



Synthèse métallo-catalysée d'acyclonucléosides phosphonates, de nucléosides et d'hétérocycles à visée antivirale

Ozkan Sari

► To cite this version:

Ozkan Sari. Synthèse métallo-catalysée d'acyclonucléosides phosphonates, de nucléosides et d'hétérocycles à visée antivirale. Autre. Université d'Orléans, 2013. Français. NNT : 2013ORLE2040 . tel-00977805

HAL Id: tel-00977805

<https://theses.hal.science/tel-00977805>

Submitted on 11 Apr 2014

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.

ÉCOLE DOCTORALE
SANTÉ, SCIENCES BIOLOGIQUES ET CHIMIE DU VIVANT

INSTITUT DE CHIMIE ORGANIQUE ET ANALYTIQUE

THÈSE présentée par :
Ozkan SARI

soutenue le : **11 décembre 2013**

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

Discipline : Chimie Organique

**Synthèse métallo-catalysée
d'acyclonucléosides phosphonates,
de nucléosides et d'hétérocycles
à visée antivirale**

THÈSE dirigée par :

Luigi A. Agrofoglio

Professeur, Université d'Orléans

RAPPORTEURS :

Annie-Claude Gaumont

Professeur, Université de Caen

Marie-Christine Scherrmann

Professeur, Université Paris-Sud

JURY :

Patrick Rollin

Professeur, Université d'Orléans, Président du jury

Luigi A. Agrofoglio

Professeur, Université d'Orléans

Rachid Benhida

D.R. CNRS, Université de Nice

Annie-Claude Gaumont

Professeur, Université de Caen

Vincent Roy

Maître de Conférences, Université d'Orléans

Marie-Christine Scherrmann

Professeur, Université Paris-Sud

REMERCIEMENTS

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

Je tiens tout d'abord à remercier le Pr Luigi A. Agrofoglio pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse au sein de son laboratoire. Je le remercie pour m'avoir laissé une grande liberté dans la conduite des différents projets qu'il m'a confiés. Son regard critique et ses conseils pertinents m'ont permis de progresser de façon significative tout au long de ces trois années. J'aimerais particulièrement saluer l'investissement dont il fait preuve pour placer ses étudiants au terme de leur doctorat.

Mes remerciements vont ensuite au Dr Vincent Roy qui m'a encadré au quotidien durant cette thèse. J'aimerais le remercier pour la disponibilité dont il fait preuve, son implication pour les étudiants qu'il encadre, sa bonne humeur au quotidien et ses précieux conseils pratiques. Je le remercie également pour m'avoir confié l'encadrement des travaux pratiques à l'IUT.

Mes remerciements s'adressent également au Pr Annie-Claude Gaumont (Université de Caen) et au Pr Marie-Christine Scherrmann (Université Paris-Sud) pour avoir accepté de juger ce travail et pour leur présence dans le jury de thèse.

Je remercie le DR Rachid Benhida (Université de Nice) et le Pr Patrick Rollin (Université d'Orléans) de siéger dans le jury de thèse.

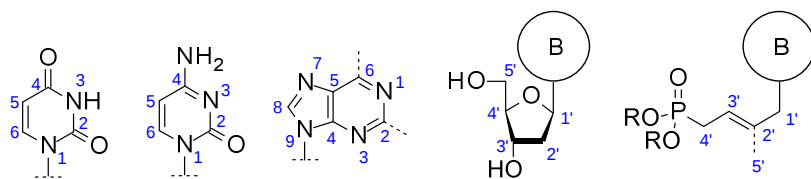
Je tiens également à remercier ceux qui nous permettent de travailler dans les meilleures conditions possibles, en particulier, Marie-Madeleine Le Floch, Yann Vital, Nathalie Percina, Veronique Feirrera, Jean-Marie Robert récemment parti à la retraite et Thao Loages récemment titularisé au CNRS.

J'associe à mes remerciements tous mes collègues de labo qui se sont succédés. Dans un premier temps, je remercie les anciens, j'ai cité le Dr Aurélien Montagu, le Dr Kinga Puzio (merci pour tous les bons gâteaux), le Dr Nathaly Henry, le Dr. Zhili Zhang et enfin le fameux Dr Manabu Hamada. Je remercie ensuite mes collègues actuels Elzbieta Niemiec avec qui j'ai eu le plaisir de partager mon espace de travail, ma collègue croate préférée Alexandra Krstulja, le Dr. Coralie de Schutter et enfin le Dr. Zein el Chamas. Je remercie aussi les nombreux stagiaires qui sont passés au laboratoire dont notamment Florian, Gwenaël, Agnieszka, Anthony, Yannick et Béthy.

Je remercie également tous les collègues de laboratoire au sens large avec une spéciale dédicace à mon ami Jérémy Thireau, alias Fish, avec qui nous avons bien rigolé pendant nos poses cafés et nos repas au CNRS...

Pour finir, je tiens à remercier du fond du coeur ma famille qui m'a toujours soutenu. Merci à mon frère Orhan d'avoir toujours été là pour m'aider et avoir joué son rôle de grand frère et merci à mon petit frère Murat pour m'avoir permis de m'évader du monde de la chimie le temps de quelques parties multijoueurs sur COD. Enfin, je ne remerciais jamais assez mes parents pour tout ce qu'ils ont fait pour moi. Je ne serais sûrement pas arrivé si loin aujourd'hui sans leur soutien. J'espère avoir été à la hauteur de leurs espérances et qu'ils seront toujours fiers de moi comme je suis fier d'eux.

NOMENCLATURE, SIGLES et ABREVIATIONS



A

A : adénine
 Ad2 : adénovirus type 2
 ADA : *adénosine désaminase*
 ADN : acide 2'-déoxyribonucléique
 Ado : adénosine
 AdoHCy : S-adénosyl-L-Homocystéine
 AdoMet : S-adénosylméthionine
 AK : *Pseudomonas fluorescens*
 Amano PS : *Burkholderiacepacia* lipase
 ANP : acyclonucléoside phosphonate
 APTS : acide *paratoluènesulfonique*
 ARN : acide ribonucléique
 ARNm : acide ribonucléique messenger
 ARV : antirétroviraux
 ATP : adénosine 5'-triphosphate
 AY : *Candida rugosa*
 AZADO : 2-azaadamantane-N-oxyl
 AZT : 3'-azido-3'-déoxythymidine
 AZT-MP : 3'-azido-3'-déoxythymidine 5'-mono phosphate

B

B : nucléobase
 BVDU : 5-(2-bromovinyl)-2'-déoxyuridine

C

C : cytosine
 CAL-B : *Candida Antarctica* lipase B
 CAN : nitrate de cérium et d'ammonium
 CC₅₀ : concentration cytotoxique requise pour réduire de 50 % le niveau d'ARN/ADN viral (toxicité)
 CCM : chromatographie sur couche mince
 Ce-Cyd : cyclopenténylcytosine
 CEDU : 5-(2-chloroéthyl)-2'-déoxyuridine
 CEM : cellules de type lymphocytes
 CM : métathèse croisée
 CMV : cytomégalovirus
 Conv. : conversion
 Cp : pentaméthylecyclopentadiényle
 CTP : cytidine triphosphate

CuAAC : cycloaddition 1,3-dipolaire entre un alcyne et un azide catalysée au cuivre

D

DAP : 2,6-diaminopurine
 DAPy : 2,6-diaminopyrimidine
 DAST : trifluorure de diéthylaminosulfure
 DCE : dichloroéthane
 ddC : 2',3'-didéoxycytosine
 ddUMP : didéoxyuridine monophosphate
 DHPA : (S)-9-(2,3-Dihydroxypropyl)adénine
 DHPM : dihydropyrimidine
 DIAD : Diisopropyl azodicarboxylate
 DIBAL : hydrure de diisobutylaluminium
 DKA : dicétoacide
 DMAP : 4-diméthylaminopyridine
 DMF : diméthylformamide
 DMSO : diméthylsulfoxyde
 d4T : 2',3'-didéhydro-3'-déoxythymidine
 2dU : 2'-déoxyuridine

E

EBV : Epstein-Barr virus
 EC₅₀ : concentration effective requise pour réduire de 50 % le niveau d'ARN/ADN viral (activité)
 Equiv. : équivalent

F

F.D.A. : food and drugs administration
 FIV : virus de l'immunodéficience féline
 FLT : 3'-déoxy-3'-fluorothymidine
 FMAU : 2'-fluoro-5-méthyl-1--D-arabino furanosyluracile
 FPMP : 3-fluoro-2-(phosphono-mé thoxy)propyle
 FTC : β-L-5-fluoro-3'-thiacytidine
 FUDR : 5-fluorodeoxyuridine

G

G : guanine
 GMP : guanosine 5'-monophosphate
 GTP : guanosine 5'-triphosphate

H

HAART : *highly active antiretroviral therapy*
 HCMV : cytomégalovirus humain
 HCy : homocystéine
 HDE : hexadécyloxyéthyle
 HDP : hexadécyloxypropyle
 HEL : lignée cellulaire erythroleukemia humaine
 HHV : herpèsvirus humain
 HMBC : *Heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy*
 HMDS : hexaméthylidisilazane
 HPLC : chromatographie liquide haute performance
 HMPA : hexaméthyle phosphoramidate
 HPMP : 3'-hydroxy-2'-phosphonométhoxypropyle
 HPMPA : 3'-hydroxy-2'-phosphonométhoxypropyle adénine
 HPMPA : 3'-hydroxy-2'-phosphonométhoxypropyle cytosine
 HPMPDAP : 3'-hydroxy-2'-phosphonométhoxypropyle 2,6-diaminopurine
 HRMS : spectrométrie de masse haute résolution
 HSV-1 et 2 : *herpes simplex virus* type 1 et 2
 hTMPK : *thymidine monophosphate kinase* humaine

I

IBX : acide 2-iodoxybenzoïque
 IC₅₀ : concentration requise pour avoir 50 % d'inhibition d'une enzyme
 IDU : 5-iodo-2'-deoxyuridine
 IMes : *N,N'-bis(2,4,6-triméthylphényl)imidazol-2-ylidène*
 IMPDH : *Inosine monophosphate déshydrogénase*
 IMP : inosine 5'-monophosphate
 IN : intégrase
 Ind : indénilydène

K

KSHV : Sarcome de Karpou

L

LTR : *long terminal repeat*

M

MO : micro-ondes
 Ms : mésyle
 MSV : *Moloney murine sarcoma*

N

NBS : *N*-bromosuccinimide
 NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide

NAD⁺ : forme oxydée de la NAD
 NADH : forme réduite de la NAD
 NDP : nucléoside 5'-diphosphate
 NHC : carbène *N*-Hétérocyclique
 NIH : *National Institute of Health*
 NIS : *N*-iodosuccinimide
 NMP : nucléoside 5'-monophosphate
 NNRTI : inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse
 NOESY : *nuclear overhauser effect spectroscopy*
 NPK : nucléoside phosphate kinase
 NRTI : inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse
 NTP : nucléoside 5'-triphosphate
 Nu : nucléoside

O

ODN : oligodéoxynucléotide
 OXT-A : oxetanocin-A

P

3'-P : 3'-phosphate
 PBMC : cellules mononucléaires du sang périphériques humain
 PME : 2-(phosphonométhoxy)éthyle
 PMEDAP : 2-(phosphonométhoxy)éthyle 2,6-diaminopurine
 PME : 2-(phosphonométhoxy)éthyle adénine
 PMEG : 2-(phosphonométhoxy)éthyle guanine
 PMP : 2-(phosphonométhoxy)propyle
 PMPA : 9-(2-phosphonylméthoxypropyl) adénine
 PMPDAP : 2-(phosphonométhoxy)propyle 2,6-diaminopurine
 PNP : *purine nucleoside phosphorylase*
 POC : isopropyle oxyméthyle carbonate
 POM : pivaloyl oxyméthyle
 PI : inhibiteur de la protéase
 PPL : *porcine pancreas* lipase

R

RCM : métathèse cyclisante
 RMN : résonance magnétique nucléaire
 ROMP : métathèse de polymérisation par ouverture de cycle
 RT : transcriptase inverse
 RuAAC : cycloaddition 1,3 dipolaire entre un alcyne et un azide catalysée au ruthénium

S

SAH : *S*-adénosyl-L-homocystéine hydrolase

SAM : S-Adénosylméthionine
SATE : S-pivaloyl-2-thioéthyle
SAR : relation structure-activité
SI : indice de sélectivité
SIMes : *N,N'*-bis(2,4,6-triméthylphényl)
imidazolin-2-ylidène
SIDA : syndrome d'immuno-déficience acquise
SIV : virus d'immunodéficience simienne
ST : Strand transfer

T

T : thymine
TA : température ambiante
TBDMS : *tert*butyldiméthylsilane
TBDPS : *tert*butyldiphénylsilane
3TC : β -L-3'-thiacytidine
TDP : thymidine diphosphate
TEMPO : 2,2,6,6-tétraméthylpiperidine-1-oxyl
TFA : acide trifluoroacétique
TFT : trifluorothymidine
THF : tétrahydrofurane
TK : *thymidine kinase*
TMP : thymidine monophosphate
TMS : triméthylsilane
TMSBr : bromure de triméthyle silane

U

U : uracile
UMP-CMPK : *uridine-cytosine monophosphate kinase*
UTP : uridine triphosphate
UV : ultra violet

V

VERO : cellule du callitriche africain
VHB : virus de l'hépatite B
VHC : virus de l'hépatite C
VIH : virus de l'immunodéficience humaine
VV : virus de la vaccine
VZV : varicella zoster virus

X

XMP : xanthosine 5'-monophosphate

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	1
----------------------------	---

PARTIE A

INTRODUCTION : NUCLEOS(T)IDES EN THERAPIE ANTIVIRALE	7
--	---

I. STRUCTURE ET MODE D'ACTION DES VIRUS.....	9
II. LES NUCLEOSIDES DANS LA THERAPIE ANTIVIRALE	12
1. Les nucléosides modifiés.....	12
2. Les acyclonucleosides	16
3. Les acyclonucleosides phosphonates (ANPs).....	17
III. LES ANPs : 3 GRANDES FAMILLES.....	20
1. Les dérivés (S)-[3-hydroxy-2-(phosphonométhoxy)propyle (HPMP).....	21
2. Les dérivés 2-(phosphonométhoxy)éthyle (PME)	23
3. Les dérivés (R)-2-(phosphonométhoxy)propyle (PMP)	24
IV. MODIFICATION DE LA CHAÎNE ACYCLIQUE	25
V. LES DAPYS : UNE NOUVELLE CLASSE D'ANPs	26
VI. LES CIBLES THERAPEUTIQUES	27
1. Les nucléosides phosphates kinase (NPKs).	27
2. Les polymérases	29
3. Autres cibles	30
VII. L'APPROCHE PRONUCLEOTIDE	33

CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE D'ALKENYLES ACYCLO PHOSPHONONUCLEOSIDES.....	41
--	----

I. LES ALKENYLES ACYCLO PHOSPHONONUCLEOSIDES.....	43
1. La synthèse des alkenyles acyclo phosphononucleosides.....	43
2. Les ANPs éthényles.....	45
3. Les ANPs butényles.....	45
4. Les ANPs pentényles.....	47
II. TRAVAUX DU LABORATOIRE	48
III. NOS OBJECTIFS.....	53
IV. RAPPELS SUR LA METATHÈSE CROISÉE	55
1. La réaction de métathèse.....	55
2. Mécanisme réactionnel.....	57
3. Présentation des catalyseurs au ruthénium.....	57
4. Modèle de sélectivité.....	59
5. La synthèse des oléfines tri-substituées	60
V. DEPROTECTIONS CHEMO-ENZYMATIQUES	63
VI. NOTRE TRAVAIL.....	64
1. Synthèse de 3'-hydroxyméthyl-butèn-2-yl phosphonates	64
2. Synthèse de dérivés 3'-méthyl-butèn-2-yl phosphonate portant une pyrimidine.....	87
3. Synthèse de dérivés 3'-méthyl-butèn-2-yl phosphonates portant une purine.....	91
VII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	95

CHAPITRE 2 : SYNTHÈSE ET ÉVALUATION ANTIVIRALE DE DÉRIVÉS C⁵-(1,3-DIYNE)-2'-DEOXYURIDINES	99
I. LES DÉRIVÉS PYRIMIDIQUES C ⁵ -SUBSTITUÉS	101
II. PRODUCTIONS DU LABORATOIRE	104
III. NOTRE OBJECTIF	106
IV. LES COUPLAGES ACÉTYLÉNIQUES DE TYPE 1,3-DIYNE : HOMO- ET HÉTÉROCOUPLAGES	107
1. <i>Couplages acétyléniques catalysés au cuivre</i>	107
2. <i>Couplages acétyléniques pallado-catalysés en présence de cuivre</i>	110
3. <i>Couplage acétylénique catalysé au nickel en présence de cuivre</i>	112
V. LE MOTIF 1,3-DIYNE DANS LA CHIMIE DES NUCLEOSIDES	113
VI. NOTRE TRAVAIL : SYNTHÈSE DE DÉRIVÉS C ⁵ -(1,3-DIYNE)-2'-DEOXYURIDINES	115
1. <i>Préparation de l'intermédiaire C⁵-éthynyle</i>	115
2. <i>Synthèse des analogues C⁵-(1,3-diyne) par hétérocouplage acétylénique</i>	117
3. <i>Évaluation antivirale</i>	120
VII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	122

PARTIE B

INTEGRASE DU VIH ET INHIBITEURS	125
I. L'INTEGRASE DU VIH	127
II. INHIBITEURS DE L'INTEGRASE ET B-DICÉTOACIDES	129
1. <i>Inhibiteurs de l'intégrase comme agent anti-VIH</i>	129
2. <i>L'inspiration par les dérivés β-dicétoacides</i>	131
SYNTHÈSE DE DIHYDROPYRIMIDINES B-DICÉTOACIDES CIBLANT L'INTEGRASE DU VIH	137
I. NOS OBJECTIFS	139
II. LES DIHYDROPYRIMIDINES (DHPMs) : VOIE D'ACCÈS ET POTENTIEL THÉRAPEUTIQUE	139
1. <i>La réaction de Biginelli</i>	139
2. <i>Potentiel thérapeutique des DHPMs</i>	141
III. NOTRE TRAVAIL	142
1. <i>Schéma de rétrosynthèse</i>	142
2. <i>Synthèse des DHPMs</i>	143
3. <i>Aromatisation oxydante des DHPMs</i>	146
4. <i>Alkylation des dérivés aromatisés avec une aryle cétone</i>	147
5. <i>Développement de la série 2-thio</i>	149
6. <i>Synthèse des dérivés β-dicétoacides</i>	152
7. <i>Évaluation antivirale</i>	155
IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	160
CONCLUSION GÉNÉRALE	161
PARTIE EXPÉRIMENTALE	167
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	255
ARTICLES ET COMMUNICATIONS DE L'AUTEUR	267

Introduction générale

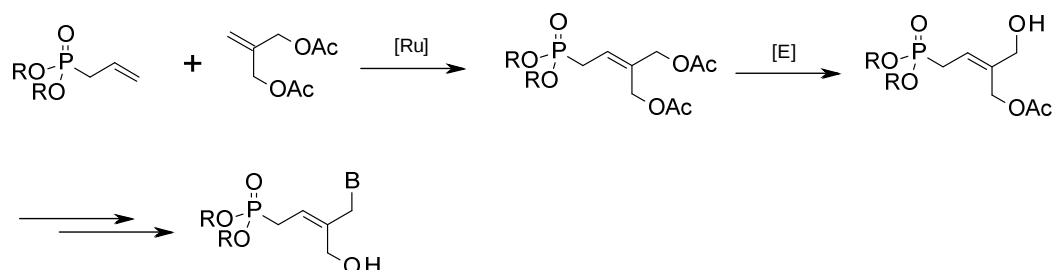
Les maladies virales ont affecté les humains à travers les siècles provoquant de grandes épidémies qui causèrent la mort de millions d'individus. Dans ce contexte, le développement significatif opéré ces cinquante dernières années dans le domaine de la chimiothérapie antivirale a permis de lutter efficacement contre de nombreux virus et ainsi d'endiguer les épidémies de rage, de poliomyélite ou encore de variole. Toutefois, les infections virales continuent de représenter un problème de santé publique majeur en raison de l'émergence de souches virales résistantes aux traitements existants ainsi que l'apparition de nouveaux virus. A ce titre, le développement de nouveaux antiviraux reste plus que jamais d'actualité.

Les travaux réalisés au cours de cette thèse s'inscrivent dans l'optique de concevoir et de synthétiser de nouvelles molécules à visée antivirale. Ce manuscrit, divisé en deux grandes parties, présente d'abord la synthèse de nouvelles familles de dérivés nucléosidiques (acycliques et osidiques) puis s'étend ensuite à la préparation de dérivés hétérocycliques à visée anti-VIH. Ces travaux s'appuient sur les outils de la synthèse organique moderne tels que les réactions métallo-catalysées, chémoenzymatiques et multicomposantes.

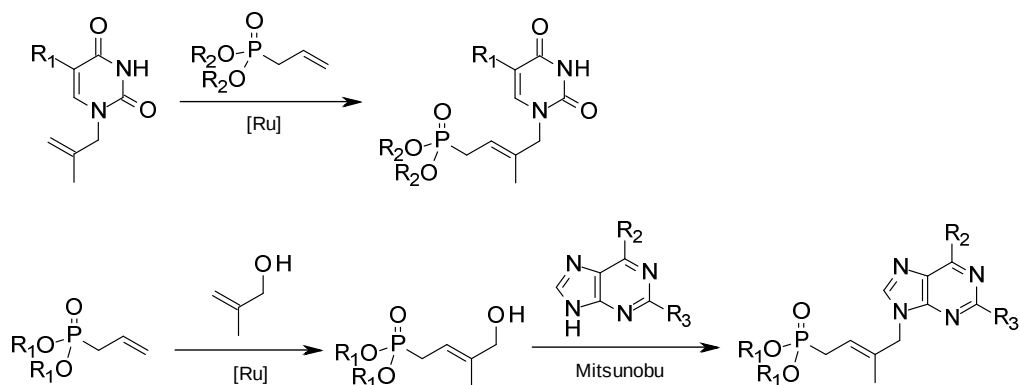
Partie A : Nous introduirons d'abord certaines notions tels que les virus, les cibles thérapeutiques, les analogues de nucléosides ainsi que l'approche pro-nucléotide. En effet, afin de concevoir de nouveaux outils thérapeutiques il est primordial de bien comprendre le mode d'action des virus et d'identifier les différentes enzymes impliquées dans leur réplication. Cette introduction présentera ensuite les différentes familles de nucléosides modifiés en s'appuyant sur la structure de nombreux antiviraux nucléosidiques, qui sont aujourd'hui utilisés dans le traitement de diverses infections virales. Enfin, nous aborderons l'intérêt et le principe de l'approche pro-nucléotide qui est de plus en plus utilisé dans la conception de nouveaux médicaments.

La découverte des acyclonucléosides phosphonate (ANPs) a marqué le début d'une nouvelle ère dans la lutte contre les infections virales liées notamment au virus de l'immunodéficience humaine (VIH), du virus de l'hépatite B (VHB) ou encore du cytomégalovirus (CMV). Ainsi, dans la première partie de ce manuscrit, nous nous intéresserons d'abord à la synthèse de deux nouvelles familles d'ANPs alkényles obtenues par des réactions de métathèse croisée.

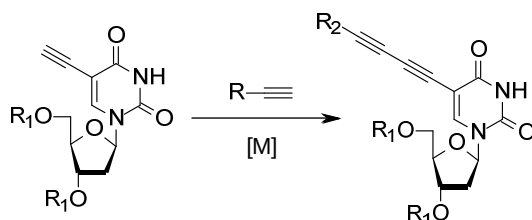
Nous présenterons d'abord la synthèse de dérivés 2'-hydroxyméthyl-but-2'-énylphosphonates réalisée selon une approche chémoenzymatique originale.



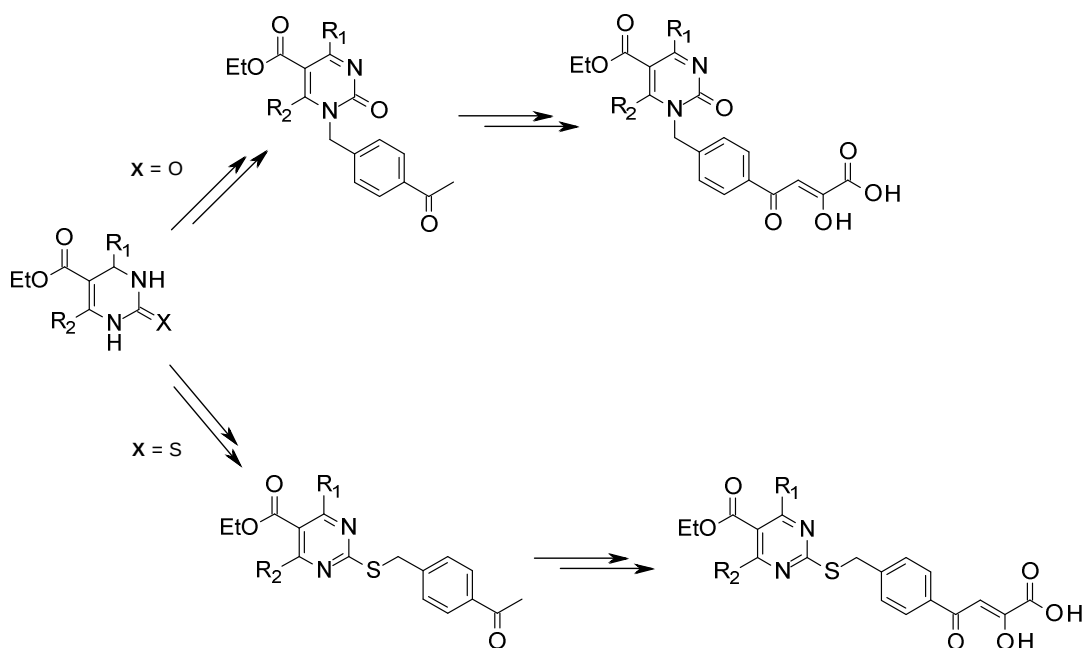
Ensuite, nous nous intéresserons à la préparation de dérivés 2'-méthyl-but-2'-énylphosphonates synthétisés via deux stratégies qui diffèrent selon le type de nucléobase en faisant également intervenir des réactions de métathèse croisée.



Dans un second chapitre, nous aborderons l'intérêt des nucléosides pyrimidiques C⁵-substitués qui représentent aujourd'hui une famille particulièrement importante parmi les nucléosides modifiés avec un grand nombre de médicaments approuvés. Cette introduction nous amènera à la présentation d'un travail annexe portant sur la synthèse d'analogues de 2'-déoxyuridine portant un motif C⁵-(1,3-diyne) dont la préparation repose sur des réactions de couplages acétyléniques métallo-catalysées.



Partie B : Même si les analogues de nucléosides représentent la pierre angulaire de la chimiothérapie antivirale, la synthèse de dérivés hétérocycliques présente également un grand intérêt en raison de leur mode d'action qui diffère des dérivés nucléosidiques. Dans le cadre des traitements anti-VIH, les derniers inhibiteurs, de type hétérocyclique, ayant obtenu leur autorisation de mise sur le marché ciblent une enzyme bien définie, l'intégrase, qui joue un rôle primordial dans la réplication du VIH.



La deuxième partie de cette thèse sera donc consacrée à la présentation des travaux réalisés sur la synthèse d'une nouvelle famille d'inhibiteur potentiel de l'intégrase du VIH. La structure des dérivés qui seront présentés dans cette partie est constituée d'un cœur hétérocyclique dérivé de dihydropyrimidine, auquel est attaché un motif aryle β -dicétoacide. Ces composés ont été préparés en série 2-oxo et 2-thio puis évalués pour leur activité anti-VIH au niveau enzymatique et cellulaire.

PARTIE A

Introduction :

Nucléos(t)ides en thérapie antivirale

I. Structure et mode d'action des virus

Les virus sont des entités biologiques infectieuses qui se répliquent en pénétrant dans une cellule et en utilisant sa machinerie cellulaire. De ce fait, ils ne peuvent pas se multiplier à l'extérieur des cellules de l'organisme qu'ils ont infectées. Chaque particule virale, appelée également virion, ne possède qu'un seul type d'acide nucléique (ARN ou ADN) et éventuellement quelques enzymes nécessaires à sa réplication (ex: *transcriptase inverse*) (Figure 1). Le matériel génétique des virus est souvent contenu dans une capside constituée de protéines. Elle peut également être recouverte d'une enveloppe de type lipidique dérivée de membrane cellulaire. À leur surface, les virus possèdent des glycoprotéines qui entrent en interaction avec les récepteurs membranaires. Ces glycoprotéines permettent d'identifier les cellules à infecter tout en assurant leur fixation à celles-ci. En effet, bien que certains virus soient peu spécifiques (ex: virus de la rage) d'autres virus tels que le VIH n'infectent sélectivement qu'un seul type de cellule (lymphocyte T4).

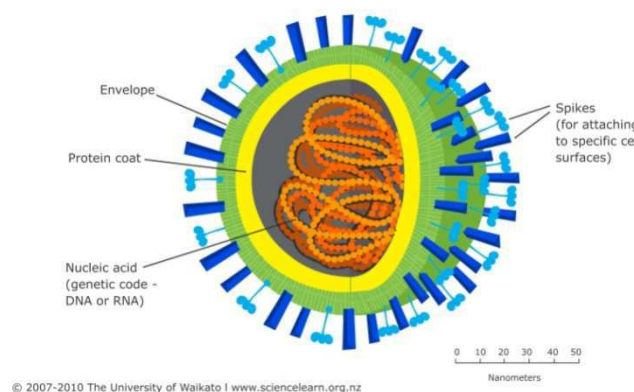


Figure 1. Structure générale d'un virus.

Le cycle de réplication des virus est présenté dans la figure 2 avec l'exemple du virus de la grippe (influenza) qui est un virus à ARN :

1. Adsorption et pénétration de la capside virale par fusion avec la membrane cellulaire
2. Dégradation de la capside virale par les enzymes cytoplasmiques pour libérer l'acide nucléique viral
3. Réplication de l'ARN et transcription en ARNm dans le noyau
4. Synthèse des protéines dans le cytosol par traduction de l'ARNm
5. Assemblage des nouveaux virions
6. Largage des virions hors de la cellule

La plupart des virus à ADN suivent un mécanisme similaire pour assurer leur réplication et la transcription en ARNm dans le noyau via les enzymes cellulaires. Toutefois, certains virus à ADN, tels que les poxvirus, peuvent réaliser la totalité de leur réplication hors du noyau cellulaire. Dans ce cas, le processus de transcription de l'ADN en ARNm est pris en charge par une polymérase virale.

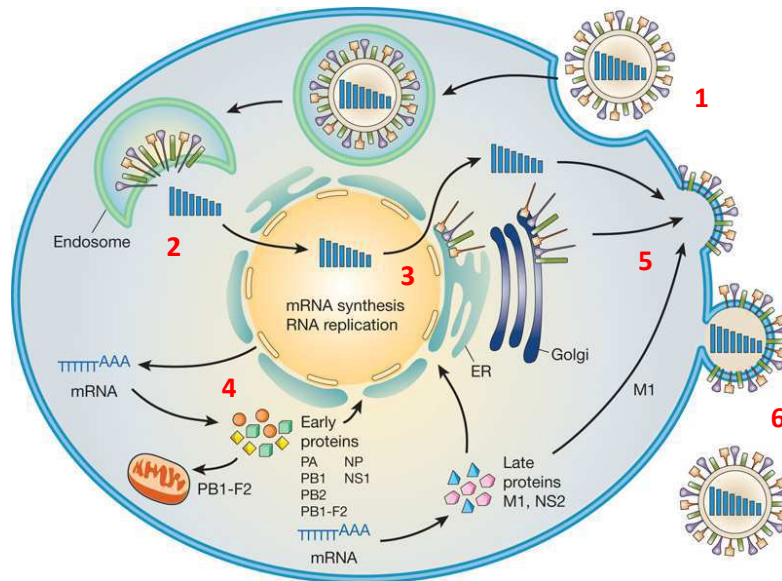


Figure 2. Cycle de réplication du virus de la grippe (influenza).¹

Certains virus, tel que le VIH, possèdent un cycle de réplication beaucoup plus complexe puisqu'ils intègrent leur matériel génétique dans le génome la cellule hôte (Figure 3). Pour réaliser cela, le VIH fait intervenir 3 enzymes qu'il possède dans chacune de ses capsides : la transcriptase inverse, l'intégrase et la protéase. Dans un premier temps, le matériel génétique du virus qui se présente sous la forme d'un brin d'ARN est rétrotranscrit en un brin d'ADN par la transcriptase inverse. Ce dernier est ensuite répliqué pour former un double brin d'ADN viral qui est alors intégré à l'ADN de la cellule hôte par l'intermédiaire de l'*intégrase* apportée par le virus. L'ADN proviral ainsi obtenu est transcrit en ARNm qui sert à la synthèse des précurseurs protéiques. Enfin, la protéase s'occupe du découpage de ces précurseurs pour générer les différentes protéines nécessaires l'assemblage des nouveaux virions.

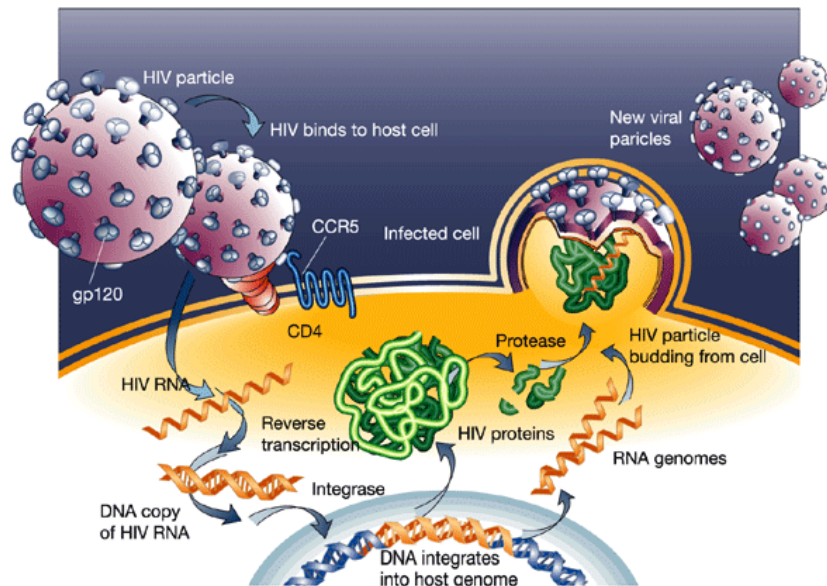


Figure 3. Cycle de réplication du VIH.²

¹ Neumann, G.; Noda, T.; Kawaoka, Y. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature* **2009**, *459*, 931-939.

² Weiss, R. A. HIV and AIDS in relation to other pandemics. *EMBO Rep.* **2003**, *4*, 10-14.

