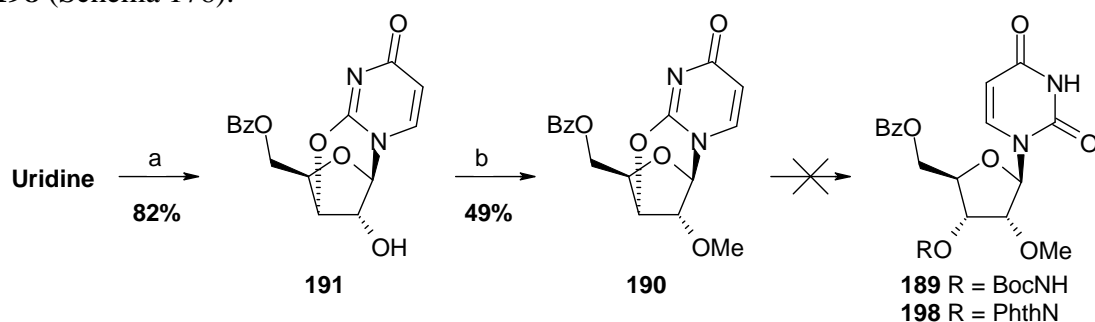


Schéma 176. Essais de synthèse du monomère **170**. Réactifs et conditions : a) PhCOOH 1,5 éq, PPh₃ 1,5 éq, DIAD 1,5 éq, DMF, 30 min puis PPh₃ 1,5 éq, DIAD 1,5 éq, 2h ; b) NaH 1,2 éq, MeI 1,2 éq, DMF anhydre.

Enfin, pour les oligonucléosides de la série 3, le monomère protégé **213** a pu être obtenu en 6 étapes à partir de l'uridine avec un rendement global de 29 % (Schéma 177). La réaction de Wittig sur le dérivé 3'-oxouridine suivie de l'hydrogénation en présence de Pd/C et d'acide acétique nous a permis d'obtenir le composé ribo désiré. L'introduction de la fonction aminoxyle n'a pas pu être réalisée par réaction de Mitsunobu, le groupement BocNHOH a donc été introduit en deux étapes *via* le passage par un dérivé iodé.

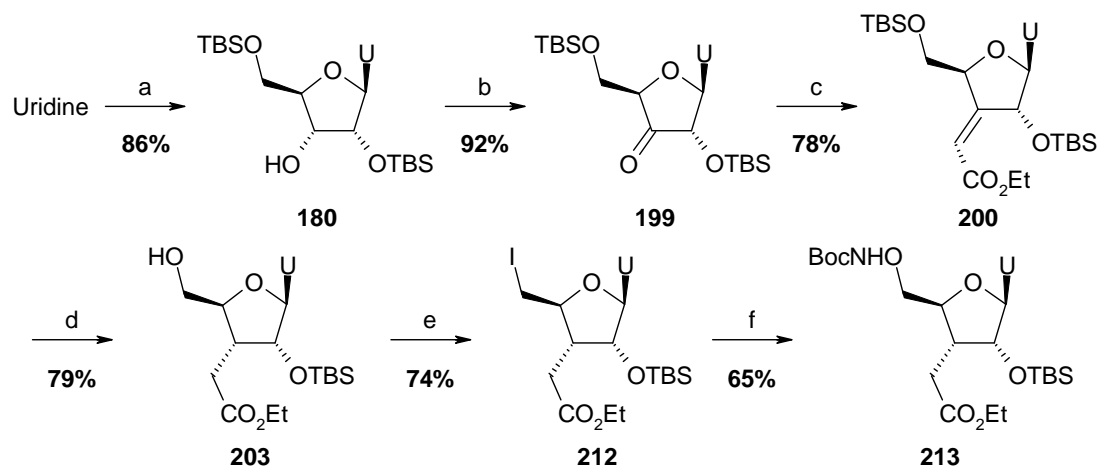


Schéma 177. Synthèse du monomère protégé **213**. Réactifs et conditions : a) AgNO₃ 3 éq, pyridine, TBSCl 3 éq, THF, 1h ; b) KBr 0,1 éq, NaHCO₃ 5%, NaOCl 10,2%, TEMPO 1 éq, CH₂Cl₂, 0°C, 30 min puis TA, 30 min ; c) Ph₃P=CHCO₂Et 1,5 éq, THF, 36h ; d) Pd/C 10% 0,05 éq, H₂ (flux), 1% AcOH dans MeOH, 36h ; e) NIS 2,5 éq, PPh₃ 3,5 éq, DMF, 50°C, 1 nuit ; f) BocNHOH 2,5 éq, DBU 5 éq, CH₂Cl₂.

Après la mise au point des conditions de déprotection du groupement Boc et de l'ester, la synthèse d'oligomères pourra être réalisée (Schéma 178).

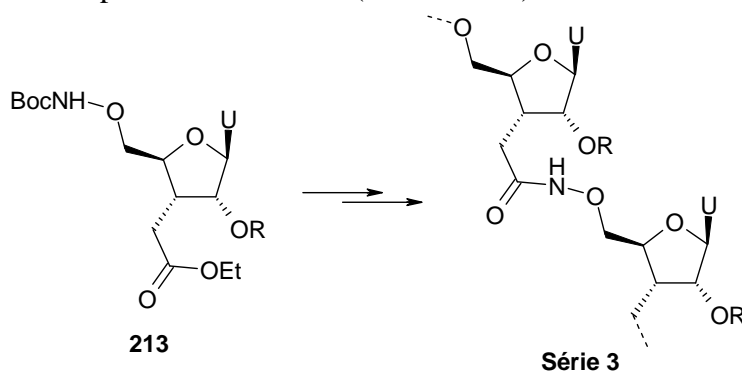


Schéma 178. Vers la synthèse des oligonucléosides de la série 3.

Dans cette série, à partir du dérivé ester **203** précédemment synthétisé, nous avons pu introduire un groupement DMT en position 5' et obtenir le composé uridine acide **217**. Nous avons ainsi pu obtenir un dinucléoside qui pourra prochainement être intégré dans des séquences d'oligonucléotides (Schéma 179).

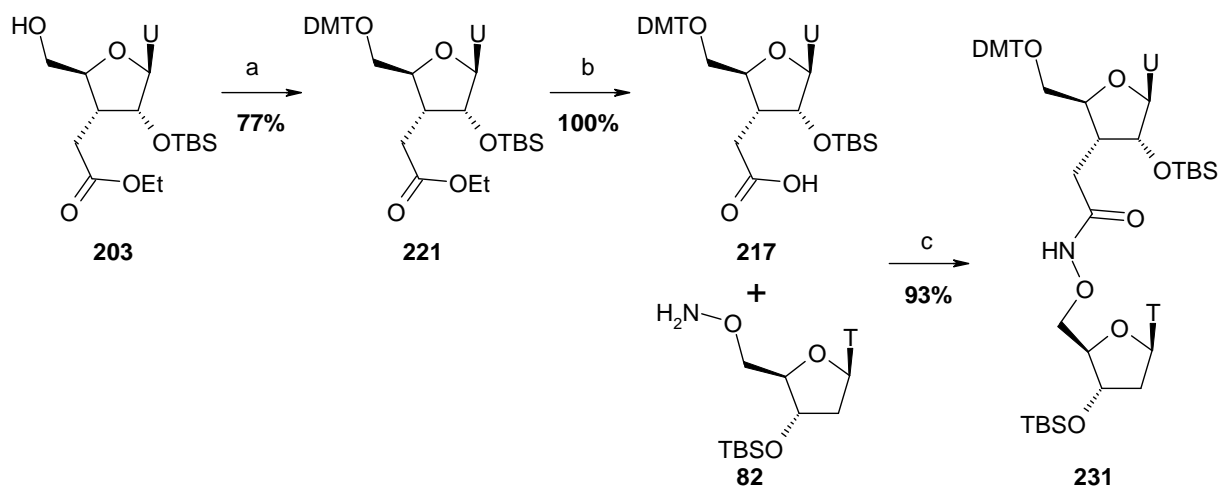


Schéma 179. Synthèse du dinucléoside **231**. Réactifs et conditions : a) Li_2CO_3 5 éq, DIPEA 3 éq, $\text{DMT}^+\text{BF}_4^-$ 2,5 éq, THF anhydre ; b) LiOH 2 éq, MeOH ; c) EDC 1,1 éq, HOAt 1,3 éq, DMF anhydre.

En parallèle, la synthèse du monomère **171**, comportant une chaîne plus courte, n'a pour l'instant pas pu être réalisée. Afin de réaliser l'étape d'hydroxylation et d'obtenir le composé de configuration ribo, le groupement MMT doit être introduit en position 5' du composé **223** (Schéma 180). A partir de là, la synthèse du monomère **171** ainsi que la synthèse de nouveaux dinucléosides pourront être envisagées.

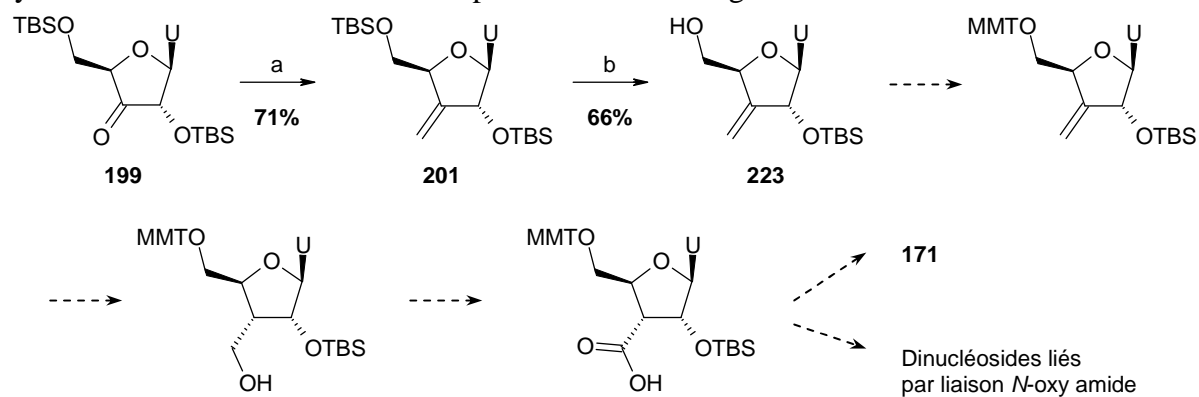


Schéma 180. Vers la synthèse du monomère **171** et de dinucléosides. Réactifs et conditions : a) $\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_3$, Br^- 2,6 éq, *t*-BuOK 2,6 éq, THF ; b) TFA / H_2O 1:1, THF, 0°C, 2h

Chapitre V :

Les *C*-glycosyl aminoxy acides

I. Introduction

Dans ce chapitre, nous allons développer les travaux effectués sur les *C*-glycosyl aminoxy acides. Ce travail a été effectué dans la continuité des études réalisées au laboratoire sur les glucoaminoxy acides. L'objectif est de former de nouveaux mimes de glycoprotéines.

Les sucres sont présents à la surface de toutes les cellules de l'organisme. Ils jouent un rôle essentiel dans les communications entre cellules et dans le fonctionnement du système immunitaire. Ils peuvent être une nouvelle génération de médicaments destinés à lutter contre les maladies infectieuses et le cancer.

Les sucres ont des fonctions très variées dans l'organisme. En plus de libérer de l'énergie *via* le glucose, ils ont, par exemple, un rôle structurel dans le cartilage. Ils se combinent aux protéines et aux lipides à la surface des cellules pour former des glycoconjugués (respectivement des glycoprotéines et des glycolipides). Ils participent aux communications inter-cellulaires et au fonctionnement du système immunitaire. Ils aident à lutter contre les micro-organismes pathogènes et freinent la progression de certains cancers.²⁹¹

Les nucléosides et les acides aminés se lient entre eux toujours de la même manière pour former des oligonucléotides et des peptides / protéines. En revanche, les sucres sont plus complexes. Ils se lient entre eux par des points différents et constituent des structures aux ramifications complexes. En effet, en combinant les 4 nucléotides de l'ADN on peut former 256 structures différentes de 4 unités. Avec les 20 acides aminés naturels, on peut obtenir environ 16000 configurations différentes de 4 éléments. En utilisant les sucres les plus simples (~10 sucres), on peut réaliser plus de 15 millions de configurations différentes de 4 éléments. Même si toutes les combinaisons n'existent pas dans la nature, le nombre de possibilités reste considérable.

Les sucres sont liés aux protéines dans l'organisme à l'aide de la glycosyltransférase, une enzyme qui permet la fixation des sucres aux protéines par glycosylation afin de former les glycoprotéines. La majeure partie des glycoprotéines se trouve sur la face externe de la membrane plasmique. La glycosylation des protéines introduit une diversité structurale énorme aux protéines.

Les glycoprotéines jouent un rôle important dans les processus biologiques. Les sucres et les acides aminés sont des synthons chiraux fondamentaux dans la nature. Ces synthons permettent de générer la diversité présente dans les systèmes biologiques.

Dans la nature, le sucre et la protéine sont liées soit par une liaison *N*-glycosidique dans le cas où le sucre est attaché à la chaîne latérale de l'asparagine, soit par une liaison *O*-glycosidique lorsque le sucre est lié à la chaîne latérale de la sérine, de la thréonine ou de la tyrosine (Schéma 181).

Les glycoprotéines naturelles sont facilement hydrolysable par les enzymes. Une modification chimique au niveau de la liaison *O*- ou *N*-glycosidique des glycoprotéines peut être l'introduction d'un groupement méthylène, des *C*-glycoprotéines sont ainsi formées. Les *C*-glycosyl aminoxy acides ont l'avantage d'être stable contre la dégradation chimique et enzymatique (hydrolyse acide, résistance aux glycosidases, aux réactions avec les glycosyltransférases). De plus, les *C*-glycosides adoptent la même conformation que les *O*-glycosides, ce qui a l'avantage de ne pas gêner la reconnaissance par les enzymes et les récepteurs contrairement à une modification par une désoxygénation ou par l'inversion d'un hydroxyle particulier.

²⁹¹ Maeder, T. *Pour la Science* **2002**, 299, 70-77.

La synthèse chimique des glycoprotéines a largement été étudiée au cours de ces dernières années.²⁹²⁻²⁹⁴ Le but est à la fois d'étudier le rôle vital qu'elles jouent dans la nature, et également de chercher de nouveaux agents thérapeutiques.²⁹⁵

Pour notre part, nous avons voulu synthétiser des C-glycosyl aminoxy acides en remplaçant la fonction amine des C-glycopeptides par une fonction aminoxyle (Schéma 181). Ce type de mimes de glycopeptides n'a jamais été décrit dans la littérature. L'incorporation de ces structures dans des glycopeptides, glycoprotéines pourrait apporter de nouvelles propriétés physico-chimiques et biologiques aux protéines.

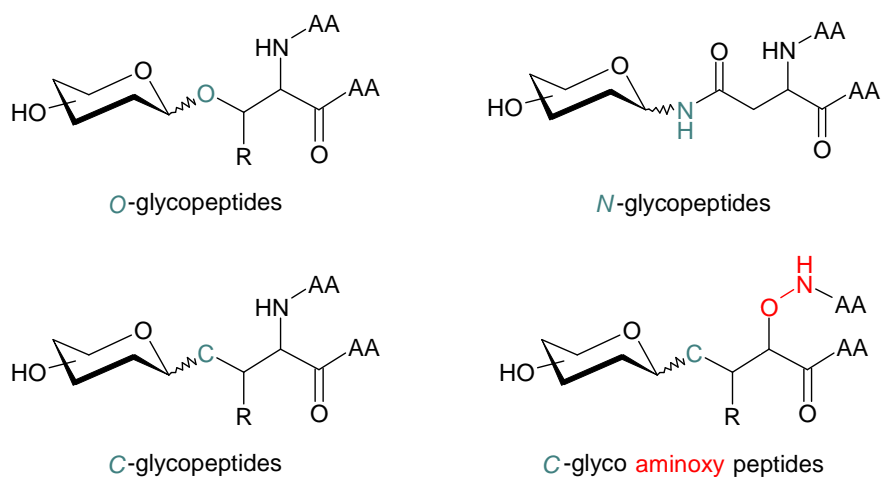


Schéma 181. Glycopeptides naturels (en haut) et modifiés (en bas).

²⁹² Herzner, H.; Reipen, T.; Schultz, M.; Kunz, H. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4495-4537.

²⁹³ Gamblin, D. P.; Scanlan, E. M.; Davis, B. G. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 131-163.

²⁹⁴ Payne, R. J.; Wong, C.-H. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 21-43.

²⁹⁵ Doores, K. J.; Gamblin, D. P.; Davis, B. G. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 656-665.

II. Synthèse du C-allyl glucoside

Nous envisageons de synthétiser des C-glucosyl aminoxy acides. Ces molécules peuvent être obtenues par la fonctionnalisation du C-allyl glucoside **232**, lui-même obtenu à partir du méthyl α -D-glucopyranoside commercial **9**.

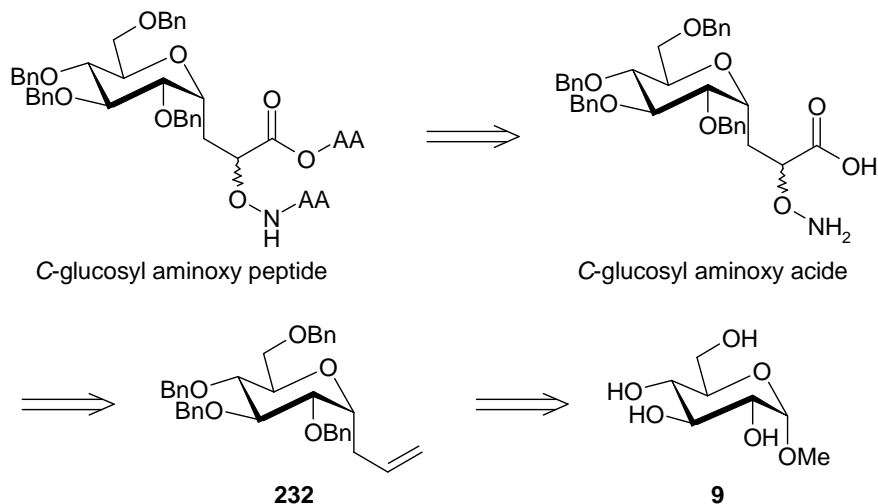


Schéma 182. Rétrosynthèse des C-glycosyl aminoxy peptides.

La synthèse du C-allyl glucoside perbenzylé **232** a été précédemment effectuée au laboratoire.

Le méthyl α -D-glucopyranoside **9** est tout d'abord protégé par une réaction de benzylation à l'aide d'hydruide de sodium et de bromure de benzyle dans le DMF avec un rendement de 98%. Le composé perbenzylé **233** subit ensuite une réaction de C-allylation stéréosélective dans les conditions décrites par C.-H. Wong *et al.*²⁹⁶ La réaction est réalisée en présence de TMSOTf et de TMSallyl dans l'acétonitrile avec un rendement de 80% (Schéma 183). Le TMSOTf joue le rôle d'acide de Lewis et permet la formation d'un intermédiaire oxocarbénium qui est soumis à l'attaque de l'allyle sur sa face α . La stéréosélectivité observée au cours de la réaction de C-allylation s'explique par l'effet anomérique.

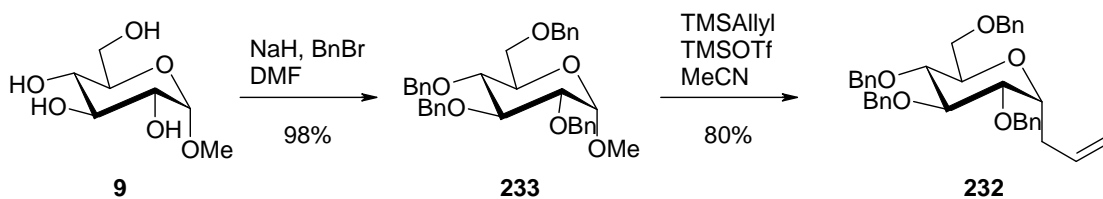


Schéma 183. Synthèse du précurseur **232**.

²⁹⁶ Hung, S.-C.; Lin, C.-C.; Wong, C.-H. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 5419-5422.

III. Synthèse de C-glucosyl aminoxy acides

La synthèse des C-glucosyl aminoxy acides peut être réalisée à partir du C-allyl glucoside perbenzylé **232**. Les fonctions acide carboxylique et aminoxy peuvent être introduites après une réaction de dihydroxylation du précurseur **232** (Schéma 184). La réaction d'hydroxylation entraîne la formation d'un carbone asymétrique au niveau de l'hydroxyle secondaire. Nous avons donc séparé les deux isomères et travaillé sur les deux séries.

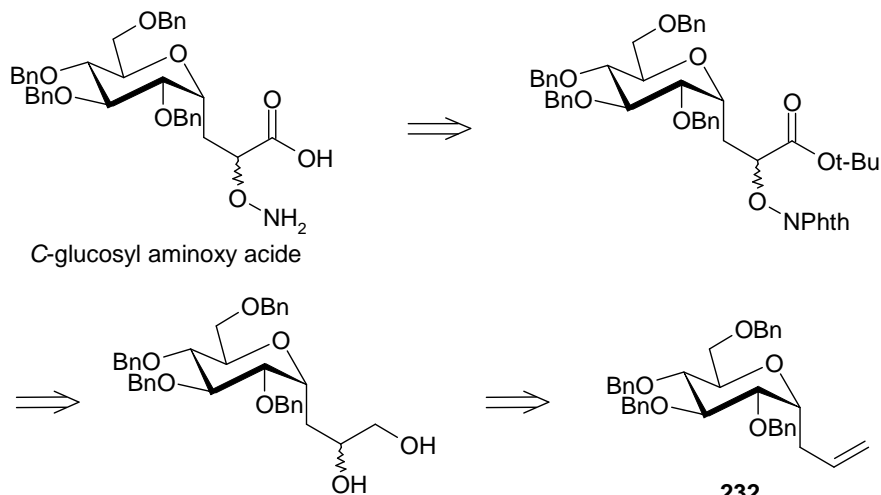


Schéma 184. Rétrosynthèse des C-glucosyl aminoxy acides.

III.1. Introduction bibliographique

Dans la littérature, la réaction de dihydroxylation a d'abord été décrite sur l'allyl-2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranoside **234** (Schéma 185).²⁹⁷ La réaction s'effectue en présence d'une quantité catalytique de tétraoxyde d'osmium (0,004 éq) et de *N*-méthyl morpholine *N*-oxyde (NMO, 1,5 éq) dans un mélange eau / acétone à 0°C. Un mélange de diols **235a** et **235b** est obtenu avec un rendement de 95% et le ratio des diastéréoisomères est de 35 / 65.

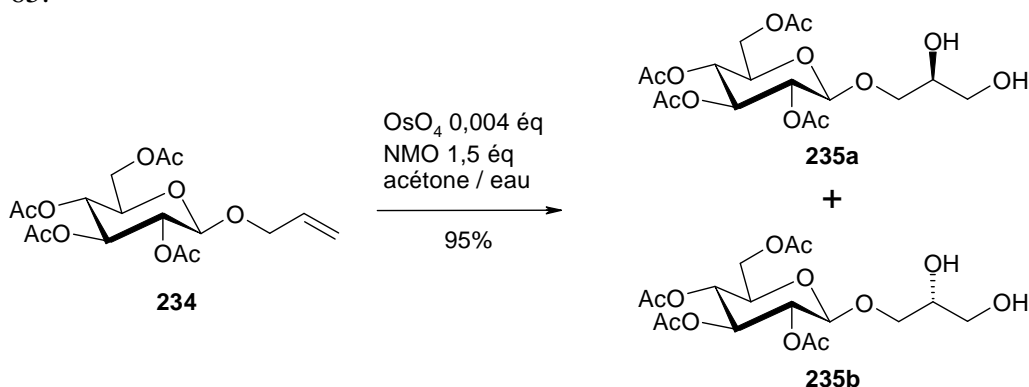


Schéma 185. Etape de dihydroxylation décrite par M. K. Gurjar et A. S. Mainkar.

Par la suite, la même équipe a effectué la synthèse de α -D-C-glucosyl- α -aminoxy acides²⁹⁸ afin d'étudier leur capacité à inhiber la glycosidase. La synthèse de ces α -D-C-

²⁹⁷ Gurjar, M. K.; Mainkar, A. S. *Tetrahedron Asymmetry* **1992**, 3, 21-24.

²⁹⁸ Gurjar, M. K.; Mainkar, A. S.; Syamala, M. *Tetrahedron Asymmetry* **1993**, 4, 2343-2346.

glucosyl- α -amino acides passe par la préparation du diol **236**. La purification des deux isomères formés étant difficile, l'hydroxyle primaire est d'abord protégé par un groupement trityle avant séparation des deux isomères par chromatographie sur colonne (Schéma 186). Plus récemment, en 2008, cette stratégie a été reprise par Y. D. Vankar *et al.*²⁹⁹ En réalisant la réaction de dihydroxylation en présence d' OsO_4 et de NMO, le ratio des deux isomères est le même (3:2).

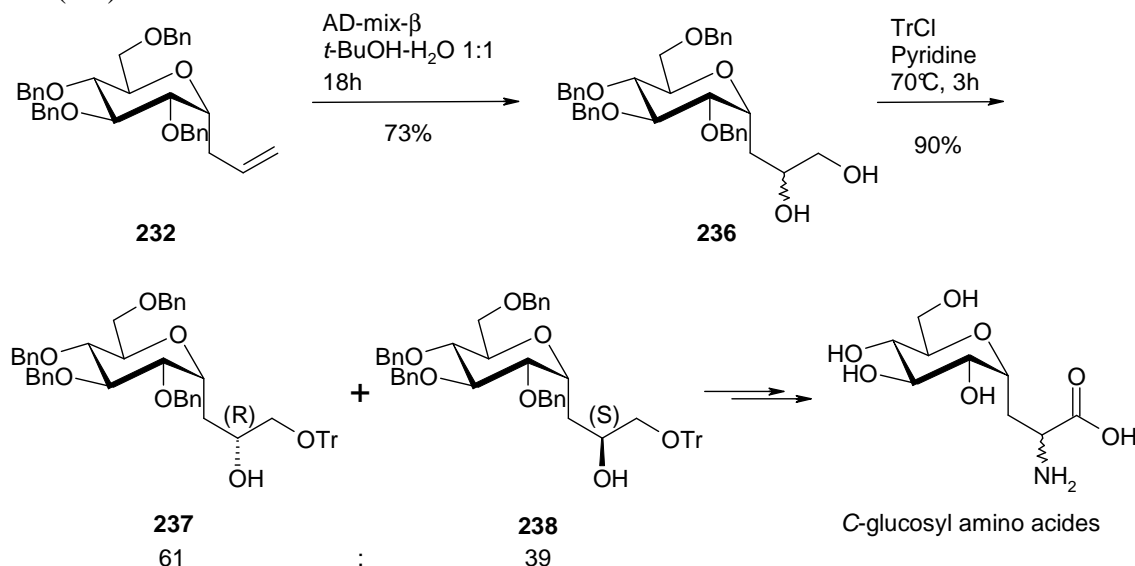


Schéma 186. Synthèse de C-glucosyl aminoxy acides décrite par M. K. Gurjar *et al.*

III.2. Synthèse des intermédiaires **237** et **238**

Pour synthétiser les composés **237** et **238**, nous avons choisi d'utiliser les conditions décrites par Y. D. Vankar *et al.*²⁹⁹ c'est-à-dire de réaliser la réaction en présence d'une quantité catalytique de tétraoxyde d'osmium, de NMO dans un mélange acétone / H_2O / *t*-BuOH. Le produit **236** est ainsi obtenu avec un rendement de 96% sous forme d'un mélange des deux diastéréoisomères.

L'étape de tritylation s'effectue ensuite en présence de chlorure de trityle (1,2 éq) et de triéthylamine (2 éq) dans le dichlorométhane. Après purification par chromatographie sur colonne, les deux diastéréoisomères **237** et **238** respectivement (R) et (S) sont obtenus avec un rendement de 90% dont 53% de composé (R) et 47% de (S).

Lorsque la réaction a été effectuée sur de plus grosses quantités (> 3 g), la séparation des isomères s'est révélée longue et fastidieuse, nécessitant trois colonnes pour obtenir une bonne séparation des deux diastéréoisomères. Nous avons alors effectué une première séparation des isomères après la réaction de dihydroxylation, ce qui nous a permis d'obtenir ~50% de composés purs (27% de (R) et 24% de (S)) et 40% d'un mélange R / S. Lors de l'étape de tritylation, la réaction sur les diastéréoisomères purs s'effectue avec des rendements de l'ordre de 80-90% (79% pour le composé **237** (R) et 86% pour le composé **238** (S)). Les purifications correspondent à des filtrations sur silice qui permettent d'éliminer l'excès de chlorure de trityle utilisé. La réaction sur le mélange des deux diastéréoisomères s'avère plus facile à purifier en raison des plus faibles quantités de produits. Le rendement de la réaction est alors de 92% dont 56,5% de (R) et 43,5% de (S).

La suite des réactions a donc été réalisée sur les deux séries de diastéréoisomères.

²⁹⁹ Ramana Doddi, V.; Prasad Kokatla, H.; John Pal, A. P.; Basak, R. K.; Vankar, Y. D. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5731-5739.

III.3. Réaction de Mitsunobu

L'étape suivante est une réaction de Mitsunobu qui permet l'introduction de la liaison N-O par réaction avec la *N*-hydroxyphthalimide (Schéma 187). La réaction de Mitsunobu implique une inversion de configuration du carbone asymétrique.

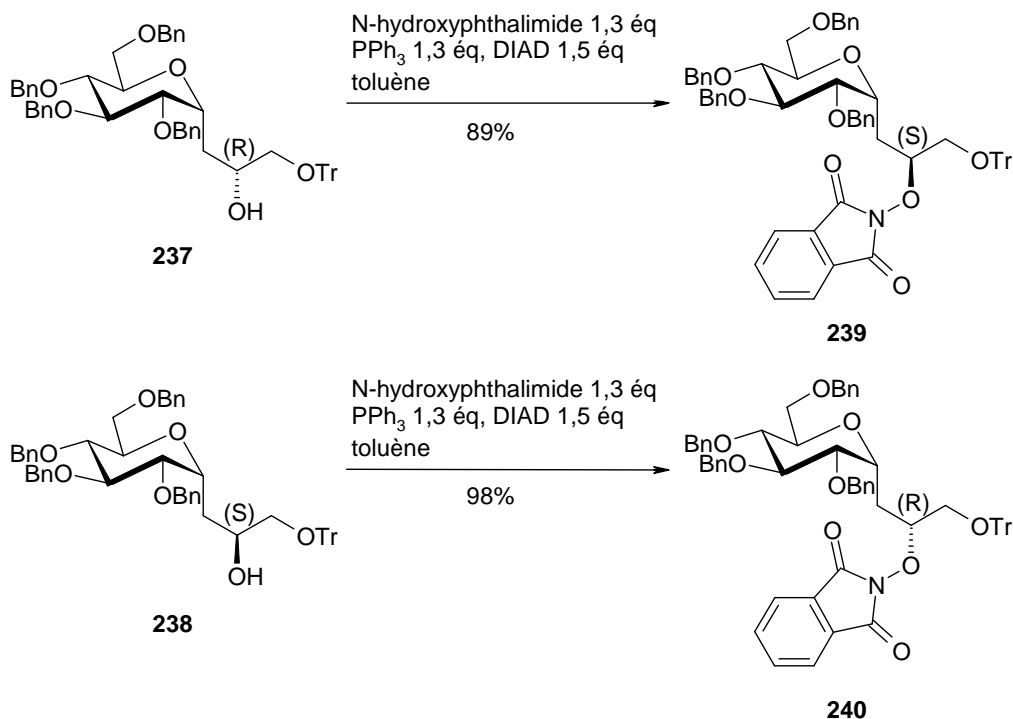


Schéma 187. Synthèse des composés **239** et **240** par réaction de Mitsunobu.

La réaction de Mitsunobu a, pour un premier essai, été réalisée sur un mélange des produits **237** et **238**. Dans les conditions classiques (N-hydroxyphthalimide 1,6 éq, PPh₃ 1,3 éq, DIAD 1,5 éq, C₀ ≈ 0,18 mmol/mL) dans du toluène, un dédoublement cinétique a été observé. En effet, après purification, nous avons obtenu le produit désiré **240** et le produit de départ **237** avec des rendements respectifs de 49% et 39%. La réaction a eu lieu sur l'isomère (S) **238** et aucun avancement n'a été observé sur le composé (R) **237**.

Par la suite, différents essais ont été réalisés. Ces essais sont résumés dans le Tableau 26.

Essai	Isomère	C ₀ (mmol/mL)	Solvant anhydre	Résultat
1	(S)	~0,06	Toluène	Rdt =16%
2	(R)	~0,06	Toluène	Pas de réaction
3	(S)	~0,10	DMF	41%
4	(R)	~0,10	DMF	31%
5	(S)	~0,10	CH ₂ Cl ₂	55%

Tableau 26. Différents essais de Mitsunobu effectués sur les composés **237** (R) et **238** (S).

La réaction a tout d'abord été menée sur les deux isomères dans différents solvants (toluène : Essais 1 et 2, DMF : Essais 3 et 4, CH₂Cl₂ : Essai 5). Dans chaque cas, de faibles rendements ont été obtenus.

Nous nous sommes alors tournés vers les conditions optimisées utilisées pour la synthèse de la thymidine oxyamine (Chapitre III, paragraphe II.2, p. 77). En réalisant la réaction dans un milieu plutôt concentré (0,15 mmol/mL), nous avons pu observer que le milieu réactionnel prend une couleur rouge foncé lors de l'ajout du DIAD, ce qui signifie que la réaction a lieu. Dans les essais précédents, la coloration rouge foncé apparaît et disparaît très rapidement après l'ajout du DIAD.

Finalement, en réalisant la réaction de la manière suivante : à une solution de **237** ou de **238** dans du toluène anhydre (0,25 mmol/mL) placée sous atmosphère inerte et réfrigérée à 0°C, du N-hydroxyphthalimide (1,3 éq) et de la triphénylphosphine (1,3 éq) sont ajoutés. Puis, par un goutte à goutte lent (~1 goutte toutes les 10 secondes), une solution de DIAD (1,5 éq) dans du toluène anhydre (~0,7 mmol/mL) est ajouté dans le mélange. Le milieu réactionnel prend alors une couleur rouge foncé. A la fin de l'ajout, la température est laissée revenir à TA et le mélange est agité pendant une nuit. Après traitement et purification, les composés **239** et **240** sont obtenus avec des rendements respectifs de 89% et de 98%.

III.4. Déprotection de l'alcool primaire

L'étape suivante est la déprotection de l'alcool primaire portant le groupement protecteur trityle afin de pouvoir l'oxyder par la suite.

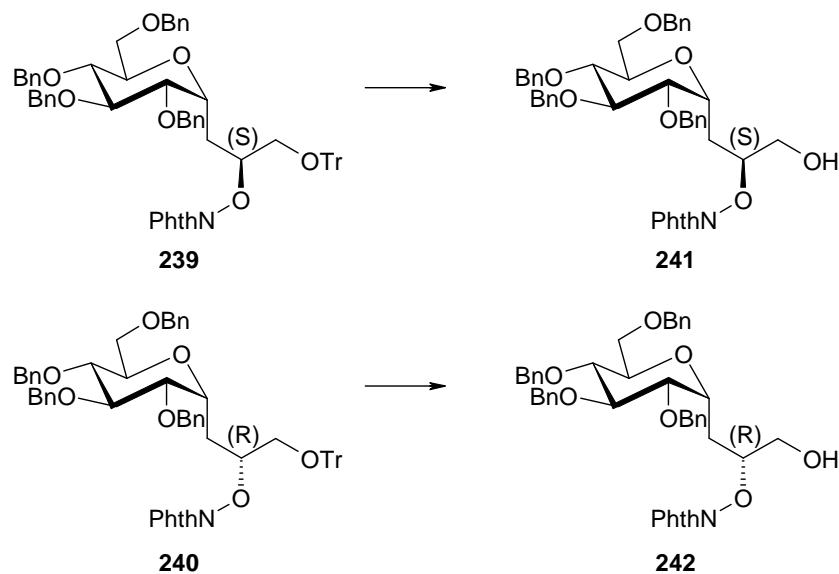


Schéma 188. Synthèse des composés **241** et **242** par déprotection du groupement trityle.

Les conditions classiques de déprotection du groupement trityle sont l'utilisation de TFA dans le dichlorométhane. En utilisant un mélange à 10% de TFA dans le dichlorométhane, nous avons observé une dégradation du produit de départ (Essai 1 - Tableau 27). En réduisant la quantité de TFA utilisée, la réaction s'est révélée longue et incomplète au bout de 3 jours (Essai 2). Nous avons alors opté pour l'utilisation d'acide acétique. En portant le milieu réactionnel à reflux, l'avancement de la réaction est faible (Essai 3).

L'utilisation d'iode dans le méthanol a été décrite par R. C. Ronald *et al* pour la déprotection d'un groupement trityle situé en position 6 d'un glucose protégé, ce qui leur a

permis d'obtenir le produit détritylé avec un rendement de 84% en seulement 6h.³⁰⁰ Nous avons alors repris ces conditions, mais sans succès, la réaction s'avère toujours incomplète (Essai 4).

Essai	Conditions	Résultats
1	10% TFA dans CH ₂ Cl ₂	▪ Dégradation rapide du produit
2	TFA 1,5 éq CH ₂ Cl ₂	▪ 3 jours à TA ▪ Rdt = 35%
3	CH ₃ COOH 80%	▪ 24h à reflux ▪ Réaction incomplète
4	1% I ₂ dans MeOH	▪ 3 jours ▪ Réaction incomplète
5	Méthode A : colonne contenant 1% de TFA dans CH ₂ Cl ₂	▪ Rdt = 57% pour le composé 241
6	Méthode B : colonne contenant 5% de TFA dans CH ₂ Cl ₂	▪ Rdt = 52% sur 100 mg de 239 ▪ Rdt = 34% sur 550 mg de 239 ▪ Rdt = 60% sur 200 mg de 240
7	Méthode C : 5% TFA dans CH ₂ Cl ₂ 5 min puis colonne	▪ Rdt = 88% sur 500 mg de 239 ▪ Rdt = 100% sur 780 mg de 240

Tableau 27. Essais de déprotection des composés **239** et **240**.

R. C. Reynolds *et al.* ont reporté en 2001 la déprotection du groupement trityle par une méthode combinant l'utilisation de TFA et la purification par chromatographie.³⁰¹ Cette méthode permet notamment l'utilisation de faibles quantités de TFA.

Nous avons alors repris cette méthode de déprotection et nous avons réalisé différents essais décrits ci-dessous.

La méthode A peut être décrite comme suit : une colonne de silice (5 g) est préparée avec de l'éther de pétrole et une solution à 1% de TFA dans du dichlorométhane (1 mL) est chargée et éluée, suivie de la solution contenant l'échantillon (50 mg) dans du dichlorométhane (5 mL). La colonne est ensuite éluée avec le système d'éluant approprié. Nous avons appliqué cette méthode (Essai 5) et nous avons obtenu le produit déprotégé **241** avec un rendement de 57%.

Nous avons alors utilisé la méthode B qui correspond à une augmentation de la quantité de TFA utilisé (5% dans le CH₂Cl₂). Lors des différents essais réalisés (Essai 6), les rendements étaient plutôt faible (34% pour 550 mg de composé **239**). La réaction de détritulation n'était pas complète puisque du produit de départ était également obtenu en sortie de colonne.

³⁰⁰ Wahlstrom, J. L.; Ronald, R. C. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6021-6022.

³⁰¹ Pathak, A. K.; Pathak, V.; Seitz, L. E.; Tiwari, K. N.; Akhtar, M. S.; Reynolds, R. C. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 7755-7757.

Nous avons alors utilisé la méthode C (Essai 7). L'échantillon (50 mg) est dissous dans le dichlorométhane (5 mL) et 5% de TFA sont ajoutés. Le mélange est chargé sur la colonne après 5 min d'agitation. Cette méthode nous a permis d'obtenir de très bons rendements. Le composé **241** a été obtenu avec un rendement de 88% et le composé **242** avec un rendement de 100%.

III.5. Etape d'oxydation

La fonction alcool primaire est ensuite oxydée en ester pour former les composés **243** et **244** (Schéma 189).

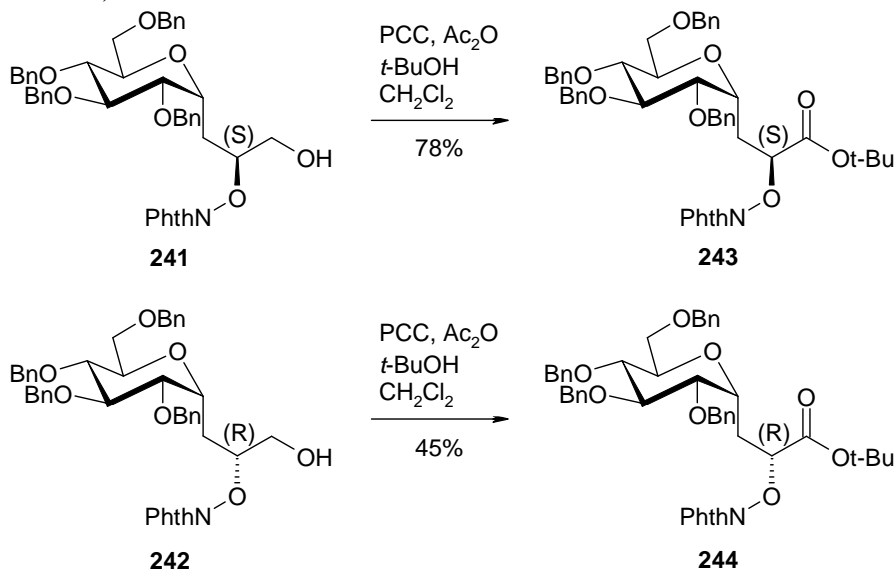


Schéma 189. Synthèse des composés **243** et **244** par réaction d'oxydation.

Nous avons réalisé la réaction d'oxydation en présence de PCC (2,1 éq), d'anhydride acétique (10 éq) dans un mélange *tert*-butanol / dichlorométhane 1:9 pour obtenir les esters **243** et **244**. Le composé **243** a été obtenu avec un rendement de 78% après traitement et purification et le composé **244** avec un rendement de 45%.

Nous avons ainsi obtenu les C-glucosyl aminoxy esters désirés.

III.6. Déprotection de la fonction aminoxy

Nous avons ensuite déprotégé la fonction aminoxy dans le but de pouvoir la coupler avec des acides aminés pour montrer qu'il est possible de former des mimes de glycopeptides.

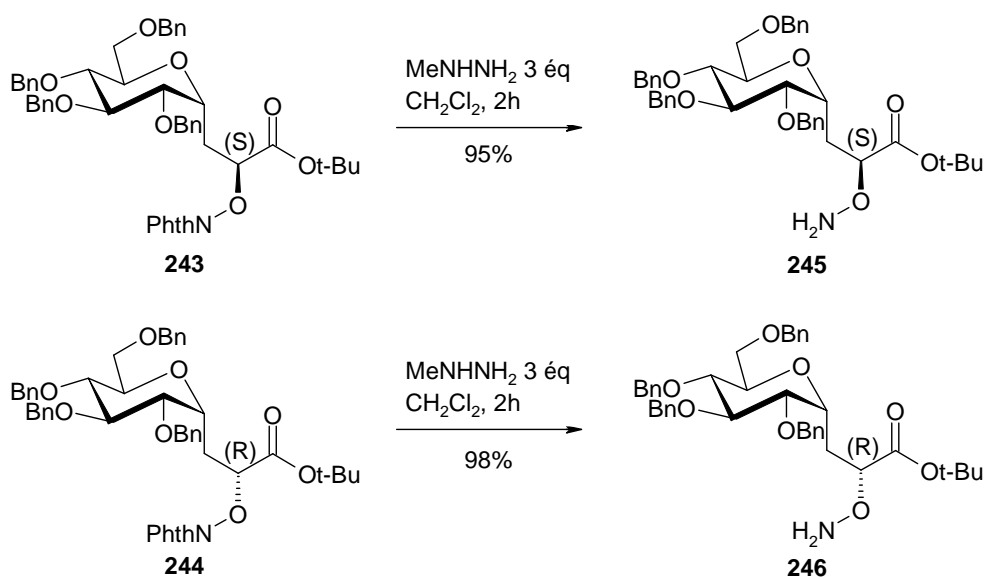


Schéma 190. Synthèse des composés **245** et **246** par réaction d'hydrazinolyse.

La déprotection du groupement phthalimidoxyle s'effectue en présence de méthylhydrazine (3 éq) dans le dichlorométhane avec de très bons rendements (95% pour le composé **245** et 98% pour le composé **246**). Nous avons obtenu le produit brut qui devra être engagé dans les réactions de couplage peptidique.

IV. Conclusion

Nous avons pu réaliser la synthèse des *C*-glucosyl aminoxy esters **245** et **246**. A partir du *C*-allyl glucoside perbenzylé **232**, la synthèse s'effectue en 6 étapes. L'étape de dihydroxylation permet la formation de deux diastéréoisomères, qui après séparation par chromatographie sur colonne, sont utilisés séparément pour conduire à deux molécules de configuration différente (Schéma 191).

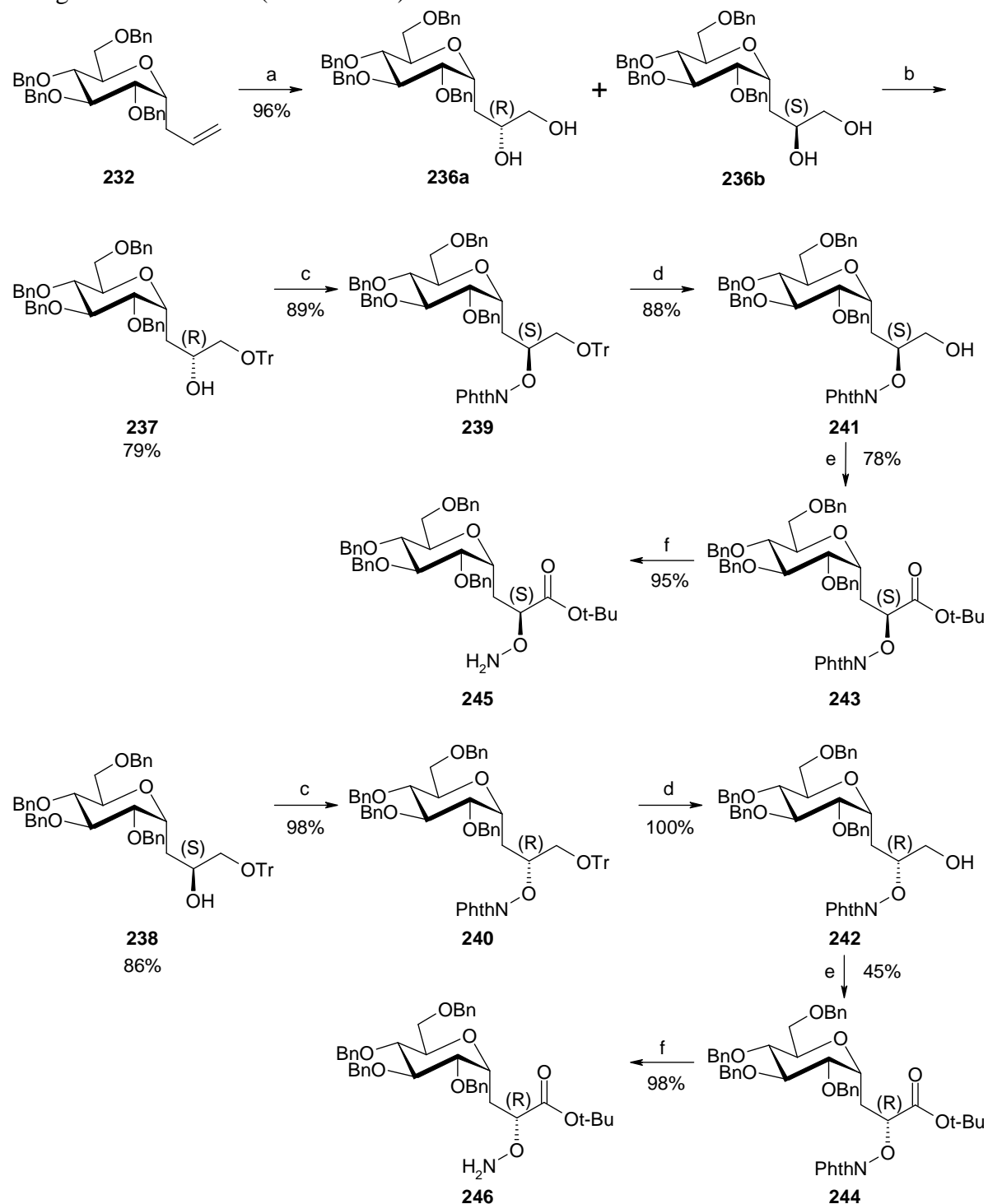


Schéma 191. Résumé de la synthèse des composés **245** et **246**. a) OsO_4 cat., NMO 1,5 éq, acétone / H_2O ; b) TrCl 1,2 éq, Et_3N 2 éq, CH_2Cl_2 ; c) *N*-hydroxyphthalimide 1,3 éq, PPh_3 1,3 éq, DIAD 1,5 éq, toluène anhydre ; d) 5% TFA dans CH_2Cl_2 , TA, 5 min ; e) PCC 2,1 éq, Ac_2O 10 éq, *t*-BuOH, CH_2Cl_2 ; f) MeNHNH_2 3 éq, CH_2Cl_2 , 2h.

Lors de cette synthèse, l'étape clef a été l'introduction de la liaison N-O. Encore une fois, le contrôle de la vitesse d'introduction du DIAD dans le milieu ainsi que la concentration ont joué un rôle crucial dans l'amélioration du rendement de cette réaction de Mitsunobu.

Les conditions de déprotection du groupement trityle ont également été mises au point. Le contrôle du temps de réaction a permis d'obtenir de très bons rendements tout en évitant la dégradation du produit.

Les C-glycosyl aminoxy esters **245** et **246** pourront ensuite être engagés dans des réactions de couplage peptidique afin d'introduire un acide aminé et de montrer qu'il est possible de former des mimes de glycopeptides comportant une fonction aminoxy.

Conclusion générale

Le travail présenté dans cette thèse est principalement axé sur la synthèse de nouveaux analogues de nucléosides en vue de leur incorporation dans un enchaînement oligonucléotidique afin de pouvoir étudier leurs caractéristiques physicochimiques et leurs propriétés biologiques.

Dans le premier chapitre, nous avons reporté l'intérêt des peptides d'aminooxy acides développés et étudiés par l'équipe de D. Yang. En effet, les peptides d'aminooxy acides forment des structures bien définies comme des α , β , γ -turns ou des hélices grâce à la facilité de formation des liaisons hydrogène intramoléculaires. Précédemment, au laboratoire, la synthèse de glycoaminooxy acides a été développée en série glucose et ribofuranose. Dans la continuité de ces travaux, le travail de cette thèse a été le développement de nouveaux C-glucosyl aminooxy acides et de nouveaux oligomères de nucléosides aminooxy acides.

Dans le second chapitre, nous avons rappelé les caractéristiques des nucléosides, des nucléotides et des acides nucléiques ainsi que les principales modifications décrites dans la littérature, tant sur les nucléosides que sur les oligomères. Nous avons mis en évidence l'intérêt des analogues de nucléosides dans les stratégies thérapeutiques actuelles en raison de leurs nombreuses activités antivirales, anticancéreuses ou antitumorales. Les oligonucléotides modifiés, bien que peu utilisés pour l'instant au niveau thérapeutique, ont un grand potentiel par la mise en place des stratégies antisens, antigène et la découverte du phénomène d'interférence d'ARN.

La partie commune aux trois chapitres suivants est l'introduction de la fonction aminoxyle sur les molécules cibles. La réaction de Mitsunobu est classiquement utilisée et nous l'avons donc largement utilisée dans notre stratégie de synthèse. Son utilisation a révélé de nombreuses surprises et difficultés.

Tout d'abord, sur les nucléosides thymidine et uridine, les résultats se sont révélés différents alors que ces molécules ne diffèrent que par la présence ou non d'un hydroxyle en position 2'. Sur la thymidine, la réaction a pu être réalisée avec un bon rendement après la mise au point des conditions. Ces conditions optimisées passent par le contrôle de la vitesse d'introduction du DIAD, de la température du milieu réactionnel ainsi que par l'échelle de la réaction.

Dans la série uridine, en revanche, différents résultats ont été obtenus en fonction du substrat de départ. En effet, la réaction de Mitsunobu avec le *N*-hydroxyphthalimide sur l'uridine conduit à la formation du 5,5'-anhydrouridine **177**. La protection des hydroxyles secondaires de l'uridine par un groupement isopropylidène permet l'introduction du groupement phthalimidoxyle, mais ce groupement semble gênant pour la déprotection de l'isopropylidène. Le composé désiré **173** n'a donc pas pu être obtenu.

Ensuite, lorsque l'uridine a été convertie en 2,2'-anhydronucléoside ou fonctionnalisée, l'introduction du groupement phthalimidoxyle n'a pas pu être réalisée. L'encombrement stérique en est peut être la cause et l'étude par cristallographie des composés est en cours. Nous avons alors dû développer de nouvelles stratégies pour réaliser l'introduction de la fonction aminoxyle en position 5'. Le passage par un dérivé iodé suivi d'une substitution nucléophile avec le réactif BocNHOH ont notamment permis de contourner le problème.

La réaction de Mitsunobu sur les C-glucosyl alcools a également dû être mise au point. En effet, le contrôle de la concentration C_0 du milieu réactionnel ainsi que l'ajout lent du DIAD se sont révélés être deux paramètres cruciaux pour obtenir les composés désirés **239** et **240** avec de bons rendements.

L'autre étape importante lors de la synthèse des nucléosides aminoxy acides a été l'étape d'O-alkylation. En effet, la régiosélectivité de cette réaction est très difficile à contrôler. Aussi bien sur la thymidine que sur l'uridine, la réaction d'alkylation avec un α -bromo ester a conduit au produit N-alkylé ou au produit N,O-dialkylé. Les produits O-alkylés désirés n'ont pas pu être isolés. En série thymidine, le problème a été contourné en réalisant une O-allylation. En effet, l'introduction d'un groupement allyle en position 3'-O peut être effectuée dans le THF ; la même réaction dans le DMF conduisant au produit N-alkylé. En série uridine, le passage par le 2,2'-anhydronucléoside **184** nous a permis de bloquer temporairement la position N-3 de l'uridine ainsi que la position 2'-O. La réaction d'alkylation avec l' α -bromo ester a alors pu être effectuée avec un bon rendement (70%) en utilisant plusieurs équivalents de NaH et d' α -bromoester.

D'autre part, nous avons voulu réaliser la synthèse de nucléosides présentant un carbone en position 3'. En série thymidine, la voie de synthèse mise au point passe par un intermédiaire 3'-oxothymidine. Or, ce type de composés est instable en milieu basique. La réaction de Wittig envisagée n'a donc pas conduit au composé **139** désiré mais aux produits d'élimination. En série uridine, la 3'-oxouridine est stable en raison de la présence supplémentaire d'un oxygène en position 2'. Nous avons donc pu réaliser la réaction de Wittig avec deux ylures ($\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Et}$ et $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}_2$). L'hydrogénation de l'ester α,β -éthylénique correspondant a ensuite permis l'obtention du composé ribo **203**. Par contre, l'hydroboration du groupement méthylène n'a pas permis, pour l'instant, l'obtention du composé avec la configuration ribo désirée.

Pour résumer, nous avons pu obtenir différents nucléosides monofonctionnalisés avec une fonction oxyamine, aldéhyde ou acide carboxylique à l'aide notamment des réactions de Mitsunobu, d'O-allylation et de Wittig. La synthèse d'une uridine aminoxy ester a également été réalisée à partir de l'uridine avec un rendement global de 29%.

A partir de ces nucléosides fonctionnalisés, nous avons pu synthétiser 4 nouveaux dinucléosides liés par liaison oxime, aminoxy et N-oxy amide.

Les tests d'activités biologiques de ces dinucléosides déprotégés sont actuellement en cours. Nous envisageons également d'introduire ces dinucléosides dans des séquences ADN et ARN afin d'étudier leurs propriétés.

Dans la série thymidine, bien que nous n'ayons pas pu obtenir la thymidine aminoxy acide, les perspectives de synthèse sont importantes. Une première possibilité est d'introduire d'abord le groupement allyle en position 3' par une approche radicalaire. Une deuxième approche est d'effectuer une O-allylation sur la thymidine protégée en 5'. Nous pouvons alors envisager l'introduction de la fonction aminoxy de diverses manières (réaction de Mitsunobu, passage par un dérivé mésylé ou iodé puis substitution nucléophile à l'aide du BocNHOH). Une coupure oxydante puis une oxydation doivent permettre l'obtention des thymidines aminoxy acides désirées.

Enfin, la synthèse des C-glycosyl aminoxy acides a également été développée. Après la mise au point des conditions de Mitsunobu, nous avons pu obtenir les dérivés C-glucosyl aminoxy esters **245** et **246** avec de bons rendements. Ces composés doivent être couplés avec des acides aminés pour montrer qu'il est possible de créer de nouveaux mimes de glycopeptides.

Partie expérimentale

I. Généralités et appareillage

Solvants

Si rien n'est indiqué, les réactifs et solvants sont utilisés sans purification particulière. Le THF a été utilisé fraîchement distillé sur sodium en présence de benzophénone. Le DMF distillé sur CaH₂ a été stocké sur du tamis moléculaire 4 Å sous atmosphère inerte. La pyridine a été préalablement séchée sur KOH. Les solvants utilisés dans la synthèse, à l'exception du DMF, sont des solvants de qualité spectroscopique.

Chromatographie

Les analyses chromatographiques sur couche mince (CCM), ont été réalisées sur des plaques de silice sur aluminium SDS F₂₅₄. Les CCM sont ensuite visualisées sous lampe UV à 254 nm et à 365 nm. Elles sont ensuite trempées dans un révélateur chimique puis révélées par décomposition des substances à l'aide d'un décapeur thermique ($T_{\max} = 600^{\circ}\text{C}$).

Révélateur 1 : EtOH + 10% H₂SO₄ – Révèle les sucres.

Révélateur 2 : EtOH + 0,3% ninhydrine + 3% AcOH glacial – Révèle les amines.

Les purifications par chromatographie sur colonne ont été effectuées avec de la silice SDS de granulométrie 40-63µm.

Spectroscopie RMN

Les spectres RMN ont été enregistrés sur le spectromètre JEOL ECS 400 (ENSC) avec une sonde large bande. Les fréquences d'irradiation du ¹H et du ¹³C sont respectivement de 399,78 MHz et 100,53 MHz.

Le déplacement chimique, noté δ, est exprimé en partie par million (ppm). Le TMS (0,00 ppm) est pris comme référence interne pour les spectres ¹H. Pour les spectres ¹³C le pic résiduel du solvant est pris pour référence. Les constantes de couplage scalaire (*J*) sont données en Hertz (Hz).

L'attribution des signaux ¹H et ¹³C a été effectuée à l'aide des séquences 2D du type CoSy ¹H-¹H, HMQC, HetCor.

Les abréviations utilisées sont les suivantes : (s) singulet, (d) doublet, (dd) doublet dédoublé, (t) triplet, (q) quadruplet, (m) multiplet.

Les pics résiduels de solvants trouvés sont déterminés en accord avec la table de Gottlieb et de Nudelman.³⁰²

Spectroscopie MS et HRMS

Les spectres de masse ESI-HRMS ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker microTOF II (ionisation ESI).

Polarimétrie

La détermination des pouvoirs rotatoires $[\alpha]_D$ a été réalisée sur un polarimètre JASCO P-2000 à la longueur d'onde de la raie D du sodium. Les concentrations *c* sont exprimées en grammes pour 100 mL.

Température de fusion

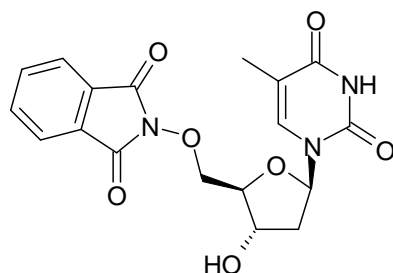
Les températures de fusion sont déterminées à l'aide d'un banc KOFLER.

³⁰² Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.

II. Produits synthétisés

5'- <i>O</i> -Phthalimidothymidine (83).....	202
5'- <i>O</i> -Phthalimido-3'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilylthymidine (84).....	203
5'- <i>O</i> -Amino-3'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilylthymidine (82).....	204
3',5'- <i>O</i> -Di- <i>tert</i> -butyldiméthylsilylthymidine (86).....	205
3'- <i>O</i> - <i>Tert</i> -butyldiméthylsilylthymidine (85).....	206
5'- <i>O</i> -Mésyl-3'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilylthymidine (87).....	207
5'- <i>O</i> - <i>Tert</i> -butyldiméthylsilylthymidine (100).....	208
3- <i>N</i> -Ethoxycarbonylméthyl-5'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilylthymidine (102).....	209
5'- <i>O</i> -Tritylthymidine (95).....	210
3- <i>N</i> -Ethoxycarbonylméthyl-5'- <i>O</i> -tritylthymidine (105).....	211
3- <i>N</i> -Ethoxycarbonylméthyl-3'- <i>O</i> -triméthylsilyl-5'- <i>O</i> -tritylthymidine (113).....	212
3'- <i>O</i> -Triméthylsilyl-5'- <i>O</i> -tritylthymidine (114).....	212
5'- <i>O</i> -Diméthoxytritylthymidine (89).....	214
3'- <i>O</i> -Benzoyl-5'- <i>O</i> -diméthoxytritylthymidine (116).....	215
3- <i>N</i> -Benzoyl-5'- <i>O</i> -diméthoxytritylthymidine (115).....	216
3'- <i>O</i> -Allyl-5'- <i>O</i> -diméthoxytritylthymidine (118).....	217
5'- <i>O</i> -Diméthoxytrityl-3'- <i>O</i> -formylméthylthymidine (119).....	218
5'- <i>O</i> -Méthoxycarbonylméthyl-3'- <i>O</i> -diméthoxytritylthymidine (127).....	219
3'- <i>O</i> -Carboxyméthyl-5'- <i>O</i> -diméthoxytritylthymidine (88).....	220
3'- <i>O</i> -(<i>N</i> -Carbonylméthyl)-5'- <i>O</i> -diméthoxytritylthymidyl-(3'→5')-5'- <i>O</i> -amino-3'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilylthymidine (78).....	221
Dinucléoside 79 lié par liaison oxime.....	222
5'- <i>O</i> -Diméthoxytrityl-3'- <i>O</i> -(<i>N</i> -éthyl)thymidyl-(3'→5')-5'- <i>O</i> -amino-3'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilylthymidine (80).....	223
3'- <i>O</i> -(<i>N</i> -Carbonylméthyl)-5'- <i>O</i> -diméthoxytritylthymidyl-(3'→5')-5'- <i>O</i> -aminothymidine (135).....	224
Dinucléoside 136 lié par liaison oxime.....	225
5'- <i>O</i> -Diméthoxytrityl-3'-oxothymidine (138).....	226
3- <i>N</i> -Ethoxycarbonylméthyl-5'- <i>O</i> -phthalimidothymidine (154).....	227
3- <i>N</i> -Benzoyl-5'- <i>O</i> -phthalimidothymidine (155).....	228
5'- <i>O</i> - <i>Tert</i> -butoxycarbonylamino-3'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilylthymidine (159).....	229
5'- <i>O</i> - <i>Tert</i> -butoxycarbonylaminothymidine (160).....	230
3,3'- <i>N</i> , <i>O</i> -Di-allyl-5'- <i>O</i> -(<i>N</i> -allyl- <i>N</i> - <i>tert</i> -butoxycarbonyl)aminothymidine (162).....	231
3'- <i>O</i> -Allyl-5'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldiméthylsilylthymidine (124).....	232
3'- <i>O</i> -Allylthymidine (164).....	233
2,5'-Anhydrouridine (177).....	234
2',3'- <i>O</i> , <i>O</i> -Isopropylidèneuridine (178).....	235
2',3'- <i>O</i> , <i>O</i> -Isopropylidène-5'- <i>O</i> -phthalimidouridine (179).....	236
2',5'-Di- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (180).....	237
3',5'-Di- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (181).....	237
2',3',5'-Tri- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (182).....	238
2,2'-Anhydrouridine (184).....	239
2,2'-Anhydro-5'- <i>O</i> -phthalimidouridine (185).....	240
2,2'-Anhydro-5'- <i>O</i> -diméthoxytrityluridine (186).....	241
2,2'-Anhydro-5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-3'- <i>O</i> -éthoxycarbonylméthyluridine (187).....	242
5'- <i>O</i> -Diméthoxytrityl-2'- <i>O</i> -méthyl-3'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butoxycarbonylméthyluridine (188).....	243
2,3'-Anhydro-5'- <i>O</i> -benzoyluridine (191).....	244
2,3'-Anhydro-5'- <i>O</i> -benzoyl-2'- <i>O</i> -méthylthymidine (190).....	245

2',5'-Di- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)-3'-oxouridine (199)	246
2-(Triphénylphosphoranylidène)acétate d'éthyle	247
3'-Désoxy-3'-éthoxycarbonylméthylène-2',5'-di- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (200) ...	248
3'-Désoxy-3'-méthylène-2',5'-di- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (201)	249
3'-Désoxy-3'-éthoxycarbonylméthyl-2'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (203).....	250
3'-Carboxyméthyl-3'-désoxyuridine-2',3'-lactone (210)	251
5'-Bromo-3',5'-didésoxy-3'-éthoxycarbonylméthyl-2'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (209)	252
3',5'-Didésoxy-3'-éthoxycarbonylméthyl-5'-iodo-2'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (212)	253
3'-Désoxy-3'-éthoxycarbonylméthyl-5'- <i>O</i> -(<i>N</i> - <i>tert</i> -butoxycarbonyl)amino-2'- <i>O</i> -(<i>tert</i> - butyldiméthylsilyl)uridine (213).....	254
5'- <i>O</i> -Diméthoxytrityluridine (219)	255
3'-Oxo-2'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (222).....	256
3'-Désoxy-3'-méthylène-2'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (223).....	257
3'-Désoxy-5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-3'-méthylène-2'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (228)..	258
3'-Désoxy-5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-3'-éthoxycarbonylméthyl-2'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthyl silyl)uridine (221)	259
3'-Carboxyméthyl-3'-désoxy-2'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (230).....	261
3'-Carboxyméthyl-3'-désoxy-5'- <i>O</i> -diméthoxytrityl-2'- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butyldiméthylsilyl)uridine (217)	262
3-(2',3',4',6'-Tetra- <i>O</i> -benzyl- α -D-glucopyranosyl)propan-1,2-diol (236a et 236b).....	263
3-(2',3',4',6'-Tetra- <i>O</i> -benzyl- α -D-glucopyranosyl)-1- <i>O</i> -tritylpropan-1,2-diol (237 et 238).....	264
2-Phthalimidoxy-3-(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -benzyl- α -D-glucopyranosyl)-1- <i>O</i> -tritylpropanol (239 et 240)	266
2-Phthalimidoxy-3-(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -benzyl- α -D-glucopyranosyl)propanol (241 et 242). 268	
2-Phthalimidoxy-3-(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -benzyl- α -D-glucopyranosyl)propanoate de <i>tert</i> -butyle (243 et 244)	270
2-Aminoxy-3-(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -benzyl- α -D-glucopyranosyl)propanoate de <i>tert</i> -butyle (245 et 246)	272

5'-*O*-Phthalimidothymidine (83)Formule brute : C₁₈H₁₇N₃O₇

Masse molaire : 387

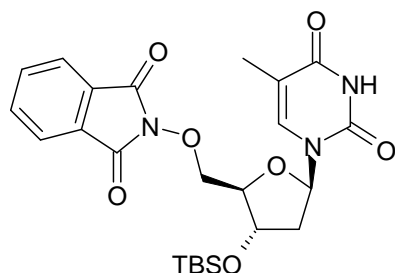
A une solution de thymidine (5,09 g ; 21,0 mmol) dans du DMF anhydre (55 mL) agitée sous atmosphère inerte et réfrigérée à 0°C, sont ajoutés de la triphénylphosphine (7,04 g ; 26,9 mmol ; 1,3 éq) et du *N*-hydroxyphthalimide (4,46 g ; 27,3 mmol ; 1,3 éq). Une solution de DIAD (6,10 mL ; 30,9 mmol ; 1,5 éq) dans du DMF anhydre (10 mL) est préparée et ajoutée au milieu réactionnel par un goutte à goutte très lent (en 5h30). Le mélange est ensuite agité une nuit à TA. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est dissous dans du CH₂Cl₂ (50 mL) et versé sur un mélange eau / glace (250 mL). Le tout est agité pendant 30 min puis le précipité formé est filtré et séché. Le produit sec, de couleur blanche, est obtenu avec un rendement de 86% (m = 7,01 g).

R_f : 0.50 (CH₂Cl₂ / MeOH 9:1, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.86 (d, 3H, *J* = 0.9 Hz, CH₃^T), 2.19 (ddd, 1H, *J* = 5.5, 8.3, 14.2 Hz, H_{2'a}), 2.25 (ddd, 1H, *J* = 2.3, 6.0, 14.2 Hz, H_{2'b}), 4.21-4.24 (m, 1H, H_{4'}), 4.46 (dd, 1H, *J* = 3.0, 10.1 Hz, H_{5'a}), 4.50 (dd, 1H, *J* = 4.6, 10.1 Hz, H_{5'b}), 4.62-4.65 (m, 1H, H_{3'}), 5.14 (d, 1H, *J* = 4.1 Hz, OH), 6.39 (dd, 1H, *J* = 6.0, 8.3 Hz, H_{1'}), 7.74 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, H₆), 7.90 (s, 4H, 4 x H_{Ar}^{Phth}), 10.68 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 12.4 (CH₃^T), 40.3 (C_{2'}), 72.1 (C_{3'}), 78.6 (C_{5'}), 85.5 (C_{1'}, C_{4'}), 110.9 (C₅), 123.9 (CH_{Ar}^{Phth}), 129.8 (Cq), 135.4 (CH_{Ar}^{Phth}), 136.3 (C₆), 151.3 (C₂), 163.8 (C₄).

Réf. : Perbost, M.; Hoshiko, T.; Morvan, F.; Swayze, E.; Griffey, R. H.; Sanghvi, Y. S. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5150-5156.

5'-O-Phthalimido-3'-O-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine (84)Formule brute : C₂₄H₃₁N₃O₇Si

Masse molaire : 501

Méthode A :

A une suspension de 5'-O-phthalimidothymidine **83** (498 mg ; 1,29 mmol) dans du DMF anhydre (2,5 mL) agitée sous atmosphère inerte, sont ajoutés de l'imidazole (229 mg ; 3,37 mmol ; 2,6 équ) et, par un goutte à goutte, une solution de chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle (252 mg ; 1,67 mmol ; 1,3 équ) dans du DMF anhydre (2,5 mL). Le mélange est agité une nuit à TA. Après évaporation du milieu réactionnel, le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 1:1. Le produit est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 95 % (m = 610 mg).

Méthode B :

A une solution de 5'-O-mésyle-3'-O-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine **87** (70 mg ; 0,16 mmol) dans du DMF anhydre (1 mL) agitée sous atmosphère inerte, sont ajoutés de la DBU (48 µL ; 0,32 mmol ; 2 équ) et du *N*-hydroxyphthalimide (53 mg ; 0,32 mmol ; 2 équ). Le mélange est agité une nuit à TA. Le milieu réactionnel est partitionné dans un mélange H₂O / AcOEt (~10 mL) et la phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (2 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 1:1. Le produit est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 39 % (m = 31 mg).

R_f : 0.61 (AcOEt / EP 7:3, révélateur 1).

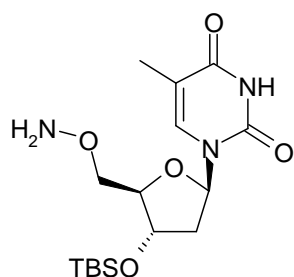
RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.19 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.94 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.86 (d, 3H, *J* = 0.9 Hz, CH₃^T), 2.26 (ddd, 1H, *J* = 2.7, 6.0, 13.7 Hz, H_{2'a}), 2.32 (ddd, 1H, *J* = 6.0, 8.3, 13.7 Hz, H_{2'b}), 4.23-4.24 (m, 1H, H_{4'}), 4.48 (dd, 1H, *J* = 3.0, 10.3 Hz, H_{5'a}), 4.53 (dd, 1H, *J* = 3.9, 10.3 Hz, H_{5'b}), 4.86-4.88 (m, 1H, H_{3'}), 6.37 (dd, 1H, *J* = 6.0, 8.3 Hz, H_{1'}), 7.74 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, H₆), 7.90 (s, 4H, 4 x H_{Ar}^{Phth}), 10.04 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -4.7 (CH₃^{TBS}), 14.4 (CH₃^T), 18.5 (C_q, *t*Bu^{TBS}), 26.1 (CH₃, *t*Bu^{TBS}), 41.0 (C_{2'}), 73.6 (C_{3'}), 78.2 (C_{5'}), 85.7 (C_{4'}), 85.9 (C_{1'}), 111.1 (C₅), 124.0 (CH_{Ar}^{Phth}), 130.0 (C_q), 135.6 (CH_{Ar}^{Phth}), 136.4 (C₆), 151.2 (C₂), 163.8 (C_q), 164.2 (C₄), 170.9 (C_q).

[α]_D²⁰ : + 97.4 (c = 0.8, Acétone).

T_f : 201°C

Réf. : Perbost, M.; Hoshiko, T.; Morvan, F.; Swayze, E.; Griffey, R. H.; Sanghvi, Y. S. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5150-5156.

5'-O-Amino-3'-O-tert-butyldiméthylsilylthymidine (82)

Formule brute : C₁₆H₂₉N₃O₅Si
Masse molaire : 371

A une suspension de 5'-O-phthalimido-3'-O-tert-butyldiméthylsilylthymidine **84** (250 mg ; 0,50 mmol) dans du méthanol (2 mL), est ajoutée de l'hydrazine hydrate (75 µL ; 1,55 mmol ; 3,1 éq). Le produit se solubilise. Après 2h de réaction, un précipité s'est formé, la réaction est finie. De l'Et₂O (10 mL) est ajouté et le mélange est lavé avec une solution saturée en NaHCO₃. La phase aqueuse est extraite avec de l'Et₂O (3 x) et les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le produit, suffisamment pur pour être utilisé sans purification, est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement quantitatif (m = 195 mg).

R_f : 0.39 (AcOEt / EP 1:1, révélateur 1 ou 2).

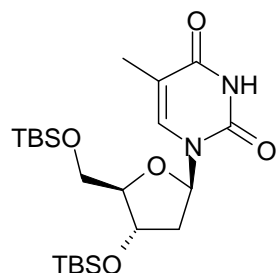
RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.12 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.91 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.80 (d, 3H, *J* = 1.3 Hz, CH₃^T), 2.22-2.25 (m, 2H, H_{2'a}, H_{2'b}), 4.07-4.10 (m, 1H, H_{4'}), 4.18 (dd, 1H, *J* = 3.6, 12.0 Hz, H_{5'a}), 4.23 (dd, 1H, *J* = 4.5, 12.0 Hz, H_{5'b}), 4.60-4.62 (m, 1H, H_{3'}), 6.28-6.31 (m, 1H, H_{1'}), 7.49 (d, 1H, *J* = 1.3 Hz, H₆), 9.94 (s, 2H, ONH₂), 10.06 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -4.7 (CH₃^{TBS}), 12.6 (CH₃^T), 18.5 (C_q, *t*Bu^{TBS}), 26.1 (CH₃, *t*Bu^{TBS}), 40.8 (C_{2'}), 73.6 (C_{3'}), 73.7 (C_{5'}), 85.5 (C_{1'}), 86.7 (C_{4'}), 110.7 (C₅), 136.3 (C₆), 151.2 (C₂), 164.2 (C₄).

[α]_D²⁰ : - 0.86 (*c* = 0.9, MeOH).

T_f : 98°C

Réf. : Perbost, M.; Hoshiko, T.; Morvan, F.; Swayze, E.; Griffey, R. H.; Sanghvi, Y. S. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5150-5156.

3',5'-O-Di-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine (86)Formule brute : C₂₂H₄₂O₅N₂Si₂

Masse molaire : 470

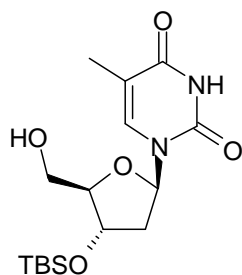
A une solution de thymidine (504 mg ; 2,08 mmol) dans un mélange DMF / THF 1:1 (6 mL) agitée sous atmosphère inerte, sont ajoutés de l'imidazole (563 mg ; 8,27 mmol ; 4 équ), du nitrate d'argent (782 mg ; 4,60 mmol ; 2,2 équ) puis, quand tout est solubilisé, du TBSCl (690 mg ; 4,58 mmol ; 2,2 équ). Le mélange est agité une nuit à TA. Le précipité formé est filtré, rincé avec de l'AcOEt. Le filtrat est lavé avec de l'eau (2 x) puis avec une solution saturée en NaCl, séché sur MgSO₄, filtré et concentré. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 5:5 puis 7:3. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 86% (m = 839 mg).

R_f : 0.67 (AcOEt / EP 8:2, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.13 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.15 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.92 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 0.95 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.83 (d, 3H, *J* = 0.9 Hz, CH₃^T), 2.18-2.27 (m, 2H, H_{2'a}, H_{2'b}), 3.84-3.90 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 3.91-3.94 (m, 1H, H_{4'}), 4.52-4.55 (m, 1H, H_{3'}), 6.30-6.33 (t, 1H, *J* = 7.1 Hz, H_{1'}), 7.50-7.51 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, H₆), 10.03 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -5.2 (CH₃^{TBS}), -4.6 (CH₃^{TBS}), 12.6 (CH₃^T), 18.5 (Cq, *t*Bu^{TBS}), 18.9 (Cq, *t*Bu^{TBS}), 26.1 (CH₃, *t*Bu^{TBS}), 26.3 (CH₃, *t*Bu^{TBS}), 41.1 (C_{2'}), 63.9 (C_{5'}), 73.5 (C_{3'}), 85.2 (C_{1'}), 88.3 (C_{4'}), 110.7 (C₅), 136.2 (C₆), 151.2 (C₂), 164.2 (C₄).

Réf. : Montecvecchi, P. C.; Manetto, A.; Navacchia, M. L.; Chatgililoglu, C. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 4303-4308.

3'-*O*-*Tert*-butyldiméthylsilylthymidine (85)

Formule brute : C₁₆H₂₈N₂O₅Si
Masse molaire : 356

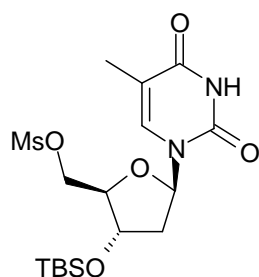
A une solution de 3',5'-*O*-di-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine **86** (505 mg ; 1,07 mmol) dans du MeOH (7,5 mL) agitée sous atmosphère inerte, est ajouté du PPTS (1,10 g ; 4,38 mmol ; 4,1 éq). Le mélange est agité une nuit à TA. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est repris dans de l'AcOEt puis lavé avec de l'eau (2 x) puis avec une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et concentrée. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec des mélanges AcOEt / EP allant de 1:1 à 8:2. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 51% (m = 195 mg).

R_f : 0.59 (AcOEt / EP 9:1, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.13 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.92 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.80 (d, 3H, *J* = 0.9 Hz, CH₃^T), 2.19 (ddd, 1H, *J* = 3.0, 6.2, 13.3 Hz, H_{2'a}), 2.30 (ddd, 1H, 6.0, 7.3, 13.3 Hz, H_{2'b}), 3.73-3.82 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 3.89-3.92 (m, 1H, H_{4'}), 4.29 (t, 1H, *J* = 4.5 Hz, OH), 4.58-4.61 (m, 1H, H_{3'}), 6.29 (dd, 1H, *J* = 6.2, 7.3 Hz, H_{1'}), 7.76 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, H₆), 9.95 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -4.7 (CH₃^{TBS}), 12.5 (CH₃^T), 18.5 (C_q, *t*Bu^{TBS}), 26.1 (CH₃, *t*Bu^{TBS}), 41.2 (C_{2'}), 62.4 (C_{5'}), 73.3 (C_{3'}), 85.6 (C_{1'}), 88.7 (C_{4'}), 110.6 (C₅), 137.0 (C₆), 151.3 (C₂), 164.2 (C₄).

Réf. : Montecvecchi, P. C.; Manetto, A.; Navacchia, M. L.; Chatgililoglu, C. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 4303-4308.