Il existe un très grand nombre de virus dont actuellement plus de 200 ont été identifiés comme pathogènes chez l'Homme. Certains d'entre eux ont causé d'importantes épidémies comme la "grippe espagnole" qui a fait plus de 30 millions de morts (1918), la poliomyélite dans les années 30, les virus à herpès dans les années 60, les hépatites B et C, le VIH depuis les années 80 et plus récemment le SRAS et les nouvelles souches de virus grippaux tels que le H1N1 et H5N1. Le classement des virus est basé, d'une part, sur le type d'acide nucléique qu'ils possèdent qui est soit sous forme d'ADN ou d'ARN, et d'autre part, sur leur configuration simple ou double brin (Tableau 1). Ils sont également rassemblés par famille sans nécessairement être associés à la même maladie.

Tableau 1. Les virus à ADN et ARN.

Famille	Virus	Maladies associées
ARN		
<i>Double brin</i>		
Réoviridae	Rotavirus	Diarrhées
<i>Simple brin</i>		
Orthomyxoviridae	Influenzavirus A ,B ,C	Grippe
Paramyxoviridae	Morbillivirus	Rougeole
	Rubulavirus	Oreillons
Rhabdoviridae	Lyssavirus	Rage
Filoviridae	Ebola	Fièvres hémorragiques
Arenaviridae	Lassa	Fièvres hémorragiques
Retroviridae	VIH	SIDA
Coronaviridae	Coronavirus	SRAS (syndrome respiratoire aigu sévère)
Picornaviridae	Rhinovirus	Rhume
	Coxsackie A, B	Agent causal de méningites, myocardites, péricardites
	Poliovirus	Poliomyélite
Togaviridae	Rubivirus	Rubéole
ADN		
<i>Double brin</i>		
Poxviridae	Vaccine	-
	Molluscum contagiosum	Lésions dermatologiques
	Variole	Variole
Adenoviridae	Adénovirus	Malades respiratoires
Herpesviridae	HSV-1	Herpès buccal
	HSV-2	Herpès génital
	VZV (Varricela Zoster)	Varicelle, Zona
	EBV (Epstein Barr)	Mononucléose, lymphome
	CMV (Cytomegalo)	Rétinite
Papovaviridae	Papillomavirus	Verrues, cancers du col utérin
	Polyomavirus	Dégénérescence neurologique, polyomes
Hepadnaviridae	VHB, VHC	Infection du foie
<i>Simple brin</i>		
Parvoviridae	Parvovirus B19	Erythème bénin

II. Les nucléosides dans la thérapie antivirale

1. Les nucléosides modifiés

Depuis la fin du XIX^e siècle, des avancées spectaculaires ont été accomplies dans le traitement des infections virales. Jusque dans les années soixante, la stratégie prépondérante de lutte contre les infections virales reposait sur la vaccination qui permet d'endiguer les épidémies de rage, de poliomyélite et de variole. Toutefois, la vaccination reste plutôt un mode de prévention, puisque dans la plupart des cas, elle ne peut pas servir pour traiter une infection. C'est dans ce contexte que la chimiothérapie antivirale a connu un intérêt grandissant ces trente dernières années, essentiellement avec le développement des analogues de nucléosides. En effet, plusieurs nucléosides modifiés sont aujourd'hui utilisés comme médicament notamment dans le traitement des maladies causées par le virus *herpes simplex* (HSV), le cytomégalovirus (CMV), le virus varicella zoster (VZV), le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), de l'hépatite B (VHB) et C (VHC). Toutefois, l'émergence de souches résistantes aux traitements existants, liée au caractère mutagène des virus, constitue aujourd'hui un sérieux problème pour l'avenir de la chimiothérapie antivirale. C'est pourquoi la conception et la synthèse de nouveaux analogues de nucléosides restent toujours d'actualité.

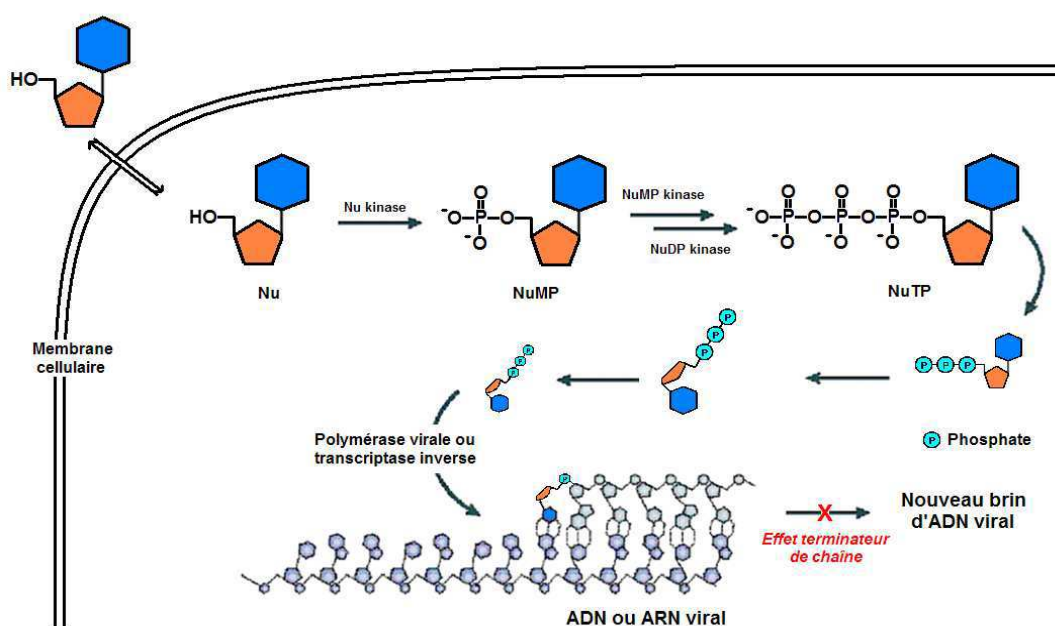


Figure 4. Principe d'action des nucléosides.³

Les analogues de nucléosides stoppent la réplication virale sous leur forme triphosphate en inhibant la polymérase virale ou par effet terminateur de chaîne (Figure 4). En tant qu'unité structurale des acides nucléiques, les nucléosides triphosphates (NTP) sont substrats des enzymes polymérases qui catalysent leur polymérisation. La biosynthèse des NTPs est contrôlée par les kinases. Ainsi, la prise en compte des paramètres structuraux requis pour assurer l'interaction avec ces différentes enzymes est donc cruciale dans

³ De Clercq, E. Antivirals and antiviral strategies. *Nat. Rev. Micro.* **2004**, 2, 704-720.

la conception des analogues de nucléosides. La base hétérocyclique constitue un site de choix pour préparer des nucléosides modifiés, car elle met en jeu de nombreuses interactions avec les kinases et les polymérases. Ainsi, les nucléobases modifiées peuvent fortement perturber le fonctionnement des enzymes impliquées dans la réplication virale. D'autre part, la partie ribose du nucléoside offre également de nombreuses possibilités dans le design de nucléosides à visée antivirales. Toutes ces modifications visent, d'une manière générale, à préparer des composés toujours plus sélectifs des enzymes virales afin de réduire les effets secondaires engendrés par la toxicité. Les nucléosides modifiés peuvent être classés dans différentes catégories en fonction du type de modification qui est apporté à leur nucléobase ou à leur partie osidique. Ci-dessous, les Figures 5 à 9 donnent un aperçu des nombreuses modifications apportées aux nucléosides à travers quelques exemples sélectionnés.

1.1. Les nucléosides à nucléobase modifiée et C-nucléosides

L'intérêt porté aux nucléosides modifiés remonte à la découverte du premier nucléoside aux propriétés antivirales par William Prusoff, la 5-iodo-2'-déoxyuridine **1** (IDU) (Figure 5).⁴ À ce titre, les composés pyrimidiques présentant une modification en C⁵ forment aujourd'hui une famille particulièrement importante d'anti-herpétiques très actifs tel que le BVdU **2** (Brivudine). Cette famille sera développée plus en détail par la suite (Partie A : chapitre 2, p. 99). Les nucléosides peuvent également accueillir des bases azotées non naturelles. La ribavirine **3**, par exemple, possède un noyau 1,2,4-triazole qui agit comme un analogue de la guanine. Ce composé est actuellement utilisé dans le traitement de l'hépatite C chronique en combinaison avec l'interféron α .⁵

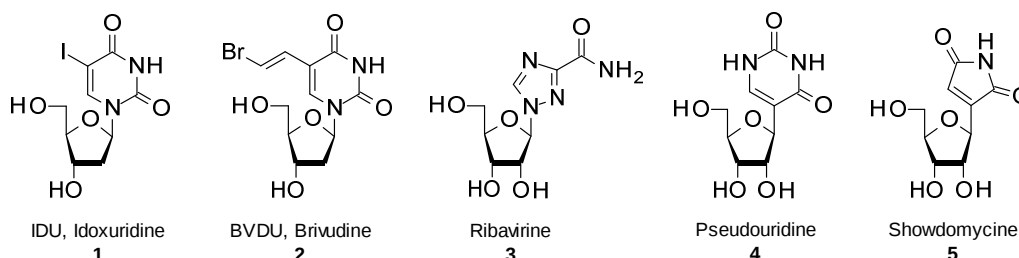


Figure 5. Nucléosides à base modifiée et C-nucléoside.

La base hétérocyclique est habituellement reliée au ribose par une liaison *N*-glycosidique carbone-azote. Dans le cas des C-nucléosides (**4**, **5**) cette dernière est remplacée par une liaison carbone-carbone. Les C-nucléosides possèdent une plus grande stabilité physiologique, car ils ne sont pas affectés par les enzymes responsables de la coupure de la liaison *N*-glycosidique. De plus, cette famille de nucléoside n'est pas seulement d'origine synthétique puisque certains C-nucléosides tels que la pseudouridine⁶ **4** et la showdomycine⁷ **5** ont été isolés respectivement d'ARN humain et bactérien (*Streptomyces showdoensis*). Bien que la pseudouridine et ses analogues synthétiques n'aient pas montré d'intérêt en tant qu'agent

⁴ (a) Prusoff, W. H. Synthesis and biological activities of iododeoxyuridine, an analog of thymidine. *Biochim. Biophys. Acta* **1959**, 32, 295-296. (b) Prusoff, W. H. Studies on the Mechanism of Action of 5-Iododeoxyuridine, and Analog of Thymidine. *Cancer Res.* **1960**, 20, 92-95.

⁵ Lindahl, K.; Stahle, L.; Bruchfeld, A. High-dose ribavirin in combination with standard dose peginterferon for treatment of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* **2005**, 41, 275-279.

⁶ Townsend, L. B. *Chemistry of Nucleosides and Nucleotides*; Plenum Press: New York, **1994**, 421-535.

⁷ Darnall K. R.; Townsend L. B.; Robins R. K. The structure of showdomycin, a novel carbon-linked nucleoside antibiotic related to uridine. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **1967**, 57, 548-553.

thérapeutique, ce C-nucléoside pourrait être utilisé comme biomarqueur dans le dépistage de certains cancers.⁸ D'autre part, la showdomicine **5**, possédant un cycle maléimide, présente des propriétés antibiotiques. Son activité serait associée à une inhibition du transport des nucléosides dans la cellule.⁹

1.2. Les nucléosides en série 2',3'-déoxy

Les nucléosides en série 2',3'-déoxy-ribosyle représentent une famille très développée parmi les nucléosides modifiés. Ils sont généralement associés à une activité antivirale par effet terminateur de chaîne du fait de l'absence de fonction hydroxyle en position 3'. Cette famille regroupe de nombreux inhibiteurs de *transcriptase inverse* qui sont notamment utilisés dans le traitement contre le VIH. Ainsi, on peut citer la zalcitabine **6** (2',3'-didéoxy-cytidine, ddC), la zidovudine **7** (3'-azido-3'-déoxythymidine, AZT) substituée en 3' par un groupement azido et la stavudine **8** (2',3'-didehydro-2',3'-dideoxythymidine, d4T) possédant une insaturation en 2'-3' (Figure 6).

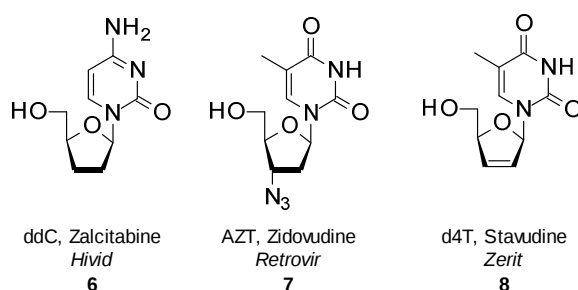


Figure 6. Nucléosides en série 2',3'-dideoxy.

1.3. Les nucléosides à partie osidique modifiée

La partie osidique peut également accueillir diverses substitutions. À titre d'exemple, l'introduction d'un atome de fluor sur la position 2' a produit une variété d'agents antiviraux tels que le FMAU **9** et plus récemment le Sofosbuvir **10** (Figure 7). Initialement connu pour son activité anti-herpétique¹⁰, le FMAU a également révélé une activité anti-VHB significative.¹¹ Le Sofosbuvir, quant à lui, est un puissant inhibiteur de la polymérase NS5B du VHC.¹² Initialement développée par Pharmasset, puis rachetée Giléad, cette molécule sous forme prodrogue phosphoramidate est actuellement en attente d'une autorisation de mise sur le marché en Europe et aux États-Unis (dépôt avril 2013) pour le traitement de l'hépatite C chronique en combinaison avec la ribavirine.

⁸ Cimino, F.; Russo, T.; Colonna, A.; Salvatore, F. Pseudouridine: A Biochemical Marker for Cancer. In *Genetic and Phenotypic Markers of Tumors*, Aaronson, S.; Frati, L.; Verna, R., Eds. Springer US: **1985**; 27-39.

⁹ Uehara, Y. I.; Fisher, J. M.; Rabinowicz, M. Showdomycin and its reactive moiety, maleimide: A comparison in selective toxicity and mechanism of action *in vitro*. *Biochem. Pharmacol.* **1980**, *29*, 2199-2204.

¹⁰ Watanabe, K. A.; Reichman, U.; Hirota, K.; Lopez, C.; Fox, J. J. Nucleosides. 110. Synthesis and antiherpes virus activity of some 2'-fluoro-2'-deoxy-arabinofuranosyl pyrimidine nucleosides. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 21-24.

¹¹ De Clercq, E. Antiviral activity spectrum and target of action of different classes of nucleoside analogs. *Nucleos. Nucleot.* **1994**, *13*, 1271-1295.

¹² Sofia, M. J.; Bao, D.; Chang, W.; Du, J.; Nagarathnam, D.; Rachakonda, S.; Reddy, P. G.; Ross, B. S.; Wang, P.; Zhang, H.-R.; Bansal, S.; Espiritu, C.; Keilman, M.; Lam, A. M.; Steuer, H. M. M.; Niu, C.; Otto, M. J.; Furman, P. A. Discovery of a β -d-2'-Deoxy-2'- α -fluoro-2'- β -C-methyluridine Nucleotide Prodrug (PSI-7977) for the Treatment of Hepatitis C Virus. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7202-7218.

La transformation du cycle furanose en cycle à 3, 4 ou 6 chaînons a également donné des composés possédant des activités biologiques intéressantes. L'oxetanocin A **11** (OXT-A) est un antibiotique naturel produit par *Bacillus megaterium* qui possède la particularité d'inhiber l'infection des cellules T par le VIH-1 *in vitro*.¹³

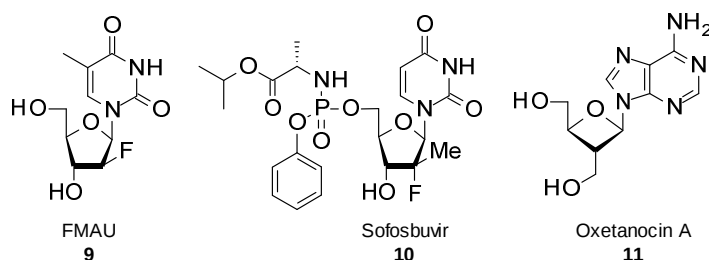


Figure 7. Nucléosides avec partie osidique substituée et à 4 ou 6 chaînons.

1.4. Les carbanucléosides

Les carbanucléosides, autrement appelés nucléosides carbocycliques, forment une famille d'analogues de nucléosides dont l'oxygène du furanose est remplacé par un groupement méthylène. De la même façon que pour les C-nucléosides, cette modification contribue à la stabilité métabolique de la structure par une résistance face aux hydrolases. De plus, le changement conformationnel important occasionné par la disparition de l'effet anomérique n'empêche pas la phosphorylation des carbanucléosides par les kinases.

Les analogues carbocycliques possèdent des propriétés pharmacologiques très variées. La néplanocine A **13** est un analogue carbocyclique insaturé naturel isolé de *Ampullariella regularis*. Il possède un grand spectre d'activité antivirale et antitumorale notamment par inhibition de la SAH-hydrolase (voir p25) (Figure 8).¹⁴ D'autres dérivés carbocycliques tels que l'Abacavir **14** ou l'Entécavir **15** sont utilisés respectivement dans le traitement des infections virales liées au VIH et au VHB.

Les dérivés cyclohexényles tels que le composé **15** sont également classés parmi les carbanucléosides. Les études de modélisation moléculaire et l'évaluation biologique ont démontré que ce type de noyau pouvait effectivement être considéré comme isostère du noyau furanose.¹⁵ Ces dérivés présentent une activité significative sur HSV-1, HSV-2, VZV, HCMV et VHB.

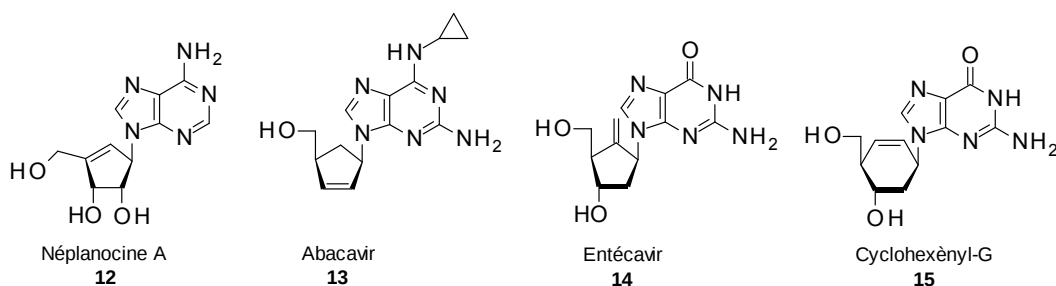


Figure 8. Carbanucléosides.

¹³ Shimada, N.; Hasegawa, N.; Harada, T.; Tomisawa, T.; Fujii, A.; Takita, T. Oxetanocin, a novel nucleoside from bacteria. *J. Antibiot.* **1986**, 39, 1623-1625.

¹⁴ De Clerq, E. Antiviral and antimetabolic activities of neplanocins. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **1985**, 28, 84-89.

¹⁵ Herdewijn, P.; De Clercq, E. The cyclohexene ring as bioisostere of a furanose ring: synthesis and antiviral activity of cyclohexenyl nucleosides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 1591-1597.

1.5. Les L-nucléosides

Les L-nucléosides sont les énantiomères synthétiques des D-nucléosides naturels. Longtemps négligé, le potentiel thérapeutique des L-nucléosides a été révélé par les travaux de Coates *et al.*¹⁶ et Schinazi *et al.*¹⁷ En effet ces derniers découvrirent que l'énantiomère L du 3TC **16** était plus actif et surtout moins toxique que le mélange racémique (Figure 9). Cette faible toxicité est due au fait que l'énantiomère L n'est pas un bon substrat des ADN polymérases cellulaires contrairement à l'énantiomère D. Ainsi, le mélange racémique est 650 fois plus actif sur les polymérases cellulaires que l'énantiomère L.¹⁸ De plus, cet énantiomère non naturel n'est pas reconnu par la *deoxycytidine déaminase*, qui est vraisemblablement responsable de l'activité anti-VIH réduite de l'énantiomère D.¹⁹ Toutefois, la supériorité de l'énantiomère L est loin d'être généralisable puisqu'à titre d'exemple, l'énantiomère L de l'AZT est 10 000 fois moins actif que l'énantiomère naturel D.²⁰

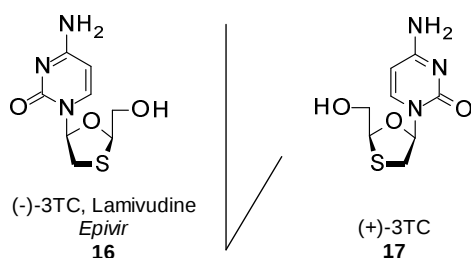


Figure 9. Enantiomères L et D du 3TC.

2. Les acyclonucléosides

Les acyclonucléosides sont des analogues de nucléosides dont la partie osidique est remplacée par une chaîne acyclique. (Figure 10). L'émergence des structures acyclique a été sentie comme une nouvelle ère dans la thérapie antivirale après la découverte de l'acyclovir **18** (Zovirax®) par Gertrude Ellion, qui lui valut le prix Nobel de Médecine en 1988 (Figure 10). L'activité et la sélectivité sans précédent de cette structure acyclique pour le HSV, et d'autres virus à ADN²¹, ont été à l'origine de l'engouement qui a mené à la synthèse de divers autres acyclonucléosides. On peut notamment citer le Gancyclovir **19** et son analogue carbocyclique, le Pencyclovir **20**, qui sont actuellement commercialisés pour le traitement des infections liées aux virus herpétiques (HSV, VZV, CMV). Toutefois ces composés acycliques souffrent d'une biodisponibilité orale relativement faible avec 20-25 % pour l'acyclovir et 2-7 % pour le Gancyclovir et le

¹⁶ Coates, J. A. V.; Cammack, N.; Jenkinson, H. J.; Mutton, I. M.; Pearson, B. A.; Storer, R.; Cameron, J. M.; Penn, C. R. The separated enantiomers of 2'-deoxy-3'-thiacytidine (BCH 189) both inhibit human immunodeficiency virus replication *in vitro*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 202–205.

¹⁷ Schinazi, R. F.; Chu, C. K.; Peck, A.; McMillan, A.; Mathis, R.; Cannon, D.; Jeong, L. S.; Beach, J. W.; Choi, W. B.; Yeola, S., Activities of the four optical isomers of 2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine (BCH-189) against human immunodeficiency virus type 1 in human lymphocytes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 672–676.

¹⁸ Wang, P.; Hong, J. H.; Cooperwood, J. S.; Chu, C. K. Recent advances in L-nucleosides: chemistry and biology. *Antiviral Res.* **1998**, *40*, 19–44.

¹⁹ Chang, C.-N.; Doong, S.-L.; Zhou, J. H.; Beach, J. W.; Jeong, L. S.; Chu, C. K.; Tsai, C. H.; Cheng, Y. C.; Liotta, D.; Schinazi, R. Deoxycytidine deaminase-resistant stereoisomer is the active form of (+/-)-2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine in the inhibition of hepatitis B virus replication. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 13938–13942.

²⁰ Wengel, J.; Lau, J.; Pederson, E. B.; Nielson, C. M. Synthesis of L-3'-azido-3'-deoxythymidine (L-AZT) and its stereoisomers. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 3591–3594.

²¹ (a) Brigden D.; Fiddian P.; Rosling A. E.; Ravenscroft, T. Acyclovir — A review of the preclinical and early clinical data of a new antiherpes drug. *Antiviral Res.* **1981**, *1*, 203–212. (b) Fiddian A. P.; Brigden D.; Yeo J. M.; Hickmott E. A., Acyclovir: an update of the clinical applications of this antiherpes agent. *Antiviral Res.* **1984**, *4*, 99–117.

Pencyclovir.²² D'autre part, le (S)-DHPA **21**, commercialisé sous forme de gel sous le nom Duvira®, est un analogue acyclique de l'adénosine qui est utilisée dans le traitement local de l'herpès labial (HSV-1).

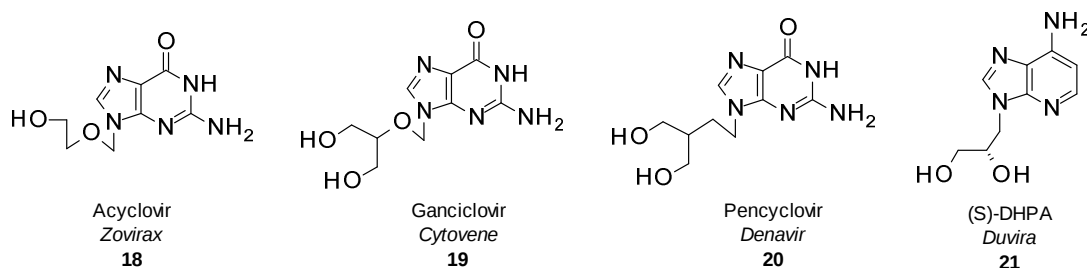


Figure 10. Exemples d'acyclonucléosides approuvés.

La similarité structurale de cette famille avec les nucléosides naturels est nettement moins marquée. Du fait de leur flexibilité, les acyclonucléosides peuvent subir des arrangements stériques au contact de leur cible pour adopter la configuration requise par les enzymes. Le mécanisme d'action des acyclonucléosides est parfaitement identique à celui des nucléosides osidiques. Activés par les kinases sous leur forme triphosphate, les acyclonucléosides vont stopper la réplication de l'ADN par effet terminateur de chaîne ou par inhibition de la polymérase.

3. Les acyclonucléosides phosphonates (ANPs)

Le contournement de la première étape de phosphorylation, qui constitue l'étape limitante de la synthèse de la forme active nucléoside triphosphate, a longtemps été exploré notamment par la préparation des nucléosides modifiés sous la forme de sels 5'-mono ou 5'-triphosphate. Toutefois, cette stratégie s'est avérée infructueuse en raison de la dégradation rapide des composés par les phosphatases, mais aussi à cause de leur caractère polaire rendant difficile le passage de la membrane phospholipidique de la cellule. Les recherches d'un motif isostère de la fonction phosphate, qui serait résistant à la dégradation par les enzymes, ont abouti en 1986 par la découverte des AcycloNucléosides Phosphonates (ANPs) par Antonin Holý.^{23,24} La structure des premiers ANPs est caractérisée par la présence d'un groupement phosphonate qui est lié à la chaîne acyclique via une liaison carbone-phosphore formant ainsi un acyclonucléoside méthoxyphosphonate **23** (Figure 11).

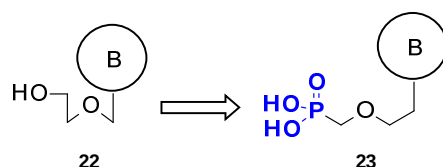


Figure 11. Les acyclonucléosides méthoxyphosphonates.

²² Sekiyama, T.; Hatsuya, S.; Tanaka, Y.; Uchiyama, M.; Ono, N.; Iwayama, S.; Oikawa, M.; Suzuki, K.; Okunishi, M.; Tsuji, T., Synthesis and antiviral activity of novel acyclic nucleosides: discovery of cyclopropyl nucleoside with potent inhibitory activity against herpesviruses. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1284-1298. (b) Spector, S. A.; Busch, D. P.; Pollansbee, S.; Squires, K.; Lalezari, J. P.; Jacobson, M. A.; Connor, J. D.; Jung, D.; Shadman, A.; Mastro, B.; Buhles, W.; Drew, W. L. Pharmacokinetics, safety, and antiviral profiles of oral ganciclovir in persons infected with human immunodeficiency virus: a phase II study. *J. Infect. Dis.* **1995**, *777*, 1431-1437.

²³ De Clercq, E.; Holý, A.; Rosenberg, I.; Sakuma, T.; Balzarini, J.; Maudgal, P. C. A novel selective broad-spectrum anti-DNA virus agent. *Nature* **1986**, *323*, 464-467.

²⁴ (a) De Clercq, E. The acyclic nucleoside phosphonates from inception to clinical use: historical perspective. *Antiviral Res.* **2007**, *75*, 1-13. (b) De Clercq, E.; Holý, A. Acyclic nucleoside phosphonates: a key class of antiviral drugs. *Nature* **2005**, *4*, 928-940.

Contrairement aux liaisons esters des phosphates, la fonction phosphonate est très stable chimiquement et résiste aux estérases. Les ANPs, mimant la forme monophosphate, sont capables de contourner l'étape limitante de 1^{ère} phosphorylation. Ainsi, ils nécessitent seulement deux phosphorylations pour obtenir la forme active diphosphate phosphonate équivalent à un triphosphate. Ce dernier est alors incorporé à l'ADN en cours d'élongation puis agit souvent comme terminateur de chaîne (Figure 12).³

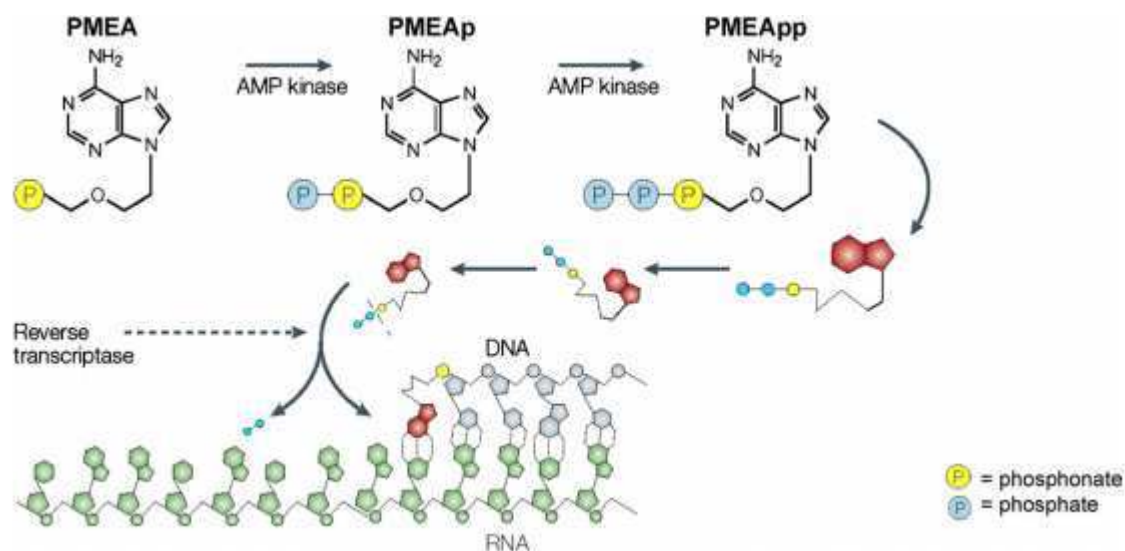


Figure 12. Mode d'action des ANPs.³

Les ANPs possèdent un large spectre d'activité sur les virus à ADN et ARN tels que le VHB, le VIH, le HSV, le CMV et les poxvirus.²⁵ À ce jour, il existe trois acyclonucleosides méthoxyphosphonates qui ont été approuvés par la FDA pour le traitement de différentes infections virales²⁶ (Figure 16) :

- le Cidofovir **24** (HPMPC, Vistide®) (Figure 13)
 └─> HCMV
- l'Adéfovir dipivoxil **25** (PMEA, Hespera®) (Figure 14)
 └─> VHB
- le Ténofovir disoproxil fumarate **26** (PMPA, Viread®) (Figure 15)
 └─> VIH et VHB

²⁵ (a) De Clercq, E. Clinical potential of the acyclic nucleoside phosphonates cidofovir, adefovir, and tenofovir in treatment of DNA virus and retrovirus infections. *Clin. Microbiol. Rev.* **2003**, *16*, 569-596. (b) De Clercq, E.; Holý, A.; Rosenberg, I. Efficacy of phosphonylmethoxyalkyl derivatives of adenine in experimental herpes simplex virus and vaccinia virus infections *in vivo*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1989**, *33*, 185-191.

²⁶ De Clercq, E. Acyclic nucleoside phosphonates: Past, present and future bridging chemistry to HIV, HBV, HCV, HPV, adeno-, herpes-, and poxvirus infections: the phosphonate bridge. *Biochem. Pharmacol.* **2007**, *73*, 911-922.

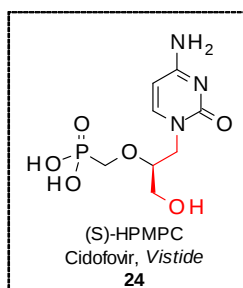


Figure 13. Cidofovir, Vistide©

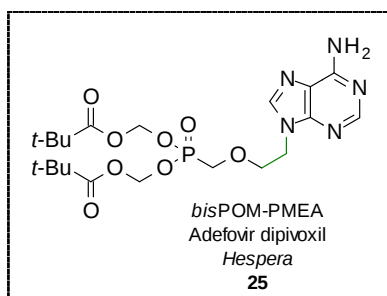


Figure 14. Adéfovir, Hespera©

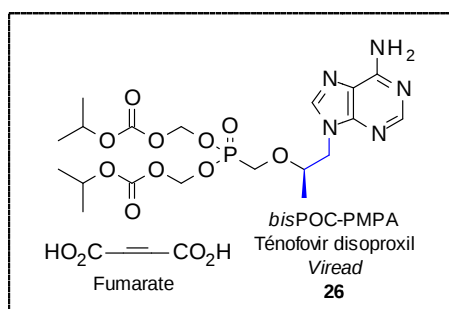


Figure 15. Viread© (Ténofovir), Truvada© et Atripla©.



Virus	Activity		
	Cidofovir	Adefovir	Tenofovir
DNA viruses			
<i>Papovaviridae</i>			
Polyomavirus	●		
Papillomavirus	●		
<i>Adenoviridae</i>			
Adenovirus	●		
<i>Herpesviridae</i>			
HSV-1	●	●	
HSV-2	●	●	
VZV	●	●	
CMV	●	●	
EBV	●	●	
HHV-6	●	●	
HHV-7	●	●	
HHV-8	●	●	
<i>Poxviridae</i>			
Variola virus	●		
Cowpox virus	●		
Monkeypox virus	●		
Camelpox virus	●		
Vaccinia virus	●		
MCV	●		
Orf virus	●		
<i>Hepadnaviridae</i>			
HBV		●	●
RNA virus infections			
<i>Retroviridae</i>			
HIV-1		●	●
HIV-2		●	●
SIV		●	●
FIV		●	●

Figure 16. Spectre d'activité du Cidofovir, Adéfovir et Ténofovir.^{24b}

III. Les ANPs : 3 grandes familles

Les composés mentionnés ci-dessus représentent aujourd'hui 3 grandes familles d'ANPs : les dérivés (S)-[3-hydroxy-2-(phosphonométhoxy)propyle] (**HPMP**), les dérivés 2-(phosphonométhoxy)éthyle (**PME**) et les dérivés (R)-2-(phosphonométhoxy)propyle (**PMP**). Ces familles ont été intensément étudiées notamment par diverses modulations au niveau de la base hétérocyclique (Figure 17).