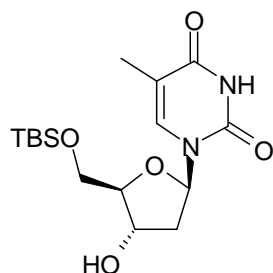
5'-*O*-Mésyl-3'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine (87)Formule brute : C₁₇H₃₀N₂O₇SSi

Masse molaire : 434

A une solution de 3'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine **85** (70 mg ; 0,20 mmol) dans de la pyridine (1 mL), est ajouté du chlorure de mésyle (17 μ L ; 0,22 mmol ; 1,1 éq). Le mélange est agité pendant 24h à TA. La réaction est quenchée avec du MeOH et le milieu réactionnel est concentré. Il est dilué avec de l'AcOEt puis lavé avec une solution saturée en NaHCO₃ (2 x) puis avec une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et concentrée. Le produit brut est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 89% (m = 77 mg).

R_f : 0.61 (AcOEt / EP 9:1, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.12 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.90 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.79 (d, 3H, *J* = 1.4 Hz, CH₃^T), 2.18 (ddd, 1H, *J* = 3.3, 6.0, 13.3 Hz, H_{2'a}), 2.30 (ddd, 1H, 6.0, 7.8, 13.3 Hz, H_{2'b}), 3.73-3.81 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 3.88-3.90 (m, 1H, H_{4'}), 4.46 (s, 3H, CH₃^{Ms}), 4.57-4.63 (m, 1H, H_{3'}), 6.28 (dd, 1H, *J* = 6.0, 7.8 Hz, H_{1'}), 7.76 (d, 1H, *J* = 1.4 Hz, H₆), 10.01 (s, 1H, NH).

5'-*O*-*Tert*-butyldiméthylsilylthymidine (100)Formule brute : C₁₆H₂₈N₂O₅Si

Masse molaire : 356

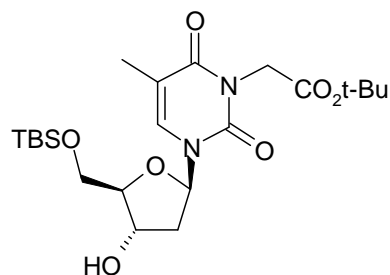
A une solution de thymidine (1,01 g ; 4,18 mmol) dans du DMF anhydre (7 mL) agitée sous atmosphère inerte, est ajouté de l'imidazole (625 mg ; 9,19 mmol ; 2,2 éq). Le milieu réactionnel est réfrigéré à 0°C et du TBSCl (685 mg ; 4,54 mmol ; 1,1 éq) est ajouté. Le mélange est agité une nuit à TA. Après évaporation du milieu réactionnel, il est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 6:4. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 85% (m = 1,26 g).

R_f : 0.35 (AcOEt, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.14 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.94 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.84 (d, 3H, *J* = 1.4 Hz, CH₃^T), 2.14 (ddd, 1H, *J* = 3.0, 8.2, 13.3 Hz, H_{2'a}), 2.23 (ddd, 1H, *J* = 2.3, 6.0, 13.3 Hz, H_{2'b}), 3.87 (dd, 1H, *J* = 3.3, 11.6 Hz, H_{5'a}), 3.91 (dd, 1H, *J* = 3.5, 11.6 Hz, H_{5'b}), 3.96-3.98 (m, 1H, H_{4'}), 4.40 (d, 1H, *J* = 4.1 Hz, OH), 4.43-4.47 (m, 1H, H_{3'}), 6.32 (dd, 1H, *J* = 6.0, 8.2 Hz, H_{1'}), 7.56 (d, 1H, *J* = 1.4 Hz, H₆), 9.96 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -5.3 (CH₃^{TBS}), 12.6 (CH₃^T), 18.9 (C_q, *t*Bu^{TBS}), 26.3 (CH₃, *t*Bu^{TBS}), 41.1 (C_{2'}), 64.4 (C_{5'}), 72.3 (C_{3'}), 85.3 (C_{1'}), 88.2 (C_{4'}), 110.6 (C₅), 136.2 (C₆), 151.2 (C₂), 164.2 (C₄).

Réf. : Li, X.; Zhan, Z.-Y. J.; Knipe, R.; Lynn, D. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 746-747.

3-*N*-Ethoxycarbonylméthyl-5'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine (102)Formule brute : C₂₂H₃₈N₂O₇Si

Masse molaire : 470

A une suspension de NaH à 60% de dispersion dans l'huile (27 mg ; 0,67 mmol ; 2,4 éq) dans du THF anhydre (1,5 mL) agitée sous atmosphère inerte et réfrigérée à 0°C, est ajoutée de la 5'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine **100** (99 mg ; 0,28 mmol ; 1 éq) et le milieu réactionnel est placé pendant 20 min aux ultrasons. Du bromoacétate de *tert*-butyle (45 µL ; 0,30 mmol ; 1,1 éq) est ensuite additionné et le mélange est agité une nuit à TA. Le mélange est ensuite versé dans une solution saturée de NaHCO₃ et extrait avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 1:1. Le produit N-alkylé **102** est obtenu sous forme d'une huile avec un rendement de 45% (m = 59 mg). Du produit di-alkylé **103** est obtenu avec un rendement de 8% (m = 44 mg).

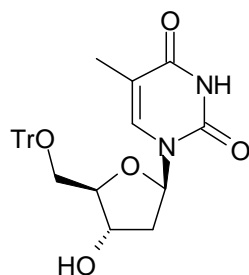
La même procédure est appliquée dans du DMF anhydre et le produit N-alkylé **102** est obtenu avec un rendement de 83%.

R_f : 0.67 (AcOEt / EP 8:2, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.15 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.95 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.44 (s, 9H, *t*Bu^{ester}), 1.89 (d, 3H, *J* = 0.9 Hz, CH₃^T), 2.17 (ddd, 1H, *J* = 5.8, 7.8, 13.0 Hz, H_{2'a}), 2.28 (ddd, 1H, *J* = 2.5, 5.9, 13.3 Hz, H_{2'b}), 3.86-3.95 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 3.98-4.00 (m, 1H, H_{4'}), 4.43 (s, 1H, OH), 4.45-4.47 (m, 1H, H_{3'}), 4.50 (s, 2H, N-CH₂), 6.34 (dd, 1H, *J* = 5.9, 7.8 Hz, H_{1'}), 7.66 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, H₆).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -5.3 (CH₃^{TBS}), 13.2 (CH₃^T), 14.4 (Cq, *t*Bu^{ester}), 18.9 (Cq, *t*Bu^{TBS}), 26.3 (CH₃, *t*Bu^{TBS}), 28.1 (CH₃, *t*Bu^{ester}), 41.3 (C_{2'}), 43.1 (N-CH₂), 64.4 (C_{5'}), 72.2 (C_{3'}), 82.0 (Cq), 86.3 (C_{1'}), 88.4 (C_{4'}), 109.8 (C₅), 135.1 (C₆), 151.3 (C₂), 163.2 (C₄), 167.7 (C=O^{ester}).

[α]_D²⁰ : + 9.35 (c = 1.0, Acétone).

5'-O-Tritylthymidine (95)Formule brute : $C_{29}H_{28}O_5N_2$

Masse molaire : 484

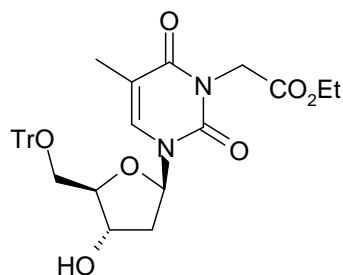
A une solution de thymidine (1,01 g ; 4,15 mmol) dans de la pyridine anhydre (20 mL) agitée sous atmosphère inerte, est ajouté du chlorure de trityle (1,30 g ; 4,66 mmol ; 1,1 éq). Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant une nuit. Il est ensuite refroidi et hydrolysé dans un mélange eau / glace (300 mL) puis filtré. Un solide pâteux est obtenu. Il est dissous dans un minimum d'AcOEt et de EP. Le précipité obtenu est filtré et séché sous vide pour donner le produit désiré sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 37% (m = 740 mg).

R_f : 0.24 (AcOEt / EP 8:2, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.46 (d, 3H, *J* = 0.9 Hz, CH₃^T), 2.29 (ddd, 1H, *J* = 3.3, 6.2, 13.5 Hz, H_{2'a}), 2.38 (ddd, 1H, *J* = 6.4, 7.5, 13.5 Hz, H_{2'b}), 3.34 (dd, 1H, *J* = 3.3, 10.6 Hz, H_{5'a}), 3.38 (dd, 1H, *J* = 3.9, 10.6 Hz, H_{5'b}), 4.01-4.06 (m, 1H, H_{4'}), 4.52 (d, 1H, *J* = 4.2 Hz, OH), 4.58-4.62 (m, 1H, H_{3'}), 6.37 (dd, 1H, *J* = 6.2, 7.5 Hz, H_{1'}), 7.26-7.37 (m, 9H, 9 x H_{Ar}^{Tr}), 7.47-7.50 (m, 6H, 6 x H_{Ar}^{Tr}), 7.60 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, H₆), 9.99 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 12.2 (CH₃^T), 41.1 (C_{2'}), 64.9 (C_{5'}), 72.3 (C_{3'}), 85.1 (C_{1'}), 87.0 (C_{4'}), 87.8 (Cq), 110.7 (C₅), 128.1 (CH_{Ar}^{Tr}), 128.8 (CH_{Ar}^{Tr}), 129.5 (CH_{Ar}^{Tr}), 136.4 (C₆), 144.7 (Cq), 151.1 (C₂), 159.8 (Cq), 161.6 (Cq), 163.2 (Cq), 164.0 (C₄).

Réf. : Horwitz, J. P.; Urbanski, J. A.; Chua, J. *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 3300-3302.

3-*N*-Ethoxycarbonylméthyl-5'-*O*-tritylthymidine (105)Formule brute : C₃₃H₃₄N₂O₇

Masse molaire : 570

A une suspension de NaH à 60% de dispersion dans l'huile (21 mg ; 0,53 mmol ; 2,6 éq) dans du THF anhydre (1,5 mL) agitée sous atmosphère inerte et réfrigérée à 0°C, est ajoutée de la 5'-*O*-tritylthymidine **95** (98 mg ; 0,20 mmol ; 1 éq) et le milieu réactionnel est placé pendant 20 min aux ultrasons. Du bromoacétate d'éthyle (26 µL ; 0,23 mmol ; 1,1 éq) est ensuite additionné et le mélange est agité 24h à TA. Le mélange est ensuite versé dans une solution saturée de NaHCO₃ et extrait avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 1:1. Le produit *N*-alkylé **105** est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 37% (m = 42 mg).

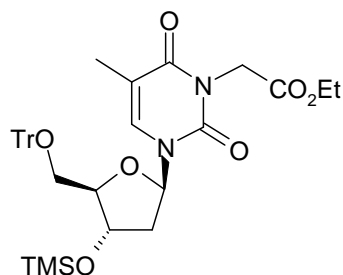
R_f : 0.32 (AcOEt / EP 1:1, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.23 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, CH₃^{ester}), 1.49 (d, 3H, *J* = 1.3 Hz, CH₃^T), 2.31-2.44 (m, 2H, H_{2'a}, H_{2'b}), 3.36 (dd, 1H, *J* = 3.0, 10.3 Hz, H_{5'a}), 3.40 (dd, 1H, *J* = 3.9, 10.3 Hz, H_{5'b}), 4.06-4.08 (m, 1H, H_{4'}), 4.16 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, CH₂^{ester}), 4.53 (d, 1H, *J* = 4.1 Hz, OH), 4.60 (s, 2H, N-CH₂), 4.60-4.64 (m, 1H, H_{3'}), 6.38 (dd, 1H, *J* = 6.4, 7.3 Hz, H_{1'}), 7.27-7.37 (m, 9H, 9 x H_{Ar}^{Tr}), 7.47-7.50 (m, 6H, 6 x H_{Ar}^{Tr}), 7.72 (d, 1H, *J* = 1.3 Hz, H₆).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 12.7 (CH₃^T), 14.4 (CH₃^{ester}), 41.2 (C_{2'}), 42.5 (N-CH₂), 61.7 (CH₂^{ester}), 64.8 (C_{5'}), 72.2 (C_{3'}), 86.1 (C_{1'}), 87.1 (C_{4'}), 87.9 (Cq), 110.0 (C₅), 128.1 (CH_{Ar}^{Tr}), 128.8 (CH_{Ar}^{Tr}), 129.5 (CH_{Ar}^{Tr}), 135.4 (C₆), 144.7 (Cq), 151.3 (C₂), 163.2 (C₄), 168.6 (Cq), 170.9 (Cq).

[α]_D²⁰ : + 10.7 (*c* = 1.2, Acétone).

HRMS : *m/z* [M+Na]⁺ Calc. 593,2258 ; Trouvée 593,2291.

3-*N*-Ethoxycarbonylméthyl-3'-*O*-triméthylsilyl-5'-*O*-tritylthymidine (113)Formule brute : C₃₆H₄₂N₂O₇Si

Masse molaire : 642

A une suspension de 5'-*O*-tritylthymidine **95** (102 mg ; 0,21 mmol) dans de l'acétonitrile anhydre (3 mL) agitée sous atmosphère inerte, est ajouté du BSA (153 µL ; 0,62 mmol ; 3 éq). Le milieu est porté à reflux pendant 45 min puis refroidi à TA, puis à 0°C. Du NaH à 60% de dispersion dans l'huile (9 mg ; 0,23 mmol ; 1,1 éq) est ajouté. Le mélange est agité pendant 45 min puis du bromoacétate d'éthyle (26 µL ; 0,23 mmol ; 1,1 éq) est ajouté. Le mélange est agité une nuit à TA. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est repris dans de l'AcOEt, lavé avec de l'eau (2 x), puis avec une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange EP / AcOEt 8:2. pour donner le produit **113** sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 80% (m = 95 mg) et le composé **114** avec un rendement de 12% (m = 14 mg).

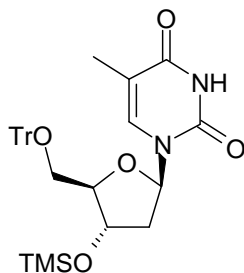
R_f : 0.76 (AcOEt / EP 7:3, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.06 (s, 9H, 3 x CH₃^{TMS}), 1.24 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, CH₃^{ester}), 1.54 (d, 3H, *J* = 1.2 Hz, CH₃^T), 2.30 (ddd, 1H, *J* = 3.9, 6.5, 13.5 Hz, H_{2'a}), 2.39-2.45 (m, 1H, H_{2'b}), 3.35 (dd, 1H, *J* = 2.9, 10.5 Hz, H_{5'a}), 3.40 (dd, 1H, *J* = 3.7, 10.5 Hz, H_{5'b}), 3.98-4.01 (m, 1H, H_{4'}), 4.16 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, CH₂^{ester}), 4.60 (s, 2H, N-CH₂), 4.66-4.69 (m, 1H, H_{3'}), 6.34 (t, 1H, *J* = 6.5 Hz, H_{1'}), 7.27-7.38 (m, 9H, 9 x H_{Ar}^{Tr}), 7.48-7.51 (m, 6H, 6 x H_{Ar}^{Tr}), 7.72 (d, 1H, *J* = 1.2 Hz, H₆).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 0.0 (CH₃^{TMS}), 12.9 (CH₃^T), 14.4 (CH₃^{ester}), 41.5 (C_{2'}), 43.5 (N-CH₂), 61.8 (CH₂^{ester}), 64.2 (C_{5'}), 72.6 (C_{3'}), 86.2 (C_{1'}), 87.1 (C_{4'}), 88.0 (Cq), 110.0 (C₅), 128.2 (CH_{Ar}^{Tr}), 128.8 (CH_{Ar}^{Tr}), 129.5 (CH_{Ar}^{Tr}), 135.4 (C₆), 144.6 (Cq), 151.3 (C₂), 163.2 (C₄), 168.6 (Cq), 170.9 (Cq).

[α]_D²⁰ : + 13.5 (c = 0.8, Acétone).

T_f : 65°C

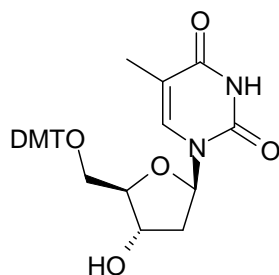
3'-*O*-Triméthylsilyl-5'-*O*-tritylthymidine (114) :Formule brute: C₃₂H₃₆O₅N₂Si

Masse molaire: 536

R_f : 0.48 (AcOEt / EP 7:3, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.07 (s, 9H, 3 x CH₃^{TMS}), 1.52 (d, 3H, *J* = 0.9 Hz, CH₃^T), 2.27 (ddd, 1H, *J* = 3.7, 6.9, 13.7 Hz, H_{2'a}), 2.38-2.45 (m, 1H, H_{2'b}), 3.33-3.41 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 3.36-3.39 (m, 1H, H_{4'}), 4.64-4.68 (m, 1H, H_{3'}), 6.32 (t, 1H, *J* = 6.9 Hz, H_{1'}), 7.28-7.32 (m, 3H, 3 x H_{Ar}^{Tr}), 7.35-7.39 (m, 6H, 6 x H_{Ar}^{Tr}), 7.49-7.52 (m, 6H, 6 x H_{Ar}^{Tr}), 7.62 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, H₆), 10.03 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -0.1 (CH₃^{TMS}), 12.3 (CH₃^T), 41.2 (C_{2'}), 64.3 (C_{5'}), 72.7 (C_{3'}), 85.1 (C_{1'}), 86.9 (C_{4'}), 87.9 (C_q), 110.9 (C₅), 128.1 (CH_{Ar}^{Tr}), 128.8 (CH_{Ar}^{Tr}), 129.5 (CH_{Ar}^{Tr}), 136.3 (C₆), 144.6 (C_q), 151.2 (C₂), 164.1 (C₄).

5'-O-Diméthoxytritylthymidine (89)Formule brute : $C_{31}H_{32}N_2O_7$

Masse molaire : 544

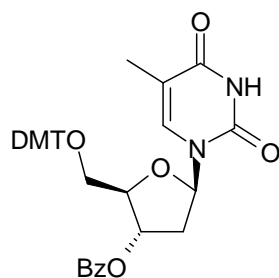
A une solution de thymidine (4,96 g ; 20,5 mmol) dans de la pyridine anhydre (100 mL) agitée sous atmosphère inerte, sont ajoutés de la triéthylamine (5,8 mL ; 41,3 mmol ; 2 éq) et du chlorure de diméthoxytrityle (7,7 g ; 22,7 mmol ; 1,1 éq). Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 1h30. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est dissous dans de l'AcOEt et lavé avec une solution saturée en $NaHCO_3$ (2 x) puis avec une solution saturée en $NaCl$. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange CH_2Cl_2 / MeOH / Et_3N 98:1:1. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 82% (m = 9,15 g).

R_f : 0.31 (CH_2Cl_2 / MeOH 9:1, révélateur 1).

RMN 1H (acétone- d_6 , 400 MHz) : δ 1.46 (d, 3H, $J = 1.4$ Hz, CH_3^T), 2.30 (ddd, 1H, $J = 2.8, 6.0, 13.8$ Hz, $H_{2'a}$), 2.38 (ddd, 1H, $J = 6.1, 7.8, 13.8$ Hz, $H_{2'b}$), 3.37 (d, 2H, $J = 3.6$ Hz, $H_{5'a}, H_{5'b}$), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH_3^{DMT}), 4.01-4.07 (m, 1H, $H_{4'}$), 4.51 (d, 1H, $J = 4.1$ Hz, OH), 4.58-4.62 (m, 1H, $H_{3'}$), 6.38 (dd, 1H, $J = 6.0, 7.8$ Hz, $H_{1'}$), 6.88-6.92 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.23-7.38 (m, 7H, 7 x H_{Ar}^{DMT}), 7.48-7.50 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{DMT}), 7.63 (d, 1H, $J = 1.4$ Hz, H_6), 10.01 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (acétone- d_6 , 100 MHz) : δ 12.1 (CH_3^T), 41.1 ($C_{2'}$), 55.5 (OCH_3^{DMT}), 64.8 ($C_{5'}$), 72.5 ($C_{3'}$), 79.2 (Cq), 85.1 ($C_{1'}$), 87.1 ($C_{4'}$), 110.9 (C_5), 113.9 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 129.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 131.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 136.4 (C_6), 145.9 (Cq), 151.2 (C_2), 159.7 (Cq), 164.2 (C_4).

Réf. : Chirakul, P.; Sigurdsson, S. T. *Org. Lett.* **2003**, 5, 917-919.

3'-O-Benzoyl-5'-O-diméthoxytritylthymidine (116)Formule brute : $C_{38}H_{36}N_2O_8$

Masse molaire : 648

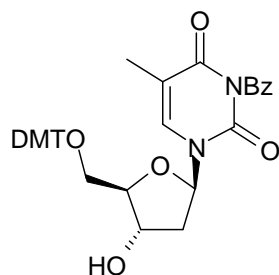
A une solution de 5'-O-diméthoxytritylthymidine **89** (100 mg ; 0,18 mmol) dans du DMF anhydre (1 mL) agitée sous atmosphère inerte, sont ajoutés de la triéthylamine (52 μ L ; 0,37 mmol ; 2 équ) et du chlorure de benzoyle (32 μ L ; 0,27 mmol ; 1,5 équ). Après 24h à TA, le mélange est repris dans de l'AcOEt et lavé avec une solution saturée en $NaHCO_3$. La phase aqueuse est ensuite extraite avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en $NaCl$, séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 1:1. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 34% (m = 40 mg).

R_f : 0.54 (AcOEt / EP 7:3, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.44 (d, 3H, $J = 0.9$ Hz, CH_3^T), 2.60-2.74 (m, 2H, $H_{2'a}$, $H_{2'b}$), 3.47 (dd, 1H, $J = 3.2, 10.1$ Hz, $H_{5'a}$), 3.60 (dd, 1H, $J = 3.2, 10.1$ Hz, $H_{5'b}$), 3.77 (s, 6H, 2 x OCH_3^{DMT}), 4.34-4.36 (m, 1H, $H_{4'}$), 5.74-5.77 (m, 1H, $H_{3'}$), 6.48 (dd, 1H, $J = 6.2, 8.5$ Hz, $H_{1'}$), 6.89-6.91 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.23-7.27 (m, 1H, H_{Ar}^{Bz}), 7.31-7.40 (m, 7H, 7 x H_{Ar}^{DMT}), 7.50-7.55 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{Bz}), 7.64-7.68 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{DMT}), 8.06 (d, 1H, $J = 0.9$ Hz, H_6), 10.04 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 12.1 (CH_3^T), 38.1 ($C_{2'}$), 55.5 (OCH_3^{DMT}), 64.7 ($C_{5'}$), 76.6 ($C_{3'}$), 84.5 ($C_{1'}$), 85.1 ($C_{4'}$), 87.7 (Cq), 110.9 (C_5), 114.1 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 129.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 129.4 (CH_{Ar}^{DMT}), 130.4 (CH_{Ar}^{DMT}), 130.7 (Cq), 131.0 (CH_{Ar}^{Bz}), 134.2 (C_6), 136.2 (CH_{Ar}^{Bz}), 136.3 (Cq), 136.5 (Cq), 145.8 (Cq), 151.2 (C_2), 159.7 (Cq), 164.1 (C_4), 166.3 (Cq).

Réf.: Matsuzaki, J.-I.; Hotoda, H.; Sekine, M.; Hata, T.; Higuchi, S.; Nishimura, Y.; Tsuboi, M. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 501-513.

3-*N*-Benzoyl-5'-*O*-diméthoxytritylthymidine (115)Formule brute : $C_{38}H_{36}N_2O_8$

Masse molaire : 648

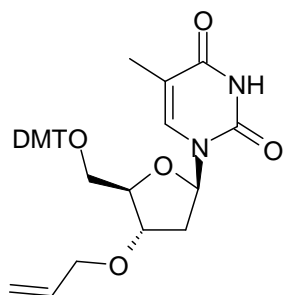
A une suspension de 5'-*O*-diméthoxytritylthymidine **89** (508 mg ; 0,93 mmol) dans de l'acétonitrile anhydre (15 mL) agitée sous atmosphère inerte, est ajouté du BSA (455 μ L ; 1,84 mmol ; 2 éq). Le milieu est porté à reflux pendant 45 min puis refroidi à TA. De la triéthylamine (255 μ L ; 1,83 mmol ; 2 éq) et du chlorure de benzoyle (130 μ L ; 1,20 mmol ; 1,2 éq) sont ajoutés. Le mélange est agité une nuit à TA. Du TBAF (740 mg ; 2,34 mmol ; 2,5 éq) est ajouté et le milieu réactionnel est agité pendant 1h à TA. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est repris dans de l'AcOEt, lavé avec une solution saturée en NaHCO_3 (2 x), puis avec une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange EP / AcOEt 1:1. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 62% ($m = 375$ mg).

R_f : 0.61 (AcOEt / EP 7:3, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.51 (d, 3H, $J = 1.4$ Hz, CH_3^T), 2.38 (ddd, 1H, $J = 3.3, 6.4, 13.5$ Hz, $\text{H}_{2'a}$), 2.48 (ddd, 1H, $J = 6.2, 7.3, 13.5$ Hz, $\text{H}_{2'b}$), 3.41 (d, 2H, $J = 3.2$ Hz, $\text{H}_{5'a}, \text{H}_{5'b}$), 3.80 (s, 6H, 2 x $\text{OCH}_3^{\text{DMT}}$), 4.07-4.10 (m, 1H, H_4'), 4.53 (s, 1H, OH), 4.63-4.65 (m, 1H, $\text{H}_{3'}$), 6.34 (dd, 1H, $J = 6.4, 7.3$ Hz, $\text{H}_{1'}$), 6.90-6.94 (m, 4H, 4 x $\text{H}_{\text{Ar}}^{\text{DMT}}$), 7.25-7.29 (m, 1H, $\text{H}_{\text{Ar}}^{\text{Bz}}$), 7.33-7.40 (m, 7H, 7 x $\text{H}_{\text{Ar}}^{\text{DMT}}$), 7.50-7.60 (m, 4H, 4 x $\text{H}_{\text{Ar}}^{\text{Bz}}$), 7.73-7.77 (m, 2H, 2 x $\text{H}_{\text{Ar}}^{\text{DMT}}$), 7.82 (d, 1H, $J = 1.4$ Hz, H_6).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 12.1 (CH_3^T), 41.3 (C_2'), 55.5 ($\text{OCH}_3^{\text{DMT}}$), 64.6 (C_5'), 72.3 (C_3'), 85.8 (C_1'), 87.4 (C_4'), 110.9 (C_5), 114.0 ($\text{CH}_{\text{Ar}}^{\text{DMT}}$), 127.8 ($\text{CH}_{\text{Ar}}^{\text{DMT}}$), 128.7 ($\text{CH}_{\text{Ar}}^{\text{DMT}}$), 129.0 ($\text{CH}_{\text{Ar}}^{\text{DMT}}$), 130.1 ($\text{CH}_{\text{Ar}}^{\text{DMT}}$), 131.0 ($\text{CH}_{\text{Ar}}^{\text{Bz}}$), 131.1 ($\text{CH}_{\text{Ar}}^{\text{DMT}}$), 132.9 (Cq), 135.8 (C_6), 136.4 (CH^{Bz}), 136.6 (Cq), 137.0 (Cq), 143.9 (Cq), 145.9 (Cq), 150.1 (C_2), 159.7 (Cq), 163.5 (C_4), 170.3 (Cq).

Réf. : Veeneman, G. H.; Van Der Marel, G. A.; Van Den Elst, H.; Van Boom, J. H. *Tetrahedron* **1991**, 47, 1547-1562.

3'-O-Allyl-5'-O-diméthoxytritylthymidine (118)Formule brute : $C_{34}H_{36}N_2O_7$

Masse molaire : 584

A une solution de NaH à 60% de dispersion dans d'huile (182 mg ; 4,55 mmol ; 2,5 éq) dans du THF anhydre (10 mL) agitée sous atmosphère inerte et réfrigérée à 0°C, est ajoutée de la 5'-O-diméthoxytritylthymidine **89** (988 mg ; 1,82 mmol ; 1 éq) et le milieu réactionnel est placé pendant 20 min aux ultrasons. Du bromure d'allyle (400 µL ; 4,62 mmol ; 2,5 éq) est ensuite additionné et le mélange est agité 3h à TA. Le mélange est ensuite versé dans une solution saturée en NaHCO₃ et extrait avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec une mélange AcOEt / EP 1:1 contenant 1% de triéthylamine. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 90% (m = 954 mg).

R_f : 0.44 (AcOEt / EP 7:3, révélateur 1).

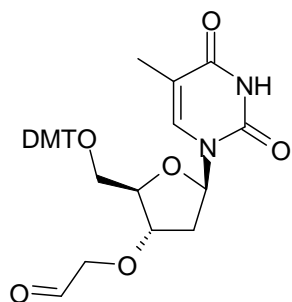
RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.47 (d, 3H, *J* = 1.4 Hz, CH₃^T), 2.35 (ddd, 1H, *J* = 5.5, 7.8, 13.5 Hz, H_{2'a}), 2.41 (ddd, 1H, *J* = 2.5, 6.0, 13.5 Hz, H_{2'b}), 3.39 (d, 2H, *J* = 3.7 Hz, OCH₂), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH₃^{DMT}), 4.02 (dd, 1H, *J* = 5.5, 13.3 Hz, H_{5'a}), 4.07 (dd, 1H, *J* = 5.5, 13.3 Hz, H_{5'b}), 4.12-4.14 (m, 1H, H_{4'}), 4.37-4.39 (m, 1H, H_{3'}), 5.14 (m, 1H, =CH₂^{allyle}), 5.26 (m, 1H, =CH₂^{allyle}), 5.85-5.98 (m, 1H, =CH^{allyle}), 6.31 (dd, 1H, *J* = 6.0, 7.8 Hz, H_{1'}), 6.89-6.93 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.24-7.39 (m, 7H, 7 x H_{Ar}^{DMT}), 7.47-7.50 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{DMT}), 7.61 (d, 1H, *J* = 1.4 Hz, H₆), 10.00 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 12.2 (CH₃^T), 38.2 (C_{2'}), 55.5 (OCH₃^{DMT}), 64.8 (OCH₂^{allyle}), 70.6 (C_{5'}), 79.9 (C_{3'}), 84.6 (C_{4'}), 85.3 (C_{1'}), 87.5 (Cq), 111.0 (C₅), 114.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 116.9 (CH₂^{allyle}), 127.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 129.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 131.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 135.8 (CH^{allyle}), 136.5 (C₆), 145.9 (Cq), 151.2 (C₂), 159.7 (Cq), 164.2 (C₄).

[α]_D²⁰ : + 16.2 (*c* = 0.9, Acétone).

T_f : 85°C

Réf. : Seio, K.; Terada, T.; Mizuta, M.; Ohkubo, A.; Taguchi, H.; Sekine, M. *Helv. Chim. Acta* **2007**, *90*, 1946-1965.

5'-*O*-Diméthoxytrityl-3'-*O*-formylméthylthymidine (119)Formule brute : C₃₃H₃₄N₂O₈

Masse molaire : 586

A une solution de 3'-*O*-allyl-5'-*O*-diméthoxytritylthymidine **118** (1,63 g ; 2,79 mmol) dans un mélange acétone / eau 3:1 (12 mL), sont ajoutés de la NMO (0,65 g ; 5,58 mmol ; 2 éq) et une solution à 4% de tétraoxyde d'osmium dans du *tert*-butanol (900 µL). Le milieu réactionnel est agité pendant 2h à TA puis traité avec du Na₂S₂O₅ (0,98 g). Après 30 min, de l'eau (~50 mL) est ajoutée pour dissoudre le précipité formé et la phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées.

Le brut obtenu est repris dans un mélange acétone / tampon phosphate (composé de NaHPO₄ et de NaH₂PO₄ à une concentration de 0,1 mol/L) à pH 7 (3:1, 22 mL) et du NaIO₄ (1,50 g ; 7,02 mmol ; 2,5 éq) est ajouté. Le mélange est agité pendant 2h à TA. Il est ensuite filtré et le précipité est rincé avec de l'AcOEt. Les deux phases du filtrat sont séparées et la phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (2 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le produit, sous forme d'un solide beige, est obtenu avec un rendement de 100% (m = 1,64 g) suffisamment pur pour être utilisé sans purification.

R_f : 0.55 (CH₂Cl₂ / MeOH 9:1, révélateur 1).

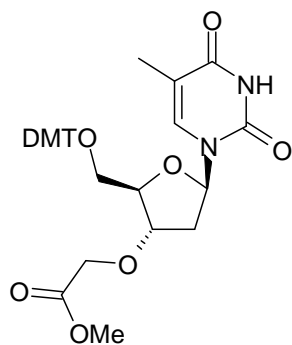
RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.45 (d, 3H, *J* = 0.9 Hz, CH₃^T), 2.39 (ddd, 1H, *J* = 6.0, 8.5, 14.2 Hz, H_{2'a}), 2.50 (ddd, 1H, *J* = 2.3, 6.0, 14.2 Hz, H_{2'b}), 3.41-3.43 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH₃^{DMT}), 4.20-4.22 (m, 1H, H_{4'}), 4.27 (s, 2H, OCH₂), 4.46-4.48 (m, 1H, H_{3'}), 6.33 (dd, 1H, *J* = 6.0, 8.5 Hz, H_{1'}), 6.90-6.92 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.25-7.37 (m, 7H, 7 x H_{Ar}^{DMT}), 7.48-7.50 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{DMT}), 7.60 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, H₆), 9.64 (s, 1H, CHO), 10.01 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 12.2 (CH₃^T), 38.0 (C_{2'}), 55.5 (OCH₃^{DMT}), 64.8 (C_{5'}), 75.4 (OCH₂^{allyle}), 81.7 (C_{3'}), 84.7 (C_{4'}), 87.5 (Cq), 87.6 (C_{1'}), 111.1 (C₅), 114.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.8 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.8 (CH_{Ar}^{DMT}), 129.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 131.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 136.4 (C₆), 145.9 (Cq), 151.3 (C₂), 159.6 (Cq), 164.2 (C₄), 200.6 (CHO).

[α]_D²⁰ : + 3.61 (c = 0.8, Acétone).

T_f : 123°C

Réf. : Seio, K.; Terada, T.; Mizuta, M.; Ohkubo, A.; Taguchi, H.; Sekine, M. *Helv. Chim. Acta* **2007**, *90*, 1946-1965.

5'-O-Méthoxycarbonylméthyl-3'-O-diméthoxytritylthymidine (127)Formule brute : $C_{34}H_{36}N_2O_9$

Masse molaire : 616

A une solution de **119** (492 mg ; 0,84 mmol) dans un mélange acétonitrile / eau 1:1 (8 mL), sont ajoutés du BAIB (547 mg ; 1,70 mmol ; 2 équ) et du TEMPO (27 mg ; 0,17 mmol ; 0,2 équ). Le mélange est agité 2h à TA. Il est dilué avec de l'AcOEt (15 mL) et lavé avec une solution saturée en NaCl. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (2 x). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées. Le produit brut est engagé dans la formation de l'ester.

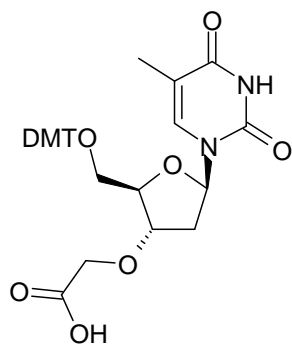
A une solution du dérivé acide (500 mg ; 0,84 mmol) dans du DMF anhydre (5 mL) agitée sous atmosphère inerte, sont ajoutés du $NaHCO_3$ (222 mg ; 2,64 mmol ; 3 équ) et du iodométhane (85 μL ; 1,36 mmol ; 1,5 équ). Le mélange est agité pendant une nuit à TA. Pour compléter la réaction, du carbonate de césium (143 mg ; 0,43 mmol ; 0,5 équ) est ajouté. Après 24h à TA, le produit de départ est consommé. Le milieu réactionnel est évaporé et le résidu est repris dans de l'AcOEt (~20 mL). La phase organique est lavée avec une solution saturée en $NaHCO_3$ puis avec une solution saturée en NaCl, séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec du CH_2Cl_2 contenant 1% de triéthylamine puis avec un mélange CH_2Cl_2 / MeOH / Et_3N 98:1:1. Le produit est obtenu sous forme d'une huile avec un rendement de 64% (m = 345 mg).

R_f : 0.48 (AcOEt / EP 7:3, révélateur 1).

RMN 1H (acétone- d_6 , 400 MHz) : δ 1.46 (d, 3H, $J = 0.9$ Hz, CH_3^T), 2.37 (ddd, 1H, $J = 5.9$, 8.3, 13.9 Hz, $H_{2'a}$), 2.49 (ddd, 1H, $J = 2.3$, 6.0, 13.9 Hz, $H_{2'b}$), 3.40 (dd, 1H, $J = 3.7$, 10.6 Hz, $H_{5'a}$), 3.44 (dd, 1H, $J = 3.7$, 10.6 Hz, $H_{5'b}$), 3.67 (s, 3H, CH_3^{ester}), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH_3^{DMT}), 4.17-4.20 (m, 1H, $H_{4'}$), 4.22 (s, 2H, OCH_2), 4.50-4.52 (m, 1H, $H_{3'}$), 6.32 (dd, 1H, $J = 6.0$, 8.3 Hz, $H_{1'}$), 6.89-6.93 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.23-7.38 (m, 7H, 7 x H_{Ar}^{DMT}), 7.47-7.50 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{DMT}), 7.59 (d, 1H, $J = 0.9$ Hz, H_6), 10.03 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (acétone- d_6 , 100 MHz) : δ 12.1 (CH_3^T), 38.0 ($C_{2'}$), 51.9 (OCH_3^{ester}), 55.5 (OCH_3^{DMT}), 64.8 ($C_{5'}$), 66.9 (OCH_2), 81.5 ($C_{3'}$), 84.7 ($C_{4'}$), 85.1 ($C_{1'}$), 87.5 (Cq), 111.0 (C_5), 114.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 129.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 131.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 136.3 (C_6), 136.6 (Cq), 145.9 (Cq), 151.2 (C_2), 159.7 (Cq), 164.1 (C_4), 171.2 ($C=O^{ester}$).

$[\alpha]_D^{20}$: + 18.6 ($c = 1.6$, Acétone).

3'-O-Carboxyméthyl-5'-O-diméthoxytritylthymidine (88)Formule brute : $C_{33}H_{34}N_2O_9$

Masse molaire : 602

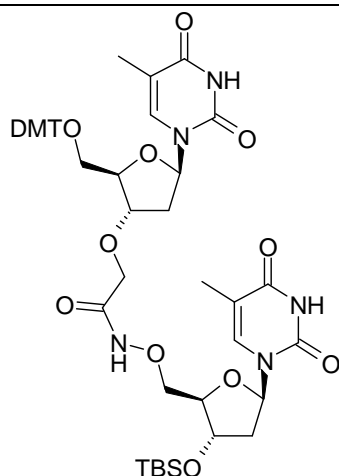
A une solution de **127** (200 mg ; 0,32 mmol) dans du méthanol (2 mL), est ajoutée de la lithine (12 mg ; 0,50 mmol ; 1,6 éq). Après 3 jours à TA, une solution saturée en NH_4Cl est ajoutée et le mélange est extrait avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées. Le produit brut est obtenu sous forme d'une huile avec un rendement de 90% ($m = 176$ mg). Il est suffisamment pur pour être utilisé ensuite sans purification.

R_f : 0.13 (CH_2Cl_2 / MeOH 9:1, révélateur 1).

RMN ¹H (méthanol-*d*₄, 400 MHz) : δ 1.36 (d, 3H, $J = 1.4$ Hz, CH_3^T), 2.27-2.34 (m, 1H, $H_{2'a}$), 2.50-2.54 (m, 1H, $H_{2'b}$), 3.37-3.43 (m, 2H, $H_{5'a}$, $H_{5'b}$), 3.77 (s, 6H, 2 x OCH_3^{DMT}), 3.93 (s, 2H, OCH_2), 4.21-4.25 (m, 1H, $H_{4'}$), 4.38-4.41 (m, 1H, $H_{3'}$), 6.31-6.34 (m, 1H, $H_{1'}$), 6.85-6.87 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.28-7.31 (m, 7H, 7 x H_{Ar}^{DMT}), 7.41-7.43 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{DMT}), 7.68 (d, 1H, $J = 1.4$ Hz, H_6).

$[\alpha]_D^{20}$: + 11.9 ($c = 1.5$, MeOH).

Réf. : Greenberg, M. M. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 29-38.

3'-O-(N-Carbonylméthyl)-5'-O-diméthoxytritylthymidyl-(3'→5')-5'-O-amino-3'-O-tert-butylidiméthylsilylthymidine (78)Formule brute : C₄₉H₆₁N₅O₁₃Si

Masse molaire : 955

A une solution de thymidine acide **88** (51 mg ; 0,085 mmol) dans du DMF anhydre (1 mL) agitée sous atmosphère inerte et à 0°C, sont ajoutés de l'HOAt (15 mg ; 0,11 mmol ; 1,3 éq) et de l'EDC (11 mg ; 0,10 mmol ; 1,2 éq). Après 10 min, de la thymidine oxyamine **82** (28 mg ; 0,075 mmol ; 0,9 éq) est ajoutée et le milieu réactionnel est agité une nuit à TA. Le mélange est dilué avec de l'AcOEt et lavé avec une solution saturée en NaHCO₃. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (2 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange CH₂Cl₂ / MeOH / Et₃N 99:0:1 puis 98:1:1 quand le produit sort. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 94% (m = 76 mg).

R_f : 0.36 (CH₂Cl₂ / MeOH 9.5:0.5, révélateur 1).

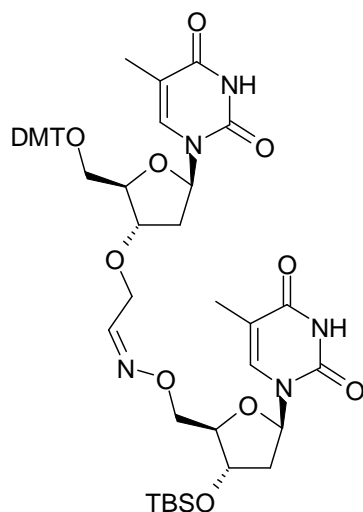
RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.13 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.92 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.45 (d, 3H, *J* = 1.4 Hz, CH₃^{T_A}), 1.84 (d, 3H, *J* = 0.9 Hz, CH₃^{T_B}), 2.14-2.26 (m, 2H, H_{2'aB}, H_{2'bB}), 2.34-2.42 (m, 2H, H_{2'aA}, H_{2'bA}), 3.39 (dd, 1H, *J* = 3.4, 10.7 Hz, H_{5'aA}), 3.45 (dd, 1H, *J* = 3.4, 10.3 Hz, H_{5'bA}), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH₃^{DMT}), 4.05-4.07 (m, 1H, H_{4'B}), 4.10-4.15 (m, 4H, H_{5'aB}, H_{5'bB}, OCH₂), 4.22-4.24 (m, 1H, H_{4'A}), 4.48-4.49 (m, 1H, H_{3'A}), 4.71-4.73 (m, 1H, H_{3'B}), 5.58 (s, 1H, CO-NH-O), 6.31-6.36 (m, 2H, H_{1'A}, H_{1'B}), 6.89-6.93 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.23-7.27 (m, 1H, H_{Ar}^{DMT}), 7.32-7.38 (m, 6H, 6 x H_{Ar}^{DMT}), 7.47-7.51 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{DMT}), 7.61 (d, 1H, *J* = 1.4 Hz, H_{6A}), 7.85 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, H_{6B}), 10.0 (s, 2H, NH_A, NH_B).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -4.6 (CH₃^{TBS}), 12.2 (CH₃^{T_A}), 12.4 (CH₃^{T_B}), 18.5 (Cq, *t*Bu^{TBS}), 26.1 (CH₃, *t*Bu^{TBS}), 37.8 (C_{2'A}), 41.2 (C_{2'B}), 55.5 (OCH₃^{DMT}), 64.9 (C_{5'A}), 68.8 (OCH₂), 73.8 (C_{3'B}), 76.6 (C_{5'B}), 82.2 (C_{3'A}), 84.4 (C_{4'A}), 85.1, 85.7 (C_{1'A}, C_{1'B}), 86.2 (C_{4'B}), 87.6 (Cq), 111.1 (C_{5A}, C_{5B}), 114.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 129.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 131.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 136.3, 136.9 (C_{6A}, C_{6B}), 145.8 (Cq), 151.2 (C_{2A}, C_{2B}), 159.7 (Cq), 164.1, 164.3 (C_{4A}, C_{4B}), 166.5 (Cq).

[α]_D²⁰ : + 19.8 (*c* = 1.1, Acétone).

T_f : 137°C

HRMS : *m/z* [M+Na]⁺ Calculée 978.3927 ; Trouvée 978.3894.

Dinucléoside **79** lié par liaison oximeFormule brute : C₄₉H₆₁N₅O₁₂Si

Masse molaire : 939

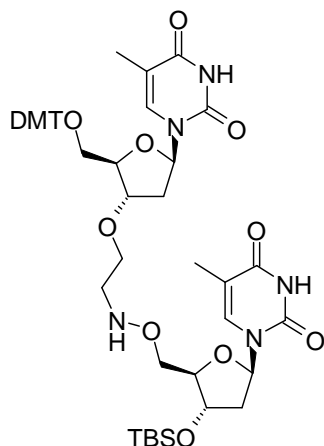
A une solution de thymidine aldéhyde **119** (162 mg ; 0,28 mmol) et de thymidine oxyamine **82** (105 mg ; 0,28 mmol) dans du THF anhydre (10 mL) agitée sous atmosphère inerte, est ajouté de l'acide acétique (150 μ L, 1,5% en volume). Après 20h d'agitation à TA, le mélange est neutralisé avec une solution saturée en NaHCO₃ et extrait avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange CH₂Cl₂ / MeOH / Et₃N 98:1:1. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 84% (m = 220 mg).

Rf : 0.42 (CH₂Cl₂ / MeOH 9.5:0.5, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.11 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.91 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.29 (d, 3H, $J = 1.4$ Hz, CH₃^{T_A}), 1.79 (d, 3H, $J = 0.9$ Hz, CH₃^{T_B}), 2.19-2.33 (m, 2H, H_{2'aB}, H_{2'bB}), 2.35-2.50 (m, 2H, H_{2'aA}, H_{2'bA}), 3.37-3.44 (m, 2H, H_{5'aA}, H_{5'bA}), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH₃^{DMT}), 4.04-4.08 (m, 1H, H_{4'B}), 4.13-4.16 (m, 1H, H_{4'A}), 4.17-4.20 (t, 1.2H, $J = 5.0$ Hz, OCH₂CH=N-O (E)), 4.24-4.31 (m, 2H, H_{5'aB}, H_{5'bB}), 4.38-4.41 (dd, 0.8H, $J = 3.4, 8.0$ Hz, OCH₂CH=N-O (Z)), 4.43-4.46 (m, 1H, H_{3'A}), 4.54-4.58 (m, 1H, H_{3'B}), 6.25-6.32 (m, 2H, H_{1'A}, H_{1'B}), 6.89-6.95 (m, 4.4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}, CH=N-O (Z)), 7.23-7.27 (m, 1H, H_{Ar}^{DMT}), 7.31-7.36 (m, 6H, 6 x H_{Ar}^{DMT}), 7.47-7.51 (m, 3H, 2 x H_{Ar}^{DMT}, H_{6B}), 7.59-7.61 (m, 1.6H, H_{6A}, CH=N-O (E)), 10.0 (s, 2H, NH_A, NH_B).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -4.7 (CH₃^{TBS}), 12.2 (CH₃^{T_A}), 12.7 (CH₃^{T_B}), 18.5 (Cq, *t*Bu^{TBS}), 26.2 (CH₃, *t*Bu^{TBS}), 37.9 (C_{2'A}), 40.6 (C_{2'B}), 55.5 (OCH₃^{DMT}), 64.3 (OCH₂CH=N-O (Z)), 64.8 (C_{5'A}), 66.7 (OCH₂CH=N-O (E)), 73.4 (C_{3'B}), 74.5 (C_{5'B}), 75.0 (Cq), 81.0 (C_{3'A}), 84.5 (C_{4'A}), 85.2, 85.5 (C_{1'A}, C_{1'B}), 86.1 (C_{4'B}), 87.5 (Cq), 110.0, 110.8 (C_{5A}, C_{5B}), 114.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 129.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 131.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 136.2, 136.4 (C_{6A}, C_{6B}), 145.8 (Cq), 148.6 (Cq), 151.2 (C_{2A}, C_{2B}), 159.7 (Cq), 164.1 (C_{4A}, C_{4B}), 183.3 (Cq), 190.0 (Cq).

T_f : 135°C

5'-O-Diméthoxytrityl-3'-O-(N-éthyl)thymidyl-(3'→5')-5'-O-amino-3'-O-tert-butylidiméthylsilylthymidine (80)
Formule brute : C₄₉H₆₃N₅O₁₂Si

Masse molaire : 941

A une solution du dinucléoside **79** (52 mg ; 0,055 mmol) dans du THF anhydre (1 mL) agitée sous atmosphère inerte, sont ajoutés de l'acide acétique (25 μ L, 2,5% en volume) et du NaBH₃CN (10 mg ; 0,17 mmol ; 3 eq). Le milieu réactionnel est agité 24h à TA. La conversion n'est pas totale, du NaBH₃CN (10 mg ; 0,17 mmol ; 3 eq) est de nouveau ajouté. Après 48h, la réaction est stoppée. Le mélange est dilué dans de l'AcOEt et lavée avec une solution saturée en NaHCO₃. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (2 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange CH₂Cl₂ / MeOH / Et₃N 98:1:1. Le produit désiré est obtenu avec un rendement de 66% (m = 34 mg).

R_f : 0.45 (CH₂Cl₂ / MeOH 9.5:0.5, révélateur 1).

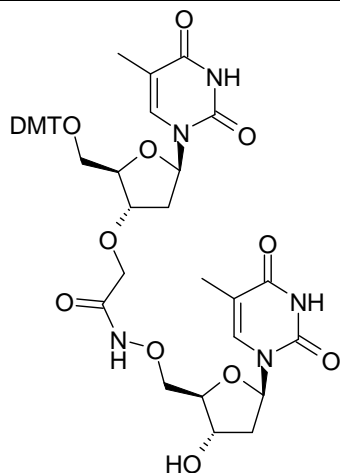
RMN ¹H (acétone-d₆, 400 MHz) : δ 0.11 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.91 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.46 (d, 3H, *J* = 0.9 Hz, CH₃^{T_A}), 1.80 (d, 3H, *J* = 0.9 Hz, CH₃^{T_B}), 2.15-2.28 (m, 2H, H_{2'aB}, H_{2'bB}), 2.32-2.46 (m, 2H, H_{2'aA}, H_{2'bA}), 3.09-3.13 (m, 2H, OCH₂CH₂-NH-O), 3.36-3.43 (m, 2H, H_{5'aA}, H_{5'bA}), 3.62-3.71 (m, 2H, OCH₂CH₂-NH-O), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH₃^{DMT}), 3.81-3.92 (m, 2H, H_{5'aB}, H_{5'bB}), 3.99-4.02 (m, 1H, H_{4'B}), 4.13-4.15 (m, 1H, H_{4'A}), 4.33-4.35 (m, 1H, H_{3'A}), 4.50-4.53 (m, 1H, H_{3'B}), 6.26-6.31 (m, 2H, H_{1'A}, H_{1'B}), 6.43-6.46 (t, 1H, CH₂-NH-O), 6.89-6.93 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.23-7.27 (m, 1H, H_{Ar}^{DMT}), 7.32-7.38 (m, 6H, 6 x H_{Ar}^{DMT}), 7.48-7.50 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{DMT}), 7.56 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, H_{6B}), 7.60 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, H_{6A}), 9.94 (s, 1H, NH_A), 9.97 (s, 1H, NH_B).

RMN ¹³C (acétone-d₆, 100 MHz) : δ -4.6 (CH₃^{TBS}), 12.2 (CH₃^{T_A}), 12.6 (CH₃^{T_B}), 18.5 (Cq, *t*Bu^{TBS}), 26.1 (CH₃, *t*Bu^{TBS}), 38.0 (C_{2'A}), 40.9 (C_{2'B}), 52.2 (OCH₂CH₂-NH-O), 55.5 (OCH₃^{DMT}), 64.9 (C_{5'A}), 66.7 (OCH₂CH₂-NH-O), 73.7 (C_{3'B}), 74.4 (C_{5'B}), 81.0 (C_{3'A}), 84.5 (C_{4'A}), 85.2, 85.5 (C_{1'A}, C_{1'B}), 86.4 (C_{4'B}), 87.5 (Cq), 110.8, 111.0 (C_{5A}, C_{5B}), 114.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 129.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 131.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 136.3, 136.5 (C_{6A}, C_{6B}), 145.8 (Cq), 151.2 (C_{2A}, C_{2B}), 159.7 (Cq), 164.2 (C_{4A}, C_{4B}).

[α]_D²⁰ : + 18.8 (*c* = 0.7, Acétone).

T_f : 106°C

HRMS : *m/z* [M+Na]⁺ Calculée 964.4135 ; Trouvée 964.4087.

3'-O-(N-Carbonylméthyl)-5'-O-diméthoxytritylthymidyl-(3'→5')-5'-O-aminothymidine (135)
Formule brute : $C_{43}H_{47}N_5O_{13}$

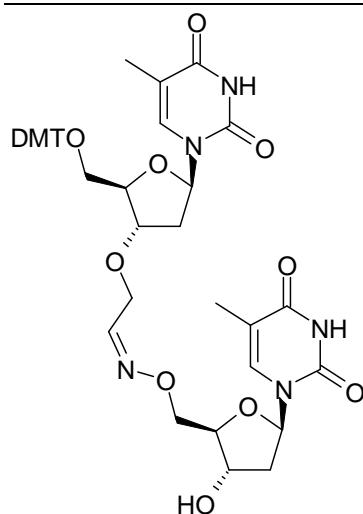
Masse molaire : 841

A une solution du dinucléoside **78** (175 mg ; 0,18 mmol) dans du THF (2 mL), est ajouté du TBAF (85 mg ; 0,27 mmol ; 1,5 éq). Le milieu réactionnel est agité une nuit à TA, il est concentré puis repris dans de l'AcOEt et lavé avec une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 94% (m = 76 mg).

R_f : 0.17 (CH_2Cl_2 / MeOH 9:1, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.45 (d, 3H, $J = 0.9$ Hz, $CH_3^T_A$), 1.84 (d, 3H, $J = 1.4$ Hz, $CH_3^T_B$), 2.16-2.26 (m, 2H, $H_{2'aB}$, $H_{2'bB}$), 2.35-2.42 (m, 1H, $H_{2'aA}$), 2.48-2.54 (m, 1H, $H_{2'bA}$), 3.40 (dd, 1H, $J = 3.7, 10.7$ Hz, $H_{5'aA}$), 3.44 (dd, 1H, $J = 3.4, 10.7$ Hz, $H_{5'bA}$), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH_3^{DMT}), 4.06-4.15 (m, 5H, $H_{4'B}$, $H_{5'aB}$, $H_{5'bB}$, OCH_2), 4.23-4.24 (m, 1H, $H_{4'A}$), 4.47-4.48 (m, 1H, $H_{3'A}$), 4.56-4.57 (m, 1H, $H_{3'B}$), 6.31-6.36 (m, 2H, $H_{1'A}$, $H_{1'B}$), 6.90-6.93 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.26-7.38 (m, 7H, 7 x H_{Ar}^{DMT}), 7.48-7.50 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{DMT}), 7.61 (d, 1H, $J = 1.4$ Hz, H_{6A}), 7.81 (d, 1H, $J = 0.9$ Hz, H_{6B}).

Dinucléoside 136 lié par liaison oxime

Formule brute : $C_{43}H_{47}N_5O_{12}$

Masse molaire : 825

A une solution du dinucléoside **79** (301 mg ; 0,32 mmol) dans du THF (3 mL), est ajouté du TBAF (150 mg ; 0,48 mmol ; 1,5 éq). Le milieu réactionnel est agité une nuit à TA, il est concentré puis repris dans de l'AcOEt et lavé avec une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange CH_2Cl_2 / MeOH / Et_3N 98:1:1 puis 97:2:1. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 99% ($m = 261$ mg).

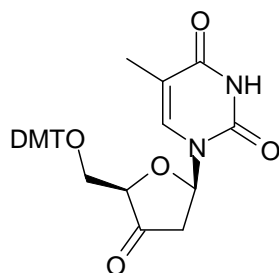
Rf : 0.33 (CH_2Cl_2 / MeOH 9.5:0.5, révélateur 1).

RMN 1H (acétone- d_6 , 400 MHz) : δ 1.47 (d, 3H, $J = 1.4$ Hz, $CH_3^T_A$), 1.81 (d, 3H, $J = 1.4$ Hz, $CH_3^T_B$), 2.15-2.29 (m, 2H, $H_{2'aB}$, $H_{2'bB}$), 2.36-2.48 (m, 2H, $H_{2'aA}$, $H_{2'bA}$), 3.39-3.40 (m, 2H, $H_{5'aA}$, $H_{5'bA}$), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH_3^{DMT}), 4.07-4.11 (m, 1H, $H_{4'B}$), 4.14-4.15 (m, 1H, $H_{4'A}$), 4.17-4.19 (t, 1.2H, $J = 5.0$ Hz, $OCH_2CH=N-O$ (E)), 4.25-4.30 (m, 2H, $H_{5'aB}$, $H_{5'bB}$), 4.37-4.41 (m, 0.8H, $OCH_2CH=N-O$ (Z)), 4.44-4.48 (m, 2H, $H_{3'A}$, $H_{3'B}$), 4.58-4.59 (m, 1H, OH), 6.28-6.34 (m, 2H, $H_{1'A}$, $H_{1'B}$), 6.89-6.93 (m, 4.4H, 4 x H_{Ar}^{DMT} , $CH=N-O$ (Z)), 7.23-7.28 (m, 1H, H_{Ar}^{DMT}), 7.31-7.38 (m, 6H, 6 x H_{Ar}^{DMT}), 7.44-7.50 (m, 3H, 2 x H_{Ar}^{DMT} , H_{6B}), 7.57-7.58 (m, 0.6H, $CH=N-O$ (E)), 7.61 (d, 1H, $J = 1.4$ Hz, H_{6A}), 10.00 (s, 2H, NH_A , NH_B).

RMN ^{13}C (acétone- d_6 , 100 MHz) : δ 12.2 ($CH_3^T_A$), 12.7 ($CH_3^T_B$), 38.0 ($C_{2'A}$), 40.4 ($C_{2'B}$), 55.5 (OCH_3^{DMT}), 64.7 ($OCH_2CH=N-O$ (Z)), 64.8 ($C_{5'A}$), 66.6 ($OCH_2CH=N-O$ (E)), 72.3 ($C_{3'B}$), 75.0 ($C_{5'B}$), 75.1 (Cq), 81.0 ($C_{3'A}$), 84.5 ($C_{4'A}$), 85.1, 85.2 ($C_{1'A}$, $C_{1'B}$), 86.1 ($C_{4'B}$), 110.8, 111.1 (C_{5A} , C_{5B}), 114.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 129.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 131.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 136.3, 136.4 (C_{6A} , C_{6B}), 145.8 (Cq), 148.6 (Cq), 151.2 (C_{2A} , C_{2B}), 159.7 (Cq), 164.1 (C_{4A} , C_{4B}), 183.3 (Cq), 190.0 (Cq).

T_f : 122°C

HRMS : m/z $[M+Na]^+$ Calculée 848.3113 ; Trouvée 848.3058.

5'-O-Diméthoxytrityl-3'-oxothymidine (138)Formule brute : $C_{31}H_{30}N_2O_7$

Masse molaire : 542

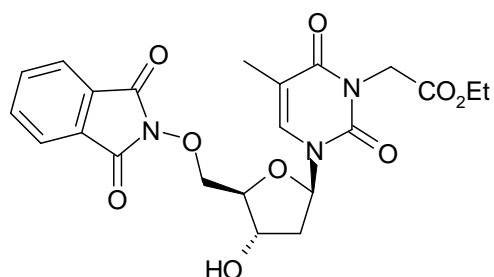
A une suspension de CrO_3 (301 mg) dans du CH_2Cl_2 anhydre (7 mL) agitée sous atmosphère inerte et refroidie à $5^\circ C$, est ajoutée de la pyridine (0,5 mL), le CrO_3 se solubilise. De l'anhydride acétique (0,3 mL) et de la 5'-O-diméthoxytritylthymidine **89** (550 mg ; 1,0 éq) sont ensuite ajoutés. Le milieu réactionnel est agité 30 min à $5^\circ C$. Le mélange est dilué dans de l'AcOEt et le précipité formé (sels de chrome) est filtré sur silice. Le filtrat est concentré sous pression réduite sans chauffage. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 85% ($m = 464$ mg).

R_f : 0.50 (CH_2Cl_2 / MeOH 9:1, révélateur 1).

RMN ¹H ($CDCl_3$, 400 MHz) : δ 1.31 (d, 3H, $J = 1.4$ Hz, CH_3^T), 2.76 (dd, 1H, $J = 8.3, 18.8$ Hz, $H_{2'a}$), 3.08 (dd, 1H, $J = 6.9, 18.8$ Hz, $H_{2'b}$), 3.44 (dd, 1H, $J = 2.1, 10.4$ Hz, $H_{5'a}$), 3.63 (dd, 1H, $J = 2.3, 10.4$ Hz, $H_{5'b}$), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH_3^{DMT}), 4.17-4.18 (m, 1H, $H_{4'}$), 6.58 (dd, 1H, $J = 6.9, 8.3$ Hz, $H_{1'}$), 6.81-6.85 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.22-7.35 (m, 7H, 7 x H_{Ar}^{DMT}), 7.68 (d, 1H, $J = 1.4$ Hz, H_6), 8.62-8.64 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{DMT}), 8.93 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C ($CDCl_3$, 100 MHz) : δ 11.6 (CH_3^T), 42.0 ($C_{2'}$), 55.4 (OCH_3^{DMT}), 63.0 ($C_{5'}$), 81.0 ($C_{1'}$), 81.6 ($C_{4'}$), 87.3 (Cq), 112.5 (C_5), 113.4 (CH_{Ar}^{DMT}), 124.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.3 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 130.1 (CH_{Ar}^{DMT}), 135.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 136.6 (C_6), 144.2 (Cq), 149.4 (CH_{Ar}^{DMT}), 150.4 (C_2), 159.0 (Cq), 163.9 (C_4), 175.7 (Cq), 209.7 ($C_{3'}$).

Réf. : Svendsen, M. L.; Wengel, J. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 11341-11352.

3-*N*-Ethoxycarbonylméthyl-5'-*O*-phthalimidothymidine (154)Formule brute : C₂₅H₂₃N₃O₉

Masse molaire : 509

A une suspension de NaH à 60% de dispersion dans l'huile (26 mg ; 0,65 mmol ; 2,4 éq) dans du THF anhydre (2 mL) agitée sous atmosphère inerte et réfrigérée à 0°C, est ajouté du 5'-*O*-phthalimidothymidine **83** (106 mg ; 0,27 mmol ; 1 éq) et le milieu réactionnel est placé pendant 20 min aux ultrasons. Du bromoacétate d'éthyle (31 µL ; 0,28 mmol ; 1.0 éq) est ensuite additionné et le mélange est agité 3h à TA. Le mélange est ensuite versé dans une solution saturée en NaHCO₃ et extrait avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec une mélange AcOEt / EP 1:1. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 68% (m = 93 mg).

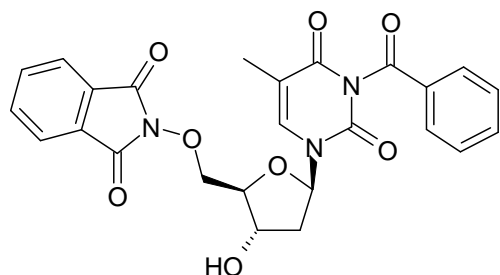
R_f : 0.62 (AcOEt / EP 7:3, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.24 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, CH₃^{ester}), 1.93 (d, 3H, *J* = 1.4 Hz, CH₃^T), 2.26 (ddd, 1H, *J* = 5.5, 8.5, 14.0 Hz, H_{2'a}), 2.31 (ddd, 1H, *J* = 2.3, 5.7, 14.0 Hz, H_{2'b}), 4.16 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, CH₂^{ester}), 4.27-4.30 (m, 1H, H_{4'}), 4.49 (dd, 1H, *J* = 3.0, 10.1 Hz, H_{5'a}), 4.53 (dd, 1H, *J* = 4.2, 10.1 Hz, H_{5'b}), 4.60 (s, 2H, N-CH₂), 4.67 (d, 1H, *J* = 3.7 Hz, OH), 4.73-4.77 (m, 1H, H_{3'}), 6.41 (dd, 1H, *J* = 5.7, 8.5 Hz, H_{1'}), 7.88 (d, 1H, *J* = 1.4 Hz, H₆), 7.90 (s, 4H, 4 x H^{Phth}).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 13.0 (CH₃^T), 14.4 (CH₃^{ester}), 40.9 (C_{2'}), 42.5 (NCH₂), 61.7 (CH₂^{ester}), 72.5 (C_{3'}), 78.6 (C_{5'}), 85.9 (C_{4'}), 86.9 (C_{1'}), 110.3 (C₅), 124.0 (CH_{Ar}^{Phth}), 130.0 (C_q), 135.6 (CH_{Ar}^{Phth}), 151.3 (C₂), 163.3 (C=O^{Phth}), 163.9 (C₄), 168.6 (C=O^{ester}).

[α]_D²⁰ : + 87.2 (*c* = 1.0, Acétone).

T_f : 194°C

3-*N*-Benzoyl-5'-*O*-phthalimidothymidine (155)Formule brute : C₂₅H₂₁N₃O₈

Masse molaire : 491

A une suspension de 5'-*O*-phthalimidothymidine **83** (1,01 g ; 2,61 mmol) dans de l'acétonitrile anhydre (25 mL) agitée sous atmosphère inerte, est ajouté du BSA (1,20 mL ; 4,85 mmol ; 1,9 éq). Le milieu est porté à reflux pendant 1h puis refroidi à TA puis à 0°C. De la triéthylamine (720 µL ; 5,17 mmol ; 2 éq) puis du chlorure de benzoyle (360 µL ; 3,10 mmol ; 1,2 éq) sont ajoutés. Le mélange est agité une nuit à TA. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est repris dans de l'AcOEt, lavé avec une solution de HCl 1M (3 x), avec de l'eau et enfin avec une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 6:4 puis 7:3. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 92% (m = 1,18 g).

R_f : 0.44 (AcOEt / EP 8:2, révélateur 1).

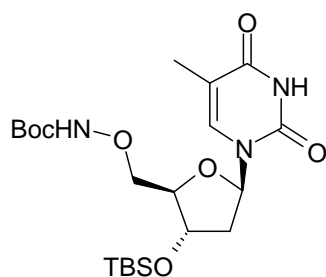
RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.95 (d, 3H, *J* = 1.0 Hz, CH₃^T), 2.34-2.37 (m, 2H, H_{2'a}, H_{2'b}), 4.29-4.31 (m, 1H, H_{4'}), 4.51 (dd, 1H, *J* = 3.0, 10.6 Hz, H_{5'a}), 4.55 (dd, 1H, *J* = 4.3, 10.6 Hz, H_{5'b}), 4.68 (d, 1H, *J* = 3.7 Hz, OH), 4.75-4.78 (m, 1H, H_{3'}), 6.38 (t, 1H, *J* = 6.9 Hz, H_{1'}), 7.57-7.61 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{Bz}), 7.73-7.77 (m, 1H, H_{Ar}^{Bz}), 7.91 (s, 4H, 4 x H_{Ar}^{Phth}), 7.98 (d, 1H, *J* = 1.0 Hz, H₆), 8.00-8.03 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{Bz}).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 12.4 (CH₃^T), 40.9 (C_{2'}), 72.4 (C_{3'}), 78.6 (C_{5'}), 86.0 (C_{4'}), 86.4 (C_{1'}), 111.3 (C₅), 124.0 (CH_{Ar}^{Phth}), 130.1 (CH_{Ar}^{Bz}), 131.1 (CH_{Ar}^{Bz}), 133.0 (C_q), 135.6 (CH_{Ar}^{Phth}), 135.7 (CH_{Ar}^{Bz}), 137.6 (C₆), 150.2 (C₂), 163.5 (C=O^{Phth}), 163.9 (C₄), 170.3 (C=O^{Bz}).

[α]_D²⁰ : + 17.9 (c = 1.1, MeOH).

T_f : 206°C

HRMS : *m/z* [M+Na]⁺ Calculée 514.1221 ; Trouvée 514.1233.

5'-*O*-*Tert*-butoxycarbonylamino-3'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine (159)Formule brute : C₂₁H₃₇N₃O₇Si

Masse molaire : 471

A une solution de 5'-*O*-amino-3'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine **82** (665 mg ; 1,79 mmol) dans du THF anhydre (7 mL) agitée sous atmosphère inerte, sont ajoutés de la triéthylamine (385 μ L ; 2,74 mmol ; 1,5 éq) et du Boc₂O (521 mg ; 2,39 mmol ; 1,3 éq). Le milieu réactionnel est agité 3 jours à TA. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est repris dans de l'AcOEt et lavé avec de l'eau puis avec une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et concentrée. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 1:1. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 82% (m = 486 mg).

R_f : 0.50 (AcOEt / EP 1:1, révélateur 1).

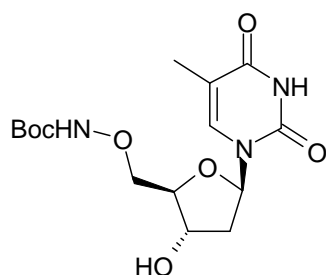
RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.13 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.92 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.46 (s, 9H, *t*Bu^{Boc}), 1.85 (d, 3H, *J* = 1.3 Hz, CH₃^T), 2.16-2.27 (m, 2H, H_{2'a}, H_{2'b}), 4.02-4.07 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 4.11-4.13 (m, 1H, H_{4'}), 4.65-4.67 (m, 1H, H_{3'}), 6.33 (dd, 1H, *J* = 6.0, 7.8 Hz, H_{1'}), 7.77 (s, 1H, H₆), 9.27 (s, 1H, O-NH), 9.97 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -4.7 (CH₃^{TBS}), 12.4 (CH₃^T), 18.5 (Cq, *t*Bu^{TBS}), 26.1 (CH₃, *t*Bu^{TBS}), 28.4 (CH₃, *t*Bu^{Boc}), 41.2 (C_{2'}), 73.7 (C_{3'}), 76.7 (C_{5'}), 81.1 (Cq, *t*Bu^{Boc}), 85.6 (C_{1'}), 86.2 (C_{4'}), 110.9 (C₅), 136.8 (C₆), 151.3 (C₂), 157.3 (C=O^{Boc}), 164.3 (C₄).

[α]_D²⁰ : + 41.9 (*c* = 1.0, MeOH).

T_f : 134°C

HRMS : *m/z* [M+Na]⁺ Calculée 494.2293 ; Trouvée 494.2268.

5'-O-Tert-butoxycarbonylaminothymidine (160)Formule brute : $C_{15}H_{22}N_3O_7$

Masse molaire : 356

A une solution de 5'-O-tert-butoxycarbonylamino-3'-O-tert-butyl-diméthylsilylthymidine **159** (340 mg ; 1,05 mmol) dans du THF (3 mL) agitée sous atmosphère inerte, est ajouté du TBAF (650 mg ; 2,06 mmol ; 2 éq). Le milieu réactionnel est agité 1 nuit à TA. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est repris dans de l'AcOEt et lavé avec de l'eau puis avec une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée. Le produit brut est obtenu avec un rendement quantitatif ($m = 386$ mg).

R_f : 0.15 (AcOEt / EP 8:2, révélateur 1).

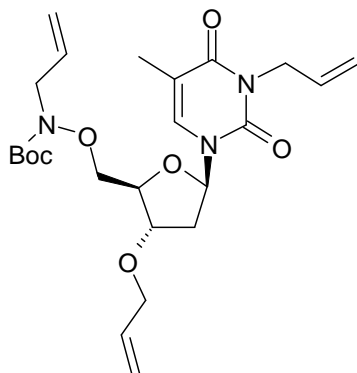
RMN 1H (acétone- d_6 , 400 MHz) : δ 1.44 (s, 9H, tBu^{Boc}), 1.85 (d, 3H, $J = 1.3$ Hz, CH_3^T), 2.06-2.19 (m, 2H, $H_{2'a}$, $H_{2'b}$), 3.99-4.02 (m, 2H, $H_{5'a}$, $H_{5'b}$), 4.16-4.18 (m, 1H, $H_{4'}$), 4.53-4.54 (m, 1H, $H_{3'}$), 6.30-6.34 (m, 1H, $H_{1'}$), 7.74 (d, 1H, $J = 1.3$ Hz, H_6), 9.78 (s, 1H, O-NH), 9.89 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (acétone- d_6 , 100 MHz) : δ 12.4 (CH_3^T), 28.3 (CH_3 , tBu^{Boc}), 40.2 ($C_{2'}$), 54.9 ($C_{3'}$), 72.2 ($C_{5'}$), 76.6 (Cq, tBu^{Boc}), 85.6 ($C_{1'}$), 85.9 ($C_{4'}$), 110.8 (C_5), 136.8 (C_6), 151.3 (C_2), 157.2 ($C=O^{Boc}$), 164.4 (C_4).

$[\alpha]_D^{20}$: + 41.9 ($c = 1.0$, MeOH).

T_f : 134°C

HRMS : m/z $[M+Na]^+$ Calculée 380.1434 ; Trouvée 380.1463.

3,3'-N,O-Di-allyl-5'-O-(N-allyl-N-tert-butoxycarbonyl)aminothymidine (162)Formule brute : C₂₄H₃₄N₃O₇

Masse molaire : 476

A une solution de 5'-O-tert-butoxycarbonylaminothymidine **160** (69 mg ; 0,19 mmol) dans du THF anhydre (1 mL) agitée sous atmosphère inerte, est ajouté du NaH à 60% de dispersion dans l'huile (20 mg ; 0,50 mmol ; 2,5 éq) et le mélange est placé 20 min aux ultrasons. Du bromure d'allyle (45 µL ; 0,52 mmol ; 2,7 éq) est ensuite ajouté. Le milieu réactionnel est agité 1 nuit à TA. Le mélange est dilué dans de l'AcOEt et lavé avec de l'eau. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 x) puis les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 2:8. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 62% (m = 56 mg).

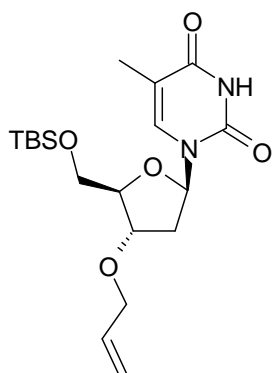
R_f : 0.70 (AcOEt / EP 3:7, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-d₆, 400 MHz) : δ 1.46 (s, 9H, tBu^{Boc}), 1.87 (d, 3H, J = 1.4 Hz, CH₃^T), 2.06-2.13 (m, 1H, H_{2'a}), 2.33-2.38 (m, 1H, H_{2'b}), 4.00-4.10 (m, 5H, OCH₂, N-CH₂, H_{5'a}), 4.17-4.22 (m, 2H, H_{5'b}, H_{4'}), 4.31-4.33 (m, 1H, H_{3'}), 4.44-4.46 (m, 2H, N-CH₂), 5.05-5.30 (m, 6H, 3 x =CH₂^{allyle}), 5.80-5.94 (m, 3H, 3 x =CH^{allyle}), 6.27-6.30 (m, 1H, H_{1'}), 7.76 (d, 1H, J = 1.4 Hz, H₆).

RMN ¹³C (acétone-d₆, 100 MHz) : δ 13.2 (CH₃^T), 28.4 (CH₃, tBu^{Boc}), 38.1 (C_{2'}), 43.4 (N-CH₂), 53.2 (N-CH₂), 70.5 (O-CH₂), 75.4 (C_{5'}), 80.2 (C_{3'}), 82.0 (Cq, tBu^{Boc}), 83.9 (C_{4'}), 86.6 (C_{1'}), 110.1 (C₅), 116.7, 117.3, 118.2 (CH₂^{allyle}), 133.5, 133.9, 135.1, 135.8 (CH^{allyle}, C₆), 151.3 (C₂), 156.8 (C=O^{Boc}), 163.3 (C₄).

[α]_D²⁰ : + 59.1 (c = 0.8, Acétone).

T_f : 134°C

3'-O-Allyl-5'-O-tert-butyldiméthylsilylthymidine (124)Formule brute : C₁₉H₃₃N₂O₅Si

Masse molaire : 397

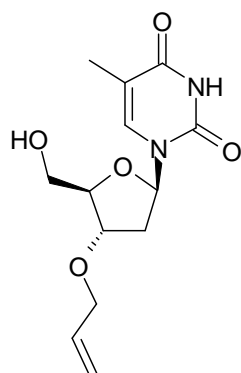
A une solution de 5'-O-tert-butyldiméthylsilylthymidine **100** (492 mg ; 1,38 mmol) dans du THF anhydre (5 mL) agitée sous atmosphère inerte et réfrigérée à 0°C, est ajouté du NaH à 60% de dispersion dans l'huile (135 mg ; 3,38 mmol ; 2,5 éq). Le milieu réactionnel est placé 20 min aux ultrasons. Du bromure d'allyle (280 µL ; 3,23 mmol ; 2,3 éq) est ensuite ajouté et le mélange est agité pendant 5h à TA. La conversion est complète. De l'AcOEt (30 mL) est ajouté et le mélange est lavé avec une solution saturée en NaHCO₃. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (2 x) puis les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 1:1. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement quantitatif (m = 552 mg).

R_f : 0.68 (AcOEt / EP 8:2, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-d₆, 400 MHz) : δ 0.15 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.94 (s, 9H, tBu^{TBS}), 1.83 (d, 3H, J = 1.3 Hz, CH₃^T), 2.11-2.18 (m, 1H, H_{2'a}), 2.33-2.39 (m, 1H, H_{2'b}), 3.88-3.89 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 4.05-4.10 (m, 3H, OCH₂, H_{4'}), 4.19-4.22 (m, 1H, H_{3'}), 5.15 (m, 1H, =CH₂^{allyle}), 5.30 (m, 1H, =CH₂^{allyle}), 5.87-5.98 (m, 1H, =CH^{allyle}), 6.26 (dd, 1H, J = 5.5, 8.7 Hz, H_{1'}), 7.54 (d, 1H, J = 1.3 Hz, H₆), 9.99 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-d₆, 100 MHz) : δ -5.3 (CH₃^{TBS}), 12.6 (CH₃, tBu^{TBS}), 12.6 (CH₃^T), 18.9 (C_q, tBu^{TBS}), 38.0 (C_{2'}), 64.5 (C_{5'}), 70.4 (OCH₂^{allyle}), 80.1 (C_{3'}), 85.4 (C_{1'}), 85.7 (C_{4'}), 110.7 (C₅), 116.7 (CH₂^{allyle}), 135.9 (CH^{allyle}), 136.0 (C₆), 150.9 (C₂), 164.1 (C₄).

Réf. : Montembault, M.; Bourgougnon, N.; Lebreton, J. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8091-8094.

3'-*O*-Allylthymidine (164)Formule brute : $C_{13}H_{18}N_2O_5$

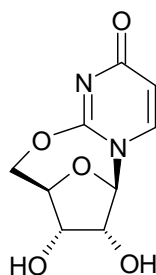
Masse molaire : 282

A une solution de 3'-*O*-allyl-5'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylthymidine **124** (455 mg ; 1,14 mmol) dans du THF (5 mL), est ajouté du TBAF (538 mg ; 1,71 mmol ; 1,5 éq). Le mélange est agité une nuit à TA. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est repris dans de l'AcOEt. La phase organique est lavée avec une solution saturée en NaCl, séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 8:2. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 90% ($m = 277$ mg).

R_f : 0.24 (AcOEt / EP 8:2, révélateur 1).

RMN 1H (acétone- d_6 , 400 MHz) : δ 1.81 (d, 3H, $J = 1.4$ Hz, CH_3^T), 2.21-2.28 (m, 1H, $H_{2'a}$), 2.32-2.37 (m, 1H, $H_{2'b}$), 3.74-3.83 (m, 2H, $H_{5'a}$, $H_{5'b}$), 4.04-4.08 (m, 3H, OCH_2 , $H_{4'}$), 4.24-4.27 (m, 1H, $H_{3'}$), 4.33 (t, 1H, $J = 5.0$ Hz, OH), 5.15 (m, 1H, $=CH_2^{allyle}$), 5.30 (m, 1H, $=CH_2^{allyle}$), 5.88-5.98 (m, 1H, $=CH^{allyle}$), 6.25 (dd, 1H, $J = 6.0, 8.2$ Hz, $H_{1'}$), 7.78 (d, 1H, $J = 1.4$ Hz, H_6), 9.99 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (acétone- d_6 , 100 MHz) : δ 12.5 (CH_3^T), 37.9 ($C_{2'}$), 63.1 ($C_{5'}$), 70.4 (OCH_2), 80.1 ($C_{3'}$), 85.7 ($C_{1'}$), 86.1 ($C_{4'}$), 110.7 (C_5), 116.6 (CH_2^{allyle}), 135.9 (CH^{allyle}), 136.9 (C_6), 151.3 (C_2), 164.3 (C_4).