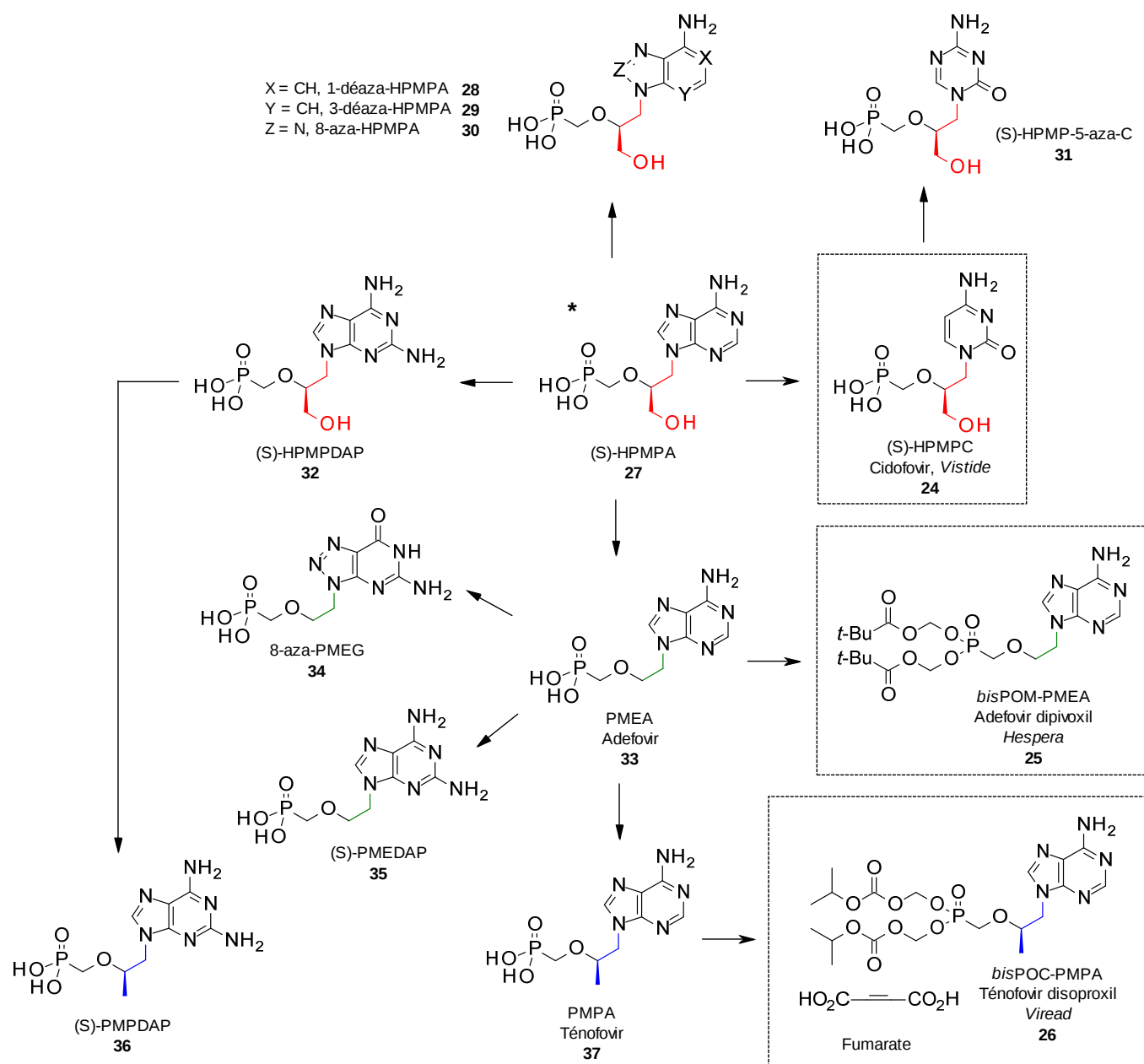


Figure 17. Généalogie des ANPs (encadré : produits commercialisés).

1. Les dérivés (S)-[3-hydroxy-2-(phosphonométhoxy)propyle (HPMP)

Les dérivés HPMP sont principalement actifs sur les virus à ADN (Figure 18). L'activité de ces composés, portant une chaîne latérale hydroxyméthyle, est principalement attribuée aux énantiomères S. Les HPMP représentent la première famille d'ANP à avoir été développée, notamment par la synthèse du 9-(S)-[3-hydroxy-2-(phosphonométhoxy)propyl]adénine **24** (HPMPA).

(S)-HPMPA : Le (S)-HPMPA **27** est un composé dérivé du (S)-DHPA **21** auquel on a ajouté un groupement phosphonométhyle.^{23,27} Considéré comme le prototype des ANPs, le (S)-HPMPA a montré dès sa découverte un très large spectre d'activité antivirale contre les virus à ADN. Ainsi, il inhibe efficacement une grande variété de virus incluant les herpès-, adéno-, pox-, irido- et papovavirus.²³ Le (S)-HPMPA est également actif sur les virus à ARN qui se répliquent via un ADN proviral tels que les rétrovirus.

1-déaza-, 3-déaza- et 8-aza-HPMPA : Plusieurs analogues du (S)-HPMPA possédant un noyau adénine modifié par ajout, ou suppression, d'azotes ont également été développés. Les analogues 1-déaza **28** et 3-déaza-HPMPA **29** possèdent une activité prononcée contre VZV et CMV. De plus, parmi tous les ANPs testés contre l'herpèsvirus humain type 6 (HHV-6), la forme 3-déaza-HPMPA **29** a montré le plus grand indice de sélectivité.²⁸ Dès lors, ce composé présente un grand intérêt puisqu'il n'existe actuellement aucun traitement approuvé contre HHV-6. L'activité de l'analogue 8-aza-HPMPA **230** est assez proche du (S)-HPMPA. Ce dernier et sa forme 8-aza sont de meilleurs inhibiteurs du virus de la vaccine (*in vitro*) que le HPMPA **24** (cidofovir).²⁹

(S)-HPMPDAP : D'une manière générale, les dérivés 2,6-diaminopurines (DAP) montrent des propriétés antivirales et un spectre d'activité comparable aux analogues portant une adénine. Ainsi, le (S)-HPMPDAP **32** est équivalent au HPMPA en regard de son activité contre les poxvirus tels que le virus de la vaccine³⁰ et les orf virus.³¹ Néanmoins, il est à noter que *in cellulo*, les nucléobases de type 2,6-diaminopurine peuvent être converties en guanine par l'action de l'adénine déaminase.

(S)-HPMPC, Cidofovir : Les propriétés antivirales du (S)-1-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl)cytosine **24** (HPMPC, Cidofovir), commercialisé sous la marque Vistide®, ont été décrites pour la première fois en 1987.³² Il est actif sur de très nombreux virus à ADN tels que les polyoma-, papilloma-, adéno-, herpès-, et poxvirus. Ainsi, son action a été démontrée sur la famille des *herpesviridae* (HSV-1, HSV- 2, VZV, EBV, CMV, HHV-6, HHV-7 et HHV-8) et des poxvirus incluant la variole, la vaccine, les cowpox, monkeypox, camelpox et orf. De façon intéressante, le mécanisme d'action du cidofovir est basé sur un effet terminateur de chaîne provoqué par l'incorporation successive de deux unités diphosphates (HPMPCpp) à l'ADN en cours d'élongation (Figure 18).³ Aujourd'hui, le Cidofovir est indiqué dans le traitement de la rétinite à cytomégalovirus (CMV) principalement observé chez les patients atteints de syndrome d'immunodéficience acquise (sida). Commercialisé sous forme de solution, il est administré par perfusion intraveineuse.

5-aza-HPMPC : L'analogue 5-azacytosine du cidofovir 1-(S)-[3-hydroxy-2-(phosphonomethoxy)propyl]-5-azacytosine **31** (HPMP-5-azaC) possède des propriétés antivirales similaires, parfois supérieures, au

²⁷ Holý, A.; Rosenberg, I., Stereospecific syntheses of 9-(S)-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl)adenine (HPMPA). *Nucleic Acids Symp Ser.* **1987**, *18*, 33-36.

²⁸ (a) Reymen, D.; Naesens, L.; Balzarini, J.; Holý, A.; Dvořáková, H.; De Clercq, E., Antiviral activity of selected acyclic nucleoside analogues against human herpesvirus 6. *Antiviral Res.* **1995**, *28*, 343-357. (b) Naesens, L., De Clercq, E. Antiviral activity of diverse classes of broadacting agents and natural compounds in HHV-6-infected lymphoblasts. *J. Clin. Virol.* **2006**, 69-75.

²⁹ DeClercq, E. Vaccinia virus inhibitors as a paradigm for the chemotherapy of poxvirus infections. *Clin. Microbiol. Rev.* **2001**, *14*, 382-397.

³⁰ De Clercq, E., Neyts, J. Therapeutic potential of nucleoside/nucleotide analogues against poxvirus infections. *Rev. Med. Virol.* **2004**, *14*, 289-300.

³¹ Dal Pozzo, F.; Andrei, G.; Holy, A.; Van Den Oord, J.; Scagliarini, A.; De Clercq, E.; Snoeck, R. Activity of acyclic nucleoside phosphonates against orf virus in human and ovine cell monolayers and organotypic ovine raft cultures. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 4843-4852.

³² De Clercq, E.; Sakuma, T.; Baba, M.; Pauwels, R.; Balzarini, J.; Rosenberg, I.; Holý, A. Antiviral activity of phosphonylmethoxyalkyl derivatives of purine and pyrimidines. *Antiviral Res.* **1987**, *8*, 261-272.

cidofovir.³³ En effet, son activité est comparable contre HSV-1, HSV-2 et VV. Il est 2-7 fois plus actif contre VZV, HCMV, HHV-6 et Ad2. Pour tous les virus à ADN, son indice de sélectivité est 16 fois plus grand et il est 2 fois moins toxique sur les cellules HEL. Enfin, l'étude de la métabolisation intracellulaire du (S)-HPMP-5-azaC a montré une phosphorylation en mono- et diphosphates 60 fois supérieures à celle du cidofovir. Les études précliniques menées sur cet analogue et de ses formes pronucléotides sont actuellement terminées. Les premiers résultats obtenus sur des modèles *in vivo* sont très encourageants et supporteront sans doute un éventuel développement clinique.

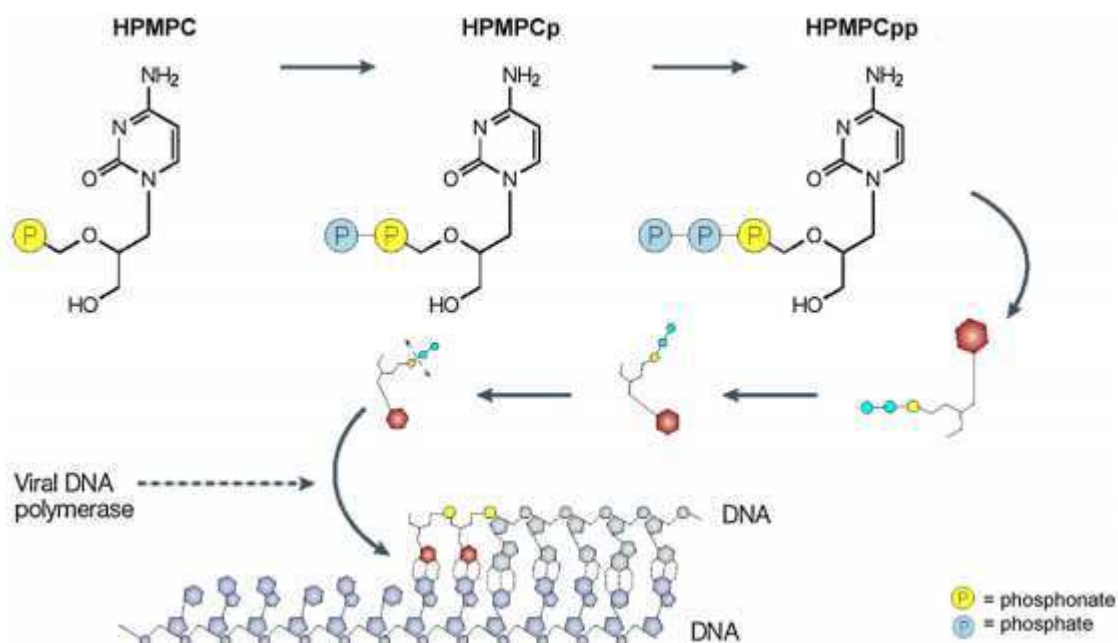


Figure 18. Mécanisme d'action du cidofovir.³

2. Les dérivés 2-(phosphonométhoxy)éthyle (PME)

Les dérivés PME sont essentiellement actifs sur les virus herpétiques et les rétrovirus. D'une manière générale, l'activité des dérivés PME est plus faible sur les virus à ADN que leurs homologues de la série HPMP.³⁴ Le 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adénine **31** (PMEA) est le premier représentant de cette famille.

PMEA, Adéfovir : L'activité antivirale du PMEA **33** (Adéfovir) a été mentionnée pour la première fois en 1986.²³ Il possède un spectre d'activité similaire au HPMPC notamment sur les virus herpétiques humains. Le PMEA est également actif sur les hepnavirus (hépatite B) ainsi que sur les rétrovirus (HIV-1, HIV-2, SIV et FIV). Aujourd'hui commercialisé sous forme prodrogue *bis*-pivaloyl oxyméthyle **25** (POM) sous la marque Hespera®, il est approuvé pour le traitement de l'hépatite B chronique.

PMEDAP : Le PMEDAP **35** est le composé le plus actif parmi les dérivés PME. Ainsi, il est un plus puissant agent anti-rétrovirus que le PMEA, mais également plus toxique selon les tests réalisés *in vivo* contre MSV. Une activité et une toxicité plus élevée conduisent finalement à un indice thérapeutique équivalent à celui

³³ Krečmerová, M.; Holý, A.; Pískala, A.; Masojídková, M.; Andrei, G.; Naesens, L.; Neyts, J.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Snoeck, R. Antiviral activity of triazine analogues of 1-(S)-[3-hydroxy-2-(phosphonomethoxy)propyl]cytosine (cidofovir) and related compounds. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 1069-1077.

³⁴ Holý, A. Phosphonomethoxyalkyl analogs of nucleotides. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, *9*, 2567-2692.

du PME. ³⁵ De plus, l'administration par voie orale du PMEDAP s'est avérée très efficace dans le traitement contre les rétrovirus (*Moloney murine sarcoma* et *Friend leukemia*) et le CMV chez la souris. ³⁶

8-aza-PMEG : Parmi les nombreux composés reportés avec une purine modifiée en série PME, seule la 8-aza-PMEG **34** a montré une activité significative contre HSV-1, VZV et le virus de la vaccine. L'analogue 8-aza-PME. est dépourvu de toute activité antivirale tandis que celle de la forme 8-aza-PMEDAP se retrouve fortement réduite. ³⁷

3. Les dérivés (R)-2-(phosphonométhoxy)propyle (PMP)

Les dérivés PMP sont quasi exclusivement actifs sur les virus à ARN (Figure 18). L'activité de ces composés est essentiellement attribuée aux énantiomères *R*. Le (R)-9-(2-phosphonyl-methoxypropyl)adénine (PMPA, Ténofovir) est le premier représentant de cette famille.

PMPA, Ténofovir : Le PMPA **37**, commercialisé sous forme prodrogue *bis-isopropyle oxyméthyle carbonate* **26** (POC) (Viread®), a été décrit pour la première fois en 1993. ³⁸ Il possède un spectre d'activité plus restreint puisqu'il est limité aux hépatites (VHB) et rétrovirus (HIV-1, HIV-2, SIV, FIV). Dans le cadre d'un traitement anti-VIH, il peut être administré seul (Viread®) ou en combinaison avec l'emtricitabine (Truvada®) ou plus récemment en combinaison avec l'emtricitabine et l'efavirenz (Atripla™) sous forme d'un comprimé par jour (Figure 16). Ce cocktail de 3 médicaments rassemblés dans un seul comprimé est considéré comme la première thérapie antirétrovirale hautement active (HAART, *Highly Active Antiretroviral Therapy*). ²⁶

PMPDAP : L'activité antivirale du PMPDAP **36** a été reportée en même temps que le PMPA en 1993. Balzarini *et al.* ont décrit ce composé comme étant plus actif sur les rétrovirus que le PMPA. Le PMPDAP est également actif contre VHB y compris les souches résistance au Lamivudine (3TC) avec une activité comparable au PMPA. ³⁹ Toutefois, l'étude du potentiel thérapeutique *in vivo* du PMPDAP pour le traitement des infections par le VIH et le VHB nécessite d'être développé davantage pour un éventuel développement clinique.

³⁵ Naesens, L., Balzarini, J., Rosenberg, I., Holý, A., De Clercq, E. 9- (2-Phosphonylmethoxyethyl)-2,6-diaminopurine (PMEDAP): a novel agent with anti-human immunodeficiency virus activity in vitro and potent anti-Moloney murine sarcoma virus activity in vivo. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **1989**, *8*, 1043–1047.

³⁶ Naesens, L., Neyts, J., Balzarini, J., Holý, A., Rosenberg, I., De Clercq, E. Efficacy of oral 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)-2,6-diamino-purine (PMEDAP) in the treatment of retrovirus and cytomegalovirus infections in mice. *J. Med. Virol.* **1993**, *39*, 167–172.

³⁷ Holý, A.; Dvořáková, H.; Jindřich; Masojídková, M.; Buděšínský, M.; Balzarini, J.; Andrei, G.; De Clercq, E. Acyclic Nucleotide Analogs Derived from 8-Azapurines: Synthesis and Antiviral Activity. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4073–4088.

³⁸ Balzarini, J.; Holy, A.; Jindrich, J.; Naesens L.; Snoeck, R.; Schols, D.; De Clercq, E. Differential antiherpesvirus and antiretrovirus effects of the (S) and (R) enantiomers of acyclic nucleoside phosphonates: potent and selective *in vitro* and *in vivo* antiretrovirus activities of (R)-9-(2-phosphonomethoxypropyl)-2,6-diaminopurine. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, *37*, 332–338.

³⁹ Ying, C., De Clercq, E., Neyts, J. Lamivudine, adefovir and tenofovir exhibit long-lasting anti-hepatitis B virus activity in cell culture. *J. Viral Hepatitis* **2000**, *7*, 79–83. (b) Ying, C., De Clercq, E., Nicholson, W., Furman, P., Neyts, J. Inhibition of the replication of the DNA polymerase M550V mutation variant of human hepatitis B virus by adefovir, tenofovir, L-FMAU, DAPD, penciclovir and lobucavir. *J. Viral Hepat.* **2000**, *7*, 161–165.

IV. Modification de la chaîne acyclique

De nombreuses modifications ont également été apportées à la structure générale de la chaîne acyclique des ANPs **11** afin d'optimiser leurs structures et par conséquent leurs activités. C'est après plusieurs années que Antonin Holý a finalement établi la relation structure activité des ANPs (Figure 19).⁴⁰

Considérant la nécessité d'avoir un atome d'oxygène à proximité de l'atome de phosphore, pour une reconnaissance optimale par les enzymes, il étudia 3 paramètres supplémentaires :

- la distance entre l'atome d'oxygène et l'atome de phosphore
- l'espacement entre l'atome d'oxygène et la nucléobase
- la nature et la position des substitutions sur la chaîne acyclique

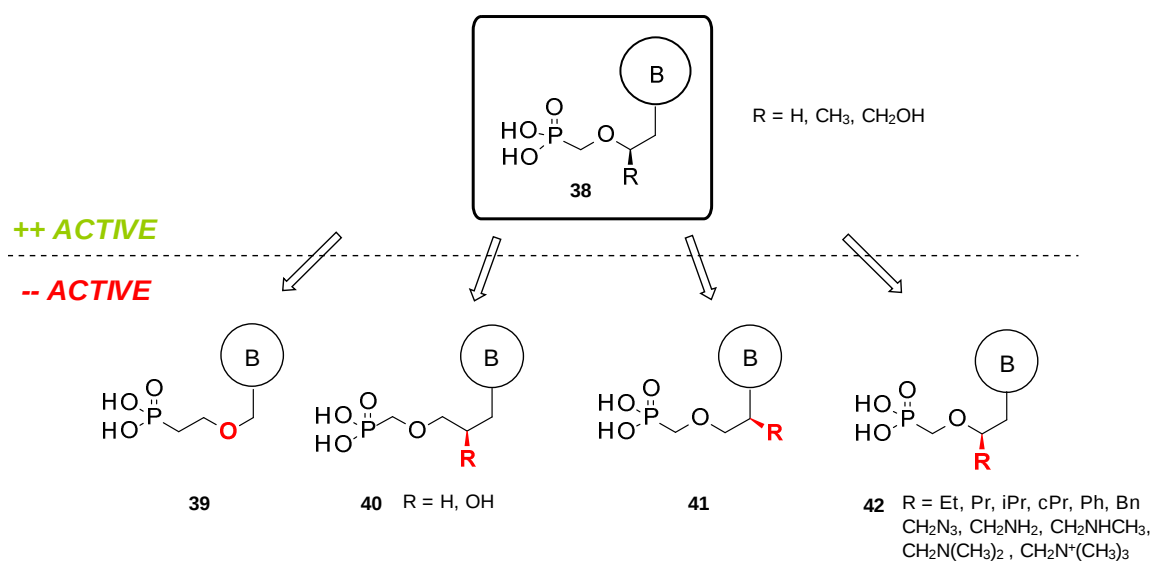


Figure 19. Relation structure-activité des ANPs.

Ainsi, la distance entre l'atome d'oxygène et l'atome de phosphore peut être au maximum d'un carbone. Seuls les composés de type phosphonométhyle éther **38** sont actifs. Les analogues de type phosphonoéthoxy **39** présentant un seul carbone supplémentaire sont déjà inactifs. La distance entre l'atome d'azote de la nucléobase et l'oxygène portant la fonction phosphonométhyle est également primordiale. Elle doit être exactement de 2 carbones de sorte à former une chaîne acyclique à 5 atomes en incluant le phosphore. Les composés 3-(phosphonométhoxy)propyle et 2-hydroxy-3-(phosphonométhoxy)propyle **40** sont inactifs.⁴¹ D'autre part, la substitution en α de la nucléobase tel que présenté sur le composé **41** est également à éviter. Cette substitution n'est tolérée qu'en position β et dans une seule configuration ((S)-HPMP et (R)-PMP). A ce jour, seuls les dérivés substitués par un méthyle (PMPA) ou un hydroxyméthyle (HPMPC) se sont avérés actifs. La substitution du méthyle des dérivés du PMP par d'autres groupements (**42**) tels que éthyle, propyle, isopropyle, cyclopropyle, benzyle ou phényle fait perdre toute activité. Même observation pour le

⁴⁰ Holý, A., Antiviral acyclic nucleoside phosphonates structure activity studies. *Antiviral Res.* **2006**, 71, 248-253.

⁴¹ Potmesil, P.; Krecmerova, M.; Kmonickova, E.; Holy, A.; Zidek Z. Nucleotide analogues with immunobiological properties: 9-[2-Hydroxy-3-(phosphonomethoxy)propyl]-adenine (HPMPA), -2,6-diaminopurine (HPMPDAP), and their N6-substituted derivatives. *Eur. J. Pharm.* **2006**, 540, 191-199.

remplacement de l'hydroxyle des HPMP par un azoture, une amine primaire, secondaire ou tertiaire, un ammonium ou une morpholine.⁴²

À titre d'exception, seuls les dérivés 3-fluoro-2-(phosphono-methoxy)propyle (FPMP) dans lesquels l'hydroxyle des HPMP est substitué par un atome de fluor ont donné des résultats intéressants. En effet, ces derniers sont spécifiquement actifs sur les rétrovirus et peuvent donc à ce titre être rapprochés des dérivés du PMP.⁴³

V. Les DAPys : une nouvelle classe d'ANPs

La seconde génération d'ANPs est représentée par des analogues dits "open ring". La structure des analogues de cette nouvelle génération est caractérisée par un noyau 2,4-diaminopyrimidine (DAPys) qui est relié à la chaîne latérale par une fonction éther en position 6 (Figure 20).⁴⁴ Ils peuvent être considérés comme analogues des dérivés 2,6-diaminopurines avec un noyau imidazole ouvert. Ces composés possèdent un fort potentiel antiviral sur une large variété de virus à ADN et ARN.⁴⁵ En effet, tout comme le HPMPA et le HPMP (cidofovir), le HPMP-DApy **43** est très actif sur les papilloma-, adéno-, -herpès-, et poxvirus tandis le PME-DApy **45** et le PMPO-DApy **44** maintiennent une forte activité contre les rétrovirus (VIH) et hepnavirus (VHB). De nombreux dérivés du PME-DApy substitués en position 5 ont également été reportés avec des activités prononcées sur les rétrovirus.⁴⁶ Toutefois, la métabolisation et le mode d'action des analogues DAPys restent encore à élucider. Il serait intéressant de déterminer si lors de l'incorporation à l'ADN (viral), ces dérivés pyrimidiques, isostères des dérivés puriques, occupent un site pyrimidique ou purique. Ainsi, cette nouvelle famille d'ANP nécessite de passer encore par de nombreuses étapes avant que le développement clinique ne soit envisagé.

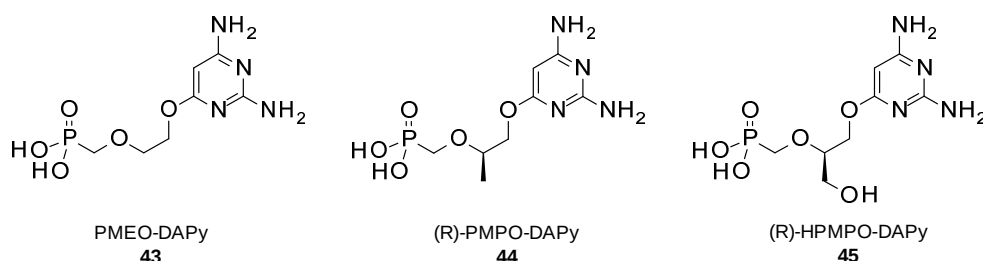


Figure 20. Analogues DiaminoPyrimidines (DAPys).

⁴² Dvorakova, H.; Masojdkova, M.; Holy, A.; Balzarini, J.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E. Synthesis of 2'-aminomethyl derivatives of N-(2-(phosphonomethoxy)ethyl) nucleotide analogues as potential antiviral agents. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3263-3268.

⁴³ (a) Balzarini, J.; Holy, A.; Jindrich, J.; Dvorakova, H.; Hao, Z.; Snoeck, R.; Herdewijn, P.; Johns, D. G. 9-[(2RS)-3-fluoro-2-phosphonylmethoxypropyl] derivatives of purines: a class of highly selective antiretroviral agents *in vitro* and *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1991**, *88*, 4961-4965. (b) Hartmann, K.; Kuffer, M.; Balzarini, J.; Naesens, L.; Goldberg, M.; Erfle, V.; Goebel, F. D.; Jindrich, J.; Holy, A.; Bischofberger, N.; Kraft, W. Efficacy of the acyclic nucleoside phosphonates (S)-9-(3-fluoro-2-phosphonylmethoxypropyl)adenine (FPMPA) and 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine (PMEA) against feline immunodeficiency virus. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* **1998**, *17*, 120-128.

⁴⁴ Holy, A.; Votruba, I.; Masojdková, A. G.; Snoeck, R.; Naesens, L.; De Clercq, E.; Balzarini, J. 6-[2-(phosphonomethoxy)alkoxy]pyrimidines with antiviral activity. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1918-1929.

⁴⁵ (a) Balzarini, J.; Pannecouque, C.; De Clercq, E.; Aquaro, S.; Perno, C.-F.; Egberink, H.; Holy, A. Antiretrovirus activity of a novel class of acyclic pyrimidine nucleoside phosphonates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 2185-2193. (b) De Clercq, E.; Andrei, G.; Balzarini, J.; Leyssen, P.; Naesens, L.; Neyts, J.; Pannecouque, C.; Snoeck, R.; Ying, C.; Hockova, D.; Holy, A. Antiviral potential of a new generation of acyclic nucleoside phosphonates, the 6-[2-(phosphonomethoxy)alkoxy]-2,4-diaminopyrimidines. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* **2005**, *24*, 331-341.

⁴⁶ (a) Hockova, D.; Holy, A.; Masojdkova, M.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Balzarini, J. 5-Substituted-2,4-diamino-6-[2-(phosphonomethoxy)ethoxy]pyrimidines-Acyclic nucleoside phosphonate analogues with antiviral activity. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5064-5073. (b) Hockova, D.; Holy, A.; Masojdkova, M.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Balzarini, J. Synthesis and antiviral activity of 2,4-diamino-5-cyano-6-[2-(phosphonomethoxy)ethoxy]pyrimidine and related compounds. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3197-3202.

VI. Les cibles thérapeutiques

1. Les nucléosides phosphates kinase (NPKs).

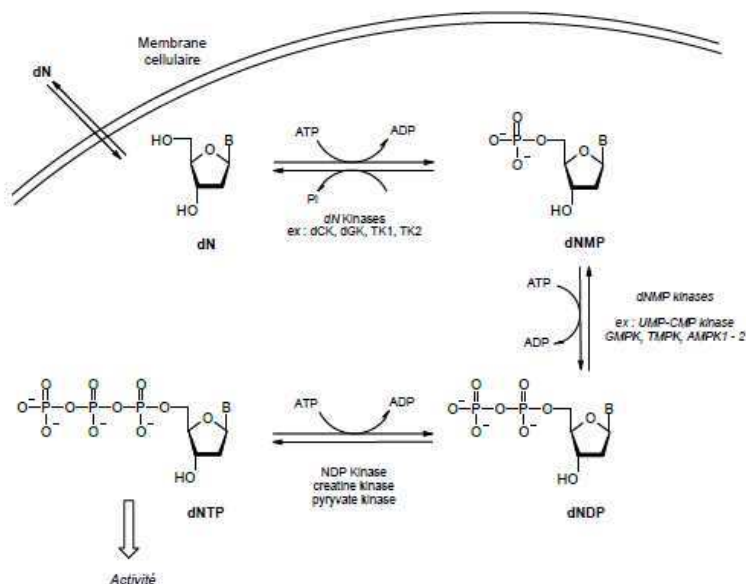


Figure 21. Rôle des kinases dans la phosphorylation des nucléosides.⁴⁷

Les nucléosides phosphates kinase (NPKs) forment une famille d'enzymes qui ont pour fonction de catalyser la phosphorylation des nucléosides. À ce titre, elles jouent un rôle primordial dans la synthèse des nucléotides qui sont nécessaires au bon fonctionnement de nombreux processus métaboliques cellulaires, dont notamment la synthèse de l'ARN et de l'ADN. La première phosphorylation est réalisée par transfert d'un groupement phosphate de l'ATP vers la position 5'-hydroxyle du nucléoside avec perte d'un groupement pyrophosphate. (Figure 21).

La forme monophosphate (NMP) subit ensuite deux phosphorylations supplémentaires afin d'arriver à la forme triphosphate (NTP) qui sera ensuite prise en charge par les polymérases. La première phosphorylation constitue l'étape limitante du processus. Étant donné l'importance des kinases dans la synthèse des acides nucléiques, elles constituent une cible thérapeutique de choix pour lutter contre la réplication du matériel génétique viral. Cette stratégie est particulièrement intéressante pour les virus possédant leur propre kinase pour réaliser l'étape de phosphorylation. En effet, les kinases virales sont souvent suffisamment différentes pour en faire des cibles thérapeutiques. Certains virus à herpès tel que le *herpes simplex virus 1* (HSV-1) possèdent une *thymidine kinase* (TK) qui reconnaît et phosphoryle non seulement la thymidine, mais aussi la *L*-thymidine, les dérivés de guanine (cycliques et acycliques), les nucléosides carbocycliques ainsi que de nombreux analogues de la 2'-déoxyuridine (C⁵-substitués, etc...). Ceci est rendu possible par la plus grande tolérance des kinases virales vis-à-vis des nucléosides modifiés comparées aux kinases cellulaires.

⁴⁷ Topalis, D.; Kumamoto, H.; Alexandre, J. A. C.; Dugué, L.; Pochet, S.; Berteina-Raboin, S.; Agrofoglio, L. A.; Deville-Bonne, D. Looking for New Pyrimidine Acyclic Nucleotide Analogues Designed for Phosphorylation by Human Ump-Cmp Kinase. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* **2007**, *26*, 1369-1373.

La différence de spécificité entre ces deux enzymes a ouvert la voie au développement de structures sélectivement phosphorylé par les kinases virales. En effet, cette différence permet de cibler uniquement la réplication virale sans interférer avec les kinases cellulaires réduisant ainsi les risques de toxicités. L'Acyclovir **18**, utilisé comme anti-herpétique sous le nom Zovirax, illustre parfaitement cette sélectivité. Lorsque l'acyclovir est administrée à une cellule non infectée, le composé n'est pas reconnu par les kinases cellulaires et par conséquent il ne peut pas être phosphorylé (Schéma 1).

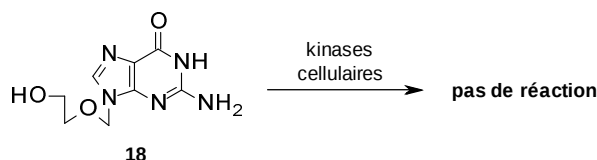


Schéma 1. Acyclovir dans une cellule non infectée.

C'est seulement dans une cellule infectée par HSV-1 que le composé peut être phosphorylé par la *thymidine kinase* virale sous la forme monophosphate (Schéma 2). Cette dernière est ensuite convertie sous sa forme triphosphate par les kinases cellulaires. La forme triphosphosphate de l'acyclovir a approximativement 100 fois plus d'affinité avec la polymérase virale que la polymérase cellulaire. Ainsi, il va être sélectivement inséré dans l'ADN viral par compétition avec les substrats 2'-déoxynucléoside 5'-triphosphate naturels et inhiber sa réplication.⁴⁸

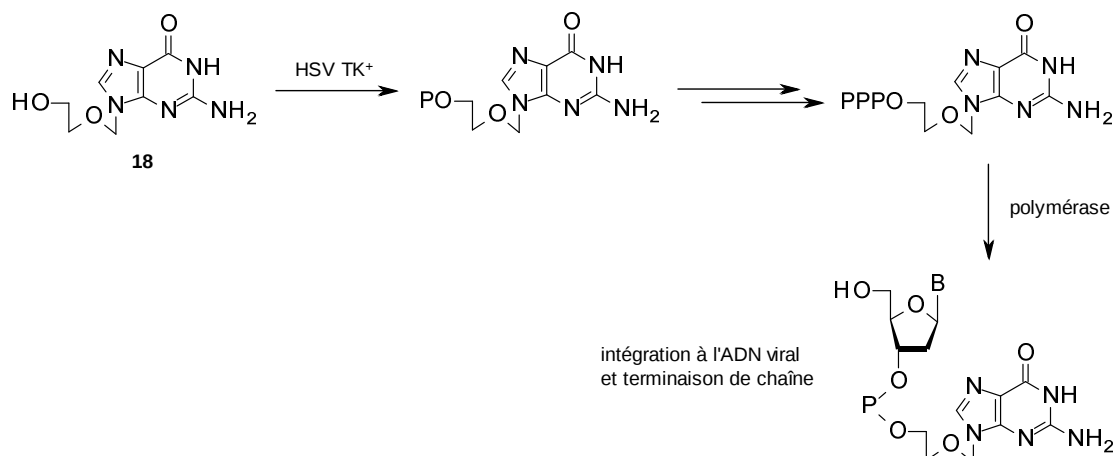


Schéma 2. Acyclovir dans une cellule infectée par HSV (TK⁺).

Malheureusement, la grande majorité des virus ne possèdent pas de kinases virales. Par conséquent, ils sont contraints d'utiliser les kinases cellulaires afin d'assurer leur réplication. Compte tenu de la plus faible tolérance des kinases cellulaires, le développement de structures pouvant être reconnu comme substrat devient plus difficile. Si la structure est reconnue puis convertie sous la forme triphosphate, elle pourra alors être intégrée à l'ADN viral par l'intermédiaire de la polymérase virale. Toutefois, dans la pratique, le composé est également substrat de la polymérase cellulaire causant une toxicité pour la cellule. D'autre part, l'administration de la molécule sous forme monophosphate (pro-nucléotide) ou phosphonate peut permettre de s'affranchir de l'étape limitante de première phosphorylation. L'approche pronucléotide sera

⁴⁸ (a) Reusser, P. Herpes virus resistance to antiviral drugs: a review of the mechanisms, clinical importance and therapeutic options. *J. Hosp. Inf.* **1996**, 33, 235-248. (b) Earnshaw, D. L.; Bacon, T. H.; Darlison, S. J.; Edmonds, K.; Perkins, R. M.; Vere Hodge, R. A. Mode of antiviral action of penciclovir in MRC-5 cells infected with herpes simplex virus type 1 (HSV-1), HSV-2, and varicella-zoster virus. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, 36, 2747-2757.

développée plus loin dans ce chapitre. Enfin, l'utilisation d'une forme triphosphate ne présente pas d'intérêt en raison d'un manque de biodisponibilité mais aussi d'une faible stabilité à pH physiologique et aux dégradations enzymatique.

2. Les polymérases

Les polymérases sont des enzymes qui assurent la synthèse de l'ADN et de l'ARN en utilisant comme monomère les nucléotides triphosphates préparés par les kinases. La synthèse est réalisée dans le sens 5' vers 3' en formant une liaison phosphodiester entre la fonction 3'-hydroxyle du brin allongé et la fonction 5'-phosphate du nucléotide ajouté. Étant donné que tous les virus possèdent une polymérase virale, cette enzyme a été une cible thérapeutique particulièrement exploitée dans la thérapie antivirale. À ce jour, de nombreux inhibiteurs nucléosidiques de la polymérase ont été approuvés par la FDA. L'**AZT 7** (3'-azido-2',3'-déoxythymidine), par exemple, est un excellent inhibiteur de la transcriptase inverse du VIH. Cette enzyme, qui fait partie de la famille des polymérases, a pour rôle de transcrire l'information génétique de l'ARN viral en ADN viral. L'incorporation de l'**AZT** sous forme triphosphate à l'ADN viral se solde par un arrêt de l'élongation par inhibition de la transcriptase inverse et/ou par effet terminateur de chaîne lié à l'absence de fonction 3'-hydroxyle (Figure 22).

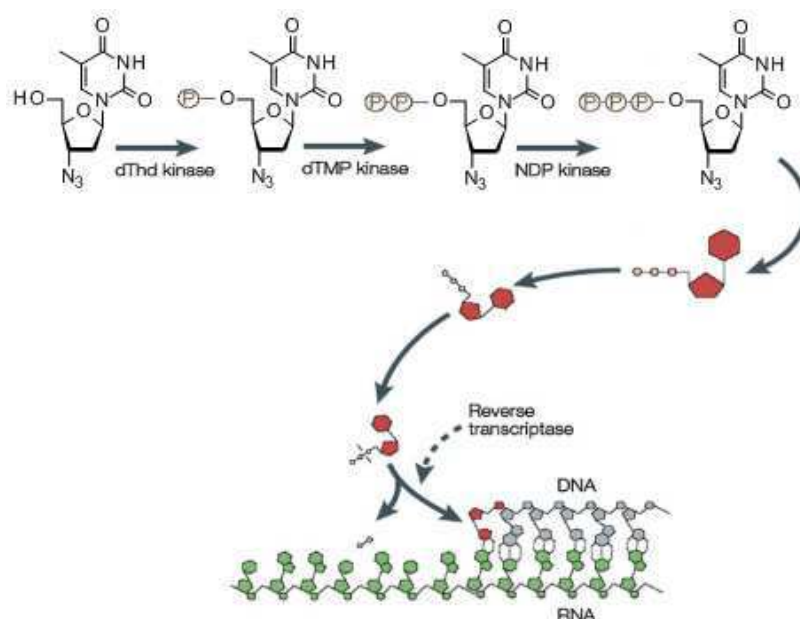


Figure 22. Mécanisme d'action de l'**AZT** d'après De Clercq.⁴⁹

Toutefois, comme précisé précédemment, les composés ne présentent jamais une parfaite sélectivité pour la polymérase virale et vont donc également être substrat de la polymérase cellulaire. L'intérêt pharmaceutique du composé sera alors déterminé par l'indice de sélectivité (SI) qui est défini par le rapport activité/toxicité. Un indice de sélectivité élevé signifie que le composé présente une bonne sélectivité pour la polymérase virale.

⁴⁹ De Clercq, E. Strategies in the design of antiviral drugs. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2002**, 1, 13-25.

3. Autres cibles

Il existe également de nombreux analogues de nucléosides qui expriment leurs activités antivirales en ciblant d'autres enzymes que les kinases et les polymérases. Ce type de nucléoside modifié présente un réel intérêt, car en inhibant des enzymes différentes, ils agissent en synergie avec les inhibiteurs de polymérases améliorant significativement l'effet antiviral. Parmi ces cibles thérapeutiques alternatives, on trouve notamment la *S*-adénosyl-L-homocystéine hydrolase (SAH hydrolase), l'*inosine* monophosphate déshydrogénase (IMPDH) ou encore la *cytidine* triphosphate synthase (CTP synthase).

3.1. La SAH hydrolase

La *S*-adénosyl-L-homocystéine hydrolase (SAH-Hydrolase) est une enzyme clé régulant les réactions de méthylation faisant intervenir la *S*-Adénosylméthionine **46** (Adomet, SAM) comme donneur de méthyle (Schéma 3). Sous l'action de la *S*-adénosylméthionine méthyle transférase, le SAM perd un groupement [CH₃] qui sera utilisé dans les réactions de méthylation de l'ARNm (5'-capping) indispensable à la synthèse des protéines.

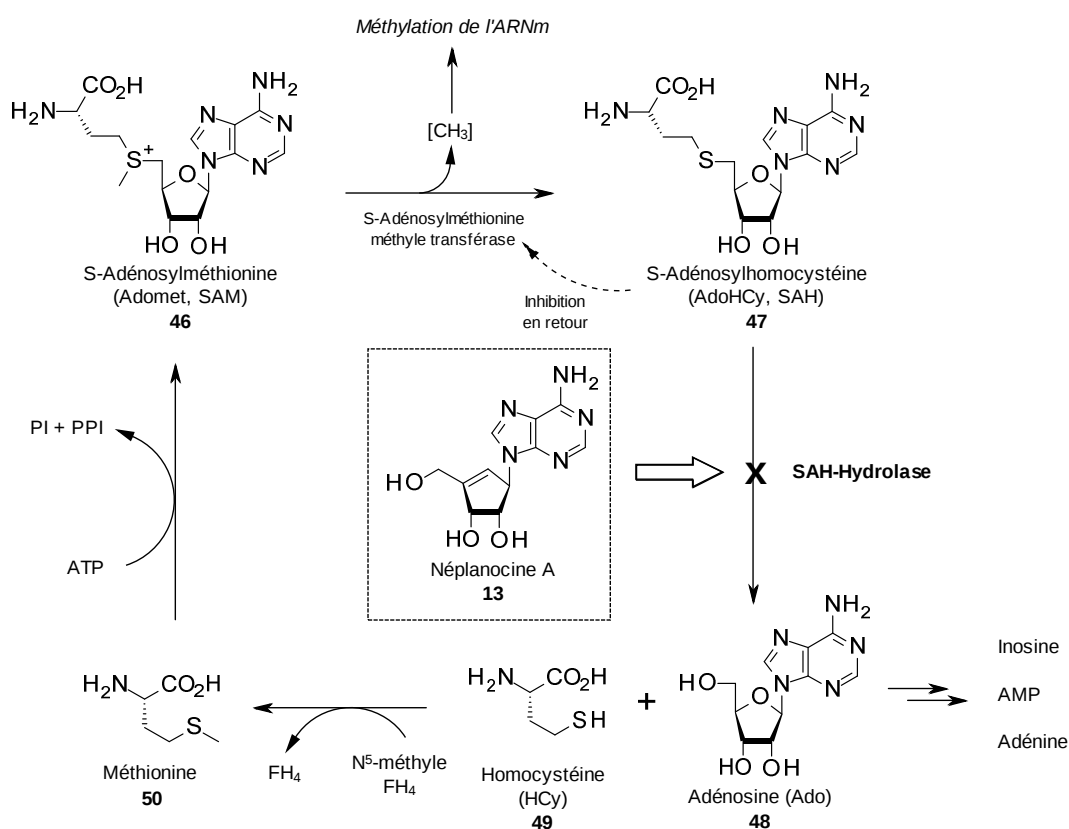


Schéma 3. Inhibition de la SAH hydrolase par la Néplanocine A.

Cette déméthylation génère alors la *S*-adénosylhomocystéine **47** (SAH) qui est hydrolysée par la *SAH-Hydrolase* en adénosine **48** (Ado) et homocystéine **49** (HCy). Cette métabolisation a pour fonction de réguler la concentration en SAH dans le milieu. La conséquence physiologique de l'accumulation de SAH dans la

cellule est le déclenchement d'une inhibition en retour (*feed back inhibition*) de la *S*-adénosylméthionine méthyle transférase et par conséquent des réactions de méthylations de l'ARNm.

Les réactions de méthylation constituent une étape clé dans la maturation de l'ARNm viral. Les inhibiteurs de la SAH-hydrolase présentent donc un intérêt évident dans la thérapie antivirale.⁵⁰ Ainsi, depuis que cette enzyme a été définie comme cible thérapeutique en 1977 par Chiang *et al.*⁵¹, de nombreux analogues carbocycliques et acycliques de l'adénosine ont été décrits comme inhibiteur de la SAH-hydrolase. De Clercq *et al.*⁵² ont mis en évidence que l'augmentation de la concentration cellulaire de la SAH en présence d'un inhibiteur de la SAH hydrolase, telle que la Néplanocine A **13**, était bien corrélée avec l'activité antivirale du composé. De plus, les inhibiteurs de la SAH hydrolase possèdent un grand spectre d'activité. Ainsi, ils ont actifs sur les pox-, rhabdo-, filo-, arena-, paramyxo-, reo-, rétro- et herpèsvirus (Figure 23).

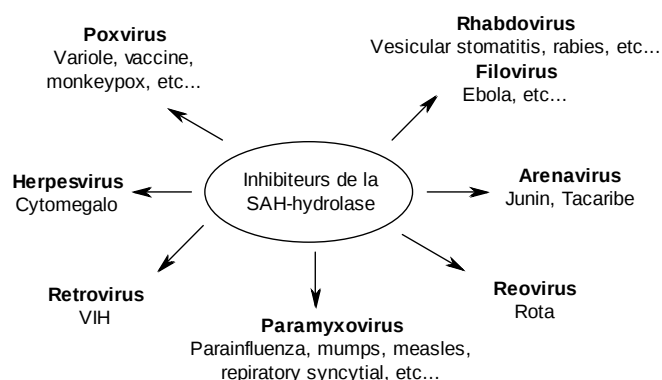


Figure 23. Spectre d'activité des inhibiteurs de la SAH hydrolase.

3.2. L'IMPDH

L'*inosine monophosphate déshydrogénase* (IMPDH) est une enzyme qui intervient dans la biosynthèse *de novo* des nucléotides puriques.⁵³ Elle a pour rôle de catalyser l'oxydation de l'inosine 5'-monophosphate **51** (IMP) en xanthosine 5'-monophosphate **52** (XMP) en présence de nicotinamide adénine dinucléotide NAD^+ (Schéma 4). La XMP est ensuite convertie en guanosine 5'-phosphate **53** (GMP) par l'intermédiaire de la *guanosine monophosphate synthétase*. L'oxydation catalysée par l'IMPDH constitue l'étape limitante de la biosynthèse de la GMP et constitue, à ce titre, une enzyme cible dans le développement d'antitumoraux, d'antiviraux, d'antiparasitiques mais aussi dans le traitement de maladies auto-immunes.⁵⁴

⁵⁰ Wolfe, M. S.; Borchardt, R. T. *S*-Adenosyl-*L*-homocysteine hydrolase as a target for antiviral chemotherapy. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1521-1530.

⁵¹ (a) Chiang, P. K.; Richards, H. H.; Cantoni, G. L. *S*-Adenosyl-*L*-homocysteine hydrolase: Analogues of *S*-adenosyl-*L*-homocysteine as potential inhibitors. *Mol. Pharmacol.* **1977**, *13*, 939-947. (b) Montgomery, J. A.; Clayton, S. J.; Thomas, H. J.; Shannon, W. M.; Arnett, G.; Bodner, A. J.; Kion, I. K.; Cantoni, G. L.; Chiang, P. K. Carbocyclic analog of 3-deazaadenosine: a novel antiviral agent using *S*-adenosylhomocysteine hydrolase as a pharmacological target. *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 626-629.

⁵² De Clercq, E. John Montgomery's Legacy: Carbocyclic Adenosine Analogues as SAH Hydrolase Inhibitors with Broad-Spectrum Antiviral Activity. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* **2005**, *24*, 1395-1415.

⁵³ Shu, Q.; Nair, V. Inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) as a target in drug discovery. *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 219-232.

⁵⁴ (a) Franchetti, P.; Cappellacci, L.; Grifantini, M. IMP dehydrogenase as a target of antitumor and antiviral chemotherapy. *Farmaco* **1996**, *51*, 457-469. (b) Nair, V.; Ussery, M. A., New hypoxanthine nucleosides with RNA antiviral activity. *Antiviral Res.* **1992**, *19*, 173-178. (c) Ratcliffe, A. J. Inosine 5'-monophosphate dehydrogenase inhibitors for the treatment of autoimmune diseases. *Curr. Opin. Drug. Discov. Dev.* **2006**, *9*, 595-605.

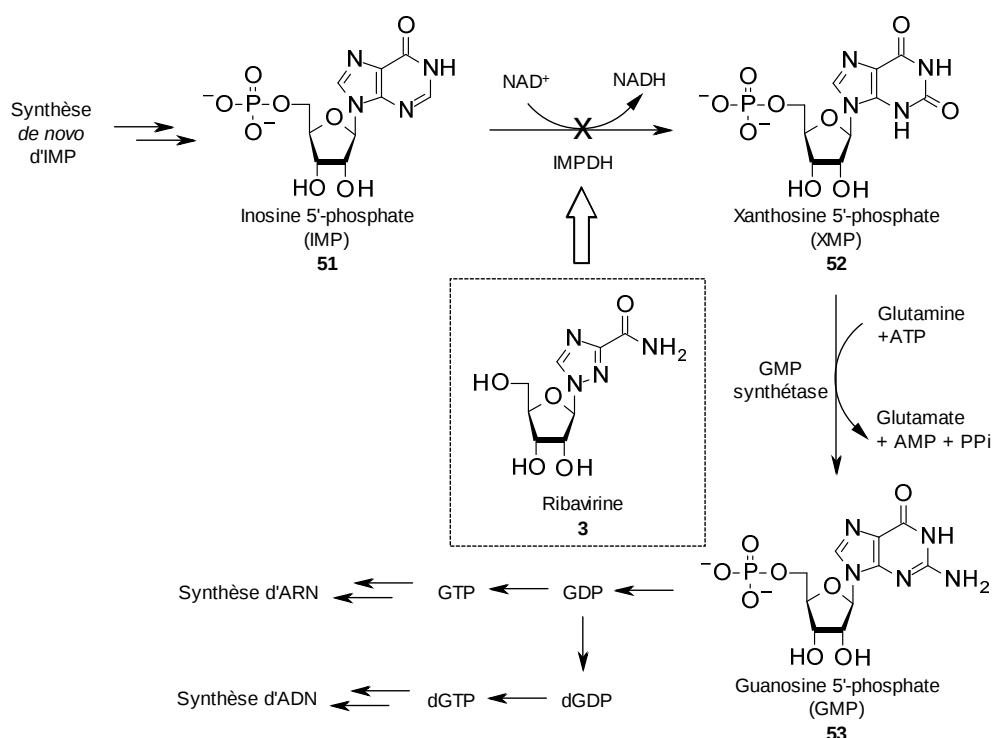


Schéma 4. Mécanisme de l'inhibition de l'IMPDH par la Ribavirine.

Parmi les inhibiteurs de l'IMPDH, le cas de la ribavirine **3** (β -D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide) est particulièrement intéressant. Cet antiviral est aujourd'hui principalement utilisé dans le traitement de l'hépatite C chronique et des infections respiratoires liées au syncytial virus. Une étude menée sur le poliovirus a démontré que l'activité antivirale de la ribavirine repose principalement sur un effet mutagène létal.⁵⁵ L'accumulation importante d'erreurs lors de la copie du génome rend alors le virus inapte à la réplication par effet "error catastrophe".⁵⁶ De plus, l'activité de la ribavirine est amplifiée par la réduction de la concentration en GTP causée par l'inhibition de l'IMPDH par la ribavirine monophosphate. En effet, la réduction de la concentration en GTP dans le milieu a pour effet d'augmenter significativement l'incorporation de la ribavirine triphosphate par les polymérases puisqu'il agit comme analogue de la GTP.

3.3. La CTP synthase

La *cytidine triphosphate synthase* (CTP synthase) est une enzyme qui intervient dans la biosynthèse *de novo* des bases pyrimidiques (Schéma 5). Plus précisément, elle a pour rôle de catalyser la conversion de l'uridine triphosphate **54** (UTP) en cytidine triphosphate **55** (CTP). La fonction amine est introduite par l'intermédiaire de l'ammoniac qui est généré par l'hydrolyse de la glutamine en glutamate.

⁵⁵ Crotty, S.; Maag, D.; Arnold, J. J.; Zhong, W.; Lau, J. Y. N.; Hong, Z.; Andino, R.; Cameron, C. E. The broad-spectrum antiviral ribonucleoside ribavirin is an RNA virus mutagen. *Nat. Med.* **2000**, *6*, 1375-1379.

⁵⁶ Crotty, S.; Cameron, C. E.; Andino, R., RNA virus error catastrophe: Direct molecular test by using ribavirin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, *98*, 6895-6900.

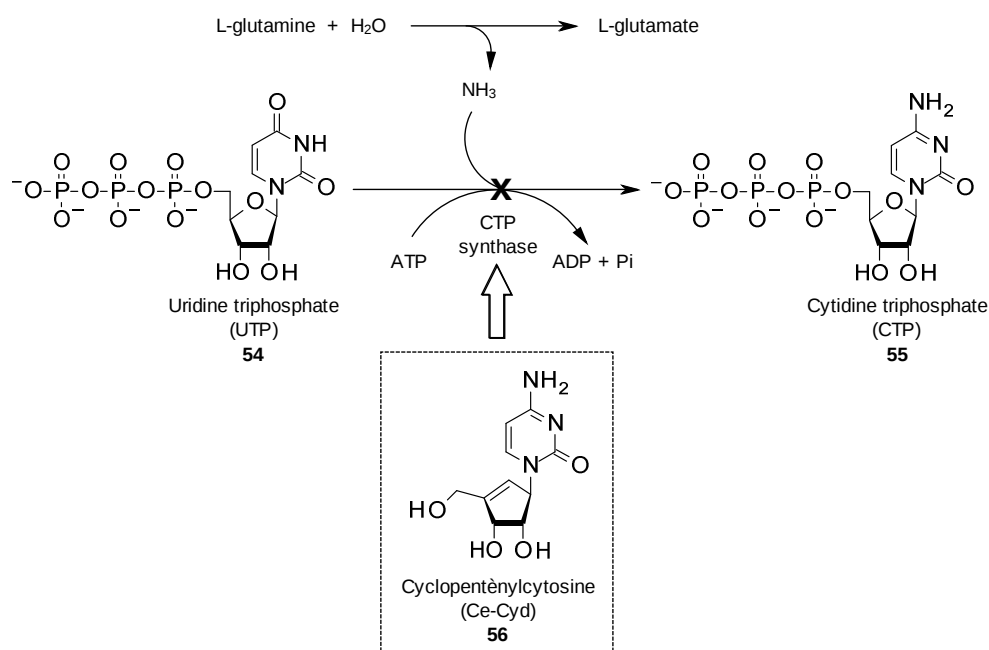


Schéma 5. Inhibition de la CTP synthase par Ce-Cyd.

La cyclopentènylcytosine (Ce-Cyd) **56** a été reporté par Driscoll *et al.*⁵⁷ pour ses propriétés antivirales et antitumorales. L'activité de cette structure carbocyclique est due à une inhibition de la *CTP synthase*. En effet, la baisse de la réplication virale et de la progression des cellules tumorales dans les cellules traitées semble être étroitement liée à la réduction de la concentration en CTP. Le Ce-Cyd **56** possède une activité prononcée sur le HSV-1 (TK⁺ et TK⁻), HSV-2, VZV, CMV ainsi que le virus de la vaccine.⁵⁸

VII. L'approche pronucléotide

Les analogues de nucléosides utilisés en chimiothérapie antivirale présentent parfois une faible biodisponibilité qui limite leur effet thérapeutique. Ceci peut être dû à une métabolisation trop rapide ou une faible solubilité ou encore une faible pénétration cellulaire. Dans le cadre des ANPs, la faible pénétration cellulaire est essentiellement liée au caractère chargé de l'acide phosphonique à pH physiologique (Figure 24). Pour pallier à ce problème, les analogues de nucléosides peuvent être convertis sous leurs formes prodrogues, par ajout de groupements biolabiles sur la fonction 5'-phosphate ou phosphonate de sorte à "masquer" la forme chargée.⁵⁹ Cette stratégie améliore considérablement la solubilité et la pénétration cellulaire permettant aux composés d'exprimer pleinement leur potentiel thérapeutique. Les dérivés obtenus sont alors appelés pronucléotides.

⁵⁷ Marquez, V. E. ; Lim, M. I. ; Treanor, S. P. ; Plowman, J. ; Priest, A. ; Markovac, A. ; Khan, M. S. ; Kaskar, B. ; Driscoll, J. S. Cyclopentenylcytosine. A carbocyclic nucleoside with antitumor and antiviral properties. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1687-1694.

⁵⁸ De Clercq, E. ; Murase, J. ; Marquez, V. E. Broad spectrum antiviral and cytotoxic activity of cyclopentenylcytosine, a carbocyclic nucleoside targeted at CTP synthase. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, *41*, 1821-1829.

⁵⁹ (a) Wagner, C. R. ; Iyer, V. V. ; McIntee, E. J., Pronucleotides: Toward the in vivo delivery of antiviral and anticancer nucleotides. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 417-451. (b) Drontle, D. P. ; Wagner, C. R. Designing a Pronucleotide Stratagem: Lessons from Amino Acid Phosphoramidates of Anticancer and Antiviral Pyrimidines. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 409-419.

La forme monophosphate ou l'acide phosphonique sont alors libéré *in cellulo* par une dégradation chimique et/ou enzymatique des groupements biolabiles. Le composé NMP est ensuite pris en charge par les NMPKs puis les NDPKs pour former la forme active NTP qui est intégrée à l'ADN en cours d'élongation par l'intermédiaire des polymérases.

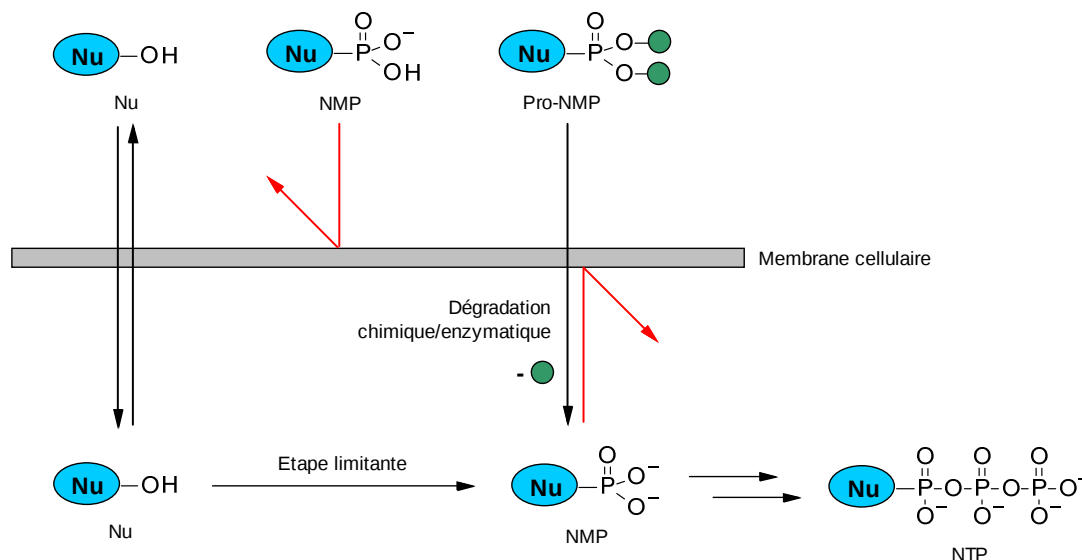


Figure 24. Intérêt et mode d'action des prodrogues.

Bien qu'il existe de nombreux types de prodrogues, on retrouve souvent des dérivés de types phosphono mono- ou diester biolabile. D'une manière générale les groupements biolabiles doivent posséder un bon caractère lipophile ainsi qu'une bonne solubilité/stabilité dans les fluides physiologiques. De plus, la conception des prodrogues doit également prendre systématiquement en compte les sous-produits générés lors de leur dégradation puisqu'ils peuvent présenter une toxicité pour la cellule. La figure 25 résume les principaux groupements biolabiles utilisés aujourd'hui à travers quelques exemples appliqués aux nucléosides. On peut notamment citer les diaryles esters **57**,⁶⁰ les aryles phosphoramidates **58** et **59**,⁶¹ les acycloalkyles esters **60** et **61**,^{62,63} les diamides **62**,⁶⁴ les HeptDirect **63** et **64**,⁶⁵ les S-Acyle thioéthyle (SATE) **65**,⁶⁶ les cycloSal **66**⁶⁷ et les esters lipidiques **67** et **68**.⁶⁸ Chaque groupement biolabile possède des caractéristiques différentes autant du point de vue de leur stabilité que de leur mécanisme de dégradation

⁶⁰ Serafinowska, H. T.; Ashton, R. J.; Bailey, S.; Harnden, M. R.; Jackson, S. M.; Sutton, D. Synthesis and in vivo evaluation of prodrugs of 9-[2-phosphonomethoxyethoxy]adenine. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1372–1379.

⁶¹ Ballatore, C.; McGuigan, C.; De Clercq, E.; Balzarini, J. Synthesis and evaluation of novel amidate prodrugs of PMEA and PMPA. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1053–1056.

⁶² Starrett, J. E.; Tortolani, D. R.; Russell, J.; Hitchcock, M. J.; Whiterock, V.; Martin, J. C.; Mansuri, M. M. Synthesis, oral bioavailability determination, and in vitro evaluation of prodrugs of the antiviral agent 9-[2-(phosphonomethoxy)ethyl]adenine (PMEA). *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1857–1864.

⁶³ Arimilli, M. N.; Kim, C. U.; Dougherty, J.; Mulato, A.; Oliyai, R.; Shaw, J. P.; Cundy, K. C.; Bischofberger, N. Synthesis, in vitro biological evaluation and oral bioavailability of 9-[2-(phosphonomethoxy)propyl]adenine (PMPA) prodrugs. *Antiviral Chem. Chemother.* **1997**, *8*, 557–564.

⁶⁴ Jones, B. C. N. M.; McGuigan, C.; O'Connor, T. J.; Jeffries, D. J.; Kinchington, D. Synthesis and anti-HIV activity of some novel phosphorodiamidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT). *Antiviral Chem.* **1991**, *2*, 35–39.

⁶⁵ Erion, M. D.; Reddy, K. R.; Boyer, S. H.; Matelich, M. C.; Gomez-Galeno, J.; Lemus, R. H.; Ugarkar, B. G.; Colby, T. J.; Schanzer, J.; Van Poelje, P. D. Design, synthesis, and characterization of a series of cytochrome P450 3A-activated prodrugs (HepDirect prodrugs) useful for targeting phosph(on)ate-based drugs to the liver. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5154–5163.

⁶⁶ Perigaud, C.; Gosselin, G.; Lefebvre, I.; Girardet, J. L.; Benzaria, S.; Barber, I.; Imbach, J. L. Rational design for cytosolic delivery of nucleoside monophosphates: "SATE" and "DTE" as enzyme-labile transient phosphate protecting groups. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 2521–2526.

⁶⁷ (a) Meier, C. *cycloSal* phosphates as chemical trojan horses for intracellular nucleotide and glycosylmonophosphate delivery – chemistry meets biology. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1081–1102. (b) Meier, C.; Görbig, U.; Müller, C.; Balzarini, J. *CycloSal*-PMEA and *cycloAmb*-PMEA: potentially new phosphonate prodrugs based on the *cycloSal*-pronucleotide approach. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 8079–8086.

⁶⁸ Hostetler, K. Y.; Stuhmiller, L. M.; Lenting, H. B. M.; Van den Bosch, H.; Richman, D. D. Synthesis and antiretroviral activity of phospholipid analogs of azidothymidine and other antiviral nucleosides. *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 6112–6117.

qui orientent leurs utilisations.⁶⁹ La prise en charge *in cellulo* de ces groupements biolabiles est souvent réalisée par des enzymes tels que les réductases et les carboxylestérases.

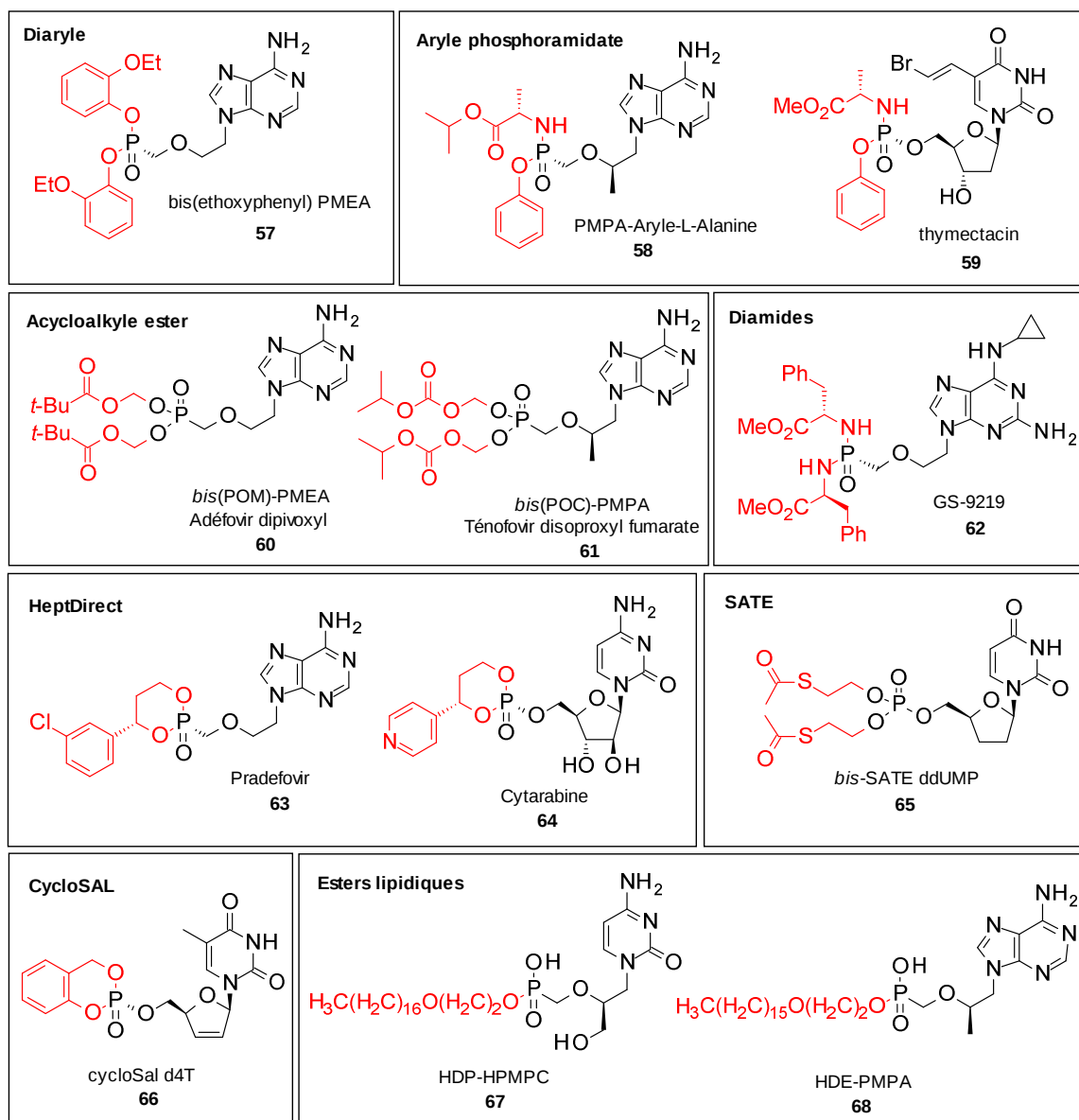


Figure 25. Quelques exemples de prodrogues.

▪ les aryles phosphoramidates

Développés dans les années 90, les aryles phosphoramidates ont été à l'origine de l'engouement pour les prodrogues et ont particulièrement été étudiés dans la préparation de nucléosides monophosphates.⁷⁰ La structure de ce groupement biolabile est composée d'un α -aminoester et d'une fonction phénol possédant par conséquent un centre stéréogène au niveau du phosphore. McGuigan a été le premier à reporter une

⁶⁹ (a) Hecker, S. J.; Erion M. D. Prodrugs of phosphates and phosphonates. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2328-2345. (b) Schultz, C. Prodrugs of biologically active phosphate esters. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 885-898.

⁷⁰ Cahard, D.; McGuigan, C.; Balzarini, J. Aryloxy phosphoramidate triesters as protides. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 371-381.

structure portant un aryle phosphoramidate dans le cadre de la synthèse de prodrogues de l'AZT.⁷¹ L'étude de celle-ci a mis en évidence une augmentation significative de la concentration intracellulaire de la forme monophosphate de l'AZT. Plus tard, d'autres études réalisées avec la prodrogue aryle phosphoramidate du d4T ont également montré une activité multipliée par un facteur 10.⁷² Bien que de nombreux composés ont été reportés et évalués sous forme prodrogue phosphoramidate, le Sofosbuvir **10** (cf. page 15) sera probablement le premier médicament à porter ce groupement biolabile (sous réserve d'acceptation par la *Food and drug administration*).

Autre prodrogue phosphoramidate, la thymectacin **59** issue du BVdU, est actuellement en phase clinique avancée pour le traitement du cancer du côlon de par sa toxicité sélective envers les cellules tumorales surexprimant la *thymidilate synthase*.⁷³ Bien que la thymectacin soit étudiée dans sa forme racémique, il convient parfois de déterminer l'activité antivirale ou antitumorale de chacun des isomères. En effet, la compagnie Gilead a également étudié une forme prodrogue aryle-L-Alanine du Ténofovir **58** (GS-7340) en phase clinique en révélant qu'un des isomères était 12 fois plus actif que l'autre sur la *transcriptase inverse* du VIH.⁷⁴ Toutefois, malgré une accumulation préférentielle du dérivé dans les tissus lymphatiques comparé à la forme *bis*-POC-PMPA **61**, le développement du composé a été arrêté par la compagnie.