2,5'-Anhydrouridine (177)Formule brute : $C_9H_{11}N_2O_5$

Masse molaire : 227

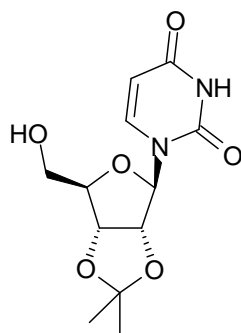
A une solution d'uridine (100 mg ; 0,41 mmol) dans un mélange THF / DMF anhydre (7 mL, 6:1), sont ajoutés de la triphénylphosphine (156 mg ; 0,60 mmol ; 1,4 éq) et du N-hydroxyphthalimide (81 mg ; 0,50 mmol ; 1,2 éq). Le milieu est refroidi à 0°C et du DIAD (105 μ L ; 0,53 mmol ; 1,3 éq) est ajouté goutte à goutte. Le mélange est agité pendant 72 h à TA. La réaction est incomplète. Le mélange est concentré puis repris dans de l'AcOEt et lavé avec de l'eau. La phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 x). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne avec un mélange CH_2Cl_2 / MeOH 15:1. Le produit est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 54% (m = 428 mg).

R_f : 0.33 (CH_2Cl_2 / MeOH 9:1, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 4.21-4.31 (m, 3H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}), 4.51-4.55 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 5.04 (d, 1H, *J* = 5.0 Hz, OH), 5.24 (d, 1H, *J* = 5.9 Hz, OH), 5.59 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, H₅), 5.94 (d, 1H, *J* = 5.0 Hz, H_{1'}), 7.90 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, H₆).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 71.2, 74.3 (C_{2'}, C_{3'}), 78.5 (C_{5'}), 82.8 (C_{4'}), 89.7 (C_{1'}), 102.8 (C₅), 129.8 (C₂), 141.4 (C₆), 163.8 (C₄).

Réf. : Li, H.; Miller, M. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9289-9293.

2',3'-O,O-Isopropylidèneuridine (178)Formule brute : $C_{16}H_{16}N_2O_6$

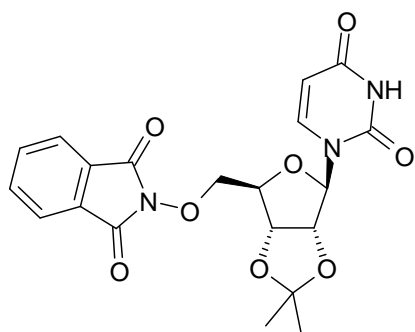
Masse molaire : 284

A une suspension d'uridine (499 mg ; 2,04 mmol) dans de l'acétone (4 mL), du $BF_3 \cdot OEt_2$ (260 μ L ; 2,05 mmol ; 1 éq) est ajouté goutte à goutte. Le mélange est agité pendant 72 h à TA. Il est ensuite quenché avec une solution saturée en Na_2CO_3 (5 mL). L'acétone est éliminé par évaporation et la phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec de l'eau, séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne avec un mélange CH_2Cl_2 / MeOH 30:1. Le produit est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 74% (m = 428 mg).

R_f : 0.23 (AcOEt, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.32 (s, 3H, CH₃), 1.52 (s, 3H, CH₃), 3.75-3.80 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 4.18-4.20 (m, 1H, H_{3'}), 4.27 (t, 1H, *J* = 5.3 Hz, OH), 4.87-4.96 (m, 2H, H_{2'}, H_{4'}), 5.61 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H₅), 5.91 (d, 1H, *J* = 2.8 Hz, H_{1'}), 7.83 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H₆), 10.10 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 25.5 (CH₃), 29.6 (CH₃), 62.8 (C_{5'}), 81.6, 85.1 (C_{2'}, C_{4'}), 87.6 (C_{3'}), 93.0 (C_{1'}), 102.7 (C₅), 114.3 (C_q), 142.6 (C₆), 151.3 (C₂), 163.5 (C₄).

2',3'-O,O-Isopropylidène-5'-O-phthalimidouridine (179)Formule brute : C₂₀H₁₉N₃O₈

Masse molaire : 429

A une solution de 2',3'-O,O-isopropylidèneuridine **178** (53 mg ; 0,19 mmol) dans du DMF (1 mL), sont ajoutés du N-hydroxyphthalimide (47 mg ; 0,29 mmol ; 1,5 éq) et de la triphénylphosphine (74 mg ; 0,29 mmol ; 1,5 éq). Le mélange est réfrigéré à 0°C et du DEAD (44 µL ; 0,28 mmol ; 1,5 éq) est ajouté. Le milieu réactionnel est agité pendant une nuit à TA puis un mélange d'eau et d'AcOEt (20 mL, 1:1) est ajouté. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 x) et les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP allant de 5:5 à de l'AcOEt pur. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 52% (m = 41 mg).

R_f : 0.66 (CH₂Cl₂ / MeOH 9:1, révélateur 1).

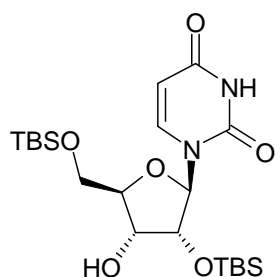
RMN ¹H (acétone-d₆, 400 MHz) : δ 1.33 (s, 3H, CH₃), 1.51 (s, 3H, CH₃), 4.49-4.55 (m, 3H, H_{3'}, H_{5'}, H_{5'} bis), 5.01-5.10 (m, 2H, H_{2'}, H_{4'}), 5.58 (dd, 1H, J = 7.8 Hz, H₅), 5.85 (d, 1H, J = 2.3 Hz, H_{1'}), 7.52-7.76 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{Phth}), 7.85 (d, 1H, J = 7.8 Hz, H₆), 10.45 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-d₆, 100 MHz) : δ 25.4 (CH₃), 27.4 (CH₃), 78.4 (C_{5'}), 82.2, 84.9 (C_{2'}, C_{4'}), 85.8 (C_{3'}), 94.6 (C_{1'}), 102.8 (C₅), 124.0 (C₆), 129.9 (CH_{Ar}^{Phth}), 133.7 (CH_{Ar}^{Phth}), 134.7 (CH_{Ar}^{Phth}), 135.5 (CH_{Ar}^{Phth}), 143.3 (C_{Ar}^{Phth}), 151.3 (C₂), 163.7 (C_{Ar}^{Phth}), 163.8 (C₄).

[α]_D²⁰ : + 4.60 (c = 0.9, MeOH).

T_f : 212°C.

HRMS : m/z [M+Na]⁺ Calculée 452,1064 ; Trouvée 452,1064.

2',5'-Di-O-(tert-butyldiméthylsilyl)uridine (180)

Formule brute : $C_{21}H_{40}N_2O_6Si_2$
Masse molaire : 472

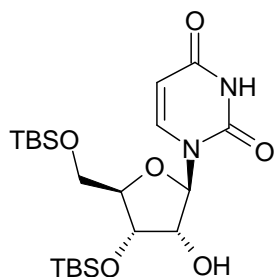
A une solution d' $AgNO_3$ (6,27 g ; 0,037 mol ; 3 éq) dans de la pyridine (15 mL), est ajoutée sous atmosphère inerte une solution d'uridine (3,00 g ; 0,012 mol ; 1 éq) dans du THF anhydre (70 mL). Le mélange est agité sous atmosphère inerte pendant 10 min, puis du TBSCl (5,59 g ; 0,037 mol ; 3 éq) est ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 1h à TA. Il est ensuite filtré sur célite et le filtrat est concentré. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange EP / AcOEt 8,5:1,5. La deuxième fraction donne le produit di-silylé en position 2' et 5' sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 86% (m = 4,67 g). Le reste est obtenu en produit tri-silylé **182** avec un rendement de 6% (m = 436 mg) ainsi qu'en produit 3',5'-disilylé **181** avec un rendement de 2% (m = 115 mg).

R_f : 0.71 (AcOEt / EP 1:1, révélateur 1).

RMN 1H (acétone- d_6 , 400 MHz) : δ 0.11 (s, 6H, 2 x CH_3^{TBS}), 0.16 (s, 6H, 2 x CH_3^{TBS}), 0.91 (s, 9H, tBu^{TBS}), 0.96 (s, 9H, tBu^{TBS}), 3.83 (d, 1H, $J = 5.0$ Hz, OH), 3.90 (dd, 1H, $J = 2.0, 11.4$ Hz, $H_{5'a}$), 4.00 (dd, 1H, $J = 2.0, 11.9$ Hz, $H_{5'b}$), 4.05-4.08 (m, 1H, H_4'), 4.18 (dd, 1H, $J = 4.5, 5.0$ Hz, $H_{3'}$), 4.30 (t, 1H, $J = 4.5$ Hz, $H_{2'}$), 5.60 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H_5), 5.94 (d, 1H, $J = 4.5$ Hz, $H_{1'}$), 7.95 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H_6), 10.08 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (acétone- d_6 , 100 MHz) : δ -6.2 (CH_3^{TBS}), -5.5 (CH_3^{TBS}), 17.9 (tBu^{TBS}), 18.2 (tBu^{TBS}), 62.7 ($C_{5'}$), 70.4 ($C_{4'}$), 76.5 ($C_{2'}$), 84.7 ($C_{3'}$), 88.5 ($C_{1'}$), 101.7 (C_5), 139.9 (C_6), 150.5 (C_2), 162.6 (C_4).

Réf : Hansske, F.; Madej, D.; Robins, M. J. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 125-135.

3',5'-Di-O-(tert-butyldiméthylsilyl)uridine (181) :

Formule brute : $C_{21}H_{40}N_2O_6Si_2$
Masse molaire : 472

R_f : 0.54 (AcOEt / EP 1:1, révélateur 1).

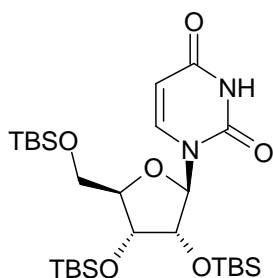
RMN 1H (acétone- d_6 , 400 MHz) : δ 0.11 (s, 6H, 2 x CH_3^{TBS}), 0.12 (s, 6H, 2 x CH_3^{TBS}), 0.89 (s, 9H, tBu^{TBS}), 0.91 (s, 9H, tBu^{TBS}), 3.82 (dd, 1H, $J = 2.3, 11.5$ Hz, $H_{5'a}$), 3.94 (dd, 1H, $J =$

3.3, 11.5 Hz, H_{5'}b), 4.00-4.02 (m, 1H, H_{4'}), 4.13 (d, 1H, $J = 5.9$ Hz, OH), 4.19 (m, 1H, H_{2'}), 4.32 (t, 1H, $J = 4.5$ Hz, H_{3'}), 5.53 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, H₅), 5.90 (d, 1H, $J = 4.6$ Hz, H_{1'}), 7.79 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, H₆), 10.06 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -5.2 (CH₃^{TBS}), -4.6 (CH₃^{TBS}), -4.3 (CH₃^{TBS}), 14.6 (*t*Bu^{TBS}), 18.9 (*t*Bu^{TBS}), 63.3 (C_{5'}), 72.5 (C_{3'}), 75.5 (C_{2'}), 85.8 (C_{4'}), 89.6 (C_{1'}), 102.60 (C₅), 141.1 (C₆), 151.6 (C₂), 163.6 (C₄).

Réf : Hansske, F.; Madej, D.; Robins, M. J. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 125-135.

2',3',5'-Tri-*O*-(*tert*-butyldiméthylsilyl)uridine (182) :



Formule brute : C₂₇H₅₄N₂O₆Si₃

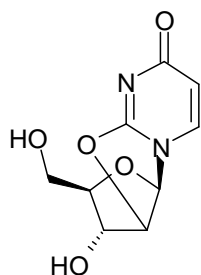
Masse molaire : 586

R_f : 0.89 (AcOEt / EP 1:1, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ -0.03-0.15 (plusieurs singulets, 18H, CH₃^{TBS}), 0.85 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 0.91 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 0.95 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 3.85-3.88 (m, 1H, H_{5'}a), 3.97-4.02 (m, 2H, H_{5'}b, H_{3'} ou H_{4'}), 4.23-4.33 (m, 2H, H_{2'}, H_{3'} ou H_{4'}), 5.57 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H₅), 5.92 (d, 1H, $J = 5.1$ Hz, H_{1'}), 7.90 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H₆), 10.03 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -5.2 (CH₃^{TBS}), -5.1 (CH₃^{TBS}), -4.4 (CH₃^{TBS}), -4.3 (CH₃^{TBS}), -4.0 (CH₃^{TBS}), -3.1 (CH₃^{TBS}), 18.7 (*t*Bu^{TBS}), 18.8 (*t*Bu^{TBS}), 19.2 (*t*Bu^{TBS}), 63.5 (C_{5'}), 72.8, 77.6, 86.0 (C_{2'}, C_{3'}, C_{4'}), 89.9 (C_{1'}), 102.7 (C₅), 140.9 (C₆), 151.5 (C₂), 163.5 (C₄).

Réf : Hansske, F.; Madej, D.; Robins, M. J. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 125-135.

2,2'-Anhydrouridine (184)Formule brute : $C_9H_{10}N_2O_5$

Masse molaire : 226

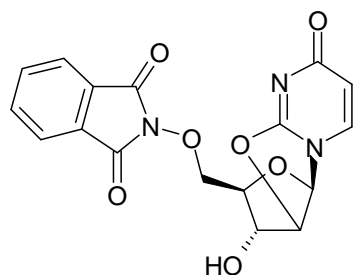
A une solution d'uridine (2,00 g ; 8,20 mmol) dans du DMF anhydre (4 mL) agitée sous atmosphère inerte, est ajouté du carbonate de diphenyle (1,95 g ; 9,11 mmol ; 1,1 éq) et le milieu réactionnel est chauffé à 80°C. Du bicarbonate de sodium (20 mg ; 0,23 mmol ; 0,03 éq) est ensuite ajouté et le mélange est chauffé à 120°C pendant 5h. Il est ensuite refroidi à TA et le précipité formé est filtré et rincé avec du méthanol. Le produit attendu est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 82% (m = 1,52 g).

R_f : 0.23 (CH₂Cl₂ / MeOH 8:2, révélateur 1).

RMN ¹H (D₂O, 400 MHz) : δ 3.54-3.56 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 4.37-4.39 (m, 1H, H_{4'}), 4.65-4.66 (m, 1H, H_{3'}), 5.45 (dd, 1H, J = 0.5, 6.0 Hz, H_{2'}), 6.18 (d, 1H, J = 7.3 Hz, H₅), 6.52 (d, 1H, J = 6.0 Hz, H_{1'}), 7.90 (d, 1H, J = 7.3 Hz, H₆).

RMN ¹³C (D₂O, 100 MHz) : δ 60.9 (C_{5'}), 75.5 (C_{3'}), 89.6 (C_{2'}), 89.9 (C_{4'}), 91.0 (C_{1'}), 108.7 (C₅), 138.4 (C₆), 161.3 (C₂), 175.8 (C₄).

Réf : McGee, D. P. C.; Vaughn-Settle, A.; Vargeese, C.; Zhai, Y. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 781-785.

2,2'-Anhydro-5'-O-phthalimidouridine (185)

Formule brute : $C_{17}H_{13}N_3O_7$
 Masse molaire : 371

A une suspension de 2,2'-anhydrouridine **184** (104 mg ; 0,46 mmol) dans du DMF anhydre (1 mL), sont ajoutés du N-hydroxyphthalimide (113 mg ; 0,69 mmol ; 1,5 éq) et de la triphénylphosphine (140 mg ; 0,53 mmol ; 1,2 éq). Le mélange est réfrigéré à 0°C et du DIAD (130 μ L ; 0,66 mmol ; 1,4 éq) est ajouté. Le milieu réactionnel est agité pendant une nuit à TA. La réaction n'a pas avancé. Pour solubiliser le mélange, du toluène, du THF sont ajoutés sans amélioration et enfin du DMSO, ce qui permet de solubiliser le mélange. Après 2 semaines d'agitation, le milieu réactionnel est concentré et purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange CH_2Cl_2 / MeOH 20:1 à 10:1. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 35% (m = 60 mg).

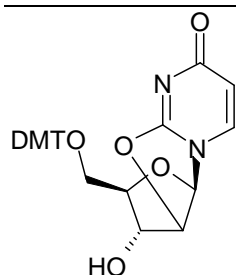
R_f : 0.23 (CH_2Cl_2 / MeOH 8:2, révélateur 1).

RMN ¹H (D_2O , 400 MHz) : δ 3.43-3.51 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 4.22-4.24 (m, 1H, H_{4'}), 4.53-4.54 (m, 1H, H_{3'}), 4.60 (s, 1H, OH), 5.27 (dd, 1H, $J = 0.5, 6.0$ Hz, H_{2'}), 6.04 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz, H₅), 6.36 (d, 1H, $J = 6.0$ Hz, H_{1'}), 7.08-7.22 (m, 4H, 4 x H_{Ar^{Phth}}), 7.80 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz, H₆).

RMN ¹³C (D_2O , 100 MHz) : δ 61.6 (C_{5'}), 76.1 (C_{3'}), 90.5 (C_{2'}), 90.6 (C_{4'}), 91.4 (C_{1'}), 108.9 (C₅), 125.4 (C_q), 128.3 (CH_{Ar^{Phth}}), 129.0 (CH_{Ar^{Phth}}), 137.8 (C₆), 161.5 (C₂), 174.8 (C₄).

[α]_D²⁰ : - 19.3 ($c = 0.8$, MeOH).

T_f : 241°C

2,2'-Anhydro-5'-O-diméthoxytrityluridine (186)Formule brute : $C_{30}H_{28}N_2O_7$

Masse molaire : 528

A une solution de 2,2'-anhydrouridine **184** (104 mg ; 0,46 mmol) dans de la pyridine (1 mL) agitée sous atmosphère inerte, sont ajoutés du DMTC1 (175 mg ; 0,52 mmol ; 1,1 éq) et de la DMAP (1 pointe de spatule). Le milieu réactionnel est agité pendant 3 jours à TA. Après évaporation du milieu réactionnel, le résidu est lavé avec un mélange CH_2Cl_2 / H_2O 1:1 (10 mL). La phase aqueuse est extraite avec du CH_2Cl_2 et les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en $NaHCO_3$, séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec de l'AcOEt pur puis avec un mélange AcOEt / MeOH 9:1. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 48 % ($m = 101$ mg).

R_f : 0.79 ($CH_2Cl_2 / MeOH$ 9:1, révélateur 1).

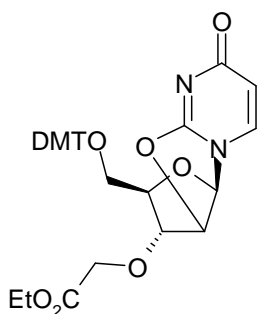
RMN 1H (CD_3OD , 400 MHz) : δ 2.91 (dd, 1H, $J = 6.8, 10.3$ Hz, $H_{5'a}$), 3.01 (dd, 1H, $J = 5.3, 10.3$ Hz, $H_{5'b}$), 3.77 (s, 6H, 2 x OCH_3^{DMT}), 4.38 (td, 1H, $J = 2.4, 12.1$ Hz, $H_{4'}$), 4.49-4.50 (m, 1H, $H_{3'}$), 5.27 (d, 1H, $J = 5.3$ Hz, $H_{2'}$), 6.00 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz, H_5), 6.35 (d, 1H, $J = 5.3$ Hz, $H_{1'}$), 6.80-6.83 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.17-7.34 (m, 9H, 9 x H_{Ar}^{DMT}), 7.84 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz, H_6).

RMN ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz) : δ 55.7 (OCH_3^{DMT}), 64.0 ($C_{5'}$), 76.7 ($C_{3'}$), 89.1 ($C_{4'}$), 91.0 ($C_{2'}$), 92.1 ($C_{1'}$), 110.1 (C_5), 114.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.9 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.9 (CH_{Ar}^{DMT}), 129.1 (CH_{Ar}^{DMT}), 130.9 (CH_{Ar}^{DMT}), 131.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 136.8 (C_{Ar}^{DMT}), 138.6 (C_6), 146.0 (C_{Ar}^{DMT}), 160.2 (C_{Ar}^{DMT}), 161.5 (C_2), 172.9 (C_{Ar}^{DMT}), 175.1 (C_4).

$[\alpha]_D^{20}$: - 4.52 ($c = 1.0$, MeOH).

T_f : 89°C

Réf : D. P. C. McGee, A. Vaughn-Settle, C. Vargeese, Y. Zhai, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 781–785.

2,2'-Anhydro-5'-O-diméthoxytrityl-3'-O-éthoxycarbonylméthyluridine (187)Formule brute : $C_{36}H_{38}N_2O_9$

Masse molaire : 642

A une solution de 2,2'-anhydro-5'-O-diméthoxytrityluridine **186** (98 mg ; 0,19 mmol) dans du THF anhydre (1 mL) agitée sous atmosphère inerte et réfrigérée à 0°C, est ajouté du NaH à 60% de dispersion dans l'huile (24 mg ; 0,60 mmol ; 3 éq) et le mélange est agité pendant 1h. Du bromoacétate d'éthyle (95µL ; 0,86 mmol ; 4,5 éq) est ensuite ajouté et le milieu réactionnel est agité pendant une nuit à TA. Le mélange est quenché avec du méthanol et concentré. Il est ensuite purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange CH_2Cl_2 / MeOH 98:2 puis 95:5. Le produit désiré est obtenu sous forme d'une huile avec un rendement de 70% (m = 82 mg).

R_f : 0.68 (CH_2Cl_2 / MeOH 9.5:0.5, révélateur 1).

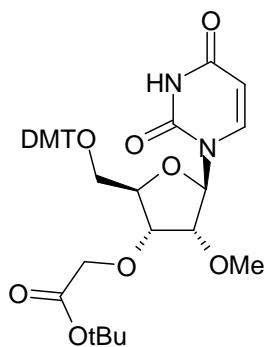
RMN 1H (acétone- d_6 , 400 MHz) : δ 1.23 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3^{ester}), 3.05-3.07 (m, 2H, $H_{5'a}$, $H_{5'b}$), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH_3^{DMT}), 4.14-4.21 (m, 2H, CH_2^{ester}), 4.34 (s, 2H, OCH_2), 4.44-4.45 (m, 1H, $H_{3'}$), 4.53 (td, $J = 3.2, 6.2$ Hz, $H_{4'}$), 5.53 (d, 1H, $J = 6.0$ Hz, $H_{2'}$), 5.85 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H_5), 6.42 (d, 1H, $J = 6.0$ Hz, $H_{1'}$), 6.84-6.86 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.24-7.40 (m, 9H, 9 x H_{Ar}^{DMT}), 7.74 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H_6).

$H_{4'}$

RMN ^{13}C (acétone- d_6 , 100 MHz) : δ 14.4 (CH_3^{ester}), 55.4 (OCH_3^{DMT}), 61.4 (CH_2^{ester}), 63.6 ($C_{5'}$), 67.9 (OCH_2), 84.9 ($C_{3'}$), 86.0 ($C_{4'}$), 87.3 ($C_{2'}$), 91.2 ($C_{1'}$), 110.3 (C_5), 114.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.4 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.5 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.6 (CH_{Ar}^{DMT}), 130.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 130.7 (CH_{Ar}^{DMT}), 136.3 (C_6), 141.1 (C_{Ar}^{DMT}), 145.8 (C_{Ar}^{DMT}), 159.5 (C_{Ar}^{DMT}), 160.2 (C_2), 170.3 (C_{Ar}^{DMT}), 171.4 (C_4).

$[\alpha]_D^{20}$: - 37.8 ($c = 1.0$, Acétone).

HRMS : m/z $[M+Na]^+$ Calculée 637.2157 ; Trouvée 637.2209.

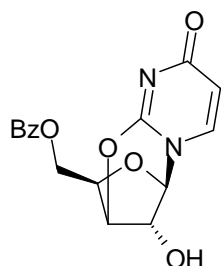
5'-*O*-Diméthoxytrityl-2'-*O*-méthyl-3'-*O*-*tert*-butoxycarbonylméthyluridine (188)Formule brute : $C_{36}H_{38}N_2O_9$

Masse molaire : 642

A une suspension de Mg (30 mg) dans du MeOH (3 mL) agitée sous atmosphère inerte, est ajouté du produit **187** (65 mg ; 0,10 mmol). Le mélange est agité pendant une semaine à TA puis il est neutralisé à l'aide d'acide acétique glacial et concentré. Il est repris dans du CH_2Cl_2 et lavé avec de l'eau. La phase aqueuse est ensuite extraite avec du CH_2Cl_2 (2 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange CH_2Cl_2 / MeOH 9:1. Le produit désiré est obtenu avec un rendement de 60% (m = 39 mg).

RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz) : δ 1.26 (s, 9H, tBu^{ester}), 2.97 (dd, 1H, $J = 7.1, 10.1$ Hz, $H_{5'a}$), 3.13 (dd, 1H, $J = 6.0, 10.1$ Hz, $H_{5'b}$), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.80 (s, 6H, OCH_3^{DMT}), 4.19 (s, 2H, OCH_2), 4.27 (dd, 1H, $J = 0.9, 2.8$ Hz, $H_{3'}$), 4.40-4.44 (m, 1H, $H_{4'}$), 5.38 (dd, 1H, $J = 0.9, 6.0$ Hz, $H_{2'}$), 5.94 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz, H_5), 6.15 (d, 1H, $J = 6.0$ Hz, $H_{1'}$), 6.80-6.82 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{DMT}), 7.17-7.34 (m, 9H, 9 x H_{Ar}^{DMT}), 7.84 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz, H_6).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) : δ 28.3 (tBu^{ester}), 52.3 (OCH_3), 53.5 (Cq), 55.3 (OCH_3^{DMT}), 62.2 ($C_{5'}$), 67.7 (OCH_2), 84.6 ($C_{3'}$), 85.1 ($C_{4'}$), 86.6 ($C_{2'}$), 90.1 ($C_{1'}$), 110.5 (C_5), 113.4 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.1 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.9 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.1 (CH_{Ar}^{DMT}), 139.8 (CH_{Ar}^{DMT}), 134.4 (C_6), 135.2 (C_{Ar}^{DMT}), 144.3, 158.7, 159.2, 161.5, 172.9, 175.1 (C_{Ar}^{DMT} , C_2 , C_4).

2,3'-Anhydro-5'-O-benzoyluridine (191)Formule brute : $C_{16}H_{14}N_2O_6$

Masse molaire : 330

A une solution d'uridine (501 mg ; 2,05 mmol) dans du DMF (5 mL) agitée sous atmosphère inerte, sont ajoutés de la triphénylphosphine (814 mg ; 3,10 mmol ; 1,5 éq), de l'acide benzoïque (382 mg ; 3,13 mmol ; 1,5 éq) et du DIAD (600 μ L ; 3,05 mmol ; 1,5 éq). Le milieu réactionnel est agité pendant 30 min à TA et de la triphénylphosphine (809 mg ; 3,08 mmol ; 1,5 éq) et du DIAD (600 μ L ; 3,05 mmol ; 1,5 éq) sont de nouveau ajoutés. Après 2h d'agitation, le milieu réactionnel est dilué avec un mélange AcOEt / eau 1:1 (30 mL). La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées.

Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec de l'EP pur puis avec des mélanges AcOEt / EP allant de 1:1 à 4:1. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 82% ($m = 557$ mg).

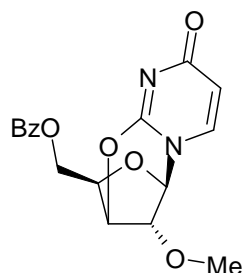
R_f : 0.30 (AcOEt / EP 9:1, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 4.29-4.32 (m, 1H, H_{4'}), 4.37-4.41 (m, 2H, H_{2'}, H_{3'}), 4.58 (dd, 1H, $J = 5.0, 12.4$ Hz, H_{5'a}), 4.67 (dd, 1H, $J = 3.4, 12.4$ Hz, H_{5'bis}), 4.79 (s, 1H, OH), 5.49 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H₅), 5.91 (d, 1H, $J = 4.1$ Hz, H_{1'}), 7.54-7.70 (m, 4H, 3 x H_{Ar}^{Bz}, H₆), 8.05-8.08 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{Bz}).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 64.8 (C_{5'}), 71.1, 74.8 (C_{2'}, C_{3'}), 82.4 (C_{4'}), 91.1 (C_{1'}), 102.7 (C₅), 129.5 (CH_{Ar}^{Bz}), 130.3 (CH_{Ar}^{Bz}), 134.2, 141.2 (CH_{Ar}^{Bz}, C₆), 151.4 (C₂), 163.6 (C₄), 166.6 (C=O^{Bz}).

[α]_D²⁰ : - 2.72 ($c = 0.8$, MeOH).

T_f : 170°C

2,3'-Anhydro-5'-O-benzoyl-2'-O-méthylthymidine (190)Formule brute : $C_{17}H_{16}N_2O_6$

Masse molaire : 344

A une solution de 2,3'-anhydro-5'-O-benzoyluridine **191** (200 mg ; 0,61 mmol) dans du DMF (5 mL) agitée sous atmosphère inerte et réfrigérée à 0°C, est ajouté du NaH à 60% de dispersion dans l'huile (34 mg ; 0,85 mmol ; 1,2 éq). Le milieu réactionnel est agité pendant 1h et du iodométhane (46µL ; 0,73 mmol ; 1,2 éq) est ensuite ajouté. Le mélange est agité pendant 4h à TA. De l'éthanol (10 mL) est ajouté, le mélange est concentré puis le résidu est repris dans de l'AcOEt (15 mL) et lavé avec une solution saturée en NaCl (2 x). La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange CH_2Cl_2 / MeOH 30:1. Le produit désiré est obtenu avec un rendement de 49% (m = 101 mg).

R_f : 0.51 (AcOEt / EP 9:1, révélateur 1).

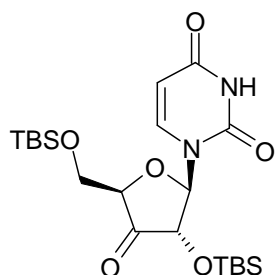
RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 3.19 (s, 3H, OCH₃), 4.29-4.32 (m, 1H, H_{2'}), 4.34-4.41 (m, 2H, H_{3'}, H_{4'}), 4.58 (dd, 2H, *J* = 4.8, 12.4 Hz, H_{5'a}), 4.68 (dd, 1H, *J* = 3.4, 12.4 Hz, H_{5'b}), 5.57 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₅), 5.91 (d, 1H, *J* = 3.2 Hz, H_{1'}), 7.53-7.56 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{Bz}), 7.65-7.69 (m, 2H, H_{Ar}^{Bz}, H₆), 8.04-8.07 (m, 2H, 2 x H_{Ar}^{Bz}).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 27.5 (OCH₃), 64.6 (C_{5'}), 70.8, 74.9 (C_{3'}, C_{4'}), 82.3 (C_{2'}), 92.3 (C_{1'}), 101.8 (C₅), 129.4 (CH_{Ar}^{Bz}), 130.3 (CH_{Ar}^{Bz}), 134.2, 139.4 (CH_{Ar}^{Bz}, C₆), 151.9 (C₂), 163.0 (C₄), 166.6 (C=O^{Bz}).

[α]_D²⁰ : -0.86 (c = 1.0, MeOH).

T_f : 109°C

HRMS : *m/z* [M+H]⁺ Calculée 345.1087 ; Trouvée 345.1084.

2',5'-Di-O-(*tert*-butyldiméthylsilyl)-3'-oxouridine (199)Formule brute : C₂₁H₃₈N₂O₆Si₂

Masse molaire : 470

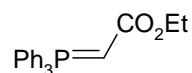
A une solution de 2',5'-di-O-(*tert*-butyldiméthylsilyl)uridine **180** (850 mg ; 1,80 mmol) dans du CH₂Cl₂ (15 mL) à 0°C, sont successivement ajoutés du KBr (21 mg ; 0,180 mmol ; 0,1 éq), une solution aqueuse de NaHCO₃ à 5% (6,7 mL), du TEMPO (281 mg ; 1,80 mmol ; 1 éq) et au goutte à goutte une solution d'eau de Javel à 10,2% en masse de NaOCl (1,7 mL). Le milieu réactionnel est agité 1h à 0°C puis de la solution d'eau de Javel (0,75 mL) est de nouveau ajoutée à 0°C. Le milieu est agité 30 min à 0°C puis 30 min à TA. Après séparation, la phase organique est concentrée sous pression réduite puis purifiée par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 1:9 puis 2:8 quand le produit sort pour donner un solide blanc avec un rendement de 92% (m = 778 mg).

R_f : 0.35 (AcOEt / EP 2:8, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.04 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.10 (s, 6H, 2 x CH₃^{TBS}), 0.13 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.87 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 0.92 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 3.92-4.00 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 4.30 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H_{2'}), 4.42-4.44 (m, 1H, H_{4'}), 5.80 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H₅), 6.26 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H_{1'}), 7.85 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H₆), 10.25 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -5.4 (CH₃^{TBS}), -5.3 (CH₃^{TBS}), -5.0 (CH₃^{TBS}), -4.4 (CH₃^{TBS}), 18.9 (*t*Bu^{TBS}), 63.9 (C_{5'}), 78.1 (C_{2'}), 83.0 (C_{4'}), 85.7 (C_{1'}), 104.2 (C₅), 139.9 (C₆), 151.2 (C₂), 163.1 (C₄), 209.3 (C=O).

Réf : Hansske, F.; Madej, D.; Robins, M. J. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 125-135.

2-(Triphénylphosphoranylidène)acétate d'éthyleFormule brute : C₂₂H₂₁O₂P

Masse molaire : 348

A une solution de PPh₃ (3,14 g ; 0,012 mmol) dans du toluène (8 mL), du bromoacétate d'éthyle (1,33 mL ; 0,012 mol ; 1 éq) est ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 2h à TA. Le précipité formé est filtré, rincé avec du toluène froid et du cyclohexane. Les cristaux obtenus sont dissous dans 40 mL d'eau distillée (dissolution difficile). Les impuretés organiques sont extraites avec de l'éther (2 x). Une solution de soude à 2 mol.L⁻¹ est alors ajoutée en goutte à goutte à 0°C jusqu'à atteindre un pH égal à 9. Les cristaux formés sont filtrés puis dissous dans 40 mL d'AcOEt. La phase organique est séchée sur MgSO₄ puis concentrée pour donner le produit désiré sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 70% (2,94 g).

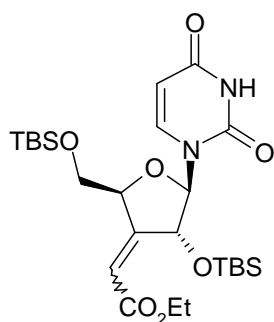
R_f : 0.35 (AcOEt / EP 2:8, révélateur 1).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 1.14 (large signal, 3H, CH₃), 2.88 (large signal, 1H, CH), 3.87 (large signal, 2H, CH₂), 7.13-7.70 (m, 15H, C_{Ar}).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 14.9 (CH₃), 30.9 (CH), 57.9 (CH₂), 129.5, 129.6, 132.8, 133.7, 133.8 (CH_{Ar}).

RMN ³¹P (CDCl₃, 162 MHz): δ 18.43.

T_f : 124°C

3'-Désoxy-3'-éthoxycarbonylméthylène-2',5'-di-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyluridine (200)Formule brute : C₂₅H₄₄N₂O₇Si₂

Masse molaire : 540

A une solution de 2',5'-di-*O*-(*tert*-butyldiméthylsilyl)-3'-oxouridine **199** (2,00 g ; 4,26 mmol) dans du THF anhydre (50 mL), est ajouté à TA du Ph₃PCHCO₂Et (2,20 g ; 5,3 mmol ; 1,5 éq). Le mélange réactionnel est agité à TA pendant 36 h. Après concentration sous pression réduite, le milieu est repris dans une solution saturée en NaHCO₃. La phase aqueuse est lavée avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le milieu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 1,5:8,5. Le produit désiré est obtenu sous forme d'une huile transparente avec un rendement de 78% (m = 1,78 g).

R_f : 0.27 (AcOEt / EP 2:8, révélateur 1).

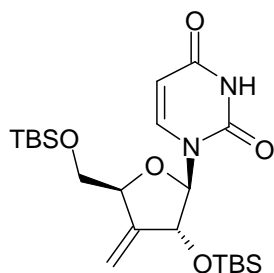
RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ -0.01 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.10 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.11 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.12 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.92 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 0.93 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.28 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, CH₃^{ester}), 3.99 (d, 1H, *J* = 11.1 Hz, H_{5'a}), 4.19-4.25 (m, 3H, CH₂^{ester}, H_{5'b}), 4.78 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, H_{2'}), 5.36 (s, 1H, C=CH), 5.77 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H₅), 5.92-5.95 (m, 2H, H_{1'}, H_{4'}), 7.96 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H₆), 10.23 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -4.6 (CH₃^{TBS}), -4.4 (CH₃^{TBS}), 14.7 (CH₃), 21.0 (*t*Bu^{TBS}), 60.7 (OCH₂), 61.3 (C_{5'}), 77.7 (C_{2'}), 80.9 (=CH), 86.4 (C_{1'/C4'}), 104.0 (C₅), 114.6 (C_{1'/C4'}), 140.2 (C₆), 151.6 (C₂), 160.4 (C_{3'}), 163.3 (C₄), 165.7 (CO^{ester}).

[α]_D²⁰ : + 39.5 (*c* = 1.1, Acétone).

T_f : 147°C

Réf : Peterson, M. A.; Nilsson, B. L.; Sarker, S.; Doboszewski, B.; Zhan, W.; Robins, M. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8183-8192.

3'-Désoxy-3'-méthylène-2',5'-di-O-(tert-butyldiméthylsilyl)uridine (201)Formule brute : C₂₂H₄₀N₂O₅Si₂

Masse molaire : 468

A une solution de PPh₃P⁺CH₃, Br⁻ (1,48 g ; 4,15 mmol ; 2,6 éq) dans du THF anhydre (6,3 mL), est ajoutée sous atmosphère inerte et à 0°C une solution de *t*BuOK (466 mg ; 4,15 mmol ; 2,6 éq) dans du THF anhydre (1,8 mL). Le milieu réactionnel jaune est laissé revenir à TA puis il est agité pendant 30 min. Une solution de 2',5'-di-O-(*tert*-butyldiméthylsilyl)-3'-oxouridine **199** (750 mg ; 1,60 mmol ; 1 éq) dans du THF anhydre (3,0 mL) est ensuite ajoutée à 0°C. Le milieu, prenant une couleur orange puis brune est agité à TA pendant 2h20. De l'eau (20 mL) est ensuite ajoutée et la phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 1,5:8,5. Le produit est obtenu sous forme d'une huile légèrement jaune avec un rendement de 71% (m = 523 mg).

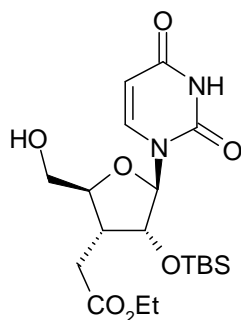
R_f : 0.30 (AcOEt / EP 2:8, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ -0.06 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.04 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.06 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.08 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.85 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 0.89 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 3.79 (dd, 1H, *J* = 2.3, 11.0 Hz, H_{5'a}), 3.92 (dd, 1H, *J* = 2.7, 11.0 Hz, H_{5'b}), 4.63-4.68 (m, 2H, H_{2'} et H_{4'}), 5.19-5.22 (m, 2H, =CH₂), 5.66 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H₅), 5.87 (d, 1H, *J* = 6.9 Hz, H_{1'}), 7.89 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H₆), 10.19 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -5.1 (CH₃^{TBS}), -4.7 (CH₃^{TBS}), -4.5 (CH₃^{TBS}), -4.4 (CH₃^{TBS}), 18.6 (*t*Bu^{TBS}), 19.1 (*t*Bu^{TBS}), 67.2 (C_{5'}), 77.2, 81.9 (C_{2'}, C_{4'}), 88.1 (C_{1'}), 103.5 (C₅), 108.8 (=CH₂), 140.8 (C₆), 148.7 (C_{3'}), 151.6 (C₂), 163.5 (C₄).