Dans la cellule, la dégradation de cette prodrogue est initiée par une hydrolyse enzymatique via une estérase pour donner le carboxylate **70** (Schéma 6). Ce dernier réalise ensuite une cyclisation intramoléculaire en substituant le phénol pour donner un intermédiaire cyclique à 5 chaînons **71** qui est à son tour hydrolysé pour donner l'acide phosphoramidique **72**. Enfin, ce monoamidate est ensuite hydrolysé par une phosphoramidase pour donner l'acide phosphonique **73** et la L-alanine comme sous produit.

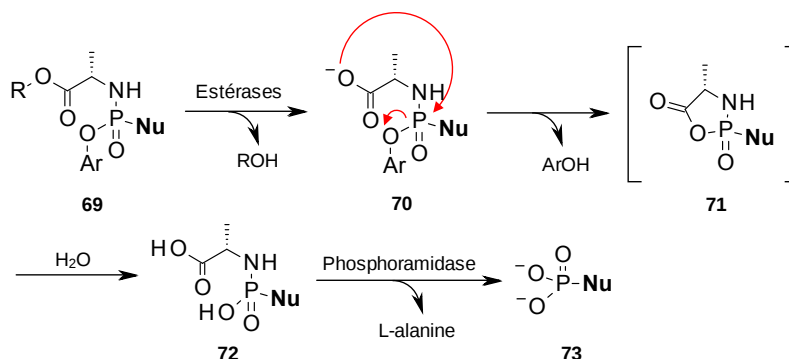


Schéma 6. Activation des prodrogues phosphoramidates.

⁷¹ (a) McGuigan, C.; Devine, K. G.; O'Connor, T. J.; Kinchington, D. Synthesis and anti-HIV activity of some haloalkyl phosphoramidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT): potent activity of the trichloroethyl methoxyalaninyl compound. *Antiviral Res.* **1991**, *15*, 255–263. (b) McGuigan, C.; Pathirana, R. N.; Balzarini, J.; De Clercq, E. Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1048–1052.

⁷² McGuigan, C.; Cahard, D.; Sheeka, H. M.; De Clercq, E.; Balzarini, J. Aryl phosphoramidate derivatives of d4T have improved anti-HIV efficacy in tissue culture and may act by an entirely new mechanism of reverse transcriptase inhibition. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1748–1753.

⁷³ Pegram, M.; Ku, N.; Shepard, M.; Speid, L.; Lenz, H.-J. Enzyme catalyzed therapeutic activation (ECTA) NB1011 (thymectacin) selectively targets thymidilate synthase (TS)-overexpressing tumor cells: preclinical and phase I clinical results. *Eur. J. Cancer* **2002**, *38*, 34.

⁷⁴ Lee, W. A.; He, G. X.; Eisenberg, E.; Cihlar, T.; Swaminathan, S.; Mulato, A.; Cundy, K. C. Selective intracellular activation of a novel prodrug of the human immunodeficiency virus reverse transcriptase inhibitor tenofovir leads to preferential distribution and accumulation in lymphatic tissue. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 1898–1906.

▪ les acycloalkylesters

Les prodrogues appartenant à la famille des acycloalkylesters de type POM et POC constituent à ce jour les formes prodrogues les plus reconnues. En effet on les retrouve dans deux composés majeurs : l'Adefovir dipivoxil (Espera®) utilisé dans le traitement de l'hépatite B **60** et le Ténofovir disoproxil fumarate **61** (Viread®) utilisé comme agent anti-VIH. Les acyloxyalkylesters sont constitués d'un groupement oxyméthyle sur lequel on peut trouver une fonction ester (POM) ou carbonate (POC). Initialement, les premières évaluations antivirales de l'Adéfovir dipivoxil ont révélé une activité prononcée sur le VIH. Finalement, ce composé a dû être abandonné dans le traitement du VIH en raison d'une néphrotoxicité (effet poison) importante à la dose requise de 120 mg/jour.⁷⁵ Plus tard, des études cliniques menées sur le VHB ont révélé une activité significative à une dose non toxique nettement inférieure de 10 mg/jour (Espera®).⁷⁶ Il est important de noter que le succès de ce composé est en partie dû à sa forme prodrogue *bis*-POM qui permet une amélioration de son activité par un facteur 200.⁷⁷ L'Adéfovir dipivoxil est aujourd'hui utilisé dans le traitement de l'hépatite B chronique. Dans le cas du Ténofovir, un groupement biolabile de type POC a été choisi en raison de sa stabilité chimique et d'une amélioration de la biodisponibilité dans le cadre d'une administration par voie orale.⁶³ De plus, le Ténofovir disoproxil est commercialisé sous forme de sel de fumarate stabilisant le carbonate dans les conditions acides de l'estomac par effet tampon. Cet inhibiteur de la transcriptase inverse du VIH est approuvé depuis 2001 dans le traitement des patients atteints du SIDA avec une dose journalière de 300 mg (Viread®).

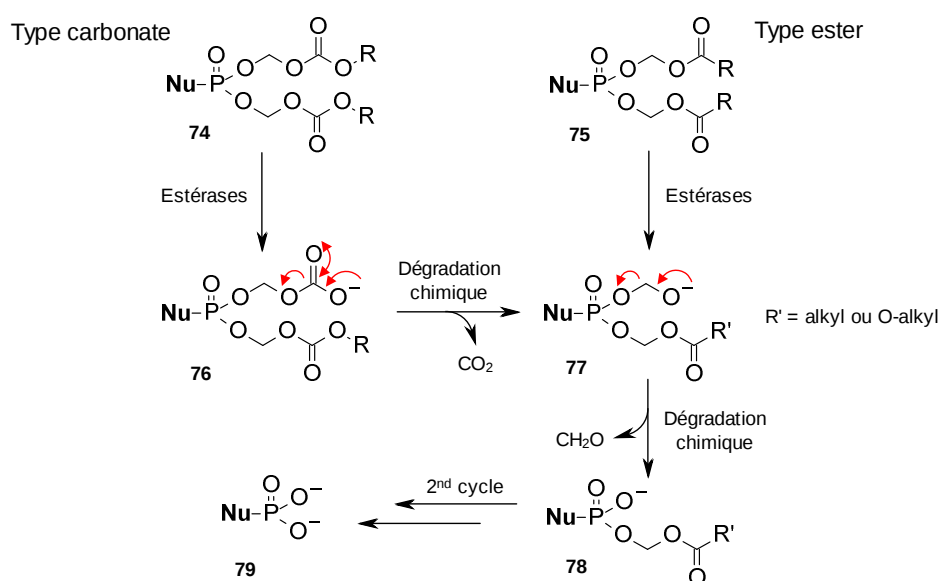


Schéma 7. Activation des prodrogues acycloalkyles esters

⁷⁵ (a) Naesens, L.; Balzarini, J.; Bischofberger, N.; De Clercq, E. Antiretroviral activity and pharmacokinetics in mice of oral bis(pivaloyloxymethyl)-9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine, the bis(pivaloyloxymethyl) ester prodrug of 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 22–28. (b) De Clercq, E. Clinical potential of the acyclic nucleoside phosphonates didanosine, zalcitabine, and zalcitabine in treatment of DNA virus and retrovirus infections. *Clin. Microbiol. Rev.* **2003**, *16*, 569–596.

⁷⁶ (a) Hadziyannis, S. J.; Tassopoulos, N. C.; Heathcote, E. J.; Chang, T.-T.; Kitis, G.; Rizzetto, M.; Marcellin, P.; Lim, S. G.; Goodman, Z.; Wulfsohn, M. S.; Xiong, S.; Fry, J.; Brosgart, C. L. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen–negative chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 800–807. (b) Marcellin, P.; Chang, T.-T.; Lim, S. G.; Tong, M. J.; Sievert, W.; Schiffman, M. L.; Jeffers, L.; Goodman, Z.; Wulfsohn, M. S.; Xiong, S.; Fry, J.; Brosgart, C. L. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen–positive chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 808–816.

⁷⁷ (a) Starrett, J. E. Jr.; Tortolani, D. R.; Russell, J.; Hitchcock, M. J.; Whiterock, V.; Martin, J. C.; Mansuri, M. M. Synthesis, oral bioavailability determination, and *in vitro* evaluation of prodrugs of the antiviral agent 9-[2-(phosphonomethoxy)ethyl]adenine (PMEA). *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1857–1864. (b) Srinival, R.; V.; Robbins, B. L.; Connelly, M. C.; Gong, Y.-F.; Bischofberger, N.; Fridland, A. Metabolism and *in vitro* antiretroviral activities of bis(pivaloyloxymethyl) prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, *37*, 2247–2250.

La conversion des prodrogues acycloalkylesters POC **74** et POM **75** en acide phosphonique est réalisée par une succession d'étapes de dégradation enzymatique et chimique (Schéma 7). Les estérases commencent par hydrolyser l'ester ou le carbonate pour générer un intermédiaire commun de type hydroxyméthyle **77** qui se décompose spontanément en générant un acycloalkyle monoester **78** ainsi que du formaldéhyde. Enfin, la répétition de ce cycle permet alors d'obtenir la forme acide phosphonique **79**. Les enzymes impliquées dans le clivage de ces prodrogues sont principalement les carboxylestérases, les paraoxonases et les cholinestérases.⁷⁸ Il est à noter que la présence de ces enzymes dans l'intestin est souvent responsable d'une réduction de la biodisponibilité dans le cadre d'une administration par voie orale.

▪ les HeptDirects

La dégradation prématurée des prodrogues avant de pouvoir atteindre leurs cibles constituent la principale limitation dans leur utilisation. Cependant, en concevant les groupements biolabiles de façon raisonnée, il est possible de cibler particulièrement certains organes où seuls se trouvent les enzymes capables de prendre en charge leur dégradation. Ainsi, outre l'augmentation de la biodisponibilité, les prodrogues peuvent également devenir d'excellents outils de vectorisation. À ce titre, les prodrogues HeptDirect⁷⁹ illustrent parfaitement ce concept puisqu'ils ont été conçus pour être sélectivement activé dans le foie par le cytochrome P₄₅₀.⁶⁵ Le Pradéfovir **63**, prodrogue HeptDirect du PMEA, est actuellement en phase clinique pour le traitement ciblé des infections liées au virus de l'hépatite B. En effet, les études *in vivo* ont montré que lorsque le PMEA est administré sous forme HeptDirect, la concentration de la forme métabolisée dans le foie est 12 fois supérieur comparé à celle du *bis*-POM-PMEA **60**. Les HeptDirects sont des phosphonates cycliques à 6 chaînons α -substitué par un groupement aryle. Le cytochrome P₄₅₀ majoritairement présent dans le foie réalise d'abord une oxydation de la position benzylique générant un hémicétale cyclique **81** (Schéma 8). Ce dernier subit une ouverture spontanée qui est suivie d'une β -élimination pour donner la forme acide phosphonique **95**. La vinyle cétone **83** issue de cette élimination présente une toxicité importante en raison de son fort caractère électrophile. Au sein de la cellule, il est piégé par la glutathione sous forme réduite (GSH).

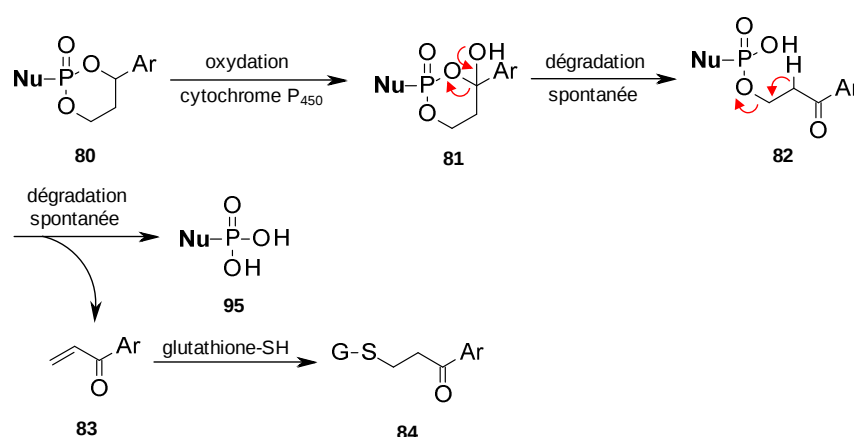


Schéma 8. Activation des prodrogues HeptDirect.

⁷⁸ Liederer, B. M.; Borchardt, R. T. Enzymes involved in the bioconversion of ester-based prodrugs. *J. Pharm. Sci.* **2006**, *95*, 1177–1195.

⁷⁹ Erion, M. D.; Bullough, D. A.; Lin, C. C.; Hong, Z. HepDirect prodrugs for targeting nucleotide-based antiviral drugs to the liver. *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2006**, *7*, 109–117.

▪ les SATE

Les produits de dégradations des prodrogues peuvent parfois être un véritable frein à leur développement comme ce fut le cas avec les prodrogues *S*-Acylthioéthyle (SATE).⁸⁰ Ainsi, malgré de nombreuses applications sur les phosphates dans les tests *in vitro* avec notamment la ddU **65**, le développement des SATE a été grandement limité par la toxicité supposée du sous-produit issu de sa dégradation. En effet, l'hydrolyse du SATE par les estérases génère une espèce intermédiaire thioéthyle qui se décompose spontanément en libérant de l'éthylène sulfide qualifié d'agent toxique (Schéma 9). Malgré tout, les SATE trouvent encore quelques applications intéressantes notamment dans les ANPs. Par exemple, la prodrogue SATE du PMEa a révélé des activités équivalentes à la forme *bis*-POM avec en plus une stabilité accrue face aux sucs gastriques.⁸¹

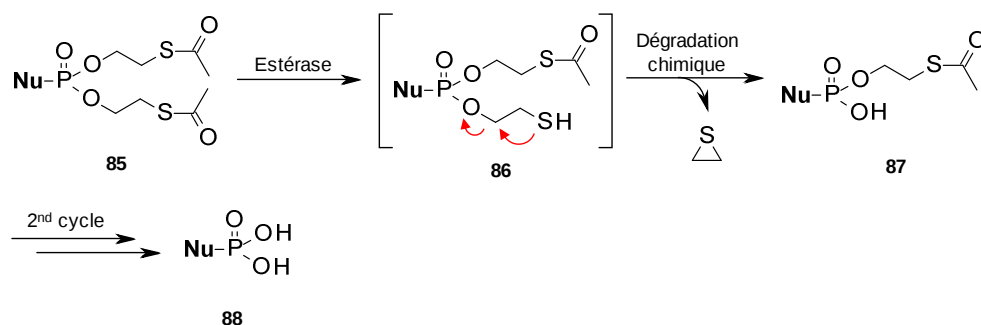


Schéma 9. Activation des prodrogues SATE.

▪ les alkoxyalkyles

Particulièrement développées par le groupe d'Hostetler, les prodrogues de type alkoxyalkyles sont des monoesters phosphoniques portant une longue chaîne alkoxyalkyle lipophile. Cette classe de prodrogue augmente de façon conséquente la biodisponibilité des analogues de nucléosides. A ce titre, la prodrogue alkoxyalkyle du cidofovir, la hexadécyloxypropyl-HPMPC **67** (HDP-HPMPC), actuellement en phase clinique III (CMX001, Brincidofovir), pourrait à l'avenir rendre possible l'administration du médicament par voie orale. En effet, en raison d'une biodisponibilité orale trop faible (< 5 %), le cidofovir est actuellement administré sous forme acide phosphonique par injection intraveineuse et possède une néphrotoxicité importante essentiellement due à une accumulation du médicament dans les reins.⁸² La préparation d'une forme prodrogue diester du cidofovir (HPMPC) est particulièrement difficile en raison de la chaîne latérale hydroxyméthyle. En effet, cette dernière cause souvent la cyclisation de la structure pour donner un phosphonate cyclique à 6 chaînons. Les monoesters alkoxyalkyles constituent donc une approche alternative très prometteuse. A titre de comparaison, la prodrogue monoester HDP du cidofovir (HDP-HPMPC) est 4-8 fois plus active *in vivo* que le cidofovir, possède une biodisponibilité orale de 93 % et permet une réduction

⁸⁰ Peyrottes, S.; Egron, D.; Lefebvre, I.; Gosselin, G.; Imbach J.-L.; Perigaud, C. SATE Pronucleotide Approaches: An Overview. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 395-408.

⁸¹ Benzaria, S.; Pelicano, H.; Johnson, R.; Maury, G.; Imbach, J.-L.; Aubertin, A.-M.; Obert, G.; Gosselin, G. Synthesis, *in vitro* antiviral evaluation, and stability studies of bis(*S*-acyl-2-thioethyl) ester derivatives of 9-[2-(phosphonomethoxy)ethyl]adenine (PMEa) as potential PMEa prodrugs with improved oral bioavailability. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4958-4965.

⁸² (a) Hostetler, K. Y., Alkoxyalkyl prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates enhance oral antiviral activity and reduce toxicity: Current state of the art. *Antiviral Res.* **2009**, *82*, 84-98. (b) Ciesla, S.L.; Trahan, J.; Wan, W.B., Esterification of cidofovir with alkoxyalkanols increases oral bioavailability and diminishes drug accumulation in kidney. *Antiviral Res.* **2003**, *59*, 163-171.

significative de la toxicité.⁸³ L'amélioration de l'activité est expliquée par une meilleure pénétration cellulaire caractérisée par l'observation d'une concentration 100 fois plus importante de la forme active diphosphates lors de tests réalisés *in vitro*.⁸⁴ De plus, la prodrogue HDE (hexadécyloxyéthyle) du Ténofovir **68** (CMX157) est actuellement en phase clinique 2 pour le traitement du VIH et du VHB. Pour la conception de cette prodrogue, Hostetler s'est inspiré de la structure des phospholipides tel que la lysophosphatidylcholine **89** en supprimant les sites sensibles à la métabolisation. Ainsi, de la même façon que pour la lysophosphatidylcholine **89**, le clivage des prodrogues alkyloxyalkyles **90** est opéré par l'action des phospholipases C (Schéma 10).^{82a,85}

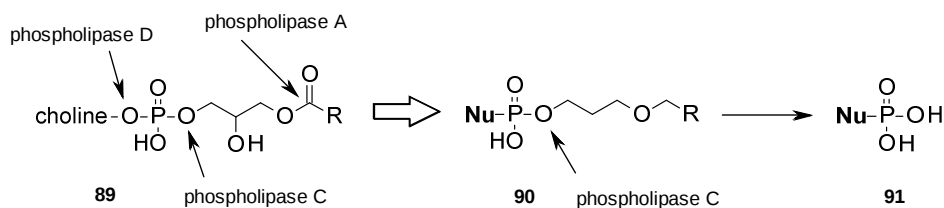


Schéma 10. Dégradation de la lysophosphatidylcholine et des prodrogues alkyloxyalkyles.

Après avoir introduit les différentes familles de nucléosides modifiés, les cibles thérapeutiques et l'approche pronucléotide, nous allons désormais nous intéresser de plus près aux deux familles qui ont été étudiées au cours de cette thèse.

- Dans un premier chapitre, nous présenterons les alkényles acyclo phosphononucléosides. Ainsi, après avoir abordé les différentes voies d'accès aux phosphonates, nous ferons un bilan de l'état de l'art et des précédents travaux du laboratoire réalisés dans le cadre de la préparation de ces ANPs oléfiniques. Ensuite, nous présenterons les travaux réalisés au cours de cette thèse qui avaient pour but la préparation de deux familles d'ANPs oléfiniques portant une substitution sur la chaîne acyclique.

- Dans un second chapitre, nous nous intéresserons plus particulièrement aux nucléosides pyrimidiques C⁵-substitués. Ce chapitre débutera par la présentation d'une sélection de structures C⁵-substitués avec une discussion sur leurs activités biologiques. Enfin, après avoir présenté les différentes séries de composés C⁵-substitués précédemment synthétisés au laboratoire, nous exposerons nos travaux sur la synthèse et l'évaluation antivirale de 2'-déoxyuridines portant un motif 1,3-diène en position C⁵.

⁸³ Bidanset, D. J.; Beadle, J. R.; Wan, W. B.; Hostetler, K. Y.; Kern, E. R. Oral Activity of Ether Lipid Ester Prodrugs of Cidofovir against Experimental Human Cytomegalovirus Infection. *J. Inf. Dis.* **2004**, *190*, 499-503.

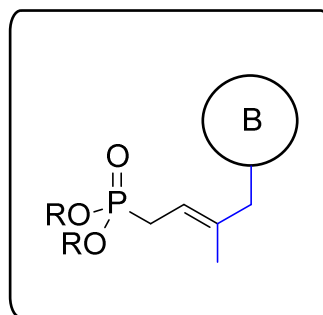
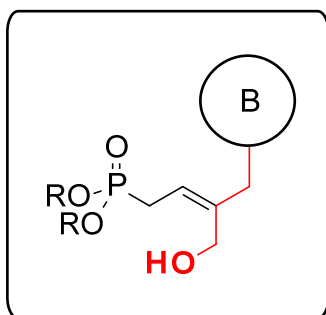
⁸⁴ Aldern, K. A.; Ciesla, S. L.; Winegarden, K. L.; Hostetler, K. Y. Increased antiviral activity of 1-O-hexadecyloxypropyl-[2-¹⁴C]cidofovir in MRC-5 human lung fibroblasts is explained by unique cellular uptake and metabolism. *Mol. Pharmacol.* **2003**, *63*, 678-681.

⁸⁵ Van den Bosch, H.,. Phospholipases. In: Hawthorne, J.N., Ansell, G.B. (Eds.), "Phospholipids," New Comprehensive Biochemistry, vol. 4. Elsevier Biomedical, Amsterdam, **1982**, 313-357.

PARTIE A

Chapitre 1 :

Synthèse d'alkényles acyclo phosphononuéosides



I. Les alkényles acylo phosphononucléosides

Suite au succès rencontré avec les analogues de nucléosides de type méthoxyphosphonates, de nombreuses équipes ont étudié les modifications envisageables sur la chaîne acyclique de ces derniers. Une des modifications assez fréquentes est le remplacement ou la suppression de l'atome d'oxygène. Ce dernier a, par exemple, été remplacé par un atome d'azote pour former des aza-ANP *N*-branchés tel que le dérivé acyclique **92** possédant une activité inhibitrice sur le développement des parasites *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium vivax* responsables du paludisme (Figure 26).⁸⁶ D'autre part, la suppression de l'atome d'oxygène a conduit à la synthèse d'analogues portant une chaîne acyclique alkyle saturée pouvant être substituée en alpha du phosphore par des atomes de fluor tels que les composés dérivés puriques **93**⁸⁷ et pyrimidiques **94**.⁸⁸ Ces composés sont respectivement des inhibiteurs de la *purine nucléoside phosphorylase* et de la *thymidine phosphorylase*. L'atome d'oxygène peut également être remplacé par une fonction isostère telle qu'une oléfine pour former les acyclonucléosides oléfiniques de formule générale **96**.⁸⁹ Cette dernière famille est particulièrement intéressante puisque les divers ANPs oléfiniques recensés dans la littérature témoignent d'un fort potentiel antiviral. La variation de la position de l'insaturation sur la chaîne acyclique a donné lieu à des ANPs portant des phosphonates vinyliques, allyliques ou propyléniques dont la préparation implique différents types de réactions. La synthèse et l'activité biologique de ces différents ANPs oléfiniques seront discutées tout au long de ce chapitre.

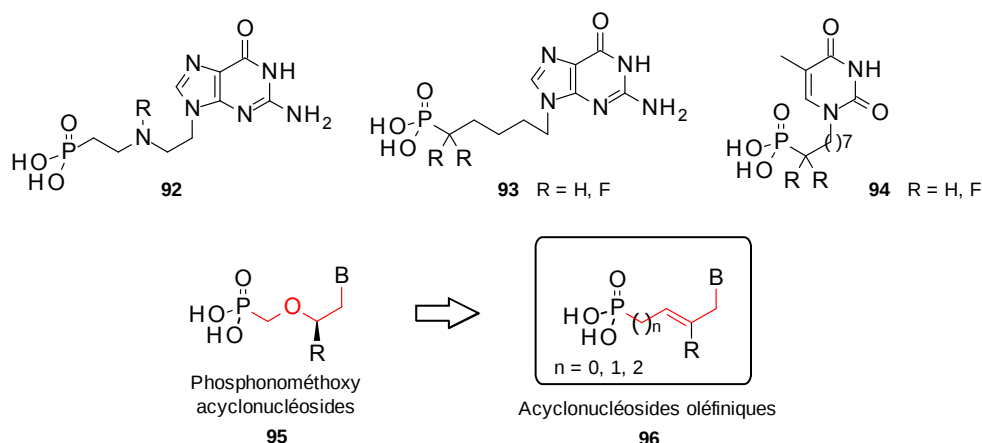


Figure 26. Modification de la chaîne acyclique et ANPs oléfiniques.

1. La synthèse des alkényles acylo phosphononucléosides

Les ANPs oléfiniques, de type allylique sont généralement préparés par la réaction de Michaelis-Arbuzov entre un halogénure d'alkyle **97** et une trialkyle phosphite à reflux (Schéma 11).⁹⁰ Toutefois, cette réaction

⁸⁶ Hocková, D.; Keough, D. T.; Janeba, Z.; Wang, T.-H.; de Jersey, J.; Guddat, L. W. Synthesis of Novel N-Branch Acyclic Nucleoside Phosphonates As Potent and Selective Inhibitors of Human, *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* 6-Oxopurine Phosphoribosyltransferases. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 6209-6223.

⁸⁷ Halazy, S.; Ehrard, A.; Danzin, C. Difluorophosphonoalkylguanines as a new class of multisubstrate analogue inhibitors of purine nucleoside phosphorylase. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 315-317.

⁸⁸ Diab, S. A.; De Schutter, C.; Muzard, M.; Plantier-Royon, R.; Pfund, E.; Lequeux, T. Fluorophosphonylated Nucleoside Derivatives as New Series of Thymidine Phosphorylase Multisubstrate Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 2758-2768.

⁸⁹ Harnden, M. R.; Parkin, A.; Parratt, M. J.; Perkins, R. M. Novel acyclonucleotides: synthesis and antiviral activity of alkenylphosphonic acid derivatives of purines and a pyrimidine. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1343-1355.

⁹⁰ (a) Arbuzov, B. A. Michaelis-Arbuzov- und perkow-reaktionen. *Pure Appl. Chem.* **1964**, *9*, 307-335. (b) Bhattacharya, A. K.; Thyagarajan, G. Michaelis-Arbuzov rearrangement. *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 415-430.

réalisée à température élevée donne souvent lieu à de nombreux produits secondaires par élimination ou isomérisation de la double liaison.

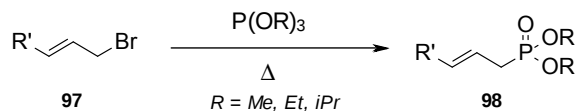


Schéma 11. Réaction de Michaelis-Arbuzov.

Alternativement, les allyles phosphonates peuvent être obtenus à partir de dialkyle phosphites **99** (Schéma 12). La forme déprotonnée de la phosphite peut facilement réagir avec un halogénure d'alkyle pour donner le phosphonate correspondant **100** par substitution nucléophile.⁹¹ La réaction pallado-catalysée entre un allène et une dialkyle phosphite a également été proposée pour la préparation du phosphonate **100**.⁹² Enfin, la réaction de Pudovik entre un aldéhyde α,β -insaturé et une dialkyle phosphite en présence de *tétra-isopropylate* de titane permet d'accéder aux α -hydroxy-allylphosphonates **101**.⁹³

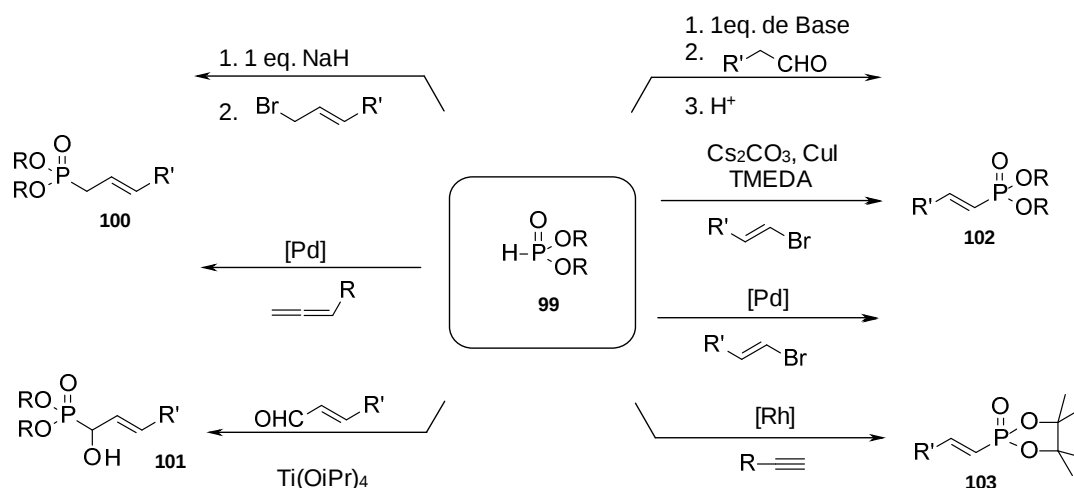


Schéma 12. Voie d'accès aux allyles et vinyles phosphonates.

La préparation des ANPs de type vinylique **102** est également réalisable à partir de dialkyle phosphites. En effet, ces derniers peuvent réagir avec des halovinyles via des couplages métallo-catalysés au cuivre⁹⁴ ou au palladium.⁹⁵ On recense également des exemples de condensation de phosphite sur les aldéhydes conduisant à un α -hydroxy-phosphonate qui peut être converti en vinylphosphonate par déshydratation en milieu acide. La réaction d'un alcyne vrai avec une phosphite cyclique catalysé au rhodium a également été décrite et conduit exclusivement au vinylyle phosphonate **103** de configuration *trans*, mais cette réaction ne reste applicable qu'aux phosphites les plus réactives de type cycliques.⁹⁶

⁹¹ Pergament, I.; Srebnik, M. Hydroboration of Unsaturated Phosphonic Esters: Synthesis of Boronophosphonates and Trisubstituted Vinylphosphonates. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 217-219.

⁹² Zhao, C.-Q.; Han, L. B.; Tanaka, M. Palladium-catalyzed hydrophosphorylation of allenes leading to regio- and stereoselective formation of allylphosphonates. *Organometallics* **2000**, *19*, 4196-4198.

⁹³ (a) Groaning, M. D.; Rowe, J.; Spilling, C. D. New homochiral cyclic diol ligands for titanium alkoxide catalyzed phosphorylation of aldehydes. *Tet. Lett.* **1998**, *39*, 5485-5488. (b) Rowe, B. J.; Spilling, C. D. The synthesis of 1-hydroxy phosphonates of high enantiomeric excess using sequential asymmetric reactions: titanium alkoxide-catalyzed P-C bond formation and kinetic resolution. *Tet. Asymm.* **2001**, *12*, 1701-1708.

⁹⁴ Gelman, D.; Jiang, L.; Buchwald, S. L. Copper-catalyzed C-P bond construction via direct coupling of secondary phosphines and phosphites with aryl and vinyl halides. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2315-2318.

⁹⁵ Kalek, M.; Ziadi, A.; Stawinski, J. Microwave-assisted palladium-catalyzed cross-coupling of aryl and vinyl halides with H-phosphonate diesters. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4637-4640.

⁹⁶ Zhao, C.-Q.; Han, L.B.; Goto, M.; Tanaka, M. Rhodium-catalyzed hydrophosphorylation of terminal alkynes leading to highly selective formation of (*E*)-alkenylphosphonates: complete reversal of regioselectivity to the palladium-catalyzed counterpart. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 1929-1932.

2. Les ANPs éthényles

En 1999, Lazrek *et al.*⁹⁷ ont reporté la synthèse d'ANPs de type éthényle obtenu par la réaction entre une nucléobase et du diéthyléthynylphosphonate en présence de carbonate de potassium dans le DMF (Schéma 13). Cette réaction dans laquelle l'éthynyle phosphonate joue le rôle d'accepteur de Michael mène à un mélange de produits de configuration (*E*) **105** et (*Z*) **106**. La stéréosélectivité pour la formation des isomères *E/Z* varie selon la base hétérocyclique utilisée avec un ratio de 8/2 avec les bases puriques et de 2/8 avec les bases pyrimidiques. Les isomères séparés lors de la purification ont ensuite été déprotégés par le bromure de triméthylsilane pour donner les acides phosphoniques correspondants **107** et **108**.

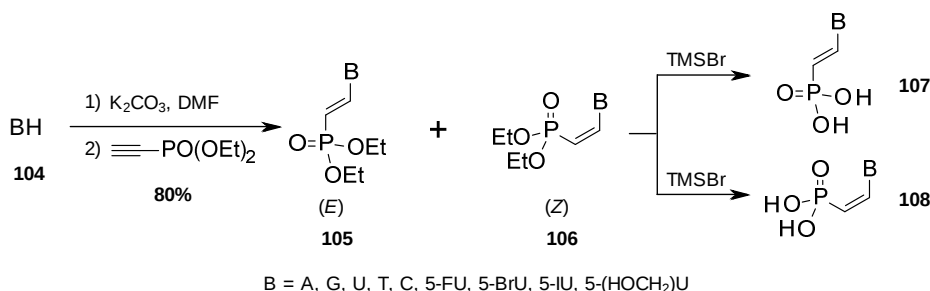


Schéma 13. Synthèse d'ANP portant un motif éthényle *E/Z*

L'évaluation antivirale de ces ANPs éthényles de configuration (*Z*) et (*E*) portant les bases A, G, U, T, C, 5-F-U, 5-Br-U, 5-CH₂OH-U, 5I-U a été réalisée sur les virus VIH-1 et 2, HSV-1 TK⁺ et TK⁻, HSV-2, VV, VSV sans présenter d'activité significative ni de toxicité dans la gamme de concentration 100-200 µg/mL. Par la suite, Rochdi *et al.*⁹⁸ ont étudié l'influence d'une substitution en N³ de l'uracile et de la thymine par des groupements propargyle, allyle et méthyle éthyle ester. Toutefois, ces modifications n'ont pas donné d'amélioration de l'activité antivirale.

3. Les ANPs butényles

Les ANPs en série butényle ont été décrits pour la première fois en 1992 par Zemlicka *et al.*⁹⁹ avec la synthèse de deux dérivés but-2'-ényle phosphonate portant une adénine pour **111** et une guanine pour **114** avec respectivement une chaîne acyclique de configuration (*E*) et (*Z*) (Schéma 14). Ces composés sont préparés dans un premier temps par mono-alkylation des réactifs 1,4-dichloro-2-butène (*E*) **109** et (*Z*) **112** avec les bases azotées adéquates par substitution nucléophile pour donner le *E*-chloroalcène **110** et le *Z*-chloroalcène **113**. Par la suite, la réaction de Michaelis-Arbuzov au reflux de la triéthyle phosphite a permis l'introduction du groupement phosphonate. Ces derniers ont finalement été déprotégés par action de l'iodure de triméthylsilane avec une étape d'hydrolyse acide pour le dérivé de chloropurine afin d'obtenir les acides phosphoniques **111** et **114**. Il est à noter que l'évaluation antivirale des ANPs butényles précédemment cités n'a pas été reportée dans la littérature.

⁹⁷ Lazrek, H. B.; Rochdi, A.; Khaider, H.; Barascut, J. L.; Imbach, J. L.; Balzarini, J.; Witvrouw, M.; Pannecouque, C.; De Clercq, E. Synthesis of (*Z*) and (*E*) α-alkenyl phosphonic acid derivatives of purines and pyrimidines. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3807-3816.

⁹⁸ Rochdi, A.; Taourirte, M.; Lazrek, H.; Barascut, J.; Imbach, J. Synthesis of New Bis-Alkylated Phosphono Alkenyl Acyclonucleosides : (*Z*) and (*E*)-Diethyl-2-(3-alkyl pyrimidin-1-yl)ethylen-1-yl Phosphonate. *Molecules* **2000**, *5*, 1139-1145.

⁹⁹ Megati, S.; Phadtare, S.; Zemlicka, J. Unsaturated phosphonates as acyclic nucleotide analogs. Anomalous Michaelis-Arbuzov and Michaelis-Becker reactions with multiple bond systems. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2320-2327.

Imbach *et al.*¹⁰⁰ ont également proposé une synthèse similaire pour la préparation de 6-azauraciles en série butényle. Toutefois, ces derniers se sont avérés très toxiques.

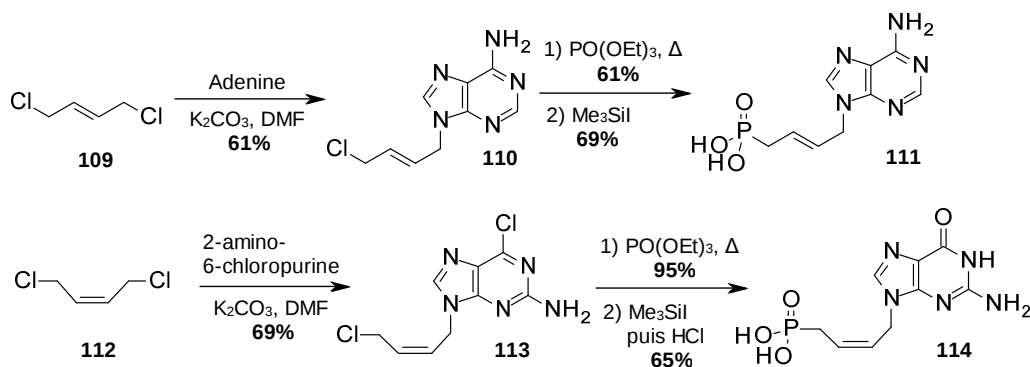


Schéma 14. Synthèse de *E/Z* butényle posponates.

En 1993, Perkins *et al.*⁸⁹ proposèrent la synthèse de but-3'-ényles phosphonates en série vinylique. La stratégie de leur synthèse est basée sur des réactions d'oléfinations avec l'aldéhyde **115** (Schéma 15). Ainsi, la préparation du 1'-hydroxyle-3'-butényle phosphonate **116** dans sa configuration (*E*) a été réalisée via la réaction très stéréosélective de Wadsworth-Emmons. En parallèle, la réaction de Peterson avec ce même aldéhyde a été choisie pour la synthèse de l'isomère (*Z*) **117**. Néanmoins, cette réaction moins stéréosélective a conduit à un mélange d'isomères *Z/E* avec un ratio de 5/2 séparable par colonne chromatographique. Les dérivés **116** et **117** sont ensuite déprotégés puis couplés avec une guanine et une adénine. Une première stratégie dans laquelle la fonction hydroxyle était activée par un mésylate a conduit exclusivement au produit d'élimination **118** lors de l'alkylation avec la nucléobase en milieu basique. L'utilisation de la réaction de Mitsunobu a permis de réduire significativement la formation de ce produit d'élimination. Une dernière étape de déprotection permet d'accéder aux dérivés acides phosphoniques **119** et **120**.

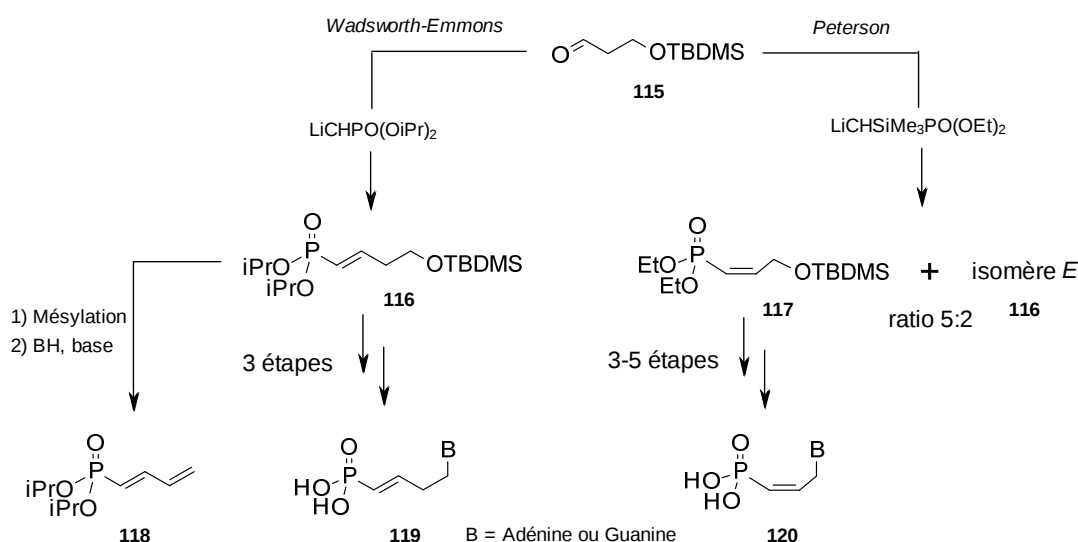


Schéma 15. Synthèse de *E/Z* vinyl phosphonates

¹⁰⁰ Kabbaj, Y.; Lazrek, H. B.; Barascut, J. L.; Imbach, J. L. Synthesis and biological activity of some unsaturated 6-azauracil acyclonucleosides. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* **2005**, *24*, 161-172.

Une série 2'-substituée par un hydroxyméthyle a également été décrite dans cette étude (Schéma 16). Selon une stratégie similaire, l'aldéhyde **121** est engagé dans une réaction de Wadsworth-Emmons pour obtenir le vinyle phosphonate **122** exclusivement sous forme (*E*). Après une succession d'étapes de protections-déprotections l'intermédiaire hydroxylé **123** est obtenu sous la forme d'un mélange racémique. Le couplage avec la nucléobase dans les conditions de Mitsunobu suivi des étapes de déprotections a finalement permis l'obtention des composés désirés sous leur forme acide phosphonique **124**. Certains composés de ces deux séries ont révélé des activités de l'ordre du μM sur un large panel de virus incluant HSV-1, HSV-2, VZV et CMV.

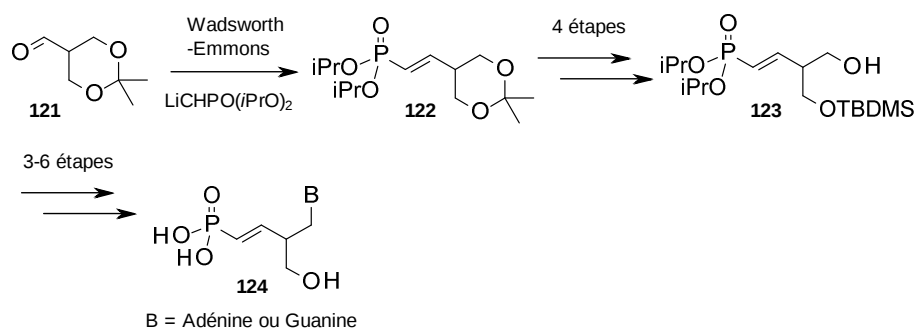


Schéma 16. Synthèse de *E*-vinyl phosphonates portant une chaîne latérale hydroxyméthyle

4. Les ANPs pentènyles

En 2007, Hostetler *et al.*¹⁰¹ proposèrent une nouvelle famille d'ANPs oléfinique en série pent-2'-ényle **125** avec une configuration (*Z*) portant aussi bien des bases puriques que pyrimidiques. La chaîne acyclique (*Z*)-pent-2'-ényle peut être considérée comme un mime de la partie inférieure C^{1'}-C^{2'}-C^{3'}-C^{4'}-C^{5'} du sucre (Figure 27).

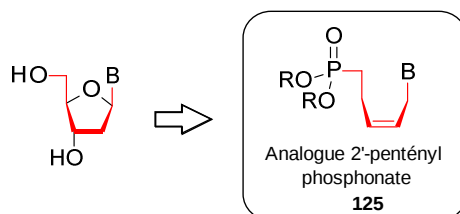


Figure 27. Analogie structurale des dérivés 2'-pentényle avec le ribose.

La synthèse de ces composés est réalisée dans un premier temps par la préparation du dérivé halogéné **127** obtenu en 5 étapes à partir de 3-butyn-1-ol **126** (Schéma 17). Le phosphonate est alors introduit par la réaction de Michaelis-Arbuzov pour donner le dérivé **128** qui est alors hydrogéné stéréosélectivement dans sa configuration (*Z*) **129** en présence du catalyseur de Lindlar. Après déprotection du silyle éther, les bases azotées sont couplées dans les conditions de Mitsunobu. Les dérivés sont alors convertis successivement en acide phosphonique **130** et sous forme prodrogue hexadécyloxypropyle (HDP) **131**.

¹⁰¹ Choo, H.; Beadle, J. R.; Chong, Y.; Trahan, J.; Hostetler, K. Y. Synthesis of the 5-phosphono-pent-2-en-1-yl nucleosides: A new class of antiviral acyclic nucleoside phosphonates *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 1771-1779.

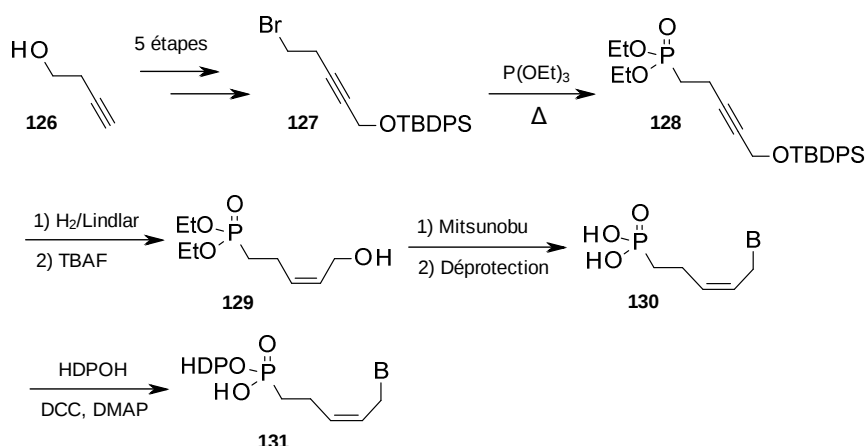


Schéma 17. Synthèse de Z-pentényle phosphonates.

L'évaluation antivirale des formes acides phosphoniques sur HSV-1 n'a montré aucune inhibition ni de cytotoxicité jusqu'à 100 μM . Cependant, les formes prodrogues ont montré une excellente activité avec un IC_{50} de 0.90 μM pour le composé *lead* portant une thymine. L'amélioration significative de l'activité antivirale avec les composés sous forme prodrogue permet de mettre en évidence la faible biodisponibilité dont souffrent les ANPs sous leurs formes acides phosphoniques.

II. Travaux du laboratoire

Depuis quelques années notre laboratoire s'intéresse également à la synthèse d'ANPs oléfiniques. Les premiers travaux se sont principalement concentrés sur l'étude de la longueur de chaîne par l'élaboration de dérivés en série prop-2-ényle **132**, but-2-ényle **133** et pent-2-ényle **134** (Figure 28). En effet, les ANPs portant une chaîne insaturée en série prop-2'-ényle ainsi que pent-2'-ényle avaient été peu explorés tandis que les dérivés portant une chaîne but-2'-ényle n'avaient pas été reportés pour leurs activités antivirales. Afin de synthétiser ces ANPs oléfinique, le laboratoire a développé une méthodologie convergente très efficace permettant d'accéder rapidement à toutes les longueurs de chaîne en peu d'étapes.

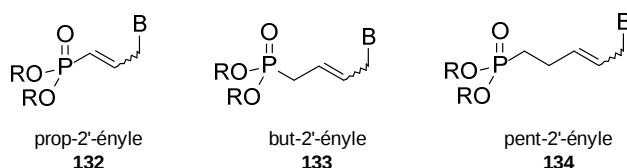


Figure 28. ANPs oléfiniques préablement étudiés au laboratoire.

La méthodologie de synthèse qui a été mise au point repose sur une réaction de métathèse croisée d'oléfines qui permet d'aboutir souvent en une ou deux étapes aux dérivés acycliques désirés (Schéma 18). Deux stratégies différentes dépendant du type de nucléobase ont été proposées. La première, plus adaptée aux bases pyrimidiques, consiste à réaliser la réaction de métathèse entre une nucléobase convenablement alkylée **137** et phosphonate oléfinique **136**. Alternativement, la seconde stratégie consiste à préparer un synthon phosphonate hydroxylé **138** par métathèse croisée puis de le coupler avec la nucléobase pour donner le composé désiré. Cette stratégie de type synthon est plus adaptée aux bases puriques, car la réaction de métathèse ne peut pas être réalisée directement en présence de ce type de base en raison d'un empoisonnement du catalyseur. Une série d'analogues portant un noyau 1,2,3-triazole a également été

synthétisée par réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen ("click") entre le phosphonate azidé **140** et divers alcynes vrais. Ces voies de synthèses très convergentes ont permis à ce jour la synthèse de plus d'une centaine de dérivés sous forme acide phosphonique et prodrogue **135** (POM, POC, HDP) et le dépôt de demande de deux brevets.

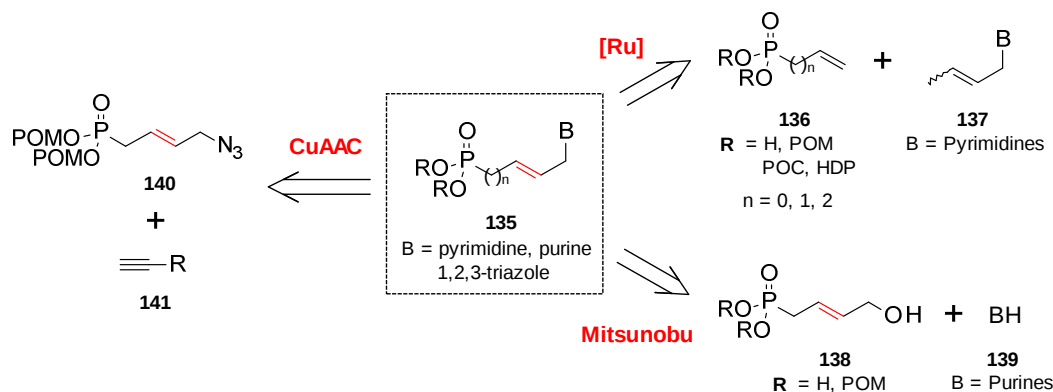


Schéma 18. Stratégie de synthèse des ANPs oléfiniques.

▪ Analogues alkényles portant une base pyrimidique

La synthèse des ANPs oléfiniques prop-2-ényle **143**, but-2'-ényle **145** et pent-2-ényle **147** a été réalisée par la réaction de métathèse entre une base pyrimidique **137** portant un motif crotyle avec respectivement un vinyl- ($n = 0$), un allyl- ($n = 1$) et un but-1-énylphosphonate ($n = 2$) en présence de 5 mol % de catalyseur de Nolan-Grubbs au reflux du dichlorométhane (Schéma 19).¹⁰² Un mélange de produits de configuration (*E*) et (*Z*) séparable par colonne chromatographique est alors obtenu avec un ratio de 8:2 en série but-2'-ényle et pent-2-ényle tandis que seul l'isomère (*E*) est obtenu en série prop-2-ényle. Dans l'ensemble, les rendements varient entre 37 % et 94 % selon le type de nucléobase et le type de phosphonate utilisé. Les formes acides phosphoniques sont obtenues après déprotection du phosphonate.

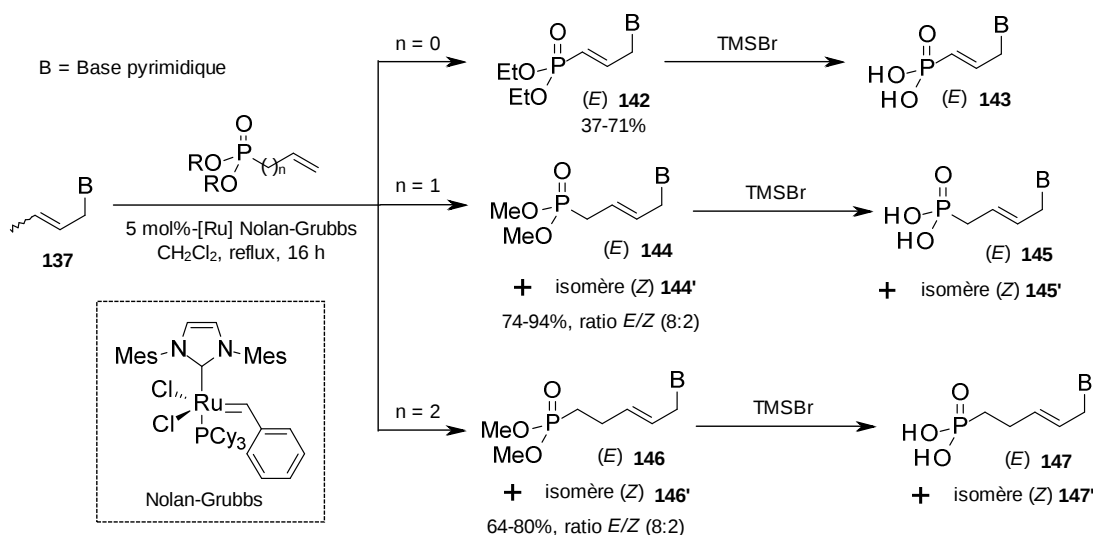


Schéma 19. Réaction de métathèse vers la préparation d'ANPs portant des bases pyrimidiques

¹⁰² (a) Topalis, D.; Pradère, U.; Roy, V.; Caillat, C.; Azzouzi, A.; Broggi, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Lin, J.; Eriksson, S.; Alexandre, J. A. C.; El-Amri, C.; Deville-Bonne, D.; Meyer, P.; Balzarini, J.; Agrofoglio, L. A. Novel Antiviral C5-Substituted Pyrimidine Acyclic Nucleoside Phosphonates Selected as Human Thymidylate Kinase Substrates. *J. Med. Chem.* **2010**, *54*, 222-232.

L'efficacité de l'approche par métathèse est d'autant plus marquée lorsqu'elle est comparée à la synthèse des dérivés pentényles reportés par Hostetler *et al.*¹⁰¹ En effet, alors que la préparation du dérivé acide phosphonique **130** requière une dizaine d'étapes de synthèse en suivant leur stratégie, le même produit peut être obtenu dans les configurations *cis* et *trans* en seulement trois étapes par métathèse croisée. Les tests enzymatiques réalisés sur la *thymidine monophosphate kinase* humaine avec divers ANPs alkényles portant des bases pyrimidiques C⁵-substitués (U, T, 5Br-U, 5Cl-U et 5F-U) ont révélé une efficacité catalytique plus importante pour les dérivés en série but-2'-ényle (équipe du Dr. Deville-Bonne, Institut Jacques Monod - UPMC) (Figure 29).¹⁰² Parmi ces derniers, ce sont les composés portant un squelette de configuration *trans* qui présentent les taux de phosphorylation les plus élevés (Figure 30). Pour expliquer la reconnaissance de ces ANPs oléfiniques, le composé *lead* [E]-TbutP (Figure 31) a été cristallisé au sein du site actif de la *thymidine monophosphate kinase* (équipe du Dr. Meyer, LEBS). Les études cristallographiques ont mis en évidence la forme monophosphate de l'ANP dans le site accepteur de la kinase ainsi qu'une molécule d'ADP dans le site donneur témoignant de la présence d'un transfert de phosphate. Enfin, la superposition de l'ANP monophosphorylé avec le substrat naturel thymidine diphosphate, dans le système hTMPK/ADP/TDP, a montré un très bon alignement de la chaîne acyclique *E*-2'-butényle avec la partie supérieure du ribose du substrat naturel (Figure 31).

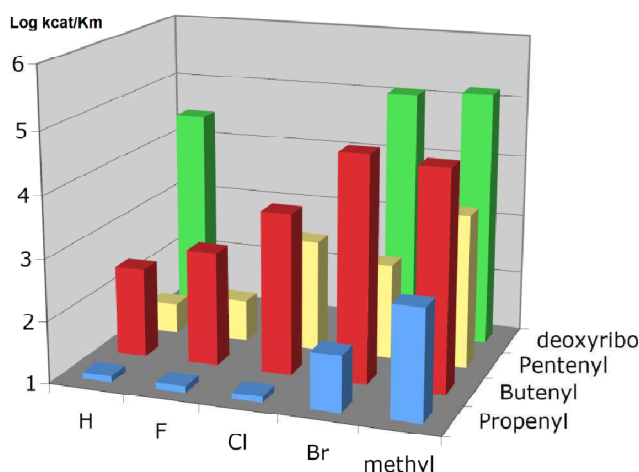


Figure 29. Influence de la longueur de la chaîne acyclique sur la phosphorylation par la TMPK.

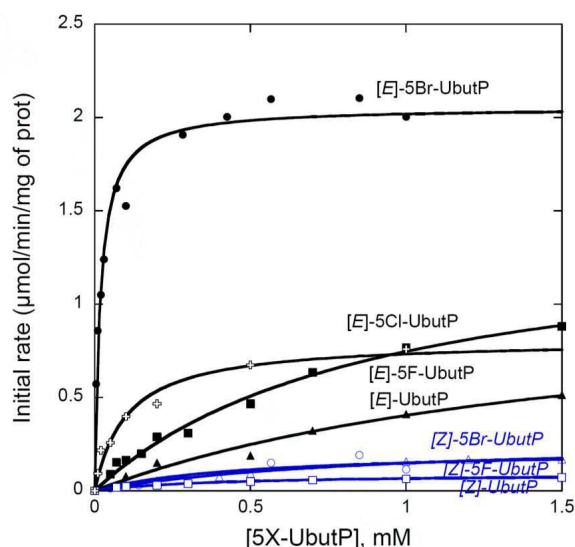


Figure 30. Phosphorylation par la TMPK de dérivés pyrimidiques C⁵-substitués en configuration (E) et (Z).

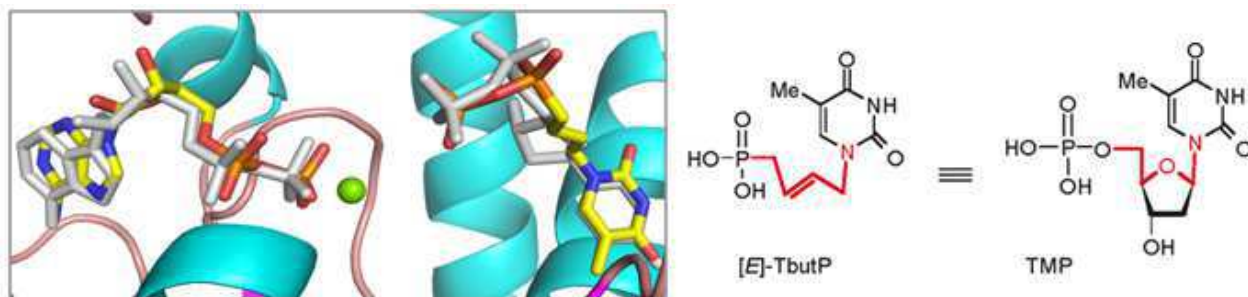


Figure 31. Analogie structurale de la série *E*-2'-butényle avec la TMP.

Ces molécules, pourtant phosphorylées par la hTMPK, n'ont montré aucune activité antivirale significative contre les virus à ADN et ARN (Rega Institute, Pr. Balzarini). Le manque d'activité étant probablement lié à la faible pénétration cellulaire des acides phosphoniques, les composés en série but-2'-ényles ont été préparé sous diverses formes prodrogues afin de déterminer le groupement bioabiable le plus efficace (POM, POC ou HDP). La méthodologie précédemment décrite permet d'aboutir aux formes prodrogues en une seule étape. Ainsi, la réaction de métathèse entre la base pyrimidique crotylée **137** et les allylphosphonates portant les groupements biolabiles désirée a donné les différentes prodrogues **148** avec des rendements variant de 41 % à 69 % (Schéma 20). Les prodrogues HDP étant des monoesters, une étape de déprotection a été nécessaire pour obtenir le produit désiré.

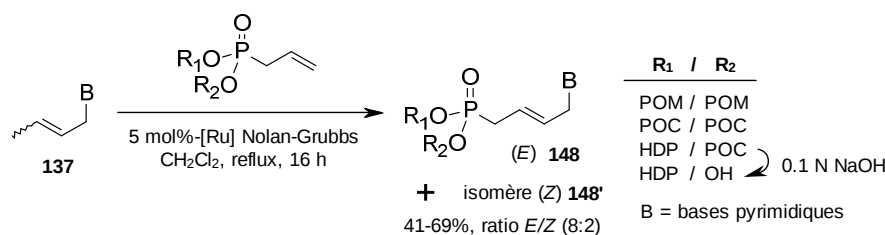


Schéma 20. Synthèse des dérivés pyrimidiques sous leurs formes prodrogues.

L'évaluation antivirale de ces composées a été réalisée sur HSV-1, HSV-2, VV, VZV TK⁺ et TK⁻. Les résultats obtenus ont montré une efficacité quasiment équivalente entre les formes *bis*-POM et *bis*-POC avec des activités de l'ordre du μM sur VZV tandis que les formes mixtes HDP/OH et HDP/POC se sont révélées beaucoup moins performantes. Parmi les produits testés, le dérivé de thymine de configuration (*E*) **149** en série *bis*-POM a montré une inhibition significative de VZV TK⁻ avec un EC₅₀ de 0.55 μM (Figure 32). Cette activité sub- μM sur le VZV TK⁻ se révèle particulièrement intéressante, car elle constitue, à ce jour, l'activité la plus importante reportée sur ce virus dépourvu de kinase par un analogue nucléosidique.

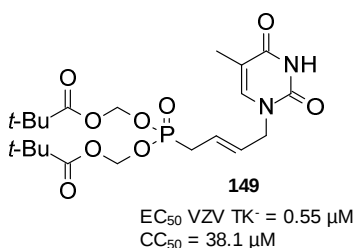


Figure 32. Composé le plus actif en série pyrimidique.

▪ Analogues alkényles portant une base purique

La préparation de la chaîne phosphonate hydroxylée en série *bis*-POM est réalisée par métathèse croisée entre l'allyle *bis*-POM **150** et le but-2-ène-1,4-diol pour obtenir le synthon **151** avec 74 % de rendement et un ratio *E/Z* de 8:2 (Schéma 21).¹⁰³ Les bases puriques sont alors couplées dans les conditions de Mitsunobu pour donner les dérivés ANPs butényles **152**.

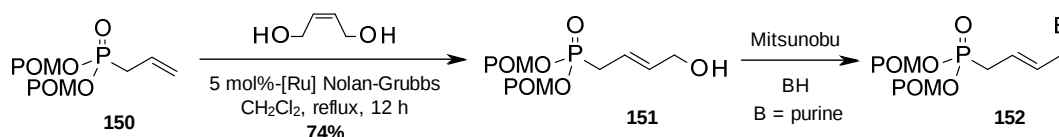
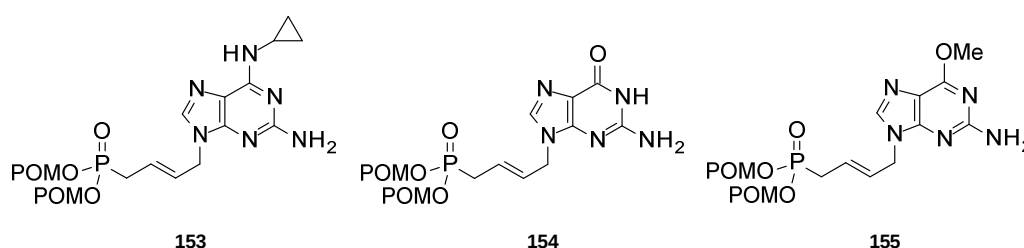


Schéma 21. Stratégie synthon pour la synthèse d'ANPs portant des purines

Parmi les différents composés synthétisés dans cette série, les dérivés **153**, **154** et **155** ont révélé des activités sub- μ M contre VZV et < 10 μ M contre HSV (Tableau 2). Néanmoins, ces composés présentent aussi une forte toxicité.



Composé	EC ₅₀ ^a (μM) VZV TK ⁺	EC ₅₀ ^a (μM) VZV TK ⁻	CC ₅₀ ^b (μM)
153	0.8 ± 0	0.8 ± 0	2.3 ± 0.1
154	1.05 ± 0.2	0.8 ± 0.4	4.1 ± 0.1
155	0.1 ± 0.4	0.5 ± 0.3	1.6 ± 0.4

Tableau 2. Activité antivirale de quelques dérivés acycliques portant une purine.

▪ Analogues alkényles portant une base 1,2,3-triazole

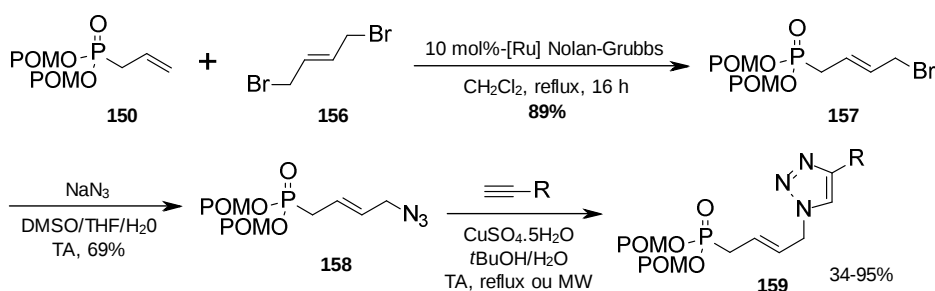


Schéma 22. Synthèse des analogues 1,2,3-triazoles.

¹⁰³ Pradère, U.; Roy, V.; Montagu, A.; Sari, O.; Hamada, M.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Agrofoglio, L. A. Synthesis and antiviral evaluation of bis(POM) prodrugs of (E)-[4'-phosphono-but-2'-en-1'-yl]purine nucleosides. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *57*, 126-133.

Les dérivés alkényles portant une base 1,2,3-trialole ont été préparés par cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen entre le *bis*(POM)-4-azidobut-2-ényle phosphonate **158** avec divers alcynes vrais aromatiques et alkyles (Schéma 22).¹⁰⁴ Cette cycloaddition de régiosélectivité 1,4, catalysée au cuivre, a été réalisée à température ambiante, à reflux ou sous activation micro-onde suivant la réactivité des alcynes. La synthèse du synthon azidé **158** a été réalisée avec 89 % de rendement par réaction de métathèse croisée entre le *bis*-POM allylphosphonate **150** et le *trans*-1,4-dibromobutène **156** en présence de 10 mol% de catalyseur de Nolan-Grubbs. Cet intermédiaire bromé a été ensuite traité avec de l'azoture de sodium dans un mélange DMSO/THF/H₂O pour donner le synthon azidé **158** avec 69 % de rendement.

Composés	EC ₅₀ ^a (μM) CMV (AD169)	CC ₅₀ ^b (μM)
160	9.9 ± 1.0	100
Ganciclovir	8.2 ± 0.3	> 350
Cidofovir	1.00 ± 0.14	> 350

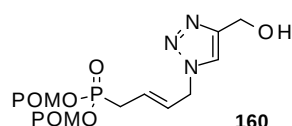


Tableau 3. Activité antivirale de l'analogue 1,2,3-triazole **160**.

La majorité des dérivés de cette série engendre une inhibition entre 70 % et 95 % de la réplication du virus VHC à une concentration de 10 μM. D'autre part, parmi les composés synthétisés, le dérivé hydroxyméthyle présente une activité anti-CMV proche des molécules de référence (Ganciclovir et Cidofovir) (Tableau 3).

III. Nos objectifs

Les précédents travaux du laboratoire menés sur les ANPs oléfiniques ont permis de déterminer que la chaîne but-2'-ényle de configuration *trans* constituait la chaîne acyclique optimale pour assurer la phosphorylation par la hTMPK. De plus, les différentes études cristallographiques menées sur la hTMPK ont démontré que le squelette acyclique de type but-2'-ényle se superposait bien avec le substrat naturel thymidine monophosphate (TMP). Du fait de leur chaîne acyclique, ces ANPs oléfiniques peuvent également être considérés comme analogue des méthoxyphosphonates et, plus particulièrement, des dérivés 2-(phosphono-méthoxy)éthyle (PME). Les différents composés synthétisés dans cette série ont également permis de conclure que les structures portant des nucléobases naturelles (ou peu modifiées) donnaient souvent les composés les plus actifs. Parmi les différentes prodrogues préparées, ce sont les formes *bis*(POM) qui ont donné les meilleurs résultats en terme d'activité antivirale. Ainsi, compte tenu des résultats encourageants obtenus dans cette série, il semblait judicieux de s'intéresser aux modifications de la chaîne acyclique insaturée.

En effet, la substitution de la chaîne acyclique de l'Adéfovir a mis en évidence un impact significatif sur l'activité antivirale et le spectre d'activité menant notamment au développement du Cidofovir et du Ténofovir. La synthèse d'ANPs oléfiniques branchés s'inscrit donc dans la continuité logique des travaux menés sur la chaîne but-2'-ényle. Ainsi, nous nous sommes dirigés vers la synthèse de nouvelles familles

¹⁰⁴ Hamada, M.; Roy, V.; McBrayer, T. R.; Whitaker, T.; Urbina-Blanco, C.; Nolan, S. P.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Schinazi, R. F.; Agrofoglio, L. A. Synthesis and broad spectrum antiviral evaluation of bis(POM) prodrugs of novel acyclic nucleosides. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 67, 398-408.

d'ANPs oléfiniques but-2'-ényle portant une substitution en 2' de type hydroxyméthyle **162** et méthyle **163**, potentiellement analogues alkényles des dérivés HPMP et PMP (Figure 33). Il est à noter que la position de l'oléfine sur la chaîne acyclique implique la suppression du centre asymétrique présent sur les dérivés HPMP et PMP. Il sera donc intéressant d'étudier l'impact de cette plus grande rigidité de la chaîne latérale sur l'activité biologique des structures.