[α]_D²⁰ : + 64.7 (*c* = 1.4, Acétone).

Réf : Winqvist, A.; Strömberg, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 4305-4311.

3'-Désoxy-3'-éthoxycarbonylméthyl-2'-O-tert-butylidiméthylsilyluridine (203)Formule brute : C₁₉H₃₂N₂O₇Si

Masse molaire : 429

A une solution de **202** (1,80 g ; 3,3 mmol) dans du MeOH (45 mL), est ajouté du Pd/C activé à 10% en masse (178 mg ; 0,166 mmol ; 0,05 éq) et de l'AcOH (435 µL ; 1% par rapport au volume de solvant). Le milieu réactionnel est agité sous atmosphère de dihydrogène à TA pendant 36 h. Puis, le milieu est filtré sur célite et le filtrat est concentré. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec des mélanges AcOEt / EP 3:7 puis 6,5:3,5. Le produit, sous forme de cristaux beiges, est obtenu avec un rendement de 79% (m = 1,12 g).

R_f : 0.30 (AcOEt / EP 7:3, révélateur 1).

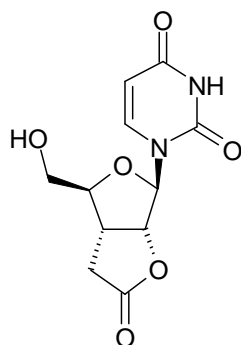
RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.04 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.20 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.86 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.16 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, CH₃^{ester}), 2.40 (d, 1H, *J* = 12.4 Hz, CH₂CO), 2.53 (d, 1H, *J* = 12.4 Hz, CH₂CO), 2.56-2.59 (m, 1H, H_{3'}), 3.75 (m, 1H, H_{4'}), 3.94-3.99 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 4.04 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, CH₂^{ester}), 4.35 (t, 1H, *J* = 5.1 Hz, OH), 4.46 (d, 1H, *J* = 3.7 Hz, H_{2'}), 5.49 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₅), 5.63 (s, 1H, H_{1'}), 8.28 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₆), 10.06 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -5.41 (CH₃^{TBS}), -4.05 (CH₃^{TBS}), 14.2 (CH₃^{ester}), 18.7 (*t*Bu^{TBS}), 26.3 (CH₂), 38.1 (C_{3'}), 60.8, 61.1 (CH₂^{ester}, C_{5'}), 79.0 (C_{2'}), 85.7 (C_{4'}), 92.3 (C_{1'}), 101.5 (C₅), 141.2 (C₆), 151.5 (C₂), 164.0 (C₄), 172.6 (C=O).

[α]_D²⁰ : + 51.5 (*c* = 1.4, Acétone).

T_f : 149°C

Réf : Peterson, M. A.; Nilsson, B. L.; Sarker, S.; Doboszewski, B.; Zhan, W.; Robins, M. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8183-8192.

3'-Carboxyméthyl-3'-désoxyuridine-2',3'-lactone (210)Formule brute : C₁₁H₁₂N₂O₆

Masse molaire : 268

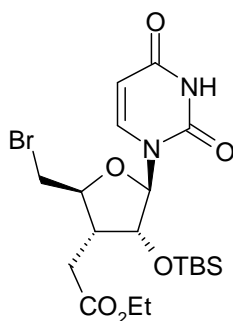
A une solution de **203** (50 mg ; 0,117 mmol) dans du DMF anhydre (1 mL), sont ajoutés à TA de la PPh₃ (62 mg ; 0,235 mmol ; 2 éq) et du CBr₄ (78 mg ; 0,235 mmol ; 2 éq). Le milieu réactionnel légèrement jaune est agité pendant 36 h. Il y a formation d'un nouveau produit mais il reste beaucoup de produit de départ. Le chauffage du milieu à 90°C pendant 6h consomme entièrement le produit de départ pour former un autre produit plus polaire que le premier produit qui s'était formé. Le mélange est dilué avec du MeOH puis concentré avant d'être purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec de l'AcOEt pur. La lactone est obtenue sous forme d'une huile avec un rendement de 86% (m = 21 mg).

R_f : 0.23 (CH₂Cl₂ / MeOH 9:1, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 2.48 (d, 1H, *J* = 18.3 Hz, CH₂CO), 2.86 (dd, 1H, *J* = 8.5, 18.3 Hz, CH₂CO), 3.37 (q, 1H, *J* = 8.7 Hz, H_{3'}), 3.78-3.84 (m, 1H, H_{5'a}), 3.90-3.95 (m, 1H, H_{5'b}), 3.99-4.08 (m, 1H, H_{4'}), 4.24 (t, 1H, *J* = 5.5 Hz, OH), 5.19 (dd, 1H, *J* = 0.9, 6.8 Hz, H_{2'}), 5.59 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H₅), 5.96 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, H_{1'}), 7.81 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz, H₆), 10.12 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ 32.5 (CH₂CO), 40.0 (C_{3'}), 62.1 (C_{5'}), 87.4 (C_{4'}), 88.7 (C_{2'}), 91.9 (C_{1'}), 102.0 (C₅), 142.3 (C₆), 151.2 (C₂), 163.3 (C₄), 175.6 (C=O).

Réf : Peterson, M. A.; Nilsson, B. L.; Sarker, S.; Doboszewski, B.; Zhan, W.; Robins, M. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8183-8192.

5'-Bromo-3',5'-didésoxy-3'-éthoxycarbonylméthyl-2'-O-tert-butylidiméthylsilyluridine (209)
Formule brute : C₁₉H₃₁BrN₂O₆Si

Masse molaire : 490

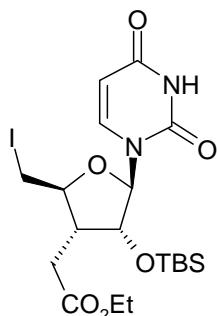
A une solution de **203** (320 mg ; 0,748 mmol) dans du DMF (25 mL), sont ajoutés à 0°C de la PPh₃ (686 mg ; 2,62 mmol ; 3,5 éq) et de la NBS (333 mg ; 1,87 mmol ; 2,5 éq). Le milieu réactionnel prend une couleur jaune. Il est laissé revenir à TA puis chauffé à 50°C pendant une nuit. Le mélange est concentré puis repris dans un mélange de NaHCO₃ saturée et d'AcOEt. Après séparation, la phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec des mélanges AcOEt / EP 1:9 puis 3,5:6,5. Le produit est obtenu sous forme d'une huile transparente avec un rendement de 40% (m = 148 mg).

R_f : 0.61 (AcOEt / EP 6:4, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.08 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.19 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.91 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.21 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz, CH₃^{ester}), 2.49-2.71 (m, 3H, H_{3'} et CH₂), 3.82 (dd, 1H, *J* = 5.9, 11.5 Hz, H_{5'a}), 3.96 (dd, 1H, *J* = 2.9, 11.5 Hz, H_{5'b}), 4.11 (q, 2H, *J* = 7.3 Hz, CH₂^{ester}), 4.22-4.26 (m, 1H, H_{4'}), 4.63 (dd, 1H, *J* = 1.8, 5.0 Hz, H_{2'}), 5.66 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₅), 5.77 (d, 1H, *J* = 1.8 Hz, H_{1'}), 7.80 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₆), 10.12 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -5.3 (CH₃^{TBS}), -4.2 (CH₃^{TBS}), 14.6 (CH₃^{ester}), 26.3, 30.5 (CH₂, C_{3'}), 34.9 (C_{5'}), 61.2 (CH₂^{ester}), 78.4 (C_{2'}), 83.1 (C_{4'}), 92.5 (C_{1'}), 101.4 (C₅), 140.8 (C₆), 151.5 (C₂), 164.0 (C₄), 172.6 (C=O).

[α]_D²⁰ : + 38.1 (*c* = 0.8, Acétone).

3',5'-Didésoxy-3'-éthoxycarbonylméthyl-5'-iodo-2'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyluridine (212)Formule brute : C₁₉H₃₁IN₂O₆Si

Masse molaire : 538

A une solution de **203** (100 mg ; 0,234 mmol) dans du DMF (1,0 mL), sont ajoutés à 0°C de la PPh₃ (220 mg ; 0,818 mmol ; 3,5 équ) et de la NIS (143 mg ; 0,594 mmol ; 2,5 équ). Le milieu réactionnel prend une couleur jaune. Il est laissé revenir à TA puis chauffé à 50°C pendant une nuit. Le mélange est concentré puis repris dans un mélange de NaHCO₃ saturée et d'AcOEt. Après séparation, la phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec des mélanges AcOEt / EP 1:9 puis 3,5:6,5. Le produit est obtenu sous forme d'une huile jaune avec un rendement de 74% (m = 92 mg).

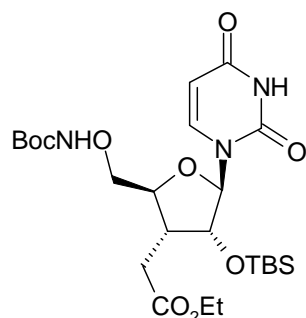
R_f : 0.65 (AcOEt / EP 6:4, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.06 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.16 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.89 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.20 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz, CH₃^{ester}), 2.37-2.44 (m, 1H, H_{3'}), 2.54-2.70 (m, 2H, CH₂), 3.55 (dd, 1H, *J* = 7.3, 12.5 Hz, H_{5'a}), 3.74 (dd, 1H, *J* = 2.9, 12.5 Hz, H_{5'b}), 3.96-4.00 (m, 1H, H_{4'}), 4.10 (q, 2H, *J* = 7.3 Hz, CH₂^{ester}), 4.64 (dd, 1H, *J* = 1.8, 5.5 Hz, H_{2'}), 5.65 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₅), 5.76 (d, 1H, *J* = 1.8 Hz, H_{1'}), 7.75 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₆), 10.11 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -5.3 (CH₃^{TBS}), -4.2 (CH₃^{TBS}), 7.8 (C_{5'}), 14.6 (CH₃^{ester}), 26.3 (*t*Bu^{TBS}), 29.4, 30.5 (CH₂), 44.9 (C_{3'}), 61.2 (CH₂^{ester}), 78.7 (C_{2'}), 83.1 (C_{4'}), 92.5 (C_{1'}), 102.7 (C₅), 140.1 (C₆), 151.4 (C₂), 163.4 (C₄), 172.4 (C=O).

[α]_D²⁰ : + 79.2 (*c* = 1.0, Acétone).

Réf : Peterson, M. A.; Nilsson, B. L.; Sarker, S.; Doboszewski, B.; Zhang, W.; Robins, M. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8183-8192.

3'-Désoxy-3'-éthoxycarbonylméthyl-5'-O-(*N*-*tert*-butoxycarbonyl)amino-2'-O-*tert*-butyldiméthylsilyluridine (213)
Formule brute : C₂₄H₄₁N₃O₉Si

Masse molaire : 543

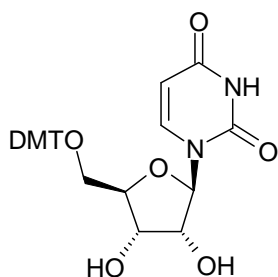
A une solution de **212** (873 mg ; 1,63 mmol) et de BocNHOH (867 mg ; 6,51 mmol ; 4 éq) dans du CH₂Cl₂ (10 mL), est ajoutée doucement à 0°C de la DBU (1,46 mL ; 9,77 mmol ; 6 éq). Le milieu réactionnel est agité à TA pendant une nuit avant d'être concentré. Il est repris dans de l'AcOEt et lavé avec de l'eau puis avec une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et concentrée. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 4:6. Le produit est obtenu sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 65% (m = 572 mg).

R_f : 0.75 (AcOEt / EP 6:4 , révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.07 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.21 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.89 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.18 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz, CH₃^{ester}), 1.43 (s, 9H, *t*Bu^{Boc}), 2.52-2.58 (m, 3H, CH₂, H_{3'}), 4.06-4.13 (m, 3H, CH₂^{ester}, H_{5'a}), 4.16-4.19 (m, 1H, H_{4'}), 4.25 (dd, 1H, *J* = 1.8, 11.0 Hz, H_{5'b}), 4.51-4.54 (m, 1H, H_{2'}), 5.53 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₅), 5.64 (m, 1H, H_{1'}), 8.12 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₆), 9.20 (s, 1H, NH^{Boc}), 10.05 (s, 1H, NH^U).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -5.4 (CH₃^{TBS}), -4.0 (CH₃^{TBS}), 14.6 (*t*Bu^{TBS}), 29.4, 30.7 (CH₂, *t*Bu^{Boc}), 38.6 (C_{3'}), 61.1 (CH₂^{ester}), 75.3 (C_{5'}), 78.4 (C_{2'}), 82.9 (C_{4'}), 92.7 (C_{1'}), 101.8 (C₅), 141.3 (C₆), 151.5 (C₂), 157.7 (C=O^{Boc}), 163.9 (C₄), 172.4 (C=O^{ester}).

[α]_D²⁰ : + 56.5 (*c* = 1.1, Acétone).

5'-O-Diméthoxytrityluridine (219)Formule brute : $C_{30}H_{30}N_2O_6Si_2$

Masse molaire : 546

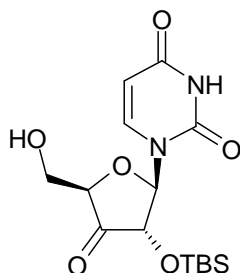
A une solution d'uridine (500 mg ; 2,05 mmol) dans du THF anhydre (60 mL), sont ajoutés de la pyridine (827 μ L ; 10,25 mmol ; 5 eq), du $AgNO_3$ (348 mg ; 2,05 mmol ; 1 eq) puis du $DMTC1$ (694 mg ; 2,05 mmol ; 1 eq). Le milieu est agité 1h à TA avant d'être filtré sur célite. Une solution saturée en $NaHCO_3$ est ajouté au filtrat puis la phase aqueuse est extraite avec du CH_2Cl_2 . Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec des mélanges $AcOEt / EP$ 8:2 (et quelques gouttes de Et_3N) puis $AcOEt / MeOH$ 98:2 (et quelques gouttes de Et_3N). Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 64% ($m = 714$ mg).

R_f : 0.83 ($CH_2Cl_2 / MeOH$ 8:2, révélateur 1).

RMN 1H (*acétone- d_6* , 400 MHz) : δ 3.41-3.49 (m, 1H, $H_{5'a}$, $H_{5'b}$), 3.78 (s, 6H, 2 x OCH_3^{DMT}), 4.10-4.14 (m, 1H, $H_{4'}$), 4.32-4.34 (m, 1H, $H_{2'}$), 4.35 (s, 1H, OH), 4.43-4.46 (m, 1H, $H_{3'}$), 4.75 (s, 1H, OH), 5.28 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, H_5), 5.90 (d, 1H, $J = 4.0$ Hz, $H_{1'}$), 7.84 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, H_6), 6.88-7.46 (m, 13H, 13 x H_{Ar}), 10.00 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (*acétone- d_6* , 100 MHz) : δ 55.6 (OCH_3^{DMT}), 63.9 ($C_{5'}$), 71.1 ($C_{3'}$), 75.5 ($C_{2'}$), 84.2 ($C_{4'}$), 87.6 ($C_{1'}$), 90.5 (C_5), 102.5 (CH_{Ar}^{DMT}), 114.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.9 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.9 (CH_{Ar}^{DMT}), 129.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 131.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 136.4 (C_{Ar}^{DMT}), 136.6 (C_{Ar}^{DMT}), 141.3 (C_6), 146.0 (C_2), 159.8 (C_4).

Réf : Hakimelahi, G. H.; Proba, Z. A.; Ogilvie, K. K. *Can. J. Chem.* **1982**, *60*, 1106-1113.

3'-Oxo-2'-O-tert-butylidiméthylsilyluridine (222)Formule brute : C₁₆H₂₄N₂O₆Si

Masse molaire : 356

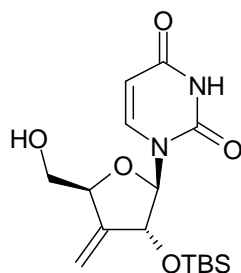
A une solution de **199** (100 mg ; 0,213 mmol) dans du THF (2 mL), est ajouté à 0°C une solution aqueuse de TFA 1:1 (1,34 mL). Le mélange réactionnel est agité à 0°C et suivi par CCM. La réaction est arrêtée au bout de 4h. Le milieu réactionnel est neutralisé avec une solution saturée en NaHCO₃ saturée puis dilué avec de l'AcOEt. Après séparation, la phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (2 x). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le produit désiré est obtenu avec un rendement de 78% (m = 59 mg) suffisamment pur pour être ensuite utilisé sans purification.

R_f : 0.19 (AcOEt / EP 8:2, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-d₆, 400 MHz) : δ 0.06 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.18 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.93 (s, 9H, ^tBu^{TBS}), 3.79-3.90 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}), 4.35-4.37 (m, 1H, H_{4'}), 4.50-4.55 (m, 1H, H_{2'}), 5.59 (s, 1H, OH), 5.76-5.78 (m, 1H, H₅), 6.17-6.23 (m, 1H, H_{1'}), 7.96-8.02 (m, 1H, H₆), 10.29 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-d₆, 100 MHz) : δ -4.7 (CH₃^{TBS}), -4.5 (CH₃^{TBS}), 26.1 (^tBu^{TBS}), 61.2 (C_{5'}), 76.4 (C_{2'}), 82.5 (C_{4'}), 85.6 (C_{1'}), 103.2 (C₅), 140.2 (C₆), 150.8 (C₂), 162.4 (C₄), 208.8 (C=O).

Réf.: Jung, P. M. J.; Burger, A.; Biellmann, J.-F. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 8309-8314.

3'-Désoxy-3'-méthylène-2'-O-tert-butylidiméthylsilyluridine (223)Formule brute : C₁₆H₂₆N₂O₅Si

Masse molaire : 354

A une solution de **201** (2,67 g ; 0,0754 mol) dans du THF (50 mL), est ajouté à 0°C une solution aqueuse de TFA 1:1 (50 mL). Le mélange réactionnel est agité à 0°C et est suivi par CCM. Avant déprotection du groupement TBS en 2', la réaction est arrêtée, c'est-à-dire au bout de 2h même si tout le produit de départ n'est pas consommé. Le milieu réactionnel est neutralisé avec une solution saturée en NaHCO₃ saturée (400 mL) puis dilué avec de l'AcOEt (300 mL). Après séparation, la phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (2 x). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange AcOEt / EP 2,5:7,5 jusqu'à obtenir ce qui reste de produit de départ (15%, m = 405 mg). En éluant avec un mélange AcOEt / EP 6:4, le produit **223** est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 65% (m = 1,32 g).

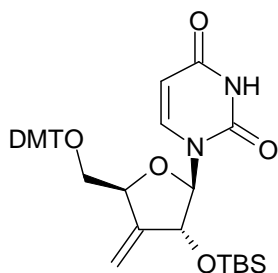
R_f : 0.20 (AcOEt / EP 6:4, révélateur 1).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ 0.00 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.10 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.90 (s, 9H, ^tBu^{TBS}), 2.64 (s, 1H, OH), 3.74 (dd, 1H, *J* = 3.0, 11.8 Hz, H_{5'a}), 3.97 (dd, 1H, *J* = 2.7, 11.8 Hz, H_{5'b}), 4.72-4.73 (m, 1H, H_{4'}), 4.91-4.93 (m, 1H, H_{2'}), 5.21-5.32 (m, 2H, =CH₂), 5.52 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₅), 5.79 (d, 1H, *J* = 6.8 Hz, H_{1'}), 7.52 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₆), 8.41 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) : δ -4.7 (CH₃^{TBS}), -4.5 (CH₃^{TBS}), 26.1 (^tBu^{TBS}), 65.5 (C_{5'}), 76.6 (C_{2'}), 82.2 (C_{4'}), 89.1 (C_{1'}), 103.4 (C₅), 108.9 (=CH₂), 141.6 (C₆), 148.9 (C₂), 163.4 (C₄).

[α]_D²⁰ : + 37.7 (*c* = 0.9, Acétone).

T_f : 107°C

3'-Désoxy-5'-O-diméthoxytrityl-3'-méthylène-2'-O-tert-butyldiméthylsilyluridine (228)Formule brute : $C_{37}H_{44}N_2O_7Si$

Masse molaire : 656

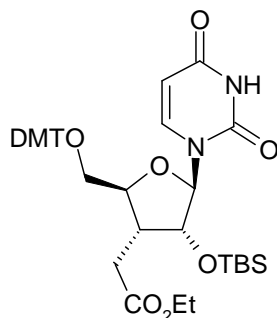
A un mélange de **223** (300 mg ; 0,847 mmol) et de Li_2CO_3 (313 mg ; 4,24 mmol ; 5 éq) préalablement séchés dans le dessiccateur contenant P_2O_5 et placé sous vide une nuit, est ajouté du THF anhydre (3 mL). Le mélange est chauffé à $80^\circ C$ pendant 30 min. Le mélange trouble est laissé revenir à TA puis de la DIPEA (420 μL ; 2,54 mmol ; 3 éq) est ajoutée. Puis, 2 éq de DMT^+ , BF_4^- sont ajoutés par portion de 0,25 éq (664 mg ; 1,70 mmol) toutes les 30 min. Le milieu réactionnel est ensuite agité à TA pendant une nuit. Puis, 0,5 éq de DMT^+ , BF_4^- est ajouté en deux fois séparées de 30 min. Le mélange réactionnel est agité pendant 24h. Il est ensuite dilué dans du CH_2Cl_2 , lavé avec une solution saturée en $NaHCO_3$, puis avec de l'eau et avec une solution saturée en $NaCl$. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et concentrée. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec des mélanges AcOEt / EP 2:8 puis 3:7. Le produit est obtenu sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 83% (m = 461 mg).

R_f : 0.47 (AcOEt / EP 4:6, révélateur 1).

RMN 1H (acétone- d_6 , 400 MHz) : δ 0.07 (s, 3H, CH_3^{TBS}), 0.18 (s, 3H, CH_3^{TBS}), 0.93 (s, 9H, tBu^{TBS}), 3.31 (dd, 1H, $J = 2.7, 10.5$ Hz, $H_{5'a}$), 3.51 (dd, 1H, $J = 2.9, 10.5$ Hz, $H_{5'b}$), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH_3^{DMT}), 4.80-4.82 (m, 1H, $H_{4'}$), 4.96-4.99 (m, 1H, $H_{2'}$), 5.27-5.38 (m, 3H, $=CH_2$, H_5), 5.88 (d, 1H, $J = 6.9$ Hz, $H_{1'}$), 6.90-6.92 (m, 4H, 4 x H^{DMT}), 7.24-7.35 (m, 7H, 7 x H^{DMT}), 7.46-7.48 (m, 2H, 2 x H^{DMT}), 7.84 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, H_6), 10.09 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (acétone- d_6 , 100 MHz) : δ -4.7 (CH_3^{TBS}), -4.5 (CH_3^{TBS}), 26.1 (tBu^{TBS}), 55.6 (OCH_3^{DMT}), 67.2 ($C_{5'}$), 76.9 ($C_{2'}$), 80.3 ($C_{4'}$), 88.2 ($C_{1'}$), 103.3 (C_5), 109.4 ($=CH_2$), 114.1 (CH_{Ar}^{DMT}), 126.9 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.9 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.1 (CH_{Ar}^{DMT}), 130.1 (CH_{Ar}^{DMT}), 130.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 135.2 (C_{Ar}^{DMT}), 135.4 (C_{Ar}^{DMT}), 141.0 (C_6), 145.1 (C_q), 145.8 (C_q), 151.6 (C_2), 163.2 (C_4).

$[\alpha]_D^{20}$: + 61.4 ($c = 1.1$, Acétone).

3'-Désoxy-5'-O-diméthoxytrityl-3'-éthoxycarbonylméthyl-2'-O-tert-butyl diméthyl silyluridine (221)
Formule brute : C₄₀H₅₀N₂O₉Si

Masse molaire : 730

Méthode A :

A du composé **203** (300 mg ; 0,704 mmol) précédemment co-évaporé avec de la pyridine (2 x 5 mL), sont ajoutés de la pyridine (4 mL), de la DMAP (26 mg ; 0,211 mmol ; 0,3 éq) et du DMTCl (310 mg ; 0,915 mmol ; 1,2 éq). Le milieu réactionnel est ajouté 72h à TA. La réaction étant incomplète, du DMTCl (477 mg ; 1,408 mmol ; 2 éq) et de la DMAP (172 mg ; 1,408 mmol ; 2 éq) sont de nouveau ajoutés. Après 24h d'agitation, le milieu est concentré puis repris dans de l'AcOEt. La phase organique est lavée avec une solution saturée en NaHCO₃ puis avec une solution saturée en NaCl, séchée sur MgSO₄, filtrée et concentrée. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec des mélanges AcOEt / EP 2:8 puis 3:7 contenant 0,5% de Et₃N. Le produit est obtenu avec un rendement de 74% (m = 396 mg) sous forme d'une huile incolore.

Méthode B :

A un mélange de **203** (300 mg ; 0,704 mmol) et de Li₂CO₃ (260 mg ; 3,52 mmol ; 5 éq) préalablement séchés dans le dessiccateur contenant P₂O₅ et placé sous vide une nuit, est ajouté du THF anhydre (3 mL). Le mélange est chauffé à 80°C pendant 30 min. Le mélange trouble est laissé revenir à TA puis de la DIPEA (420 µL ; 2,54 mmol ; 3 éq) est ajoutée. Puis, 2 éq de DMT⁺, BF₄⁻ sont ajoutés par portion de 0,25 éq (552 mg ; 1,40 mmol) toutes les 30 min. Le milieu réactionnel est ensuite agité à TA pendant une nuit. Puis, 0,5 éq de DMT⁺, BF₄⁻ est ajouté en deux fois séparées de 30 min. Le mélange réactionnel est agité pendant 24h. Il est ensuite dilué dans du CH₂Cl₂, lavé avec une solution saturée en NaHCO₃, puis avec de l'eau et avec une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et concentrée. Le mélange est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec des mélanges AcOEt / EP 2:8 puis 3:7 contenant 0,5% de Et₃N. Le produit est obtenu avec un rendement de 77% (m = 396 mg) sous forme d'une huile incolore.

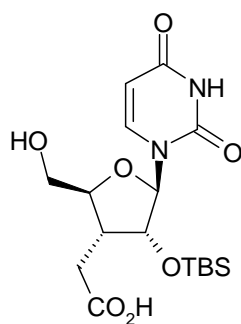
R_f : 0.33 (AcOEt / EP 4:6, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-d₆, 400 MHz) : δ 0.03 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.19 (s, 3H, CH₃^{TBS}), 0.81 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 1.13 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz, CH₃^{ester}), 2.06-2.13 (m, 2H, CH₂CO), 2.51 (dd, 1H, *J* = 7.1, 16.6 Hz, CH₂), 2.66-2.72 (m, 1H, H_{3'}), 3.42 (dd, 1H, *J* = 3.2, 11.4 Hz, H_{5'a}), 3.70 (dd, 1H, *J* = 2.0, 11.4 Hz, H_{5'b}), 3.78 (s, 6H, 2 x OCH₃^{DMT}), 4.03-4.11 (m, 3H, H_{4'} et CH₂^{ester}), 4.53 (dd, 1H, *J* = 0.5, 4.6 Hz, H_{2'}), 5.19 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₅), 5.72 (d, 1H, *J* = 0.5 Hz, H_{1'}), 6.90-6.94 (m, 4H, H_{Ar}^{DMT}), 7.25-7.38 (m, 7H, 7 x H_{Ar}^{DMT}), 7.48-7.50 (m, 2H, H_{Ar}^{DMT}), 8.14 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₆), 10.01 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-d₆, 100 MHz) : δ -6.3 (CH₃^{TBS}), -4.9 (CH₃^{TBS}), 13.7 (CH₃^{ester}), 18.7 (*t*Bu^{TBS}), 25.5 (CH₂), 38.3 (C_{3'}), 54.8 (OCH₃^{DMT}), 60.2 (CH₂^{ester}), 61.6 (C_{5'}), 77.8 (C_{2'}), 83.2

(C_{4'}), 87.0 (C_{Ar}^{DMT}), 91.6 (C_{1'}), 101.0 (C₅), 113.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 130.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 130.3 (CH_{Ar}^{DMT}), 135.5 (C_{Ar}^{DMT}), 140.1 (C₆), 145.0 (C_q), 150.5 (C₂), 158.9 (C_q), 162.9 (C₄), 171.4 (C=O).

$[\alpha]_D^{20}$: + 24.5 ($c = 0.9$, Acétone).

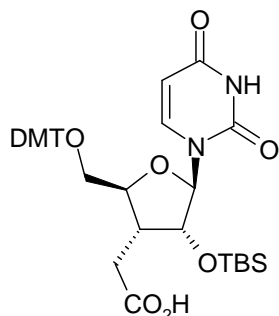
3'-Carboxyméthyl-3'-désoxy-2'-O-tert-butyldiméthylsilyluridine (230)Formule brute : $C_{17}H_{28}N_2O_7Si$

Masse molaire : 400

A une solution de **203** (100 mg ; 0,234 mmol) dans du MeOH (2 mL), est ajouté du LiOH (12 mg ; 0,52 mmol ; 2,2 éq). Le milieu réactionnel est agité pendant 3 jours à TA. Il est ensuite neutralisé avec de la résine H^+ puis le mélange est filtré et rincé avec du MeOH. Le produit brut est obtenu avec un rendement de 98% (m = 92 mg).

R_f : 0.11 (CH_2Cl_2 / MeOH 9:1, révélateur 1).

RMN ¹H (méthanol-*d*₄, 400 MHz) : δ 0.00 (s, 3H, CH_3^{TBS}), 0.14 (s, 3H, CH_3^{TBS}), 0.84 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 2.34-2.40 (m, 2H, CH_2CO), 2.54-2.57 (m, 1H, $H_{3'}$), 3.70-3.73 (m, 1H, $H_{4'}$), 3.98-4.03 (m, 2H, $H_{5'a}$, $H_{5'b}$), 4.28-4.30 (m, 1H, $H_{2'}$), 5.55 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H_5), 5.60-5.64 (m, 1H, $H_{1'}$), 8.30 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H_6), 9.50 (s, 1H, OH), 10.00 (s, 1H, NH).

3'-Carboxyméthyl-3'-désoxy-5'-O-diméthoxytrityl-2'-O-tert-butyl-diméthylsilyluridine (217)
Formule brute : $C_{38}H_{46}O_9N_2Si$

Masse molaire : 702

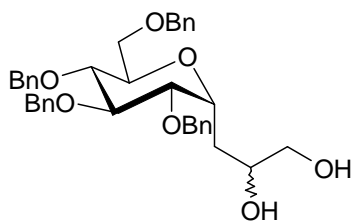
A une solution de **221** (100 mg ; 0,137 mmol) dans du MeOH (2 mL), est ajouté du LiOH (7 mg ; 0,275 mmol ; 2 éq). Le milieu réactionnel est agité pendant 3 jours à TA. Il est ensuite neutralisé à l'aide d'une solution saturée en NH_4Cl puis extrait avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées. Le produit brut est obtenu sous forme d'un solide jaune avec un rendement de 100% (m = 100 mg).

R_f : 0.47 (AcOEt / EP 6:4, révélateur 1).

RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 0.11 (s, 3H, CH_3^{TBS}), 0.24 (s, 3H, CH_3^{TBS}), 0.91 (s, 9H, *t*Bu^{TBS}), 2.65-2.69 (m, 1H, H_{3'}), 3.44 (dd, 1H, *J* = 2.5, 11.5 Hz, H_{5'a}), 3.68 (dd, 1H, *J* = 2.5, 12.5 Hz, H_{5'b}), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH₃^{DMT}), 4.01-4.06 (m, 3H, H_{4'}, CH₂), 4.56 (dd, 1H, *J* = 0.5, 4.6 Hz, H_{2'}), 5.22 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H_{5'}), 5.72 (d, 1H, *J* = 0.5 Hz, H_{1'}), 6.91-7.49 (m, 13H, 13 x H_{Ar}^{DMT}), 8.14 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H₆), 10.09 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (acétone-*d*₆, 100 MHz) : δ -5.3 (CH_3^{TBS}), -4.1 (CH_3^{TBS}), 26.4 (*t*Bu^{TBS}), 39.3 (C_{3'}), 55.6 (OCH₃^{DMT}), 60.6 (CH₂CO), 62.5 (C_{5'}), 78.7 (C_{2'}), 84.1 (C_{4'}), 92.5 (C_{1'}), 101.9 (C₅), 114.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 127.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.0 (CH_{Ar}^{DMT}), 128.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 130.2 (CH_{Ar}^{DMT}), 130.3 (CH_{Ar}^{DMT}), 135.5 (C_{Ar}^{DMT}), 141.0 (C₆), 151.4 (C₂), 163.8 (C₄).

T_f : 84°C

3-(2',3',4',6'-Tetra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)propan-1,2-diol (236a et 236b)Formule brute : $C_{37}H_{42}O_7$

Masse molaire : 598

A une solution de **232** (2,99g ; 5,3 mmol) dans un mélange acétone / H_2O / *t*-BuOH (5:5:2, 36 mL), sont ajoutés du NMO (812 mg ; 6,9 mmol ; 1,3 éq) et une solution à 4% de OsO_4 dans du *t*-BuOH (300 μ L ; 0,05 éq). Après 36h d'agitation à TA, du bisulfite de sodium (1,51 g) est ajouté. Le mélange est agité pendant 2h puis de l'eau (~15 mL) est ajoutée pour dissoudre le précipité et la phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution de HCl 1M, puis avec de l' H_2O et enfin avec une solution saturée en NaCl. Elles sont ensuite séchées sur $MgSO_4$, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange CH_2Cl_2 / MeOH 99:1 puis 98:2 quand le second isomère sort pur. L'isomère (R) **236a** est obtenu pur sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 24% (m = 0,76 g) et l'isomère (S) **236b** également sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 27% (m = 0,85 g). Un mélange des deux isomères est aussi obtenu à hauteur de 40% (m = 1,25 g).

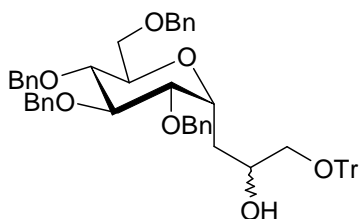
Mélange des deux isomères:

R_f : 0.56 (CH_2Cl_2 / MeOH 22:1, révélateur 1).

RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz) : δ 1.78-1.92 (m, 2H, H_{3a} , H_{3b}), 3.48-3.82 (m, 9H, H_{1a} , H_{1b} , H_2 , $H_{2'}$, $H_{3'}$, $H_{4'}$, H_5 , $H_{6'a}$, $H_{6'b}$), 4.33-4.25 (m, 1H, $H_{1'}$), 4.43-4.53 (m, 2H, 2 x O-CH-Ph), 4.58 (d, 1H, $J = 12.4$ Hz, O-CH-Ph), 4.64 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, O-CH-Ph), 4.71 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, O-CH-Ph), 4.77 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, O-CH-Ph), 4.79 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, O-CH-Ph), 7.25-7.33 (m, 20H, 20 x H_{Ar}^{Bn}).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) : δ 28.9 (C_3), 66.7 (C_2), 69.2, 69.6, (C_1 , $C_{6'}$), 71.2, ($C_{1'}$), 73.5 (O- CH_2 -Ph), 73.6 (O- CH_2 -Ph), 75.0 (O- CH_2 -Ph), 75.5 (O- CH_2 -Ph), 71.9, 78.1, 79.5, 82.1 ($C_{2'}$, $C_{3'}$, $C_{4'}$, $C_{5'}$), 86.8 (Cq), 128.0, 128.5, 128.6 (CH_{Ar}^{Bn}), 137.7 (Cq), 137.9 (Cq).

Réf : Gurjar, M. K.; Mainkar, A. S.; Syamala, M. *Tetrahedron Asymmetry* **1993**, 4, 2343-2346.

3-(2',3',4',6'-Tetra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-1-*O*-trityl-propan-1,2-diol (237 et 238)Formule brute : C₅₆H₅₆O₇

Masse molaire : 840

A une solution de **236b** (704 mg ; 1,17 mmol) dans du CH₂Cl₂ anhydre (7 mL) préparée sous atmosphère inerte, sont ajoutés de la Et₃N (335 μ L ; 2,38 mmol ; 2 éq) et du TrCl (396 mg ; 1,42 mmol ; 1,2 éq). Le milieu réactionnel est agité pendant 48h à TA. Il est concentré puis repris dans un mélange AcOEt / H₂O. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (2 x) puis les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange EP / AcOEt 8,5:1,5. Le produit désiré **238** est obtenu sous forme d'une huile avec un rendement de 86% (m = 842 mg).

Dans le cas de **236a**, le produit **237** est obtenu également sous forme d'une huile avec un rendement de 79%.

Isomère R (237) :

R_f : 0.33 (AcOEt / EP 3:7, révélateur 1).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ 1.78-1.82 (m, 2H, H_{3a}, H_{3b}), 2.62 (s, 1H, OH), 3.12 (d, 2H, J = 5.5 Hz, H_{1a}, H_{1b}), 3.47-3.74 (m, 6H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'a}, H_{6'b}), 3.96-4.04 (m, 1H, H₂), 4.37-4.41 (m, 1H, H_{1'}), 4.43 (d, 1H, J = 10.5 Hz, O-CH-Ph), 4.46 (d, 1H, J = 12.3 Hz, O-CH-Ph), 4.57-4.62 (m, 3H, 3 x O-CH-Ph), 4.73 (d, 1H, J = 11.0 Hz, O-CH-Ph), 4.78 (d, 1H, J = 11.0 Hz, O-CH-Ph), 4.87 (d, 1H, J = 10.9 Hz, O-CH-Ph), 7.09-7.43 (m, 35H, 20 x H_{Ar}^{Bn}, 15 x H_{Ar}^{Tr}).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) : δ 28.9 (C₃), 67.7 (C₂), 68.0 (C₁), 69.0 (C_{6'}), 70.6 (C_{1'}), 73.0 (O-CH₂-Ph), 73.6 (O-CH₂-Ph), 75.0 (O-CH₂-Ph), 75.4 (O-CH₂-Ph), 71.7, 78.0, 79.5, 82.2 (C_{2'}, C_{3'}, C_{4'}, C_{5'}), 86.8 (Cq), 127.2, 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.5, 128.7 (CH_{Ar}^{Bn}, CH_{Ar}^{Tr}), 138.0 (Cq), 138.1 (Cq), 138.3 (Cq), 138.0 (Cq), 144.0 (Cq).

$[\alpha]_D^{20}$: + 25.8 (c = 1.1, CHCl₃).

Isomère S (238) :

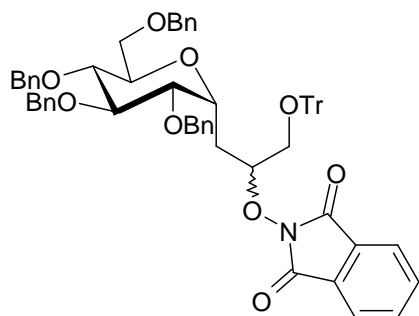
R_f : 0.36 (AcOEt / EP 3:7, révélateur 1).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ 1.82-1.91 (m, 1H, H_{3a}), 2.00-2.05 (m, 1H, H_{3b}), 3.08 (dd, 1H, J = 5.2, 9.1 Hz, H_{1a}), 3.21 (dd, 1H, J = 5.5, 9.1 Hz, H_{1b}), 3.47-3.80 (m, 6H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'a}, H_{6'b}), 3.95-4.00 (m, 1H, H₂), 4.14-4.19 (m, 1H, H_{1'}), 4.44 (d, 2H, J = 12.9 Hz, 2 x O-CH-Ph), 4.54-4.60 (m, 2H, 2 x O-CH-Ph), 4.66 (d, 1H, J = 11.5 Hz, O-CH-Ph), 4.78 (t, 2H, J = 11.0 Hz, 2 x O-CH-Ph), 4.89 (d, 1H, J = 11.0 Hz, O-CH-Ph), 7.10-7.45 (m, 35H, 20 x H_{Ar}^{Bn}, 15 x H_{Ar}^{Tr}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) : δ 28.9 (C_3), 67.1 (C_1), 69.1 (C_6'), 70.9 (C_2), 73.3 (O- CH_2 -Ph), 73.6 (O- CH_2 -Ph), 74.2 (C_1'), 75.0 (O- CH_2 -Ph), 75.6 (O- CH_2 -Ph), 71.5, 78.2, 79.9, 82.2 (C_2' , C_3' , C_4' , C_5'), 86.7 (Cq), 127.1, 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.1, 128.4, 128.5, 128.6, 128.9 ($\text{CH}_{\text{Ar}}^{\text{Bn}}$, $\text{CH}_{\text{Ar}}^{\text{Tr}}$), 137.2 (Cq), 138.2 (Cq), 138.7 (Cq), 144.1 (Cq).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: + 19.8 ($c = 1.0$, CHCl_3).