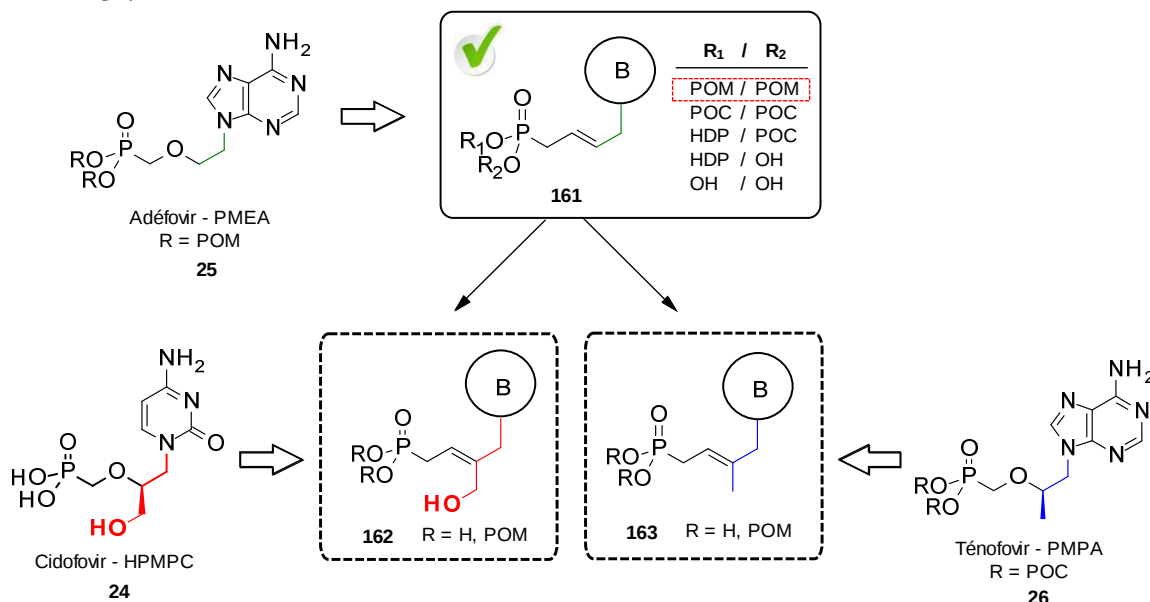


Figure 33. Nouveaux analogues alkényles des dérivés HPMP et PMP.

▪ Les dérivés 2'-hydroxyméthyle-but-2'-énylphosphonates

La rétrosynthèse des dérivés 2'-hydroxyméthyle-but-2'-énylphosphonates **162** est présentée dans la figure 34. Cette rétrosynthèse souligne trois déconnexions importantes. Nous envisageons dans un premier temps d'introduire les bases azotées sur le synthon hydroxylé **164** par un couplage de Mitsunobu. La déprotection sélective du diacétate **165** permettra de libérer la fonction hydroxyle nécessaire à ce couplage. Cette étape fera intervenir une hydrolyse chémo-enzymatique régiosélective catalysée par une lipase. Le dérivé **165** sera lui synthétisé par réaction de métathèse croisée entre un allyle/crotyle phosphonate **166** et l'oléfine diacétate **167**. Nous envisageons de synthétiser ces produits sous forme acide phosphonique et prodrogue *bis*-POM.

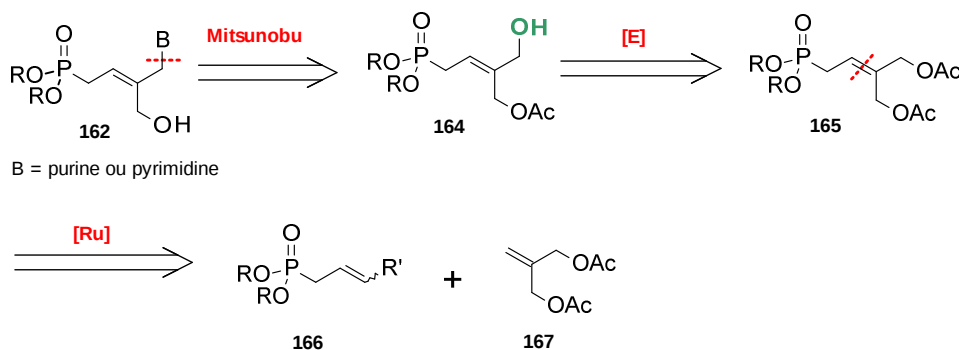


Figure 34. Rétrosynthèse des dérivés 3'-hydroxyméthyle-but-2-ényl phosphonates.

La réaction de métathèse croisée est nettement plus difficile à mettre en œuvre dans ce cas puisqu'elle implique la formation d'une oléfine encombrée tri-substituée à partir d'une oléfine peu réactive 1,1-

disubstituée. Cette réaction fera donc l'objet d'une optimisation par l'étude de divers paramètres tels que le catalyseur, le solvant, le mode d'activation, etc... La seconde difficulté de cette synthèse sera la détermination de la lipase adéquate pour réaliser l'étape d'hydrolyse régiosélective de l'acétate. En effet, la sélectivité des lipases reste assez difficile à prédire et dépend souvent des contraintes stériques imposées par le substrat.

▪ Les dérivés 2'-méthyl-but-2'-énylphosphonates

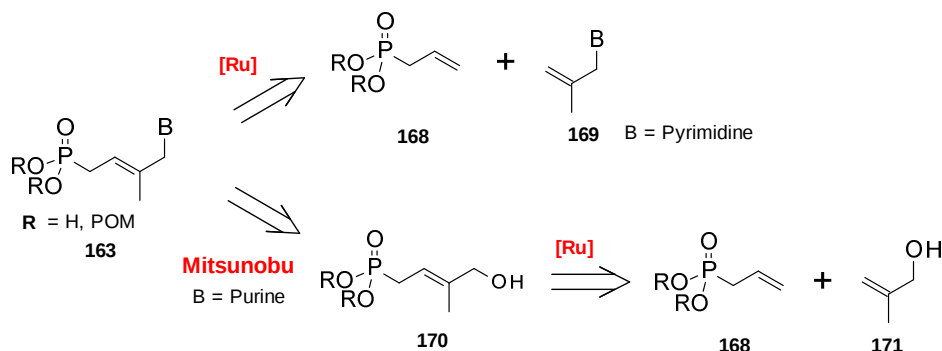


Schéma 23. Rétrosynthèse des dérivés 3'-méthyl-butèn-2-yl phosphonates.

La synthèse des dérivés 2'-méthyl-but-2'-énylphosphonates fera également intervenir la réaction de métathèse croisée en suivant cette fois la stratégie précédemment développée au laboratoire. Par conséquent, la synthèse des analogues **163** suivra deux stratégies différentes en fonction du type de nucléobase (Schéma 23). Les bases pyrimidiques seront d'abord alkylées avec la chaîne adéquate puis une réaction de métathèse permettra d'introduire le phosphonate **168** sous forme *bis*-OMe ou *bis*-POM. Les dérivés portant une base purique seront obtenus par couplage de Mitsunobu avec le synthon phosphonate hydroxylé **170**. Ce dernier sera synthétisé par métathèse croisée entre un allylphosphonate **168** sous forme *bis*-OMe ou *bis*-POM et le 2-méthylprop-2-èn-1-ol **171**. Ces deux approches permettront d'arriver rapidement aux composés désirés **163**.

Par ces rétrosynthèses, nous avons mis en évidence deux réactions clés : la métathèse d'oléfine en vue de préparer des oléfines tri-substituées et la déacétylation régiosélective par voie enzymatique. Ainsi, avant de présenter les travaux menés sur la synthèse de ces deux familles d'ANPs oléfiniques, il semble opportun de faire quelques rappels sur la réaction de métathèse et de faire le point sur l'état de l'art concernant la déprotection enzymatique des diacétates.

IV. Rappels sur la métathèse croisée

1. La réaction de métathèse

Au cours de ces dernières années, la métathèse d'oléfine¹⁰⁵ a connu une progression significative devenant ainsi un outil majeur de la synthèse organique moderne.¹⁰⁶ Les réactions de métathèse d'oléfines peuvent

¹⁰⁵ (a) Fürstner, A. Olefin metathesis and beyond. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, 39, 3013-3043. (b) Grubbs, R.H. Olefin metathesis. *Tetrahedron* **2004**, 60, 7117-7140. (c) Hoveyda, A. H.; Zhugralin, A. R. The remarkable metal-catalysed olefin metathesis reaction. *Nature* **2007**, 450, 243-251.

être classées dans trois catégories différentes comme présentées dans la figure 35. La métathèse de polymérisation par ouverture de cycle (ou ROMP) est une réaction dans laquelle un cycloalcène subit une ouverture de cycle qui est suivi d'une polymérisation en chaîne.¹⁰⁷ À l'opposé, il existe également la réaction de métathèse de fermeture de cycle (ou RCM). Cette réaction est particulièrement utilisée dans la synthèse de cycles de taille moyenne ou des macrocycles qui sont relativement difficiles à obtenir avec les méthodes conventionnelles.¹⁰⁸ Enfin, la réaction de métathèse croisée (ou CM) entre deux oléfines reste sûrement la plus difficile à mettre en œuvre, car elle ne bénéficie pas de l'effet entropique de la RCM (formation de deux molécules à partir d'une) ou encore de la réduction de tension de cycle de la ROMP.^{113a}

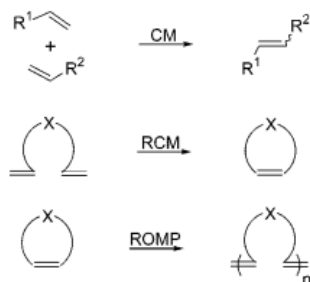


Figure 35. Principaux types de métathèse.

La chimie des nucléosides a également tiré profit de cet outil notamment dans la synthèse de dérivés osidiques, carbocycliques et acycliques.¹⁰⁹ Toutefois, la réaction de métathèse croisée reste peu étudiée dans ce domaine puisque la majeure partie des exemples que l'on retrouve dans la littérature implique des réactions de métathèse cyclisante. Le recours à la réaction de métathèse croisée est un choix délicat, car cette réaction peut statistiquement mener à trois produits différents qui sont en équilibre les uns avec les autres. Outre l'hétérodimère qui est naturellement le produit attendu, on peut également obtenir les homodimères des oléfines R_1 et R_2 (Schéma 24). Chacune de ces oléfines issues de cette réaction est obtenue sous forme d'un mélange de configuration (*Z*) et (*E*) avec généralement un avantage plus ou moins important pour l'isomère (*E*).

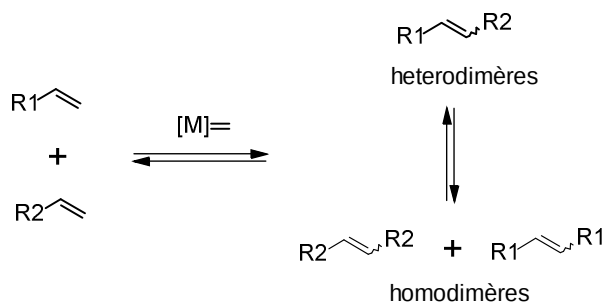


Schéma 24. La métathèse croisée.

¹⁰⁶ (a) Deiters, A.; Martin, S. F. Synthesis of oxygen- and nitrogen-containing heterocycles by ring-closing metathesis. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2199–2238. (b) Van Otterlo, W. A. L.; De Koning, C. B. Metathesis in the synthesis of aromatic compounds. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 3743–3782. (c) Connon S. J., Blechert S. Recent developments in olefin cross-metathesis. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2003**, *42*, 1900–1923. (d) Diver, S. T.; Giessert, A. J. Enyne metathesis (enyne bond reorganization). *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1317–1382.

¹⁰⁷(a) Ivin, K. J.; Mol, J. C. *Olefin Metathesis and Metathesis Polymerization*; Academic Press: San Diego, CA, **1997**. (b) Frenzel, U.; Nuyken, O., Ruthenium-based metathesis initiators: Development and use in ring-opening metathesis polymerization. *J. Polym. Sci. Part A : Polym. Chem.* **2002**, *40*, 2895–2916.

¹⁰⁸ (a) Fürstner, A. Olefin Metathesis and Beyond. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3012–3043. (b) Trnka, T. M.; Grubbs, R. H. The Development of $L_2X_2Ru=CHR$ Olefin Metathesis Catalysts: An Organometallic Success Story. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 18–29. (c) Yu, X.; Sun, D. Macrocyclic Drugs and Synthetic Methodologies toward Macrocycles. *Molecules* **2013**, *18*, 6230–6268.

¹⁰⁹ (a) Amblard, F.; Nolan, S. P.; Agrofolgio, L. A. Metathesis strategy in nucleoside chemistry. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7067–7080. (b) Agrofolgio, L.A.; Nolan, S. P. Olefin metathesis route to antiviral nucleosides. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *5*, 1541–1558.

2. Mécanisme réactionnel

Le mécanisme de la réaction de métathèse aujourd'hui largement accepté par la communauté a été proposé en 1971 par Yves Chauvin et Jean-Louis Hérisson (Figure 36).¹¹⁰ Selon ce mécanisme, la métathèse d'oléfine met en jeu d'abord la réaction entre le métal alkylidène (**a**) et l'oléfine R_1 formant ainsi un intermédiaire métallocyclobutane (**b**) via une cycloaddition [2+2]. Ce dernier subit alors une cycloréversion qui génère le métal alkylidène (**c**) ainsi qu'une molécule d'éthylène. L'oléfine R_2 peut à son tour réagir avec le nouveau métal alkylidène selon le même schéma par cycloaddition [2+2] pour former le métallocyclobutane mixte R_1/R_2 (**d**). La cycloréversion de ce dernier donne finalement le produit de métathèse tout en régénérant l'espèce catalytique (**a**) ayant initié la réaction, redémarrant ainsi le cycle catalytique.

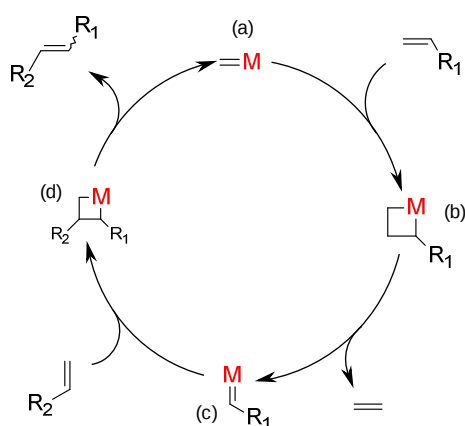


Figure 36. Mécanisme général de la métathèse croisée.

3. Présentation des catalyseurs au ruthénium

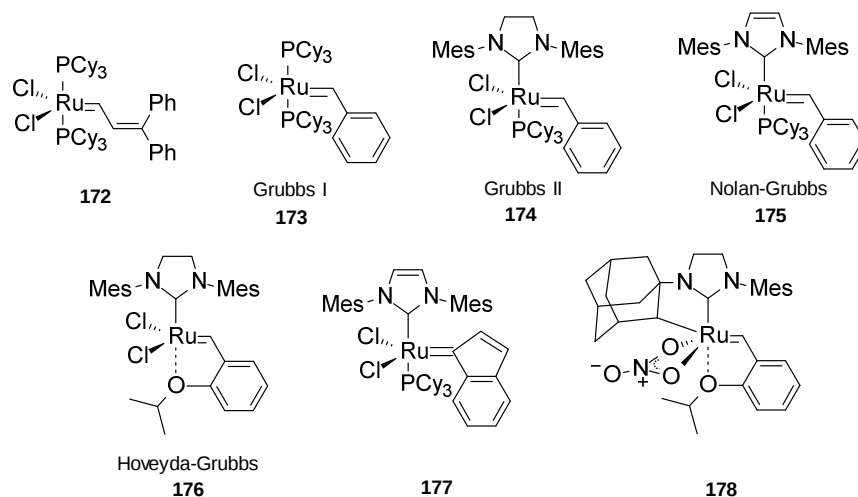


Figure 37. Catalyseurs de métathèse au ruthénium.

L'introduction par Grubbs des catalyseurs au ruthénium de première génération¹¹¹ **172** et **173** a ouvert la voie à la mise au point de nouveaux catalyseurs ainsi qu'à de nombreuses optimisations de leur réactivité

¹¹⁰ Hérisson, J.-L.; Chauvin, Y., Catalyse de transformation des oléfines par les complexes du tungstène. II. Télomérisation des oléfines cycliques en présence d'oléfines acycliques. *Makromol. Chem.* **1971**, *141*, 161-176.

¹¹¹ (a) Nguyen, S. T.; Johnson, L. K.; Grubbs, R. H.; Ziller, J. W. Ring-opening metathesis polymerization (ROMP) of norbornene by a group VIII carbene complex in protic media. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3974-3975. (b) Fu, G. C.; Nguyen, S. T.; Grubbs, R. H. Catalytic ring-closing metathesis of

ainsi que de leur stabilité (Figure 37). En dépit de leur activité catalytique remarquable et d'une tolérance à la plupart des groupements fonctionnels, les catalyseurs de 1^{ère} génération souffraient cependant d'une stabilité limitée et d'une faible réactivité envers les oléfines substituées.¹¹² Toutefois, l'intérêt majeur apporté par cette réaction a stimulé l'investigation de la communauté jusqu'à faire de la métathèse d'oléfine la réaction privilégiée de création de liaisons carbone-carbone.^{108b} C'est ainsi que sont apparus les catalyseurs dits de 2^{ème} génération, possédant un carbène N-hétérocyclique¹¹³ NHC (ligand non labile), tels que les catalyseurs de Grubbs **174**¹¹⁴ et Nolan-Grubbs **175**.¹¹⁵ Outre une activité catalytique améliorée, ces derniers sont beaucoup plus robustes et thermostables que les catalyseurs de 1^{ère} génération.^{114a} Suite à cela, de nombreux catalyseurs de 2^{ème} génération sur charpente benzylidène ont été développés dont notamment le catalyseur de Hoveyda-Grubbs¹¹⁶ **176** qui possède un ligand benzylidène éther chélatant le ruthénium. Ce catalyseur, "phosphine-free", présente une plus grande stabilité thermique ainsi qu'une tolérance accentuée à la présence d'oxygène ou d'humidité. On recense aussi des catalyseurs de type indénilydène **177** qui révèlent également une stabilité accrue à la température.¹¹⁷ Plus récemment, Grubbs *et al.*¹¹⁸ ont développé une nouvelle génération de catalyseur **178** pouvant former sélectivement les oléfines de configuration *cis*.

Les complexes au ruthénium utilisés dans la réaction de métathèse sont considérés comme pré-catalyseurs sous leur forme commerciale.¹¹⁹ En effet, l'espèce catalytiquement active **180** à 14 électrons n'est générée qu'après la dissociation *in situ* du ligand PCy₃ à partir de la forme pré-catalyseur **179** à 16 électrons (Figure 38). C'est ensuite que l'oléfine vient se coordonner pour reformer un intermédiaire **181** à 16 électrons et ainsi initier le cycle catalytique.

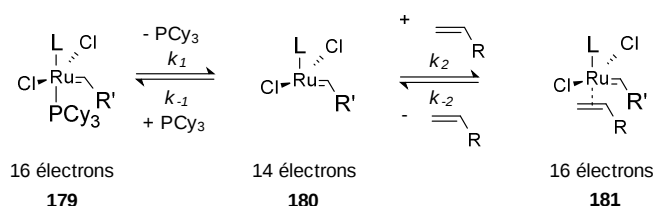


Figure 38. Phénomène de dissociation et d'association

functionalized dienes by a ruthenium carbene complex. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9856-9857. (c) Schwab, P.; France, M. B.; Ziller, J. W.; Grubbs, R. H. A series of well-defined metathesis catalysts-synthesis of [RuCl₂(=CHR')(PR₃)₂] and its reactions. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2039-2041.

¹¹² Grubbs, R. H. *Handbook of Metathesis*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **2003**.

¹¹³ (a) Vougioukalakis, G. C.; Grubbs, R. H., Ruthenium-Based Heterocyclic Carbene-Coordinated Olefin Metathesis Catalysts. *Chem. Rev.* **2009**, *110*, 1746-1787. (b) Samojłowicz, C.; Bieniek, M.; Grela, K. Ruthenium-Based Olefin Metathesis Catalysts Bearing N-Heterocyclic Carbene Ligands. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 3708-3742.

¹¹⁴ (a) Scholl, M.; Ding, S.; Lee, C.W.; Grubbs, R. H. Synthesis and activity of a new generation of ruthenium-based olefin metathesis catalysts coordinated with 1,3-dimesityl-4,5-dihydroimidazol-2-ylidene ligands. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 953-956. (b) Scholl, M.; Trnka, T. M.; Morgan, J. P.; Grubbs, R. H. Increased ring closing metathesis activity of ruthenium-based olefin metathesis catalysts coordinated with imidazolin-2-ylidene ligands. *Tet. Lett.* **1999**, *40*, 2247-2250.

¹¹⁵ Huang, J.; Stevens, E. D.; Nolan, S. P.; Petersen, J. L. Olefin metathesis-active ruthenium complexes bearing a nucleophilic carbene ligand. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2674-2678.

¹¹⁶ Garber, S. B.; Kingsbury, J. S.; Gray, B. L.; Hoveyda, A. H. Efficient and recyclable monomeric and dendritic Ru-based metathesis catalysts. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8168-8179.

¹¹⁷ Boeda, F.; Clavier, H.; Nolan, S. P. Ruthenium-indenylidene complexes: powerful tools for metathesis transformations. *Chem. Commun.* **2008**, 2726-2740.

¹¹⁸ (a) Keitz, B. K.; Endo, K.; Herbert, M. B.; Grubbs, R. H. Z-Selective Homodimerization of Terminal Olefins with a Ruthenium Metathesis Catalyst. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 9686-9688. (b) Keitz, B. K.; Fedorov, A.; Grubbs, R. H. Cis-Selective Ring-Opening Metathesis Polymerization with Ruthenium Catalysts. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 2040-2043.

¹¹⁹ Schrock, R. R., Recent advances in olefin metathesis by molybdenum and tungsten imido alkylidene complexes. *J. Mol. Catal. A : Chem.* **2004**, *213*, 21-30.

L'étude de ces espèces intermédiaires et des constantes cinétiques de dissociation k_1 ainsi que de propagation k_2 a permis d'expliquer les performances des catalyseurs de 2^{ème} génération.¹²⁰ Les premiers résultats ont montré que contrairement à ce qui avait été supposé, la constante de dissociation k_1 des catalyseurs de 1^{ère} génération s'est avérée plus importante que celles des catalyseurs de 2^{ème} génération. Par conséquent, l'activité catalytique accrue de ces derniers ne dépend pas directement de k_1 . En réalité, l'explication se trouve plutôt au niveau de la constante de propagation k_2 , qui est nettement plus élevée pour les catalyseurs de 2^{ème} génération. La préférence pour la coordination de ces derniers avec les substrats oléfiniques est expliquée par l'effet donneur accentué des ligands NHC comparé aux phosphines. De ce fait, malgré une initiation plus lente, mais une propagation plus élevée, les catalyseurs de 2^{ème} génération peuvent persister plus longtemps dans le cycle catalytique améliorant ainsi le taux de catalyse. Additionnellement, l'effet donneur accentué des ligands NHC a ouvert la voie à des réactions de métathèse jusque là impossible notamment avec les oléfines appauvries en électron et occasionnant une gêne stérique.

4. Modèle de sélectivité

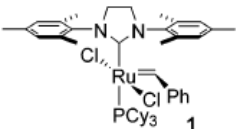
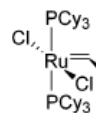
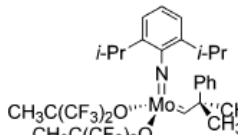
Olefin type	 1	 2	 3
Type I (fast homodimerization)	terminal olefins, ⁶ 1° allylic alcohols, esters, ^{6h,20} allyl boronate esters, ^{6f} allyl halides, ^{6f,6i} styrenes (no large ortho substit.), ^{6c,d,f,i} allyl phosphonates, ^{6d} allyl silanes, ²⁵ allyl phosphine oxides, ^{6h} allyl sulfides, ^{6h} protected allyl amines ^{6h}	terminal olefins, ⁸ allyl silanes, ^{14,18,19} 1° allylic alcohols, ethers, esters, ^{8,19,21} allyl boronate esters, ^{10f} allyl halides ¹⁷	terminal olefins, ^{11a,b,12,14} allyl silanes ^{11b}
Type II (slow homodimerization)	styrenes (large ortho substit.), ^{6d,f} acrylates, ^{6b,i} acrylamides, ^{6c} acrylic acid, ^{6c} acrolein, ^{6b,24} vinyl ketones, ^{6b} unprotected 3° allylic alcohols, ^{6f,h} vinyl epoxides, ^{6b} 2° allylic alcohols, perfluorinated alkane olefins ^{6b,23}	styrene, ¹⁶ 2° allylic alcohols, vinyl dioxolanes, ⁸ vinyl boronates ⁸	styrene, ^{11a,11b} allyl stannanes ¹⁵
Type III (no homodimerization)	1,1-disubstituted olefins, ^{6a,g} non-bulky trisub. olefins, ^{6a,g} vinyl phosphonates, ^{6d} phenyl vinyl sulfone, ²² 4° allylic carbons (all alkyl substituents), 3° allylic alcohols (protected)	vinyl siloxanes ¹⁶	3° allyl amines, ¹⁴ acrylonitrile ¹²
Type IV (spectators to CM)	vinyl nitro olefins, trisubstituted allyl alcohols (protected)	1,1-disubstituted olefins, ⁸ disub. α,β -unsaturated carbonyls, 4° allylic carbon-containing olefins, ⁸ perfluorinated alkane olefins, ⁸ 3° allyl amines (protected) ¹⁴	1,1-disubstituted olefins ^{11a}

Figure 39. Modèle de sélectivité pour la métathèse croisée d'après Grubbs et al.¹²¹

¹²⁰ Sanford, M. S.; Love, J. A.; Grubbs, R. H., Mechanism and Activity of Ruthenium Olefin Metathesis Catalysts. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 6543-6554.

¹²¹ Chatterjee, A. K.; Choi, T.-L.; Sanders, D. P.; Grubbs, R. H. A General Model for Selectivity in Olefin Cross Metathesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11360-11370.

Les principaux paramètres qui influent sur l'équilibre et la distribution des différents produits de la métathèse croisée sont le ratio respectif des oléfines et leur réactivité. Dès lors, la sélectivité de la réaction de métathèse croisée ne peut être prédite par une simple loi statistique.¹²² En raison de ce manque de contrôle et de prédiction de la sélectivité, la réaction de métathèse croisée est longtemps restée sous-utilisée comparé à la ROMP ou la RCM.

En 2003, Grubbs *et al.*¹²¹ ont créé un modèle général permettant la prédiction de la sélectivité pour la réaction de métathèse croisée (Figure 39). Ce modèle empirique est basé sur la catégorisation des oléfines en fonction de leur réactivité. Les oléfines sont alors classées dans 4 catégories selon leur tendance à homodimériser et l'aptitude des homodimères à subir une métathèse secondaire pour former l'hétérodimère. Le classement proposé est donc le suivant :

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

Un autre facteur clé de la sélectivité dans la réaction de métathèse croisée est le choix du type d'oléfine que l'on veut faire réagir. En effet, si la réaction implique deux oléfines de même type, on observera généralement un mélange de produits non sélectif. Dans ces cas-là, il est nécessaire d'utiliser un large excès d'une des oléfines pour espérer obtenir le produit de métathèse croisée. Cependant, une excellente sélectivité est possible si l'on utilise deux types d'oléfines différentes : une hautement réactive (Type I) et une moins réactive (Type II ou III).

De plus, il est à noter que le type d'oléfine est directement dépendant de la nature du catalyseur. À titre d'exemple, une oléfine 1,1-disubstituée est considéré de type IV avec le catalyseur de Grubbs de 1^{ère} génération alors que cette même oléfine passe en Type III pour donner des oléfines *tri*-substituées avec la 2^{ème} génération de catalyseur.

5. La synthèse des oléfines *tri*-substituées

La synthèse des oléfines *tri*-substituées a largement été décrite dans la littérature. En effet, il existe une grande variété de réactions permettant de synthétiser ce type d'oléfines. On peut notamment citer le réarrangement de Claisen,¹²³ la réaction de Wittig,¹²⁴ le couplage de Julia,¹²⁵ l'oléfination de Peterson,¹²⁶

¹²² Schuster, M.; Blechert, S., Olefin Metathesis in Organic Chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2036-2056.

¹²³ (a) Morimoto, Y.; Mikami, A.; Kuwabe, S.; Shirahama, H., A synthesis of C1–C22 fragment of the immunosuppressant FK 506. Stereoselective construction of (E)-trisubstituted double bond (C19–C20) via ester-enolate claisen rearrangement. *Tet. Lett.* **1991**, *32*, 2909-2912. (b) Johnson, W. S.; Buchanan, R. A.; Bartlett W. R.; Tham F. S.; Kullnig R. K. Cation-stabilizing auxiliaries in polyene cyclizations. 6. The fluorine atom as a cation-stabilizing auxiliary in biomimetic polyene cyclizations. 3. Use to effect regiospecific control. *J. Am. Chem.Soc.* **1993**, *115*, 504-515. (c) Trost, B. M.; Hembre, E. J. Pd Catalyzed kinetic resolution of conduritol B. Asymmetric synthesis of (+)-cyclophellitol. *Tet. Lett.* **1999**, *40*, 219-222.

¹²⁴ (a) Garner, P.; Ramakanth, S. The stereoselective synthesis of acyclic and exocyclic trisubstituted olefins via a hydroxyl-directed Wittig reaction. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2629-2631. (b) Bartoli, G.; Marcantoni, E.; Sambri, L.; Tamburini, M. Cerium(III) Chloride Promoted Nucleophilic Addition of Organolithium Reagents to α -Alkyl- β -Ketophosphine Oxides: A New Protocol for the Synthesis of Stereochemically Defined Trisubstituted Olefins. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2046-2048. (c) Katritzky, A. R.; Feng, D.; Lang, H. Stereoselective Syntheses of β,γ -Unsaturated Esters and γ -Lactones: 1-(Benzotriazol-1-yl)-3-(diphenylphosphoryl)-1-ethoxy-1-propene, a Protected $\text{CCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ Synthon Equivalent. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4131-

etc... Toutefois, ces réactions nécessitent parfois la mise en place de protocoles fastidieux et/ou impliquent des quantités stœchiométriques de réactifs.

Dans ce contexte, la métathèse d'oléfine offre une parfaite alternative avec une réaction catalysée dans des conditions relativement douces. Néanmoins, l'utilisation de la réaction de métathèse pour la préparation de ces oléfines encombrées n'a été rendue possible qu'avec l'apparition des catalyseurs plus réactifs de 2^{ème} génération.

En 1999, Grubbs *et al.*¹²⁷ ont décrit les premiers exemples de métathèses croisées entre les oléfines 1,1-disubstituées **182** avec les oléfines terminales **183** en vue de générer des oléfines *tri*-substituées **184** (Schéma 25). Ces réactions catalysées par 5 mol % de Grubbs II **174** en présence d'un léger excès d'oléfine terminale ont donné d'excellents résultats avec des rendements allant jusqu'à 87 %.

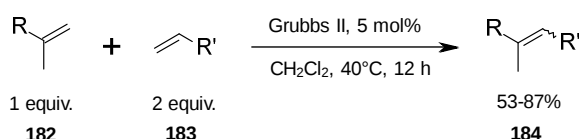


Schéma 25. Exemples de synthèse d'oléfines tri-substituées

Les mêmes auteurs étudièrent également l'influence de l'encombrement stérique du carbène N-hétérocyclique sur l'efficacité de la métathèse impliquant les oléfines encombrées.¹²⁸ Les trois catalyseurs utilisés dans cette étude sont décrits dans la figure 40. On retrouve donc trois variantes du catalyseur d'Hoveyda-Grubbs 2^{ème} génération avec des ligands NHC mésityle **176**, tolyle **185** et diisopropyle **186**.

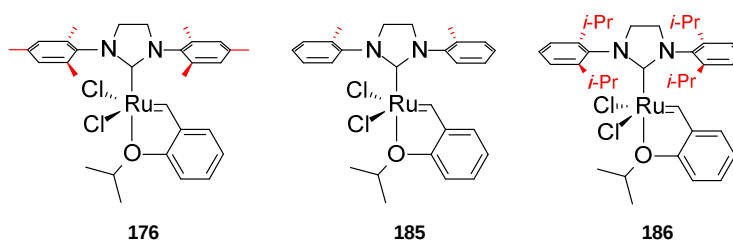


Figure 40. Catalyseurs avec des ligands NHC mésityle **176**, tolyle **185**, et diisopropyle **186**.

La première observation a été que la formation de l'oléfine *tri*-substituée par métathèse croisée en présence de **185** était moins favorisée comparée à **176** (Tableau 4). En effet, la réaction catalysée avec **176** ou **185** entre le méthylèncyclohexane avec le 5-acétoxy-1-pentène a donné le produit de métathèse avec respectivement 78 % et 60 % (Tableau 4, Entrée 1). Les mêmes observations sont faites lorsque la réaction

4136. (d) Burke S. D.; Hong J.; Lennox J. R.; Mongin A. P. Synthetic Studies of Antitumor Macrolide Rhizoxin: Stereoselective Syntheses of the C(1)–C(9) and C(12)–C(26) Subunits. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6952-6967. (e) Breit, B.; Zahn, S. K. Domino Hydroformylation-Wittig Reactions *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 969-971.

¹²⁵ (a) Kocienski, P. Recent Sulphone-Based Olefination Reactions. *Phosphorus Sulfur Relat. Elem.* **1985**, *24*, 97-127. (b) Johnson W. S.; Plummer, M. S.; Reddy S. P.; Bartlett, W. R. Cation-stabilizing auxiliaries in polyene cyclizations. 7. The fluorine atom as a cation-stabilizing auxiliary in biomimetic polyene cyclizations. 4. Total synthesis of dl-beta-amylin. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 515-521. (c) Marko, I. E.; Murphy, F.; Dolan, S. Efficient preparation of trisubstituted alkenes using the Julia-Lythgoe olefination of ketones. On the key-role of SmI_2 in the reductive elimination step. *Tet. Lett.* **1996**, *37*, 2089-2092. (d) Hanessian, S.; Cantin, L. D.; Andreotti, D. Total Synthesis and Absolute Configuration of (–)-Anthopallone. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4893-4900.

¹²⁶ (a) Barrett, A. G. M.; Hill, J. M.; Wallace, E. M.; Flygare, J. A. Recent Studies on the Peterson Olefination Reaction. *Synlett* **1991**, 764-770. (b) Barrett, A. G. M.; Flygare, J. A. Triply convergent, stereospecific alkene formation via Peterson olefination. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 638-642.

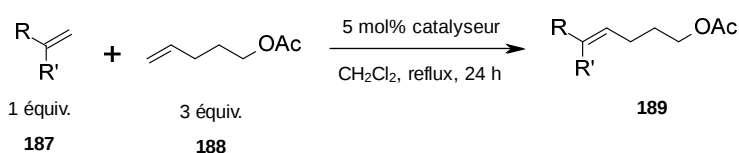
¹²⁷ Chatterjee, A. K.; Grubbs, R. H. Synthesis of Trisubstituted Alkenes via Olefin Cross-Metathesis. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1751-1753.

¹²⁸ Stewart, I. C.; Douglas, C. J.; Grubbs, R. H. Increased Efficiency in Cross-Metathesis Reactions of Sterically Hindered Olefins. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 441-444.

est réalisée avec le dibenzoate comme substrat 1,1-disubstitué pour donner le produit désiré avec un rendement qui descend de 73 % à 54 % avec **185** (Entrée 3).