Réf : Gurjar, M. K.; Mainkar, A. S.; Syamala, M. *Tetrahedron Asymmetry* **1993**, 4, 2343-2346.

2-Phthalimidoxy-3-(2',3',4',6'-tetra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-1-*O*-tritylpropanol (239 et 240)
Formule brute : C₆₄H₅₉NO₉

Masse molaire : 985

A une solution de **238** (771 mg ; 0,92 mmol) dans du toluène anhydre (4 mL) préparée sous atmosphère inerte, sont ajoutés de la PPh₃ (312 mg ; 1,19 mmol ; 1,3 éq) et du *N*-hydroxyphthalimide (192 mg ; 1,18 mmol ; 1,3 éq). Dans le mélange réfrigéré à 0°C, une solution de DIAD (270 μ L ; 1,37 mmol ; 1,5 éq) dans du toluène anhydre (2 mL) est ajoutée par un goutte à goutte très lent. Le milieu réactionnel devient rouge vif et est agité pendant 48h à TA. Le mélange est dilué avec de l'AcOEt et lavé avec de l'H₂O. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (2 x) puis les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée en NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le mélange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange EP / AcOEt 9:1 puis 8,5:1,5. Le produit désiré **240** est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 98% (m = 888 mg).

Dans le cas de **237**, le produit **239** est obtenu sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 89%.

Isomère S (239) :

R_f : 0.46 (AcOEt / EP 3:7, révélateur 1).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ 2.21-2.28 (m, 2H, H_{3a}, H_{3b}), 3.40-3.69 (m, 6H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'a}, H_{6'b}), 3.71-3.77 (m, 2H, H_{1a}, H_{1b}), 4.15-4.20 (m, 1H, H₂), 4.41 (d, 1H, *J* = 12.4 Hz, O-CH-Ph), 4.47 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, O-CH-Ph), 4.56-4.63 (m, 4H, H_{1'}, 3 x O-CH-Ph), 4.76 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, O-CH-Ph), 4.88 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, O-CH-Ph), 7.11-7.35 (m, 35H, 20 x H_{Ar}^{Bn}, 15 x H_{Ar}^{Tr}), 7.70-7.76 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{Phth}).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) : δ 26.9 (C₃), 65.2 (C_{6'}), 68.8 (C₁), 70.4 (C₂), 73.0 (O-CH₂-Ph), 73.5 (O-CH₂-Ph), 75.0 (O-CH₂-Ph), 75.5 (O-CH₂-Ph), 71.8, 77.7, 79.5, 82.0 (C_{2'}, C_{3'}, C_{4'}, C_{5'}), 84.9 (C_{1'}), 87.4 (Cq), 123.5 (CH_{Ar}^{Phth}), 127.0, 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.4, 128.7, 129.2 (CH_{Ar}^{Bn}, CH_{Ar}^{Tr}), 134.3 (CH_{Ar}^{Phth}), 138.3 (Cq), 138.4 (Cq), 138.8 (Cq), 143.8 (Cq), 156.6 (Cq), 163.7 (Cq).

[α]_D²⁰ : + 45.2 (*c* = 1.3, CHCl₃).

T_f : 86°C

Isomère R (240) :

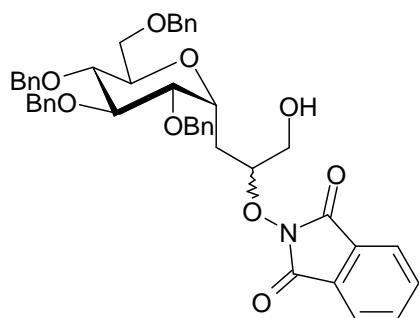
R_f : 0.40 (AcOEt / EP 3:7, révélateur 1).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ 2.08-2.18 (m, 2H, H_{3a}, H_{3b}), 3.47-3.50 (m, 2H, H_{1a}, H_{1b}), 3.52-3.77 (m, 6H, H₂, H₃, H₄, H₅, H_{6a}, H_{6b}), 4.41-4.67 (m, 7H, H₂, H₁, 5 x O-CH-Ph), 4.72 (d, 1H, *J* = 10.7 Hz, O-CH-Ph), 4.79 (d, 1H, *J* = 10.5 Hz, O-CH-Ph), 4.86 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, O-CH-Ph), 7.07-7.34 (m, 35H, 20 x H_{Ar}^{Bn}, 15 x H_{Ar}^{Tr}), 7.68-7.76 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{Phth}).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) : δ 21.1 (C₃), 66.1 (C₆), 68.9 (C₁), 70.5 (C₂), 72.7 (O-CH₂-Ph), 73.5 (O-CH₂-Ph), 74.9 (O-CH₂-Ph), 75.4 (O-CH₂-Ph), 71.7, 77.8, 79.4, 82.0 (C₂, C₃, C₄, C₅), 84.5 (C₁), 87.5 (Cq), 123.5 (CH_{Ar}^{Phth}), 127.0, 127.8, 127.9, 128.0, 128.4, 128.6, 129.1 (CH_{Ar}^{Bn}, CH_{Ar}^{Tr}), 134.3 (CH_{Ar}^{Phth}), 138.2 (Cq), 138.3 (Cq), 138.5 (Cq), 143.7 (Cq), 156.5 (Cq), 163.5 (Cq).

[α]_D²⁰ : + 19.3 (*c* = 1.0, CHCl₃).

T_f : 81°C

2-Phthalimidoxy-3-(2',3',4',6'-tetra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)propanol (241 et 242)Formule brute : C₄₅H₄₅NO₉

Masse molaire : 743

A une solution de **240** (779 mg ; 0,79 mmol) dans du CH₂Cl₂ (19 mL), du TFA (975 μ L ; 5% par rapport au volume de solvant) est ajouté. Le milieu est agité pendant 5 min à TA puis il est chargé sur une colonne (très large) préparée dans de l'EP pur. La colonne est éluee avec un mélange EP / AcOEt 9:1 puis 8:2 puis avec un mélange 5:5. Le produit **242** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 100% (m = 588 mg).

Dans le cas du composé **239**, le produit **241** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 88%.

Isomère S (241) :

R_f : 0.46 (AcOEt / EP 4:6, révélateur 1).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ 2.25-2.37 (m, 2H, H_{3a}, H_{3b}), 2.44 (s, 1H, OH), 3.59-3.87 (m, 8H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'a}, H_{6'b}, H_{1a}, H_{1b}), 4.25-4.33 (m, 2H, H_{1'}, H₂), 4.44 (d, 1H, *J* = 12.3 Hz, O-CH-Ph), 4.48 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, O-CH-Ph), 4.59 (d, 1H, *J* = 11.9 Hz, O-CH-Ph), 4.69-4.72 (m, 2H, 2 x O-CH-Ph), 4.80 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, O-CH-Ph), 4.83 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, O-CH-Ph), 4.94 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, O-CH-Ph), 7.14-7.35 (m, 20H, 20 x H_{Ar}^{Bn}), 7.75-7.84 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{Phth}).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) : δ 25.1 (C₃), 60.5 (C_{6'}), 69.0 (C₁), 70.6 (C₂), 73.3 (O-CH₂-Ph), 73.5 (O-CH₂-Ph), 75.1 (O-CH₂-Ph), 75.7 (O-CH₂-Ph), 71.7, 77.9, 79.6, 82.1 (C_{2'}, C_{3'}, C_{4'}, C_{5'}), 86.5 (C_{1'}), 124.0 (CH_{Ar}^{Phth}), 127.8, 128.0, 128.1, 128.2, 128.4, 128.5, 128.9 (CH_{Ar}^{Bn}), 134.9 (CH_{Ar}^{Phth}), 138.0 (Cq), 138.2 (Cq), 138.3 (Cq), 138.8 (Cq), 164.8 (Cq).

[α]_D²⁰ : + 34.1 (*c* = 1.1, CHCl₃).

T_f : 77°C

HRMS : *m/z* [M+Na]⁺ Calculée 766.2987 ; Trouvée 766.3021.

Isomère R (242) :

R_f : 0.41 (AcOEt / EP 4:6, révélateur 1).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ 2.05-2.13 (m, 1H, H_{3a}), 2.27-2.34 (m, 1H, H_{3b}), 3.01 (s, 1H, OH), 3.58-3.81 (m, 8H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'a}, H_{6'b}, H_{1a}, H_{1b}), 4.29-4.33 (m, 1H, H_{1'}), 4.45-

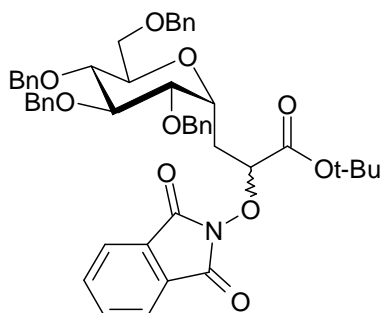
4.49 (m, 1H, H₂), 4.55-4.61 (m, 2H, 2 x O-CH-Ph), 4.69-4.71 (m, 1H, O-CH-Ph), 4.76 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz, O-CH-Ph), 4.81 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz, O-CH-Ph), 4.90 (m, 1H, O-CH-Ph), 7.13-7.36 (m, 20H, 20 x H_{Ar}^{Bn}), 7.77-7.86 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{Phth}).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) : δ

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: + 22.2 ($c = 0.9$, CHCl₃).

T_f : 98°C

HRMS : m/z [M+Na]⁺ Calculée 766.2987 ; Trouvée 766.3001.

2-Phthalimidoxy-3-(2',3',4',6'-tetra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)propanoate de *tert*-butyle (243 et 244)
Formule brute : C₄₉H₅₁NO₁₀

Masse molaire : 813

A une solution de **241** (253 mg ; 0,34 mmol) dans du CH₂Cl₂ anhydre (7 mL) préparée sous atmosphère inerte, sont ajoutés de l'anhydride acétique (320 μ L; 3,39mmol; 10 éq), du PCC (152 mg ; 0,71 mmol; 2,1 éq) et du *t*-BuOH (0,65 mL). Le milieu réactionnel est agité pendant 3 jours à TA. Le mélange est en partie concentré puis purifié par chromatographie sur colonne en éluant avec du CH₂Cl₂. Le produit **243** est obtenu sous forme d'une huile avec un rendement de 78% (m = 215 mg).

Dans le cas du composé **242**, le produit **244** est obtenu avec un rendement de 45% sous forme d'une huile.

Isomère S (243) :

R_f : 0.71 (AcOEt / EP 3:7, révélateur 1).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) : δ 1.43 (s, 9H, *t*Bu), 2.43-2.54 (m, 2H, H_{3a}, H_{3b}), 3.68-3.86 (m, 6H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'a}, H_{6'b}), 4.34-4.39 (m, 1H, H_{1'}), 4.45 (d, 1H, *J* = 11.9 Hz, O-CH-Ph), 4.49 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, O-CH-Ph), 4.62 (d, 1H, *J* = 8.9 Hz, O-CH-Ph), 4.66 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, O-CH-Ph), 4.70-4.83 (m, 4H, 3 x O-CH-Ph, H₂), 4.91 (d, 1H, *J* = 10.9 Hz, O-CH-Ph), 7.12-7.35 (m, 20H, 20 x H_{Ar}^{Bn}), 7.72-7.90 (m, 4H, 4 x H_{Ar}^{Phth}).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) : δ 27.2 (C₃), 28.0 (CH₃, *t*Bu), 68.8 (C_{6'}), 70.4 (C_{1'}), 72.8 (O-CH₂-Ph), 73.6 (O-CH₂-Ph), 75.1 (O-CH₂-Ph), 75.5 (O-CH₂-Ph), 71.9, 77.7, 79.1, 82.0 (C_{2'}, C_{3'}, C_{4'}, C_{5'}), 82.9 (Cq), 83.6 (C₂), 123.7 (CH_{Ar}^{Phth}), 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.1, 128.4, 128.5 (CH_{Ar}^{Bn}), 134.6 (CH_{Ar}^{Phth}), 138.1 (Cq), 138.2 (Cq), 138.4 (Cq), 138.8 (Cq), 163.1 (Cq), 168.1 (Cq).

[α]_D²⁰ : + 55.9 (*c* = 1.3, CHCl₃).

HRMS : *m/z* [M+Na]⁺ Calculée 836.3411 ; Trouvée 836.3436.

Isomère R (244):

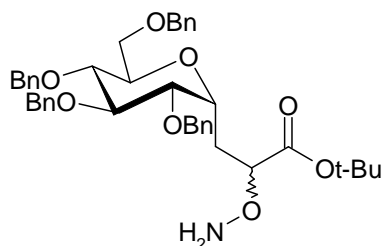
R_f : 0.66 (AcOEt / EP 3:7, révélateur 1).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) : δ 1.48 (s, 9H, *t*Bu), 2.21-2.29 (m, 1H, $\text{H}_{3\text{a}}$), 2.34-2.41 (m, 1H, $\text{H}_{3\text{b}}$), 3.65-3.86 (m, 6H, $\text{H}_{2'}$, $\text{H}_{3'}$, $\text{H}_{4'}$, $\text{H}_{5'}$, $\text{H}_{6'\text{a}}$, $\text{H}_{6'\text{b}}$), 4.46-4.52 (m, 2H, 2 x O-*CH*-Ph), 4.60 (d, 1H, $J = 12.3$ Hz, O-*CH*-Ph), 4.66 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, O-*CH*-Ph), 4.73-4.83 (m, 5H, 3 x O-*CH*-Ph, $\text{H}_{1'}$, H_2), 4.93 (d, 1H, $J = 10.5$ Hz, O-*CH*-Ph), 7.17-7.37 (m, 20H, 20 x $\text{H}_{\text{Ar}}^{\text{Bn}}$), 7.73-7.82 (m, 4H, 4 x $\text{H}_{\text{Ar}}^{\text{Phth}}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) : δ 27.6 (C_3), 28.0 (CH_3 , *t*Bu), 60.5 (Cq), 69.0 ($\text{C}_{6'}$), 69.9 ($\text{C}_{1'}$), 72.8 (O-*CH*₂-Ph), 73.5 (O-*CH*₂-Ph), 75.2 (O-*CH*₂-Ph), 75.6 (O-*CH*₂-Ph), 71.8, 79.2, 82.0, 82.8 ($\text{C}_{2'}$, $\text{C}_{3'}$, $\text{C}_{4'}$, $\text{C}_{5'}$), 83.6 (C_2), 123.7 ($\text{CH}_{\text{Ar}}^{\text{Phth}}$), 127.6, 128.0, 128.1, 128.2, 128.4, 128.5, 128.9, 129.0 ($\text{CH}_{\text{Ar}}^{\text{Bn}}$), 134.6 ($\text{CH}_{\text{Ar}}^{\text{Phth}}$), 138.3 (Cq), 138.8 (Cq), 163.1 (Cq), 165.4 (Cq), 160.0 (Cq).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: + 62.6 ($c = 0.8$, CHCl_3).

HRMS : m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ Calculée 836.3411 ; Trouvée 836.3445.

2-Aminoxy-3-(2',3',4',6'-tetra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)propanoate de *tert*-butyle (245 et 246)
Formule brute : C₄₁H₄₉NO₈

Masse molaire : 683

A une solution de **243** (196 mg ; 0,24 mmol) dans du CH₂Cl₂ (2 mL), est ajoutée de la méthylhydrazine (38 μ L ; 0,72 mmol ; 3 éq). Le mélange est agité pendant 2h à TA. Un précipité se forme. Il est dissous dans de l'H₂O et le mélange est extrait avec de l'AcOEt (3 x). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées. Le produit brut **245** est obtenu avec un rendement de 95% (m = 157 mg).

Dans le cas du composé **244**, le produit brut **246** est obtenu avec un rendement de 98%.

Isomère S (245) :

R_f : 0.59 (AcOEt / EP 8:2, révélateur 1 ou 2).

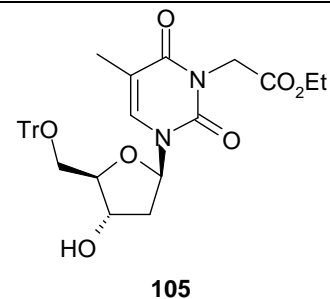
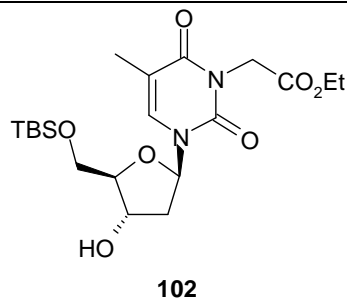
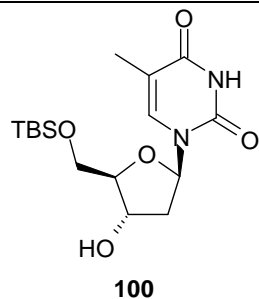
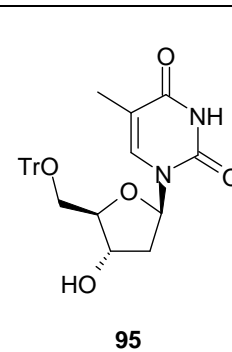
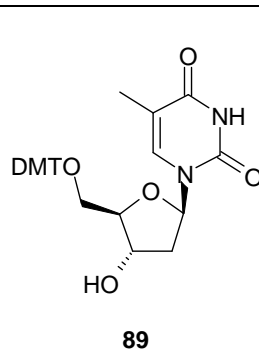
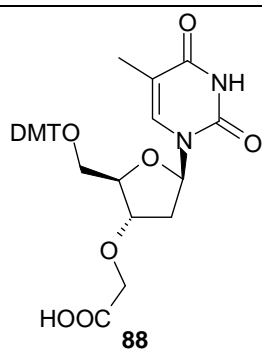
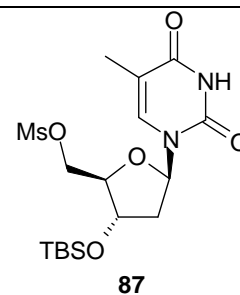
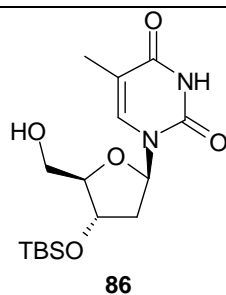
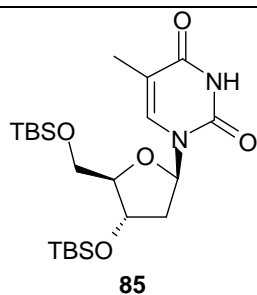
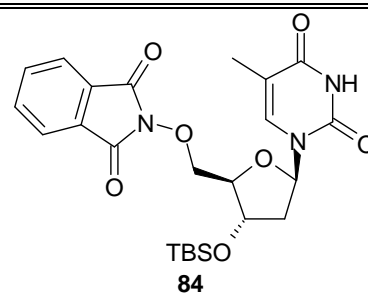
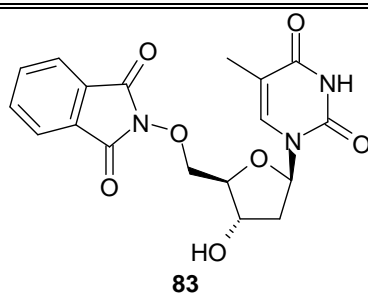
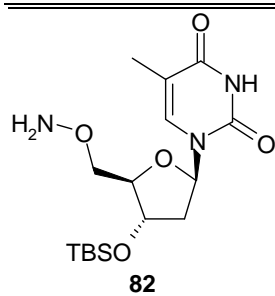
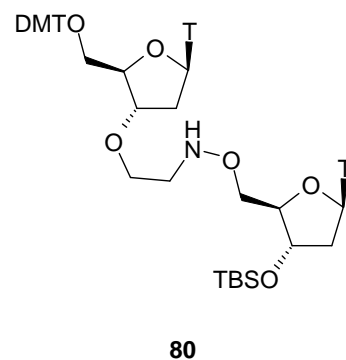
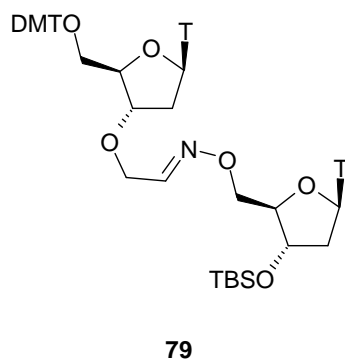
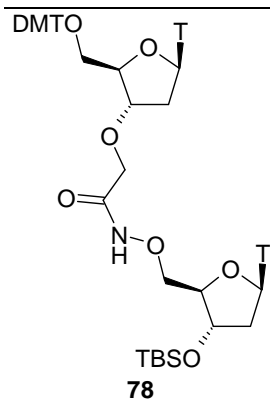
RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.47 (s, 9H, *t*Bu), 2.09-2.31 (m, 2H, H_{3a}, H_{3b}), 3.43-3.84 (m, 6H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'a}, H_{6'b}), 4.28-4.37 (m, 1H, H_{1'}), 4.52-4.94 (m, 9H, 8 x O-CH-Ph, H₂), 7.21-7.38 (m, 20H, 20 x H_{Ar}^{Bn}).

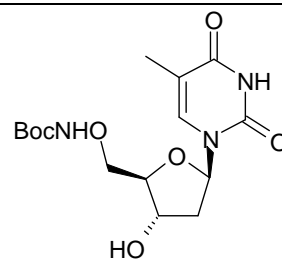
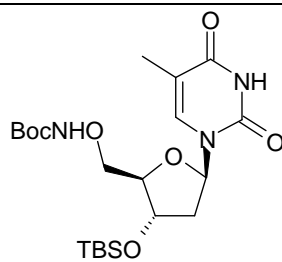
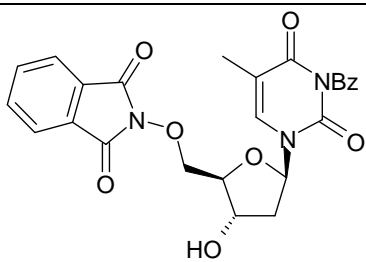
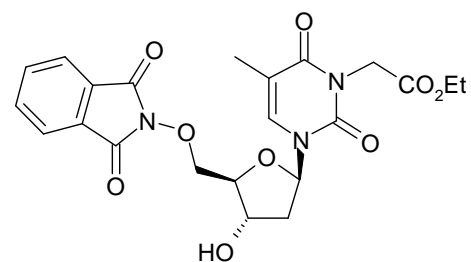
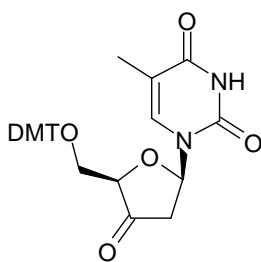
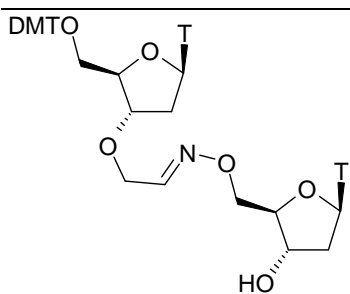
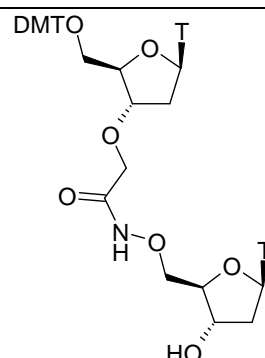
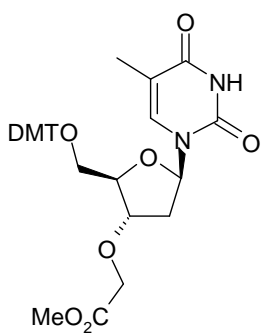
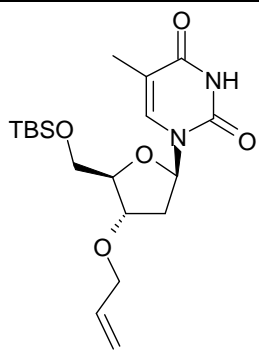
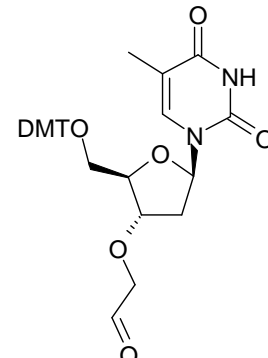
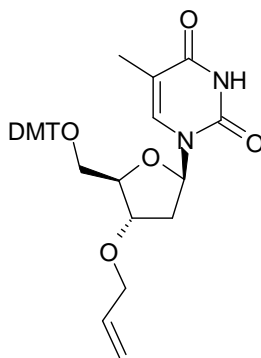
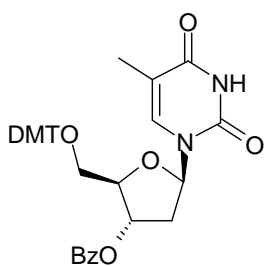
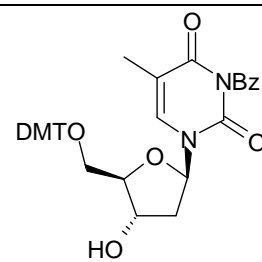
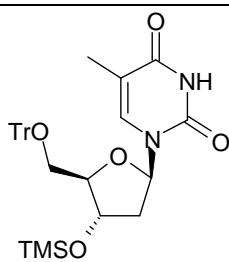
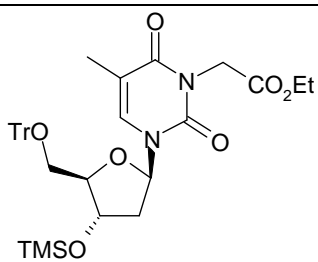
Isomère R (246) :

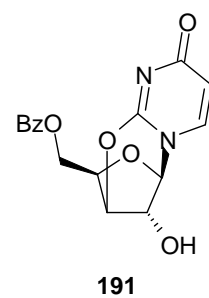
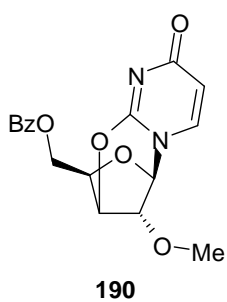
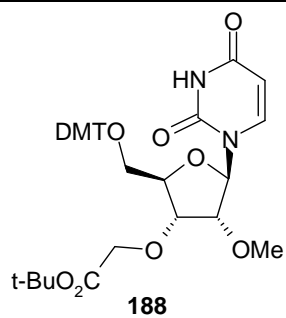
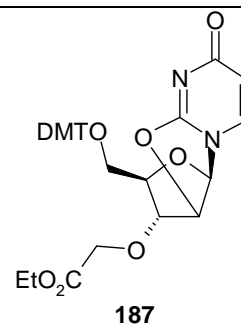
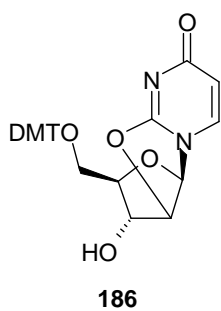
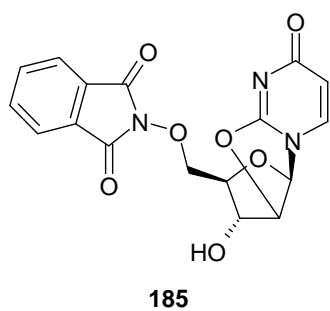
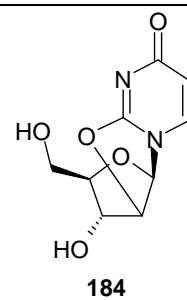
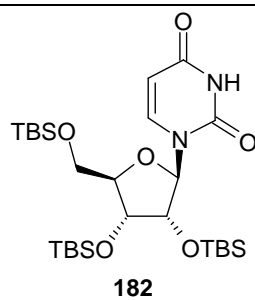
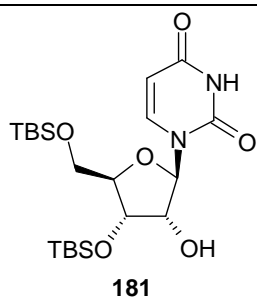
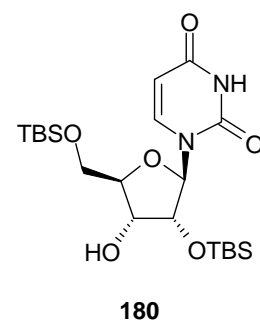
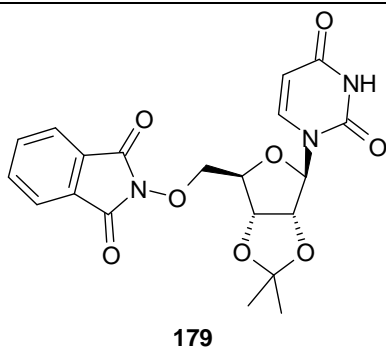
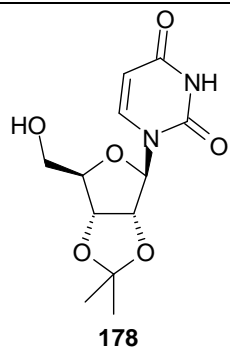
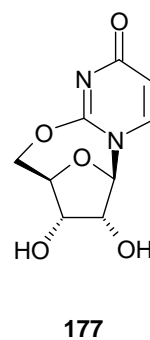
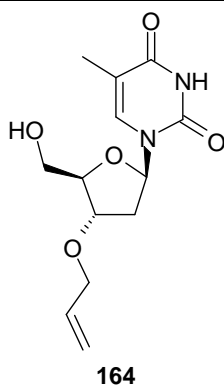
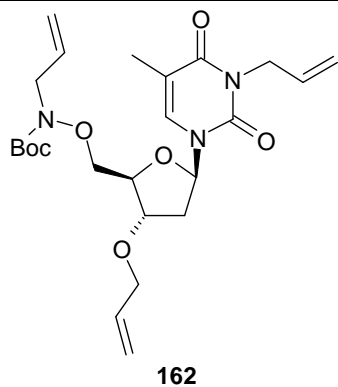
R_f : 0.57 (AcOEt / EP 8:2, révélateur 1 ou 2).

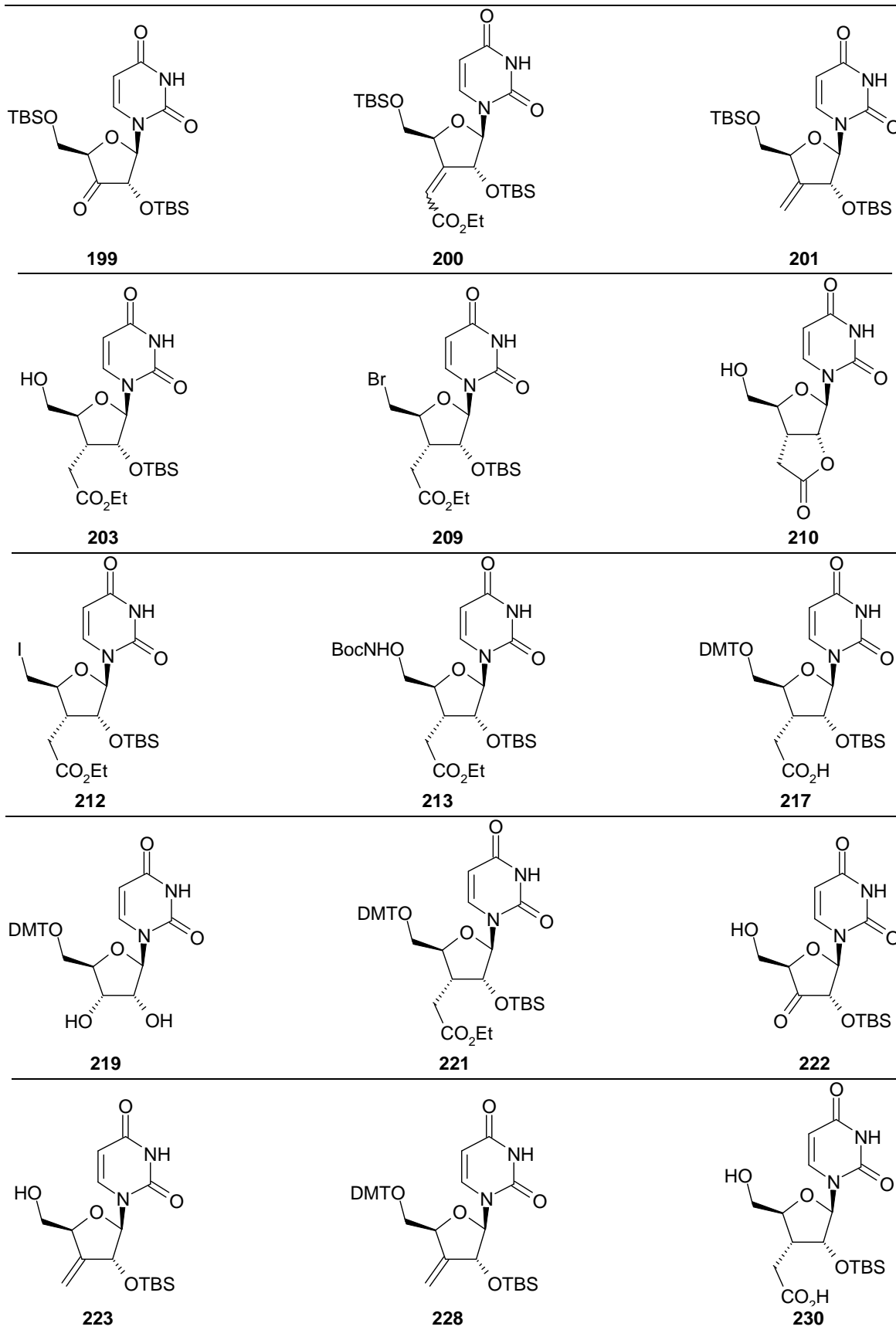
RMN ¹H (acétone-*d*₆, 400 MHz) : δ 1.47 (s, 9H, *t*Bu), 2.08-2.34 (m, 2H, H_{3a}, H_{3b}), 3.54-3.81 (m, 6H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'a}, H_{6'b}), 4.29-4.36 (m, 1H, H_{1'}), 4.52-4.96 (m, 9H, 8 x O-CH-Ph, H₂), 7.25-7.38 (m, 20H, 20 x H_{Ar}^{Bn}).

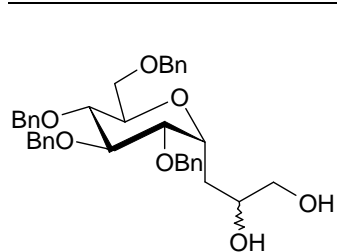
III. Index des produits synthétisés



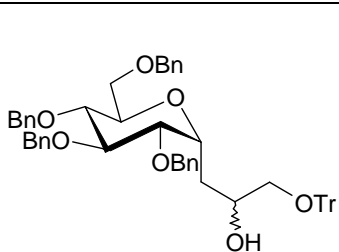




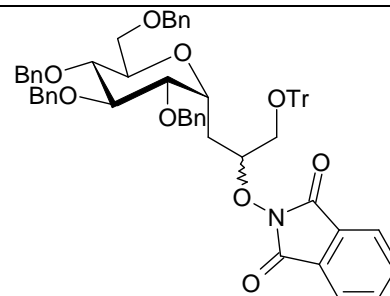




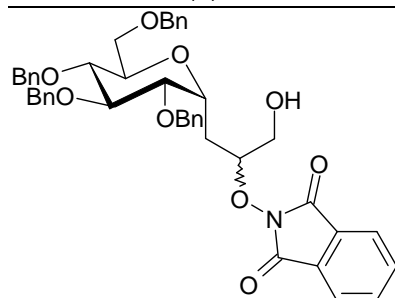
236a (R)
236b (S)



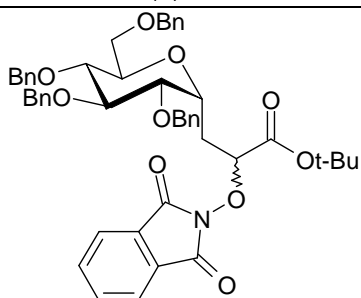
237 (R)
238 (S)



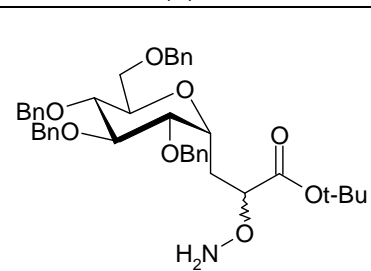
239 (S)
240 (R)



241 (S)
242 (R)



243 (S)
244 (R)



245 (S)
246 (R)

IV. Tests biologiques

Test de cytotoxicité des molécules **78**, **79**, **80**, **135** et **136**:

Le test est basé sur la dégradation du MTT (3-[4,5-diméthylthiazol-2-yl]-2,5-diphényl tétrazolium). L'anneau de tétrazolium qu'il contient est réduit en formazan par la succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes actives. Ceci forme un précipité dans la mitochondrie de couleur violette. La quantité de précipité formée est proportionnelle à la quantité de cellules vivantes. Après l'incubation des cellules avec du MTT et avec différentes concentrations du composé testé pendant 48h à 37°C, les cellules, leur mitochondries et les précipités violets de Formazan sont dissous dans du DMSO. Un dosage de la densité optique à 550 nm par spectroscopie permet de connaître la quantité relative de cellules vivantes et actives métaboliquement.

Densité optique moyenne à t = 0 : 0,787

Molécule **78** :

Concentration (µM)	Densité optique	% de cellules vivantes
0	0,779	98,9
1	0,699	88,8
3,3	0,605	76,8
10	0,506	64,3
33	0,428	54,4
100	0,387	49,2

Molécule **135** :

Concentration (µM)	Valeur moyenne	% de cellules vivantes
0	0,772	98,1
1	0,705	89,6
3,3	0,692	87,9
10	0,736	93,6
33	0,688	87,4
100	0,522	66,4

Molécule **79**:

Concentration (µM)	Valeur moyenne	% de cellules vivantes
0	0,786	99,9
1	0,714	90,8
3,3	0,607	77,2
10	0,493	62,7
33	0,309	39,3
100	0,003	0,4

Molécule **136**:

Concentration (µM)	Valeur moyenne	% de cellules vivantes
0	0,808	102,6
1	0,695	88,3
3,3	0,694	88,2
10	0,362	46,0
33	0,102	13,0
100	0,050	6,3

Molécule **80**:

Concentration (µM)	Valeur moyenne	% de cellules vivantes
0	0,790	100,3
1	0,687	87,3
3,3	0,588	74,7
10	0,404	51,4
33	0,286	36,4
100	0,000	0,0

Test de la molécule **135** contre le VIH:

Le composé **135** a été évalué pour son activité antivirale contre la réplication du VIH-1 sur des cellules de type HeLa P4. Il a été testé pour sa capacité à diminuer la charge virale dans la culture cellulaire. Les cellules de type HeLa P4 ont été infectés avec le VIH-1 et traité avec différentes concentrations du composé **135**. La charge virale est estimée 48h après l'infection. La quantité de virus est dosée en quantifiant l'activité de la β -galactosidase par un dosage colorimétrique basé sur le clivage du rouge de chlorophénol β -D-galactopyranoside (CPRG) par la β -galactosidase.

Molécule **135** :

Concentration (μM)	Valeur moyenne	% d'activité de la β- galactosidase
0	0,836	100,0
0,33	0,797	95,4
1	0,818	97,8
3,3	0,800	95,7
10	0,710	85,0
33	0,484	57,9

Références bibliographiques

- (1) Mitsunobu, O. *Synthesis* **1981**, 1-28.
- (2) Testa, E.; Nicolaus, B. J. R.; Mariani, L.; Pagani, G. *Helv. Chim. Acta* **1963**, *46*, 766-780.
- (3) Briggs, M. T.; Morley, J. S. *J.C.S. Perkin I* **1979**, 2138-2143.
- (4) Yang, D.; Ng, F.-F.; Li, Z.-J.; Wu, Y.-D.; Chan, K. W. K.; Wang, D.-P. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9794-9795.
- (5) Yang, D.; Qu, J.; Li, B.; Ng, F.-F.; Wang, X.-C.; Cheung, K.-K.; Wang, D.-P.; Wu, Y.-D. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 589-590.
- (6) Yang, D.; Qu, J.; Li, W.; Wang, D.-P.; Ren, Y.; Wu, Y.-D. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14452-14457.
- (7) Yang, D.; Li, W.; Qu, J.; Luo, S.-W.; Wu, Y.-D. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13018-13019.
- (8) Rose, G. D.; Gierasch, L. M.; Smith, J. A. *Adv. Protein Chem.* **1985**, *37*, 1-109.
- (9) Haubner, R.; Gratias, R.; Diefenbach, B.; Goodman, S. L.; Jonczyk, A.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7461-7472.
- (10) Hanessian, S.; Luo, X.; Schaum, R.; Michnick, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8569-8570.
- (11) Hanessian, S.; Luo, X.; Schaum, R. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4925-4929.
- (12) Hintermann, T.; Gademann, K.; Jaun, B.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 983-1002.
- (13) Seebach, D.; Brenner, M.; Rueping, M.; Schweizer, B.; Jaun, B. *Chem. Commun.* **2001**, 207-208.
- (14) Seebach, D.; Brenner, M.; Rueping, M.; Jaun, B. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 573-584.
- (15) Yang, D.; Zhang, Y.-H.; Zhu, N.-Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9966-9967.
- (16) Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173-180.
- (17) Yang, D.; Zhang, Y.-H.; Hao, Y.; Wu, Y.-D.; Luo, S.-W.; Zhu, N.-Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6719-6722.
- (18) Zhang, Y.-H.; Song, K.-S.; Zhu, N.-Y.; Yang, D. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 577-587.
- (19) Chen, F.; Zhu, N.-Y.; Yang, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15980-15981.
- (20) Chen, F.; Song, K.-S.; Wu, Y.-D.; Yang, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 743-755.
- (21) Li, X.; Wu, Y.-D.; Yang, D. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1428-1438.
- (22) Yang, D.; Qu, J.; Li, W.; Zhang, Y.-H.; Ren, Y.; Wang, D.-P.; Wu, Y.-D. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12410-12411.
- (23) Yang, D.; Li, X.; Sha, Y.; Wu, Y.-D. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 3005-3009.
- (24) Yang, D.; Li, X.; Fan, Y.-F.; Zhang, D.-W. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7996-7997.
- (25) Li, X.; Shen, B.; Yao, X.-Q.; Yang, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 7264-7265.
- (26) Bissot, T. C.; Parry, R. W.; Campbell, D. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 796-800.
- (27) Sharma, G. V. M.; Manohar, V.; Dutta, S. K.; Subash, V.; Kunwar, A. C. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3689-3698.
- (28) Sharma, G. V. M.; Manohar, V.; Dutta, S. K.; Sridhar, B.; Ramesh, V.; Srinivas, R.; Kunwar, A. C. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 1087-1094.
- (29) Schweizer, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 230-253.
- (30) Gruner, S. A. W.; Locardi, E.; Lohof, E.; Kessler, H. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 491-514.
- (31) Gervay-Hague, J.; Weathers Jr., T. M. *J. Carbohydr. Chem.* **2002**, *21*, 867-910.
- (32) Xie, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3411-3418.
- (33) Xie, J. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 399-406.
- (34) Durrat, F.; Xie, J.; Valéry, J. M. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1477-1479.
- (35) Ménand, M.; Blais, J.-C.; Hamon, L.; Valéry, J. M.; Xie, J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4423-4430.
- (36) Ménand, M.; Blais, J.-C.; Valéry, J. M.; Xie, J. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3295-3298.
- (37) Malapelle, A.; Ramozzi, R.; Xie, J. *Synthesis* **2009**, 888-890.
- (38) Gong, Y.; Sun, H.; Xie, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 6027-6033.
- (39) Liu, F.; Thomas, J.; Burke Jr., T. R. *Synthesis* **2008**, 2432-2438.
- (40) Shioiri, T.; Ninomiya, K.; Yamada, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6203-6205.
- (41) Yamada, S.-I.; Kasai, Y.; Shioiri, T. *Tetrahedron Lett.* **1973**, *14*, 1595-1598.
- (42) Chandrasekhar, S.; Rao, C. L.; Reddy, M. S.; Sharma, G. D.; Kiran, M. U.; Naresh, P.; Chaitanya, G. K.; Bhanuprakash, K.; Jagadeesh, B. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 9443-9446.
- (43) Tronchet, J. M. J.; Zosimo-Landolfo, G.; Galland-Barrera, G.; Dolatshahi, N. *Carbohydr. Res.* **1990**, *204*, 145-156.
- (44) Miller, P. S. *Bioconjugate Chem.* **1990**, *1*, 187-191.
- (45) Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Nature* **1953**, *171*, 737-738.
- (46) Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Nature* **1953**, *171*, 964-967.
- (47) Crick, F. H. C.; Watson, J. D. *Proc. Roy. Soc. (A)* **1954**, *223*, 80-96.
- (48) Franklin, R. E.; Gosling, R. G. *Acta Cryst.* **1953**, *6*, 673-677.

- (49) Fuller, W. *Nature* **2003**, 424, 876-878.
- (50) Rich, A.; Davies, D. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 3548-3549.
- (51) Lwoff, A. *J. Gen. Microbiol.* **1957**, 17, 239-253.
- (52) Barré-Sinoussi, F.; Chermann, J. C.; Rey, F.; Nugeyre, M. T.; Chamaret, S.; Gruest, J.; Dauguet, C.; Axler-Blin, C.; Vézinet-Brun, F.; Rouzioux, C.; Rozenbaum, W.; Montagnier, L. *Science* **1983**, 220, 868-871.
- (53) Temin, H. H.; Baltimore, D. *Adv. Virus Res.* **1972**, 17, 129-186.
- (54) Prusoff, W. H. *Biochim. Biophys. Acta* **1959**, 32, 295-296.
- (55) Elion, G. B.; Furman, P. A.; Fyfe, J. A.; De Miranda, P.; Beauchamp, L.; Schaeffer, H. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1977**, 74, 5716-5720.
- (56) Schaeffer, J. H.; Beauchamp, L.; De Miranda, P.; Elion, G. B.; Bauer, D. J.; Collins, P. *Nature* **1978**, 272, 583-585.
- (57) Furman, P. A.; St. Clair, M. H.; Fyfe, J. A.; Rideout, J. L.; Keller, P. M.; Elion, G. B. *J. Virol.* **1979**, 32, 72-77.
- (58) Kaufman, H. E.; Martola, E.; Heidelberger, C. *Science* **1964**, 145, 585-585.
- (59) Shapira, J. *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 1918-1919.
- (60) Swierkowski, M.; Shugar, D. *J. Med. Chem.* **1969**, 12, 533-534.
- (61) Davis, W. B.; Oakes, J. E.; Taylor, J. A. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **1978**, 14, 743-748.
- (62) De Clercq, E.; Descamps, J.; Shugar, D. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **1978**, 13, 545-547.
- (63) De Clercq, E.; Descamps, J.; De Somer, P.; Barr, P. J.; Jones, A. S.; Walker, R. T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1979**, 76, 2947-2951.
- (64) De Clercq, E. *Biochem. Pharm.* **2004**, 68, 2301-2315.
- (65) Robak, T. *Cancer Treat. Rev.* **2006**, 32, 365-376.
- (66) Cohn, W. E. *J. Biol. Chem.* **1960**, 235, 1488-1498.
- (67) Nishimura, H.; Mayama, M.; Komatsu, Y.; Kato, H.; Shimaoka, N.; Tanaka, Y. *J. Antibiotics* **1964**, 17, 148-155.
- (68) Matsuura, S.; Shiratori, O.; Katagiri, K. *J. Antibiotics* **1964**, 17, 234-237.
- (69) Stambasky, J.; Hocek, M.; Kocovsky, P. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 6729-6764.
- (70) Fuertes, M.; Garcia-Lopez, T.; Garcia-Munoz, G.; Stud, M. *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 4074-4077.
- (71) Srivastava, P. C.; Pickering, M. V.; Allen, L. B.; Streeter, D. G.; Campbell, M. T.; Witkowski, J. T.; Sidwell, R. W.; Robins, R. K. *J. Med. Chem.* **1977**, 20, 256-262.
- (72) Kovacs, G.; Simonidesz, V.; Tomoskozi, I.; Kormoczy, P.; Székely, I.; Papp-Behr, A.; Stadler, I. *J. Med. Chem.* **1982**, 25, 107-108.
- (73) Henderson, J. F.; Paterson, A. R. P.; Caldwell, I. C.; Hori, M. *Cancer Res.* **1967**, 27, 715-719.
- (74) Brownska, A. *Modified Nucleosides: Biochemistry, Biotechnology and Medicine*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany ed.; Herdewijn, P., 2008 ; pp 473-510.
- (75) Bourne, Y.; Kolb, H. C.; Radlc, Z.; Sharpless, K. B.; Taylor, P.; Marchot, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, 101, 1449-1454.
- (76) Whiting, M.; Muldoon, J.; Lin, Y.-C.; Silverman, S. M.; Lindstrom, W.; Olson, A. J.; Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B.; Elder, J. H.; Fokin, V. V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 1435-1439.
- (77) Tron, G. C.; Pirali, T.; Billington, R. A.; Canonico, P. L.; Sorba, G.; Genazzani, A. A. *Med. Res. Rev.* **2008**, 28, 278-308.
- (78) Witkowski, J. T.; Robins, R. K.; Khare, G. P.; Sidwell, R. W. *J. Med. Chem.* **1973**, 16, 935-937.
- (79) Lindhal, K.; Stahle, L.; Bruchfeld, A.; Schvarcz, R. *Hepatology* **2005**, 41, 275-279.
- (80) Saito, Y.; Escuret, V.; Durantel, D.; Zoulim, F.; Schinazi, R. F.; Agrofoglio, L. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 3633-3639.
- (81) Joubert, N.; Schinazi, R. F.; Agrofoglio, L. A. *Tetrahedron* **2005**, 61, 11744-11750.
- (82) Guezguez, R.; Bougrin, K.; El Akri, K.; Benhida, R. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 4807-4811.
- (83) El Akri, K.; Bougrin, K.; Balzarini, J.; Faraj, A.; Benhida, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 6656-6659.
- (84) Horwitz, J. P.; Chua, J.; Noel, M. *J. Org. Chem.* **1964**, 29, 2076-2078.
- (85) Mitsuya, H.; Weinhold, K. J.; Furman, P. A.; St. Clair, M. H.; Nusinoff Lehrman, S.; Gallo, R. C.; Bolognesi, D.; Barry, D. W.; Broder, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, 82, 7096-7100.
- (86) Furman, P. A.; Fyfe, J. A.; St. Clair, M. H.; Weinhold, K.; Rideout, J. L.; Freeman, G. A.; Lehrman, S. N.; Bolognesi, D. P.; Broder, S.; Mitsuya, H.; Barry, D. W. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, 83, 8333-8337.
- (87) 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, 1111-1125.

Références bibliographiques

- (88) Mitsuya, H.; Broder, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, *83*, 1911-1915.
- (89) Ho, H.-T.; Hitchcock, M. J. M. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **1989**, *33*, 844-849.
- (90) Ray, A. S.; Yang, Z.; Chu, C. K.; Anderson, K. S. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **2002**, *46*, 887-891.
- (91) Adkins, J. C.; Peters, D. H.; Faulds, D. *Drugs* **1997**, *53*, 1054-1080.
- (92) Yarchoan, R.; Mitsuya, H.; Thomas, R. V.; Pluda, J. M.; Hartman, N. R.; Perno, C.-F.; Marczyk, K. S.; Allain, J. P.; Johns, D. G.; Broder, S. *Science* **1989**, *245*, 412-415.
- (93) Mehellou, Y. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 521-538.
- (94) Pankiewicz, K. W. *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 87-105.
- (95) Schinazi, R. F.; Fox, J. J.; Watanabe, K. A.; Nahmias, A. J. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **1986**, *29*, 77-84.
- (96) Noble, S.; Goa, K. L. *Drugs* **1997**, *54*, 447-472.
- (97) De Clercq, E.; Holy, A. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 928-940.
- (98) Barditch-Crovo, P.; Deeks, S. G.; Collier, A.; Safrin, S.; Coakley, D. F.; Miller, M.; Kearney, B. P.; Coleman, R. L.; Lamy, P. D.; Kahn, J. O.; McGowan, I.; Lietman, P. S. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **2001**, *45*, 2733-2739.
- (99) Weinberg, A.; Bate, B. J.; Masters, H. B.; Schneider, S. A.; Clarck, J. C.; Wren, C. G.; Allaman, J.; Levin, M. J. *Antimicrob. Agents Chemoter.* **1992**, *36*, 2037-2038.
- (100) Faulds, D.; Heel, R. C. *Drugs* **1990**, *39*, 597-638.
- (101) Shealy, Y. F.; Clayton, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 3885-3887.
- (102) Shealy, Y. F.; Clayton, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 3075-3083.
- (103) Balzarini, J.; Haller-Meier, F.; De Clercq, E.; Meier, C. *Antivir. Chem. Chemother.* **2002**, *12*, 302-306.
- (104) Kvaerno, L.; Wengel, J. *Chem. Commun.* **2001**, 1419-1424.
- (105) Zamecnik, P. C.; Stephenson, M. L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1978**, *75*, 280-284.
- (106) Stephenson, M. L.; Zamecnik, P. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1978**, *75*, 285-288.
- (107) Faria, M.; Giovannangeli, C. *J. Gene Med.* **2001**, *3*, 299-310.
- (108) Sun, J.-S.; Hélène, C. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1993**, *3*, 345-356.
- (109) Sun, J.-S.; Garestier, T.; Hélène, C. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 327-333.
- (110) Fire, A.; Xu, S.; Montgomery, M. K.; Kostas, S. A.; Driver, S. E.; Mello, C. C. *Nature* **1998**, *391*, 806-811.
- (111) Montgomery, M. K.; Xu, S.; Fire, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 15502-15507.
- (112) Martinez, J.; Patkaniowska, A.; Urlaub, H.; Lührmann, R.; Tuschl, T. *Cell* **2002**, *110*, 563-574.
- (113) Soutschek, J.; Akinc, A.; Bramlage, B.; Charisse, K.; Constien, R.; Donoghue, M.; Elbashir, S.; Geick, A.; Hadwiger, P.; Harboth, J.; John, M.; Kesavan, V.; Lavine, G.; Pandey, R. K.; Racie, T.; Rajeev, K. G.; Röhl, I.; Toudjarska, I.; Wang, G.; Wuschko, S.; Bumcrot, D.; Koteliansky, V.; Limmer, S.; Manoharan, M.; Vornlocher, H.-P. *Nature* **2004**, *432*, 173-178.
- (114) Singh, Y.; Murat, P.; Defrancq, E. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2054-2070.
- (115) Freier, S. M.; Altmann, K.-H. *Nucleic Acids Res.* **1997**, *25*, 4429-4443.
- (116) Miller, P. S.; Yano, J.; Yano, E.; Carroll, C.; Jayaraman, K.; Ts'o, P. O. P. *Biochemistry* **1979**, *18*, 5134-5143.
- (117) Miller, P. S.; McParland, K. B.; Jayaraman, K.; Ts'o, P. O. P. *Biochemistry* **1981**, *20*, 1874-1880.
- (118) Miller, P. S.; Cassidy, R. A.; Hamma, T.; Kondo, N. S. *Pharmacology & Therapeutics* **2000**, *85*, 159-163.
- (119) Giles, R. V.; Tidd, D. M. *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 763-770.
- (120) Eckstein, F. *Antisense & Nucleic Acid Drug Dev.* **2000**, *10*, 117-121.
- (121) Campbell, J. M.; Bacon, T. A.; Wickstrom, E. *J. Biochem. Biophys. Methods* **1990**, *20*, 259-267.
- (122) Kurreck, J. *Eur. J. Biochem.* **2003**, *270*, 1628-1644.
- (123) Crooke, S. T. *Methods Enzymol.* **2000**, *313*, 3-45.
- (124) Wilson, C.; Keefe, A. D. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, *10*, 607-614.
- (125) Klasa, R. J.; Gillum, A. M.; Klem, R. E.; Frankel, S. R. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2002**, *12*, 193-213.
- (126) Crooke, S. T. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **1998**, *8*, 7-8.
- (127) Isobe, H.; Fujino, T.; Yamazaki, N.; Guillot-Nieckowski, M.; Nakamura, E. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3729-3732.
- (128) El-Sagheer, A. H.; Brown, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3958-3964.
- (129) Meng, B.; Kawai, S. H.; Wang, D.; Just, G.; Giannaris, P. A.; Damha, M. J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 729-731.

- (130) Damha, M. J.; Meng, B.; Wang, D.; Yannopoulos, C. G.; Just, G. *Nucleic Acids Res.* **1995**, *23*, 3967-3973.
- (131) Jones, R. J.; Lin, K.-Y.; Milligan, J. F.; Wadwani, S.; Matteucci, M. D. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2983-2991.
- (132) Rozners, E.; Strömberg, R. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 1846-1850.
- (133) Pitulescu, M.; Grapp, M.; Krätzner, R.; Knepel, W.; Diederichsen, U. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2100-2106.
- (134) Cao, X.; Matteucci, M. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 807-810.
- (135) Roughton, A. L.; Portmann, S.; Benner, S. A.; Egli, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7249-7250.
- (136) Huang, Z.; Benner, S. A. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3996-4013.
- (137) Vasseur, J. J.; Debart, F.; Sanghvi, Y. S.; Cook, P. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4006-4007.
- (138) Morvan, F.; Sanghvi, Y. S.; Perbost, M.; Vasseur, J.-J.; Bellon, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 255-256.
- (139) Bhat, B.; Swayze, E.; Wheeler, P.; Dimock, S.; Perbost, M.; Sanghvi, Y. S. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8186-8199.
- (140) Xiao, Z.; Weisz, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3862-3869.
- (141) Idziak, I.; Just, G.; Damha, M. J.; Giannaris, P. A. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 5417-5420.
- (142) De Mesmaeker, A.; Lebreton, J.; Waldner, A.; Fritsch, V.; Wolf, R. M.; Freier, S. M. *Synlett* **1993**, 733-736.
- (143) Lebreton, J.; De Mesmaeker, A.; Waldner, A.; Fritsch, V.; Wolf, R. M.; Freier, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6383-6386.
- (144) De Mesmaeker, A.; Waldner, A.; Lebreton, J.; Hoffmann, P.; Fritsch, V.; Wolf, R. M.; Freier, S. M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 226-229.
- (145) De Mesmaeker, A.; Lebreton, J.; Waldner, A.; Fritsch, V.; Wolf, R. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 873-878.
- (146) De Napoli, L.; Iadonisi, A.; Montesarchio, D.; Varra, M.; Piccialli, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 1647-1652.
- (147) De Mesmaeker, A.; Lesueur, C.; Bévière, M.-O.; Waldner, A.; Fritsch, V.; Wolf, R. M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2790-2794.
- (148) Rozners, E.; Katkevica, D.; Bizdena, E.; Strömberg, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12125-12136.
- (149) Arya, D. P.; Bruice, T. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12419-12427.
- (150) Linkletter, B. A.; Szabo, I. E.; Bruice, T. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3888-3896.
- (151) Shen, F.; Li, X.; Zhang, X.; Yin, Q.; Qin, Z.; Chen, H.; Zhang, J.; Ma, Z. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 5766-5772.
- (152) Pav, O.; Kosiova, I.; Barvik, I.; Pohl, R.; Budesinsky, M.; Rosenberg, I. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 6120-6126.
- (153) Nielsen, P. E.; Egholm, M.; Berg, R. H.; Buchardt, O. *Science* **1991**, *254*, 1497-1500.
- (154) Hyrup, B.; Nielsen, P. E. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 5-23.
- (155) Dean, D. A. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2000**, *44*, 81-95.
- (156) Braasch, D. A.; Corey, D. R. *Biochemistry* **2002**, *41*, 4503-4510.
- (157) Shakeel, S.; Karim, S.; Ali, A. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2006**, *81*, 892-899.
- (158) Koshkin, A. A.; Nielsen, P. E.; Meldgaard, M.; Rajwanshi, V. K.; Singh, S. K.; Wengel, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13252-13253.
- (159) Stenvang Jepsen, J.; Sorensen, M. D.; Wengel, J. *Oligonucleotides* **2004**, *14*, 130-146.
- (160) Veedu, R. N.; Wengel, J. *Chem. Biodivers.* **2010**, *7*, 536-542.
- (161) Mitsuoka, Y.; Kodama, T.; Ohnishi, R.; Hari, Y.; Imanishi, T.; Obika, S. *Nucleic Acids Res.* **2009**, *37*, 1225-1238.
- (162) Mitsunobu, O.; Yamada, M.; Miukaiyama, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1967**, *40*, 2380-2383.
- (163) Mitsunobu, O.; Eguchi, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1971**, *44*, 3427-3430.
- (164) Dembinski, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2763-2772.
- (165) Debart, F.; Vasseur, J.-J.; Sanghvi, Y. S.; Cook, P. D. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2645-2648.
- (166) Perbost, M.; Hoshiko, T.; Morvan, F.; Swayze, E.; Griffey, R. H.; Sanghvi, Y. S. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5150-5156.
- (167) Hakimelahi, G. H.; Proba, Z. A.; Ogilvie, K. K. *Can. J. Chem.* **1982**, *60*, 1106-1113.
- (168) Montevecchi, P. C.; Manetto, A.; Navacchia, M. L.; Chatgililoglu, C. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 4303-4308.
- (169) Miyashita, N.; Yoshikoshi, A.; Grieco, P. A. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3772-3774.
- (170) Horwitz, J. P.; Urbanski, J. A.; Chua, J. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 3300-3302.

- (171) Baral, B.; Kumar, P.; Anderson, B. A.; Ostergaard, M. E.; Sharma, P. K.; Hrdlicka, P. J. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 5850-5852.
- (172) Gupta, P.; Maity, J.; Shakya, G.; Prasad, A. K.; Parmar, V. S.; Wengel, J. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2389-2401.
- (173) Schaller, H.; Weimann, G.; Lerch, B.; Khorana, H. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3821-3827.
- (174) Chirakul, P.; Sigurdsson, S. T. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 917-919.
- (175) Bdour, H. M.; Kao, J. L.-F.; Taylor, J. S. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1640-1646.
- (176) Keller, T. H.; Häner, R. *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 884-892.
- (177) Halford, M. H.; Jones, A. S. *J. Chem. Soc. (C)* **1968**, 2667-2670.
- (178) Greenberg, M. M. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 29-38.
- (179) Li, X.; Zhan, Z.-Y. J.; Knipe, R.; Lynn, D. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 746-747.
- (180) Teste, K.; Colombeau, L.; Hadja-Bouazza, A.; Lucas, R.; Zerrouki, R.; Krausz, P.; Champavier, Y. *Carb. Res.* **2008**, *343*, 1490-1495.
- (181) Teng, K.; Cook, P. D. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 278-280.
- (182) Cuenoud, B.; Casset, F.; Hüskén, D.; Natt, F.; Wolf, R. M.; Altmann, K.-H.; Martin, P.; Moser, H. E. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1288-1291.
- (183) Hamon, F.; Violeau, B.; Turpin, F.; Bellot, M.; Bouteiller, L.; Djedaini-Pilard, F.; Len, C. *Synlett* **2009**, 2875-2879.
- (184) Sonveaux, E. In *Methods in Molecular Biology*; Agrawal, S., Ed.; Humana Press Inc.: Totowa, NJ, 1994; Vol. 26, p 1-71.
- (185) Veeneman, G. H.; Van Der Marel, G. A.; Van Den Elst, H.; Van Boom, J. H. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 1547-1562.
- (186) Maguire, A. R.; Hladezuk, I.; Ford, A. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 369-372.
- (187) Welch, C. J.; Chattopadhyaya, J. *Acta Chemica Scandinavica* **1983**, *B 37*, 147-150.
- (188) Sekine, M.; Fujii, M.; Nagai, H.; Hata, T. *Synthesis* **1987**, 1119-1121.
- (189) Wu, J.-C.; Xi, Z.; Gioeli, C.; Chattopadhyaya, J. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 2237-2254.
- (190) Bar, N. C.; Patra, R.; Achari, B.; Mandal, S. B. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 4727-4738.
- (191) Montembault, M.; Bourgougnon, N.; Lebreton, J. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8091-8094.
- (192) Seio, K.; Terada, T.; Mizuta, M.; Ohkubo, A.; Taguchi, H.; Sekine, M. *Helv. Chim. Acta* **2007**, *90*, 1946-1965.
- (193) Pappo, R.; Allen Jr, D. S.; Lemieux, R. U.; Johnson, W. S. *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 478-479.
- (194) Yu, W.; Mei, Y.; Kang, Y.; Hua, Z.; Jin, Z. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3217-3219.
- (195) Dalcanale, E. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 567-569.
- (196) Boger, D. L.; Borzilleri, R. M.; Nukui, S. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3561-3565.
- (197) Xu, Q.; Katkevica, D.; Rozners, E. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5906-5913.
- (198) De Mico, A.; Margarita, R.; Parlanti, L.; Vescovi, A.; Piancatelli, G. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6974-6977.
- (199) Epp, J. B.; Widlanski, T. S. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 293-295.
- (200) Rozners, E.; Xu, Q. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3999-4001.
- (201) Rozners, E.; Liu, Y. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 9841-9848.
- (202) Mei, H.; Xing, L.; Cai, L.; Jin, H.-W.; Zhao, P.; Yang, Z.-J.; Zhang, L.-R.; Zhang, L.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5355-5358.
- (203) Sheehan, J. C.; Hess, G. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1067-1068.
- (204) Han, S.-Y.; Kim, Y.-A. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2447-2467.
- (205) Rebek, J.; Feitler, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 4052-4053.
- (206) Rebek, J.; Feitler, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 1606-1607.
- (207) De Tar, D. F.; Silverstein, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 1013-1019.
- (208) Wünsch, E.; Drechs, F. *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 110-120.
- (209) König, W.; Geiger, R. *Chem. Ber.* **1970**, *103*, 788-798.
- (210) Carpino, L. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398.
- (211) Castro, B.; Dormoy, J. R.; Evin, G.; Selve, C. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 1219-1222.
- (212) Yang, D.; Li, B.; Ng, F.-F.; Yan, Y.-L.; Qu, J.; Wu, Y.-D. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7303-7312.
- (213) Yang, D.; Chang, X.-W.; Zhang, D.-W.; Jiang, Z.-F.; Song, K.-S.; Zhang, Y.-H.; Zhu, N.-Y.; Weng, L.-H.; Chen, M.-Q. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 4796-4805.
- (214) Burgess, K.; Gibbs, R. A.; Metzker, M. L.; Raghavachari, R. *Chem. Commun.* **1994**, 915-916.
- (215) Zatsépin, T. S.; Stetsenko, D. A.; Gait, M. J.; Oretskaya, T. S. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 471-489.
- (216) Rose, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 30-33.
- (217) Shao, J.; Tam, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3893-3899.

- (218) Rose, K.; Zeng, W.; Regamey, P.-O.; Chernushevich, I. V.; Standing, K. G.; Gaertner, H. F. *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 552-556.
- (219) Tung, C.-H. *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 605-618.
- (220) Gait, M. J. *Cell. Mol. Life Sci.* **2003**, *60*, 844-853.
- (221) Said Hassane, F.; Saleh, A. F.; Abes, R.; Gait, M. J.; Lebleu, B. *Cell. Mol. Life Sci.* **2010**, *67*, 715-726.
- (222) Peri, F.; Cipolla, L.; Rescigno, M.; La Ferla, B.; Nicotra, F. *Bioconjugate Chem.* **2001**, *12*, 325-328.
- (223) Pejkovic-Tadic, I.; Hranisavljevic-Jakovljevic, M.; Nestic, S.; Pascual, C.; Simon, W. *Helv. Chim. Acta* **1965**, *48*, 1157-1160.
- (224) Sun, R.; Lü, M.; Chen, L.; Li, Q.; Song, H.; Bi, F.; Huang, R.; Wang, Q. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 11376-11391.
- (225) Biswas, S.; Huang, X.; Badger, W. R.; Nantz, M. H. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1727-1729.
- (226) Mohan, V.; Griffey, R. H.; Davis, D. R. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 6855-6868.
- (227) Pfitzner, K. E.; Mofatt, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5661-5670.
- (228) Jones, A. S.; Williamson, A. R.; Winkley, M. *Carbohydr. Res.* **1965**, *1*, 187-195.
- (229) Binkley, R. W.; Hehemann, D. G.; Binkley, W. W. *Carbohydr. Res.* **1977**, *58*, C10-C12.
- (230) Binkley, R. W.; Hehemann, D. G.; Binkley, W. W. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2573-2576.
- (231) Hansske, F.; Robins, M. J. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1589-1592.
- (232) Svendsen, M. L.; Wengel, J. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 11341-11352.
- (233) Takai, K.; Hotta, Y.; Oshima, K.; Nozaki, H. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 2417-2420.
- (234) Lombardo, L. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 4293-4296.
- (235) Sharma, M.; Bobek, M. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5839-5842.
- (236) Chu, C. K.; Doboszewski, B.; Schmidt, W.; Ullas, G. V. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2767-2769.
- (237) Keck, G. E.; Enholm, E. J.; Yates, J. B.; Wiley, M. R. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 4079-4094.
- (238) Flandor, J.; Tam, S. Y. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 597-600.
- (239) Stork, G.; Zhang, C.; Gryaznov, S.; Schultz, R. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6387-6390.
- (240) Fargeas, V.; Ané, A.; Dubreuil, D.; Lebreton, J. *Synlett* **2009**, 3341-3345.
- (241) Lucas, R.; Teste, K.; Zerrouki, R.; Champavier, Y.; Guilloton, M. *Carbohydr. Res.* **2010**, *345*, 199-207.
- (242) Gong, Y.; Peyrat, S.; Sun, H.; Xie, J. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 7114-7120.
- (243) Brask, J.; Jensen, K. J. *J. Peptide Sci.* **2000**, *6*, 290-299.
- (244) Gunnarsson, K.; Ragnarsson, U. *Acta Chem. Scand.* **1990**, *44*, 944-951.
- (245) Lavergne, T.; Bertrand, J.-R.; Vasseur, J.-J.; Debart, F. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 9135-9138.
- (246) Li, H.; Miller, M. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9289-9293.
- (247) Wada, M.; Mitsunobu, O. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 1279-1282.
- (248) Beck, A. K.; Gysi, P.; La Vecchia, L.; Seebach, D. *Org. Synth.* **2004**, *10*, 349-354.
- (249) Szarek, W. A.; Zamojski, A.; Tiwari, K. N.; Ison, E. R. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3827-3830.
- (250) Saravanan, P.; Chandrasekhar, M.; Vijaya Anand, R.; Singh, V. K. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3091-3092.
- (251) Ford, K. L.; Roskamp, E. J. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 1135-1138.
- (252) Kim, K.-S.; Song, Y. H.; Lee, B. H.; Hahn, C. S. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 404-407.
- (253) Ogilvie, K. K.; Beaucage, S. L.; Schifman, A. L.; Theriault, N. Y.; Sadana, K. L. *Can. J. Chem.* **1978**, *56*, 2768-2780.
- (254) Chemama, M., Synthèse d'analogues d' aminoacyl-ARNt pour l'étude et l'inhibition d'une transférase de type Fem, Paris: Université Pierre et Marie Curie, 2009, 320 pages.
- (255) Jones, S. S.; Reese, C. B. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. (1)* **1979**, 2762-2764.
- (256) Hampton, A.; Nichol, A. W. *Biochemistry* **1966**, *5*, 2076-2082.
- (257) McGee, D. P. C.; Vaughn-Settle, A.; Vargeese, C.; Zhai, Y. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 781-785.
- (258) Patra, A.; Richert, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 12671-12681.
- (259) Greiner, B.; Pfleiderer, W. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 1528-1544.
- (260) Shi, J.; Du, J.; Ma, T.; Pankiewicz, K. W.; Patterson, S. E.; Tharnish, P. M.; McBrayer, T. R.; Stuyver, L. J.; Otto, M. J.; Chu, C. K.; Schinazi, R. F.; Watanabe, K. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1641-1652.
- (261) Chambert, S.; Gautier-Luneau, I.; Fontecave, M.; Décout, J.-L. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 249-253.
- (262) Ross, B. S.; Springer, R. H.; Tortorici, Z.; Dimock, S. *Nucleosides Nucleotides* **1997**, *16*, 1641-1643.
- (263) Prakash, T. P.; Kawasaki, A. M.; Fraser, A. S.; Vasquez, G.; Manoharan, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 357-369.

- (264) Roy, S. K.; Tang, J.-Y. *Org. Process Res. Dev.* **2000**, *4*, 170-171.
- (265) Grant Buchanan, J.; Clark, D. R. *Carbohydr. Res.* **1979**, *68*, 331-341.
- (266) Czernecki, S.; Valéry, J. M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1990**, 801-802.
- (267) Czernecki, S.; Valéry, J. M. *Synthesis* **1991**, 239-240.
- (268) Chen, J.-K.; Schultz, R. G.; Lloyd, D. H.; Gryaznov, S. M. *Nucleic Acids Res.* **1995**, *23*, 2661-2668.
- (269) Avino, A.; Güimil Garcia, R.; Albericio, F.; Mann, M.; Wilm, M.; Neubauer, G.; Eritja, R. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 1649-1658.
- (270) Gerland, B.; Désiré, J.; Balzarini, J.; Décout, J.-L. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 6824-6831.
- (271) Cook, A. F.; Mofatt, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2697-2705.
- (272) Onodera, K.; Hirano, S.; Kashimura, N. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 4651-4652.
- (273) Albright, J. D.; Goldman, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 4214-4216.
- (274) Ueda, T.; Shuto, S.; Satoh, M.; Inoue, H. *Nucleosides Nucleotides* **1985**, *4*, 401-409.
- (275) Hansske, F.; Madej, D.; Robins, M. J. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 125-135.
- (276) Anelli, P. L.; Biffi, C.; Montanari, F.; Quici, S. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2559-2562.
- (277) Von Matt, P.; Lochmann, T.; Kesselring, R.; Altmann, K.-H. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1873-1876.
- (278) Peterson, M. A.; Nilsson, B. L.; Sarker, S.; Doboszewski, B.; Zhang, W.; Robins, M. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8183-8192.
- (279) Rosenthal, A.; Sprinzl, M. *Can. J. Chem.* **1969**, *47*, 3941-3946.
- (280) Lee, K.; Wiemer, D. F. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 7808-7812.
- (281) Felpin, F.-X.; Fouquet, E. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 12440-12445.
- (282) Winqvist, A.; Strömberg, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 4305-4311.
- (283) D'Onofrio, J.; De Napoli, L.; Di Fabio, G.; Montesarchio, D. *Synthesis* **2006**, 845-848.
- (284) Verheyden, J. P. H.; Mofatt, J. G. *J. Org. Chem.* **1972**, 2289-2299.
- (285) Hanessian, S.; Ponpipom, M. M.; Lavalley, P. *Carbohydr. Res.* **1972**, *24*, 45-46.
- (286) Srivastav, N. C.; Shakya, N.; Mak, M.; Agrawal, B.; Tyrrell, D. L.; Kumar, R. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7156-7166.
- (287) Moyroud, E.; Biala, E.; Strazewski, P. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 1475-1484.
- (288) Li, N.-S.; Piccirilli, J. A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 1198-1210.
- (289) Hansen, A. S.; Thalhammer, A.; El-Sagheer, A. H.; Brown, T.; Schofield, C. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 1181-1184.
- (290) Bleasdale, C.; Ellwood, S. B.; Golding, B.-T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 803-805.
- (291) Maeder, T. *Pour la Science* **2002**, *299*, 70-77.
- (292) Herzner, H.; Reipen, T.; Schultz, M.; Kunz, H. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4495-4537.
- (293) Gamblin, D. P.; Scanlan, E. M.; Davis, B. G. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 131-163.
- (294) Payne, R. J.; Wong, C.-H. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 21-43.
- (295) Doores, K. J.; Gamblin, D. P.; Davis, B. G. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 656-665.
- (296) Hung, S.-C.; Lin, C.-C.; Wong, C.-H. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5419-5422.
- (297) Gurjar, M. K.; Mainkar, A. S. *Tetrahedron Asymmetry* **1992**, *3*, 21-24.
- (298) Gurjar, M. K.; Mainkar, A. S.; Syamala, M. *Tetrahedron Asymmetry* **1993**, *4*, 2343-2346.
- (299) Ramana Doddi, V.; Prasad Kokatla, H.; John Pal, A. P.; Basak, R. K.; Vankar, Y. D. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5731-5739.
- (300) Wahlstrom, J. L.; Ronald, R. C. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6021-6022.
- (301) Pathak, A. K.; Pathak, V.; Seitz, L. E.; Tiwari, K. N.; Akhtar, M. S.; Reynolds, R. C. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 7755-7757.
- (302) Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.

VERS LA SYNTHÈSE DE C-GLYCOSYL AMINOXY PEPTIDES ET D'OLIGOMÈRES DE NUCLEOSIDES AMINOXY ACIDES

Récemment, de nombreux efforts ont été consacrés au développement d'oligonucléotides synthétiques pour des applications thérapeutiques et de diagnostic variées. Les oligonucléotides modifiés peuvent inhiber sélectivement l'expression des gènes en se liant spécifiquement à des séquences d'ADN et/ou d'ARN ciblées à travers les stratégies antigène, antisens ou d'ARN interférent. Les aminoxy peptides forment facilement des structures secondaires bien définies comme des α -, β -, γ -turns ou des hélices, ce qui nous a inspiré dans la conception de nouveaux oligonucléotides modifiés dans le but d'étudier leurs propriétés physico-chimiques et biologiques.

Au cours de ce travail, la synthèse de nucléosides aminoxy acides et de leurs oligomères a été entreprise en séries ribose et désoxyribose. Dans la première partie, les fonctions aminoxy, acide carboxylique et aldéhyde ont été introduites sur la partie osidique de la thymidine. Différents nucléosides monofonctionnalisés ont été synthétisés à l'aide notamment des réactions de Mitsunobu, d'*O*-allylation et d'oxydation. Les nucléosides monomères ont ensuite été couplés entre eux conduisant aux nouveaux dinucléosides liés par liaison *N*-oxy amide, oxime et aminoxy. Dans la seconde partie, la synthèse de différentes uridines aminoxy acides a été étudiée à partir de l'uridine, des 2,2'-anhydro et 2,3'-anhydro uridines. Une uridine aminoxy ester a pu être obtenue en passant par la 3'-oxo uridine *via* une homologation (réaction de Wittig) et l'introduction de la fonction oxyamine en position 5' par une substitution nucléophile du dérivé iodé.

En parallèle, dans la continuité des travaux réalisés au laboratoire sur la synthèse des glycoamino acides, nous avons synthétisé des *C*-glycosyl aminoxy acides jamais décrits dans la littérature, dans le but de générer de nouveaux mimes de glycopeptides. A partir du *C*-allyl glucopyranoside perbenzylé, deux *C*-glucosyl aminoxy acides diastéréoisomères ont été préparés.

Mots clés : Nucléosides aminoxy acides, liaisons *N*-oxy amide, oxime et aminoxy, *C*-glycosyl aminoxy acides, dinucléosides, oligonucléotides modifiés, Mitsunobu, allylation, Wittig.

TOWARDS THE SYNTHESIS OF C-GLYCOSYL AMINOXY PEPTIDES AND OLIGOMERS OF NUCLEOSIDES AMINOXY ACIDS

Much recent efforts have been devoted to the development of synthetic oligonucleotides for various therapeutic and diagnostic applications because of their capability to cause selective inhibition of gene expression by bonding to the target DNA/RNA sequences through antigen, antisense and RNA interference. The easy formation of well-defined structures like α -, β -, γ -turns or helical structures of *N*-oxy peptides promoted us to design new modified oligonucleotides so as to study their physico-chemical and biological properties.

During this work, synthesis of different nucleosides aminoxy acids as well as their oligomers has been investigated. In the first part, aminoxy, carboxylic acid and aldehyde functions were introduced into the sugar ring of thymidine and different monofunctionalized nucleosides were obtained thanks to Mitsunobu, *O*-allylation and oxidation reactions. Different nucleoside monomers were then linked together, leading to novel dinucleosides with *N*-oxy amide, oxime or aminoxy linkage. In the second part, preparation of different uridines aminoxy acids was studied by using uridine, 2,2'-anhydro and 2,3'-anhydro uridines as starting materials. An uridine aminoxy ester was obtained from 3'-oxo uridine, through homologation with Wittig reaction and introduction of the oxyamine function by nucleophilic substitution of the 5'-iodo derivative.

In parallel, as a continuing program in the laboratory on the glycoamino acids synthesis, we have synthesized novel *C*-glycosyl aminoxy acids in order to generate new mimes of glycopeptides. From perbenzylated *C*-allyl glucopyranoside, two diastereomeric *C*-glucosyl aminoxy acids have been successfully prepared.

Key words: Aminoxy acids nucleosides, *N*-oxy amide, oxime and aminoxy linkage, *C*-glycosyl aminoxy acids, dinucleosides, modified oligonucleotides, Mitsunobu, allylation, Wittig.