L'addition d'une substitution allylique sur l'oléfine 1,1-disubstituée réduit considérablement la réactivité de l'oléfine par rapport au catalyseur donnant le produit de métathèse avec seulement 17 % en présence de **176** et aucune trace de l'oléfine *tri*-substituée avec **185** (Entrée 2). D'autre part, les rendements des produits **189a** et **189c** sont considérablement améliorés lorsque l'on fait intervenir le catalyseur **186** possédant un ligand NHC isopropyle pour atteindre respectivement 98 % et 96 % de rendement tandis que l'on observe une légère baisse pour le composé **189b** avec seulement 7 %.

Tableau 4. Influence de l'encombrement stérique des ligands



Entrée	Réactif	Produit (189)	176 (%)	185 (%)	186 (%)
a			78	60	98
b			17	0	7
c			73	54	96

On peut donc conclure de ces résultats que la formation des oléfines *tri*-substituées est plus favorable avec les catalyseurs possédant un ligand NHC encombré. Néanmoins, cette conclusion n'est applicable qu'aux oléfines peu encombrées puisque l'effet inverse est observé avec l'oléfine 1,1-disubstituée possédant une substitution allylique.

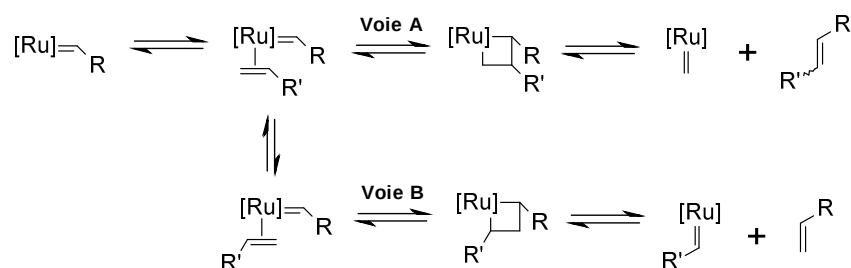


Schéma 26. Les voies productives (A) et non-productive (B) en métathèse croisée.¹²⁸

Selon les auteurs, la différence d'efficacité de ces catalyseurs dans la formation d'oléfines *tri*-substituées suggère qu'il existe effectivement un effet stérique provoqué par le noyau NHC qui interfère sur l'approche de l'oléfine. Pour expliquer ce phénomène, il faut reconsidérer le fait qu'il existe deux voies possibles dans tout type de métathèse croisée : la voie productive (voie A) et la voie non-productive (voie B) (Schéma 26). En effet, si la cycloaddition [2+2] mène au métallocyclobutane 1,2-disubstitué (voie A), la cycloréversion

générera le ruthénium méthylidène accompagné du produit de métathèse désiré. À l'inverse, si la coordination de l'oléfine se fait de sorte à former le métallocyclobutane 1,3-disubstitué (voie B), la cycloréversion se soldera par une métathèse non-productive qui s'inscrit néanmoins dans le *turnover* catalytique. La prise en compte de cette régiosélectivité est donc cruciale dans la formation des oléfines *tri*-substituées par métathèse croisée. Les différents π -complexes de **176** et **185** que l'on peut observer avec les oléfines 1,1-disubstituées sont résumés dans la figure 41. Ainsi, on se rend compte que les ligands NHC les moins encombrés peuvent aussi bien favoriser la voie non-productive que la voie productive. À l'inverse, la gêne stérique occasionnée par le ligand NHC encombré de **176** va d'avantage favoriser la formation du métallocyclobutane 1,2-disubstitué favorisant ainsi la voie productive. La sélectivité de formation de **D** sur **C** est donc supérieure à celle de **B** sur **A**. En d'autres termes, dans le cas d'une métathèse croisée, plus le ligand NHC est encombré plus on favorisera la voie productive avec les oléfines 1,1-disubstituées.

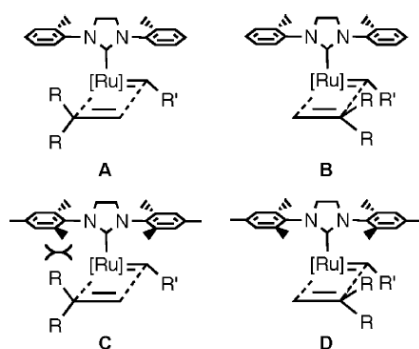


Figure 41. π -complexes avec les oléfines 1,1-disubstituées.¹²⁸

V. Déprotections chémo-enzymatiques

Tableau 5. Hydrolyse des diacétates **190a-c** par *Candida rugosa* et *Pseudomonas fluorescens*

$ \begin{array}{c} \text{AcO} \quad \text{AcO} \\ \quad \\ \text{CH}_2 \quad \text{CH} \\ \quad \\ \text{R} \quad \text{R} \end{array} \xrightarrow[\text{tampon, 25}^\circ\text{C}]{\text{Lipase}} \begin{array}{c} \text{AcO} \quad \text{HO} \\ \quad \\ \text{CH}_2 \quad \text{CH} \\ \quad \\ \text{R} \quad \text{R} \end{array} + \begin{array}{c} \text{HO} \quad \text{AcO} \\ \quad \\ \text{CH}_2 \quad \text{CH} \\ \quad \\ \text{R} \quad \text{R} \end{array} + \begin{array}{c} \text{HO} \quad \text{HO} \\ \quad \\ \text{CH}_2 \quad \text{CH} \\ \quad \\ \text{R} \quad \text{R} \end{array} $							
	190		191-(E)	192-(Z)	193		
Entrée	R	Lipase	Temps (h)	191 (%)	Ratio E:Z	192 (%)	193 (%)
a	Méthyle	AY ^a	33	24	28:72	18	31
b	Pentyle	AY ^a	72	51	21:79	28	17
c	Phényle	AK ^b	48	52	4:96	7	30

^aAY (*Candida rugosa*) ^bAK (*Pseudomonas fluorescens*)

L'hydrolyse enzymatique de diacétates dissymétriques a très peu été reportée dans la littérature. C'est en 2005 que l'équipe de Takabe a reporté le premier exemple d'hydrolyse enzymatique des diacétates **190a-c**.¹²⁹ Cette réaction d'hydrolyse donne lieu à 3 produits différents : le produit **191-(E)**, le produit **192-(Z)** ainsi que le diol **193**. Le tableau 5 présente quelques résultats sélectionnés de leur screening réalisé dans un

¹²⁹ Hisano, T.; Onodera, K.; Toyabe, Y.; Mase, N.; Yoda, H.; Takabe, K. Highly regioselective lipase-catalyzed acetylation and hydrolysis of acyclic α,α' -alkenediols and their diacetates. *Tet. Lett.* **2005**, *46*, 6293-6295.

tampon phosphate à 25 °C. On s'aperçoit dans un premier temps que plus le groupement R est volumineux plus le ratio est en faveur du produit **192-(Z)**. Ce résultat est explicable par la gêne stérique occasionnée par le groupement R qui réduit l'accessibilité à la lipase. D'autre part, on note que les rendements sont assez moyens (24-52 %) et que l'enzyme *Candida rugosa* (AY) ne présente pas une très bonne régiosélectivité sur les substrats **190a** et **190b** comparé au très bon ratio *E/Z* obtenu avec *Pseudomonas fluorescens* (AK) sur le substrat **190c** (4:96). Enfin, les réactions semblent assez longues sans pour autant atteindre une conversion totale et peuvent nécessiter jusqu'à 72 h.

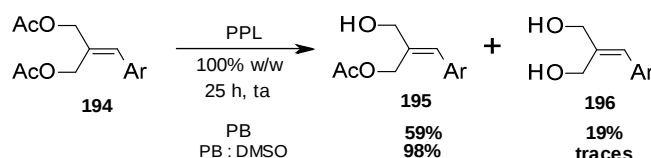


Schéma 27. Hydrolyse du diacétate **194** par PPL (*Porcine Pancreas* lipase)

En 2009, Imai *et coll.* ont publié des travaux sur des substrats similaires, mais en faisant cette fois intervenir la lipase *Porcine pancreas* (PPL).¹³⁰ Les résultats sont alors beaucoup plus encourageants, car ils obtiennent initialement 59 % du produit **195** accompagné de 19 % du diol **196** sans observer la présence de l'isomère *trans* (tampon phosphate, 25 °C) (Schéma 27). De plus, lorsque la réaction est menée dans un mélange tampon phosphate:DMSO (1:1) seul le produit **195** est formé avec un rendement de 98 %. Les auteurs expliquent cette amélioration de l'activité catalytique de l'enzyme par un contrôle imposé par le DMSO qui améliore également la solubilité du substrat. Dans la suite de leur étude, les auteurs ont réalisé un screening en faisant varier la nature de l'aromatique vinylique ainsi que ses substituants en obtenant toujours d'excellents rendements.

VI. Notre travail

1. Synthèse de 3'-hydroxyméthyl-butèn-2-yl phosphonates

1.1. Synthèse des intermédiaires

1.1.1. Synthèse chémo-enzymatique de l'intermédiaire oléfinique diacétate

Pour débiter ce travail, nous nous sommes intéressés à la synthèse de l'intermédiaire **167** (Schéma 28). Les synthèses précédemment reportées utilisent souvent comme précurseur le 1,3-diacétoxyacétone **199** pour la préparation de l'oléfine **167** via une réaction de Wittig.¹³¹ La littérature recense de nombreuses méthodologies pour la préparation du 1,3-diacétoxyacétone. A titre d'exemple, Chung *et al.*¹³² ont récemment reporté une oxydation du glycérol via un complexe au palladium [(neocuproine)Pd(OAc)]₂(OTf)₂

¹³⁰ Miura, T.; Umetsu, S.; Kanamori, D.; Tsuyama, N.; Jyo, Y.; Kawashima, Y.; Koyata, N.; Murakami, Y.; Imai, N. Convenient synthesis of Z-monoacetates of 2-alkylidene-1,3-propanediols. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 9305-9308.

¹³¹ Shintani, R.; Moriya, K.; Hayashi, T. Guiding the nitrogen nucleophile to the middle: palladium-catalyzed decarboxylative cyclopropanation of 2-alkylidenetrimethylene carbonates with isocyanates. *Chem. Comm.* **2011**, *47*, 3057-3059.

¹³² Chung, K.; Banik, S. M.; De Crisci, A. G.; Pearson, D. M.; Blake, T. R.; Olsson, J. V.; Ingram, A. J.; Zare, R. N.; Waymouth, R. M. Chemoselective Pd-Catalyzed Oxidation of Polyols: Synthetic Scope and Mechanistic Studies. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 7593-7602.

conduisant chimio-sélectivement au 1,3-dihydroxyacétone qui peut être converti en 1,3-diacétoxyacétone après une étape d'acétylation.¹³³ Dans notre cas, la préparation du 1,3-diacétoxyacétone a été réalisée en deux étapes par une approche chémo-enzymatique très accessible à partir du glycérol avec un rendement sur 2 étapes de 93 %. Dans une première étape, les fonctions hydroxyles primaires du glycérol **197** sont sélectivement acétylées pour isoler la fonction hydroxyle secondaire. Cette acétylation sélective est rendue possible par une catalyse enzymatique en utilisant la lipase supportée *Candida Antarctica* B (10 % w/w) et l'acétate de vinyle comme agent acétylant.¹³⁴ Cette réaction menée dans le dichlorométhane donne le produit diacétylé **198** avec 95 % de rendement. Il est à noter que la sélectivité de cette réaction chémo-enzymatique est totale puisque aucune trace du composé triacétylé n'a été détectée.

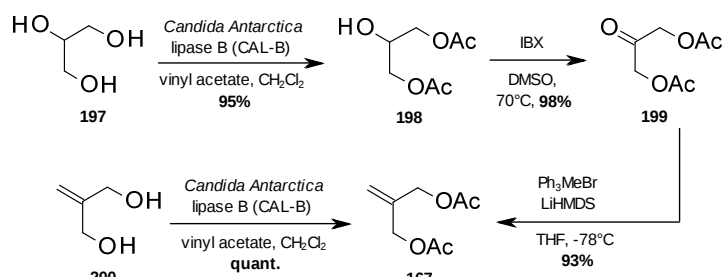


Schéma 28. Synthèse de l'intermédiaire diacétate **167**.

Nous avons ensuite réalisé un criblage de différents oxydants pour obtenir la cétone **199**. Nous avons donc successivement tenté l'oxydation avec TEMPO¹³⁵ (2,2,6,6-tétraméthylpiperidine-1-oxyl), AZADO¹³⁶ (2-azaadamantane-*N*-oxyl) et IBX¹³⁷ (acide 2-iodoxybenzoïque). Les résultats sont décrits dans le tableau 6. L'oxydation réalisée avec le TEMPO en présence d'acide trichloroisocyanurique à 0 °C a donné le produit d'oxydation avec 78 % de rendement après seulement 1 h (Tableau 6, entrée 1). L'utilisation d'un oxydant plus réactif tel que AZADO selon la procédure décrite par Shibuya *et al.*¹³⁶ a permis d'améliorer le rendement jusqu'à 91 % (entrée 2). Enfin, lorsque la réaction d'oxydation est réalisée avec IBX dans l'acétate d'éthyle, le produit désiré n'est obtenu qu'avec 84 % de rendement après 24 h à 70 °C (entrée 3). Le temps de réaction peut être considérablement réduit par utilisation d'un solvant plus polaire tel que le DMSO pouvant solubiliser l'IBX dans le milieu réactionnel. De cette façon, nous avons pu obtenir le dérivé **199** avec un rendement de 95 % en 1 h à 70 °C (entrée 4). Toutefois, pour obtenir un résultat optimal, il est préférable de synthétiser l'IBX juste avant son utilisation. Sa préparation est réalisée avec précaution par traitement de l'acide 2-iodobenzoïque avec de l'oxone.¹³⁸ La cétone **199** a ensuite été engagée dans une réaction de Wittig pour former l'oléfine **167** avec un rendement de 93 %.

¹³³ Novoa, A.; Pellegrini-Moïse, N.; Bourg, S.; Thoret, S.; Dubois, J.; Aubert, G.; Cresteil, T.; Chapleur, Y. Design, synthesis and antiproliferative activities of biarylolefins based on polyhydroxylated and carbohydrate scaffolds. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 3570-3580.

¹³⁴ Magnusson, C. D.; Haraldsson, G. G. Chemoenzymatic synthesis of symmetrically structured triacylglycerols possessing short-chain fatty acids. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 2728-2731.

¹³⁵ De Nooy, A. E.; Besemer, A. C.; Van Bekkum, H. On the Use of Stable Organic Nitroxyl Radicals for the Oxidation of Primary and Secondary Alcohols. *Synthesis* **1996**, 1153-1176.

¹³⁶ Shibuya, M.; Tomizawa, M.; Suzuki, I.; Iwabuchi, Y. 2-Azaadamantane *N*-Oxyl (AZADO) and 1-Me-AZADO: Highly Efficient Organocatalysts for Oxidation of Alcohols. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8412-8413.

¹³⁷ Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S.; Palmisano, G. Oxidation of Alcohols with o-Iodoxybenzoic Acid in DMSO: A New Insight into an Old Hypervalent Iodine Reagent. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7272-7276.

¹³⁸ Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S. A User-Friendly Entry to 2-Iodoxybenzoic Acid (IBX). *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4537-4538.

L'oléfine **167** peut également être synthétisée à partir du diol commercial **200**. Ce dernier peut être acétylé de façon classique par traitement avec de l'anhydride acétique¹³⁹ en présence de pyridine ou par une substitution des fonctions hydroxyles par traitement avec le chlorure de thionyle suivi d'un traitement à l'acétate de sodium.¹⁴⁰ Toutefois, cette dernière méthode s'avère peu efficace puisqu'elle mène à un mélange de produits mono- et diacétates. Alternativement, nous proposons ici une procédure d'acétylation catalysée par la lipase *Candida Antarctica* B (10 % w/w) dans les mêmes conditions que précédemment. Cette procédure permet une isolation quantitative du produit par simple filtration de la lipase et évaporation du solvant.

Tableau 6. Optimisation de la réaction d'oxydation de **198**.

Entrée	Oxydant	Solvant	Temp.	Durée	Rendement
1^a	TEMPO 	CH ₂ Cl ₂	0 °C	1 h	78 %
2^b	AZADO 	CH ₂ Cl ₂	0 °C	1 h	91 %
3	IBX 	EtOAc	70 °C	24 h	84 %
4	IBX 	DMSO	70 °C	1 h	95 %

^a AZADO (0.01 équiv.), KBr (0.1 équiv.), *n*Bu₄NBr (0.05 équiv.), NaOCl/NaHCO₃ (1:1.4)

^b TEMPO (0.05 équiv.), acide trichloroisocyanuric (1.1 équiv.)

1.1.2. Préparation de la forme bis-POM de l'allyl- et crotylphosphonate.

La synthèse de la forme *bis*-POM de l'allylphosphonate **150** a été réalisée à partir du diméthylallylphosphonate **201** par traitement avec le chlorométhyle pivalate (POMCl) en présence d'iodure de sodium dans l'acétonitrile à reflux. La réaction est relativement lente et nécessite entre 48-72 h pour atteindre une conversion totale donnant le *bis*-POM allylphosphonate **150** avec 74 % de rendement. La réaction procède par deux déprotections-substitutions successives.

Avec l'objectif de réduire le temps de réaction, la préparation de **150** a été tentée sous irradiation micro-onde à 100 °C (Schéma 29). Toutefois, bien qu'une conversion totale soit observée après seulement 2 h, le produit désiré **150** a été isolé avec un rendement légèrement plus faible (56 %) qu'en chauffage classique.

¹³⁹ brevet : Preparation of macrolide bicyclic 9a-azalide erythromycin derivatives as antibacterial agents, US2006069048 A1.

¹⁴⁰ Friedrich, M.; Savchenko, Andrei I.; Wächtler, A.; de Meijere, A. Easy Access to Derivatives of 2-(Hydroxymethyl)propane-1,2,3-triol (Isoerythritol) with up to Four Separately Addressable Functionalities. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 11, 2138-2143.

Malgré tout, la procédure sous irradiation micro-onde reste une alternative intéressante, car elle offre un temps de réaction beaucoup plus raisonnable.

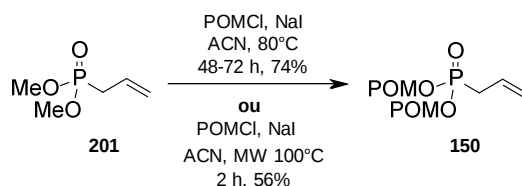


Schéma 29. Préparation du *bis*-POM allylphosphonate.

1.2. Mise au point de la métathèse croisée

1.2.1. Identification des paramètres à optimiser

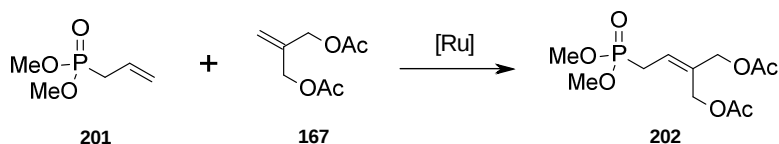


Schéma 30. Synthèse de l'oléfine **202** par métathèse croisée.

À l'issue de nos essais préliminaires, la réaction de métathèse croisée entre les dérivés allylphosphonates et l'oléfine 1,1-disubstituée **167** s'est avérée relativement difficile (Schéma 30). En effet, l'utilisation des conditions précédemment optimisées au laboratoire pour la réaction entre les oléfines de type I et II n'est malheureusement pas applicable dans notre cas en raison d'une conversion inférieure à 10 % en présence de 5 mol% du catalyseur de Nolan-Grubbs après 24 h de réaction à reflux. Nous avons donc entamé une optimisation de chacun des paramètres qui peuvent influencer cette réaction de métathèse. On s'intéressera précisément aux paramètres suivants : le type de catalyseur, la charge catalytique, le type d'oléfine (I ou II), le solvant, la température et le temps de réaction.

▪ Les catalyseurs

Les catalyseurs qui seront utilisés dans cette étude sont représentés dans la figure 42. On retrouve donc le catalyseur de Nolan-Grubbs 2nd génération **175** que l'on appellera **NG-II** ainsi que le catalyseur d'Hoveyda-Grubbs 2nd génération **176** que l'on appellera **HG-II**. Comme nous l'avons vu précédemment, les catalyseurs possédant un ligand NHC de type IMes sont parfaitement adaptés à la synthèse d'oléfines tri-substituées.

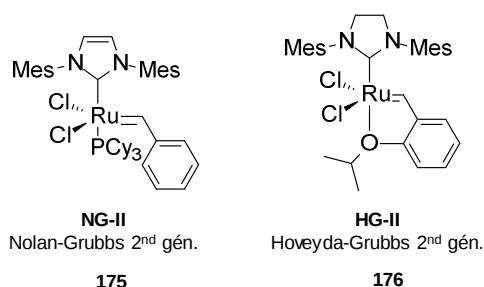


Figure 42. Structure des catalyseurs utilisés.

▪ Les types d'oléfines

Le second choix crucial dans la réaction de métathèse est le type d'oléfine. En effet, pour un dérivé allyle phosphonate qui est une oléfine de type I, le modèle de Grubbs prévoit une homodimérisation rapide avec une consommation de l'homodimère dans une métathèse secondaire en vue de former l'hétérodimère désiré (Figure 43). Ensuite, pour un dérivé crotyle phosphonate, oléfine de type II, on s'attend à une homodimérisation plus lente ainsi qu'une consommation des homodimères plus modérée. Enfin, le partenaire oléfinique 1,1-disubstitué est classé comme oléfine de type III connu pour ne pas subir d'homodimérisation. De plus, le ratio entre ces oléfines lors de la réaction nécessite également d'être ajusté, car il peut parfois jouer de façon significative sur le rendement. Il n'existe pas de règle pré-établie pour déterminer ce ratio, une optimisation est donc souvent nécessaire pour chaque nouveau système.

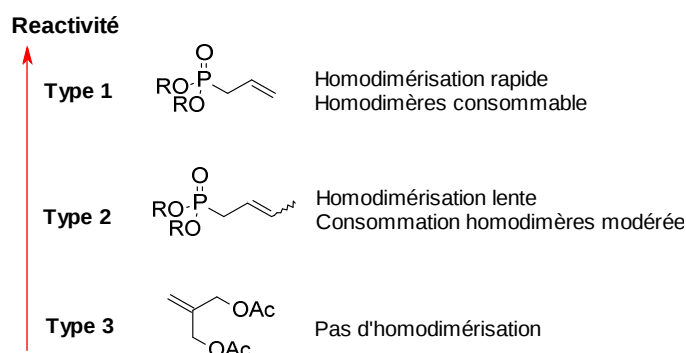


Figure 43. Type d'oléfine et réactivité.

▪ Le solvant

Le choix des solvants à étudier est relativement limité pour la réaction de métathèse. Les principaux paramètres à prendre en compte ici sont la polarité du solvant, sa constante diélectrique ainsi que son aspect non-coordonnant. En effet, la constante de dissociation k_1 du ligand, plus élevée dans les solvants polaires, est proportionnelle à la constante diélectrique de ce dernier.¹²⁰ De ce fait, les solvants tels que le dichlorométhane ($\epsilon = 8,93$) ou le dichloroéthane ($\epsilon = 10,36$) possédant une constante diélectrique élevée sont de parfaits candidats pour cette réaction de métathèse comparé par exemple au toluène ($\epsilon = 2,38$). Dans l'optimisation qui suit, le solvant sera choisi en fonction de la température définie pour la réaction. Par défaut, on choisira le dichlorométhane pour les réactions à température moyenne 40-55 °C et le dichloroéthane pour les températures plus élevées 80-100 °C.

1.2.2. Optimisation de la métathèse en série bis-OMe

Nous avons débuté l'optimisation en étudiant la réaction de métathèse entre le diméthyle allylphosphonate **201** (type I) et l'oléfine 1,1-disubstituée **167** (type III). Le choix d'une oléfine de type I est motivé par les résultats obtenus lors des essais préliminaires (non présenté). En effet, les réactions menées avec le crotylallylphosphonate (type II) se sont avérées plus lentes et ont mené à des taux de conversions plus faibles qu'avec le diméthylallylphosphonate (type I). D'autre part, considérant le fait que les oléfines de type III ne peuvent pas homodimériser, nous avons décidé de réaliser cette réaction avec un excès stoechiométrique (2 équiv.) de l'oléfine 1,1-disubstituée **167**.

Le tableau 7 résume les taux de conversion déterminés par RMN ^1H pour les différents tests réalisés dans cette série. La polarité entre le diméthyle allylphosphonate et le produit de métathèse étant trop proche, la détermination du rendement n'est donc possible qu'après conversion complète du réactif.

Entrée 1 et 2 (Tableau 7) : Nos premiers essais menés avec 5 mol% de **NG-II** et **HG-II** en chauffage classique dans le dichlorométhane n'ont permis d'obtenir que 9 % et 16 % de conversion. Le catalyseur n'a pas été mis en cause dans ces deux essais, car une accumulation d'homodimère diméthylphosphonate **203** a été observée dans le milieu réactionnel. Cette observation nous a permis de conclure que le catalyseur était bien actif, mais qu'il ne réagissait pas avec l'homodimère ou de l'oléfine de type III.

Tableau 7. Résultats de l'optimisation en série allyle *bis*-OMe

1 équiv. 201 + 2 équiv. 167 $\xrightarrow[\text{solvant (0.1 M), temp, activation}]{\text{catalyseur}}$ 202 + 203

NG-II
Nolan-Grubbs 2nd gén.
175

Entrée	[Ru] (mol%)	Solvant	Temps	Température	Conversion ^a
1	5%- NG-II ^b	CH ₂ Cl ₂	24 h	40 °C	9 %
2	5%- NG-II ^b	CH ₂ Cl ₂	24 h	40 °C	16 %
3	15%- NG-II ^c	CH ₂ Cl ₂	24 h	40 °C	23 %
4	15%- NG-II ^c	DCE	24 h	80 °C	32 %
5	10%- NG-II ^b	CH ₂ Cl ₂	4 h	100 °C (MO)	38 %
6	10%- HG-II ^b	CH ₂ Cl ₂	4 h	100 °C (MO)	70 %

^a Conversion déterminée par RMN ^1H pour **202**.

^b catalyseur ajouté en 1 fois

^c catalyseur ajouté en 3 fois

HG-II
Hoveyda-Grubbs 2nd gén.
176

Entrée 3 et 4 (Tableau 7) : Une très légère amélioration a été observée lorsque nous sommes passés à 15 mol%-**NG-II** (ajouté en 3 fois) avec 23 % de conversion (Entrée 3). Dans ce dernier essai, le catalyseur a été ajouté en plusieurs fois comme le préconise Grubbs pour les réactions récalcitrantes ainsi que divers exemples dans la littérature.¹⁴¹ Lorsque le solvant a été changé pour le dichloroéthane (80 °C), le taux de conversion est passé à 32 % (Entrée 4).

Entrée 5 et 6 (Tableau 7) : Devant les faibles conversions observées, nous avons décidé de nous tourner vers une activation par irradiation micro-onde (MO).¹⁴² Ainsi, nous avons tenté cette réaction sous MO avec 10 mol% (ajouté en 1 fois) de **NG-II** et **HG-II** dans le dichlorométhane à 100 °C pendant 30 min tel que décrit par Sasaki *et al.*¹⁴³ Toutefois, la conversion étant très faible à l'issue du temps indiqué, l'irradiation a été

¹⁴¹ (a) Hughes, R. C.; Dvorak, C. A.; Meyers, A. I. An Asymmetric Approach to Spirocyclic Systems: A Formal Synthesis of Zizaene. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5545-5551. (b) Skaanderup, P. R.; Jensen, T. Synthesis of the Macrocyclic Core of (–)-Pladienolide B. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2821-2824.

¹⁴² Coquerel, Y.; Rodriguez, J. Microwave-Assisted Olefin Metathesis. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *7*, 1125-1132.

¹⁴³ Fuwa, H.; Noto, K.; Sasaki, M. Stereoselective Synthesis of Substituted Tetrahydropyrans via Domino Olefin Cross-Metathesis/Intramolecular Oxa-Conjugate Cyclization. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1636-1639.

prolongée à 4 h. De cette façon, nous avons obtenu une conversion de 38 % avec **NG-II** et 70 % avec **HG-II**. Généralement, l'irradiation par les micro-ondes permet d'abaisser considérablement les temps de réaction et donc de réduire les produits secondaires ainsi que les produits de dégradations.¹⁴⁴ Après 4 h d'irradiation, les analyses RMN ont mis en évidence la formation d'impuretés qui proviennent sûrement de la dégradation thermique accentuée des catalyseurs **NG-II** et **HG-II** à 100 °C. D'un point de vue expérimental, cette observation se caractérise par un noircissement du milieu réactionnel. Par conséquent, bien qu'une conversion de 70 % (Entrée 6) soit acceptable, l'irradiation par les micro-ondes reste inadaptée à la synthèse des oléfines tri-substituées en raison d'un temps de réaction trop long pour ce type d'activation.

Tableau 8. Optimisation de la réaction sous ultrasons.

1 équiv. 201 + 2 équiv. 167 $\xrightarrow[\text{solvant (0.1 M), temp. activation}]{\text{catalyseur}}$ 202 + 203

NG-II
Nolan-Grubbs 2nd gén.
175

Entrée	Ru (mol%)	Solvant	Temps	Température	Conversion ^a
1	5%- NG-II ^c	CH ₂ Cl ₂	20 h	55 °C)))	49 %
2	15%- NG-II ^d	CH ₂ Cl ₂	20 h	55 °C)))	92 %
3	9%- NG-II ^d	CH ₂ Cl ₂	20 h	55 °C)))	90 %
4	6%- NG-II ^d	CH ₂ Cl ₂	20 h	55 °C)))	86 %
5	6%- HG-II ^d	CH ₂ Cl ₂	20 h	55 °C)))	93 % (89 %)^b
6	3%- NG-II ^d	CH ₂ Cl ₂	20 h	55 °C)))	76 %

^a Conversion déterminée par RMN ¹H pour **202**.

^b Rendement en produit isolé

^c catalyseur ajouté en 1 fois

^d catalyseur ajouté en 3 fois

HG-II
Hoveyda-Grubbs 2nd gén.
176

Parmi les méthodes d'activations alternatives, on trouve également les ultrasons qui sont aujourd'hui utilisés dans de nombreuses réactions en chimie organique. Toutefois, la réaction de métathèse sous ultrasons reste, jusqu'ici, très peu étudiée. En effet, la littérature recense seulement quelques exemples de métathèses réalisées en milieu aqueux qui utilisent les ultrasons essentiellement pour "solubiliser" les oléfines et le catalyseur, via formation d'émulsions.¹⁴⁵ De plus, les récentes études menées par Sijbesma *et al.*¹⁴⁶ ont permis de mettre en évidence un "effet ultrasons" dans la réaction de métathèse (RCM). En effet, les ultrasons seraient capables de favoriser l'activation du catalyseur et permettraient également d'améliorer la durée de vie de l'espèce active dans le milieu réactionnel.

¹⁴⁴ Roy, V.; Pradère, U.; Agrofoglio, L. A. Microwave-assisted syntheses of nucleosides and their precursors. *Future Med. Chem.* **2010**, *2*, 177-192.

¹⁴⁵ (a) Gulajski, L.; Sledz, P.; Lupa, A.; Grela, K., Olefin metathesis in water using acoustic emulsification. *Green Chem.* **2008**, *10*, 271-274. (b) Tomasek, J.; Schatz, J. Olefin metathesis in aqueous media. *Green Chem.* **2013**, *15*, 2317-2338. (c) Burtscher, D.; Grela, K., Aqueous Olefin Metathesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 442-454.

¹⁴⁶ (a) Piermattei, A.; Karthikeyan, S.; Sijbesma, R. P. Activating catalysts with mechanical force. *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 133-137. (b) Jakobs, R. T. M.; Sijbesma, R. P. Mechanical Activation of a Latent Olefin Metathesis Catalyst and Persistence of its Active Species in ROMP. *Organometallics* **2012**, *31*, 2476-2481.

▪ Ainsi, l'activation sous ultrasons a été appliquée à notre système. La réaction a donc été réalisée sous ultrasons))) à 55 °C pendant 20 h en faisant varier le catalyseur et la charge catalytique. La température reflète celle du bain à ultrasons qui atteint automatiquement cette température à la puissance imposée (100 W, 80 kHz).

Entrée 1 et 2 (Tableau 8) : Dans un premier essai, la réaction a été catalysée avec seulement 5 mol%-**NG-II** (ajouté en 1 fois) pour obtenir 49 % de conversion (Entrée 1). Les premiers résultats ont mis en évidence une accélération significative de la consommation de l'homodimère vers la formation de l'hétérodimère désiré lorsque le milieu réactionnel était soumis aux ultrasons. De façon intéressante, la conversion est stoppée lorsque la sonication est suspendue. Ainsi, nous avons observé une augmentation significative du rendement comparé à la réaction menée dans les mêmes conditions en chauffage classique (Entrée 1, 9 %). Lorsque la réaction a été reproduite avec 15 mol%-**NG-II** (ajouté en 3 fois) nous avons observé jusqu'à 92 % du produit désiré et pratiquement plus de traces d'homodimères (Entrée 8). Il est également intéressant de noter que contrairement aux observations faites sous irradiation micro-ondes, le milieu réactionnel reste ici parfaitement limpide. Ce résultat peut être expliqué par une plus grande stabilité du complexe ruthénique sous ultrasons. Une charge catalytique de 15 mol% reste néanmoins relativement élevée et peut être une limitation majeure lorsque l'on veut réaliser la réaction à plus grande échelle. Nous avons donc réduit graduellement la charge catalytique tout en observant son impact sur le taux de conversion.

Entrée 3, 4 et 6 (Tableau 8) : Ainsi, l'utilisation de 9 mol%-**NG-II** (ajouté en 3 fois) a permis d'obtenir 90 % de conversion (Entrée 3). Encouragés par ce résultat, nous avons réduit successivement la charge à 6 mol%-**NG-II** (ajouté en 3 fois) et 3 mol%-**NG-II** (ajouté en 3 fois) pour obtenir respectivement 86 % et 76 % de conversion (Entrée 4 et 6). On en déduit donc que la réaction nécessite au minimum 6 mol%-**NG-II**, car lorsque l'on réduit davantage, la conversion passe en dessous des 80 %.

Entrée 5 (Tableau 8) : Enfin, lorsque la réaction a été réalisée avec 6 mol%-**HG-II** (ajouté en 3 fois), nous avons obtenu une conversion de 93 % (89 %, rendement isolé) aussi bonne qu'avec 15 mol%-**NG-II**.

Conditions optimisées : la préparation de **202** se fera donc par réaction de métathèse croisée entre 1 équivalent de diméthyle allylphosphonate **201** et 2 équivalents d'oléfine 1,1-disubstituée **167** en présence de 6 mol% du catalyseur **HG-II** à 55 °C sous ultrasons pendant 20 h. Il est à noter que l'ajout du catalyseur en plusieurs fois est indispensable pour obtenir une bonne conversion.

1.2.3. Application à la métathèse en série bis-POM

En parallèle, nous avons étudié la réaction de métathèse entre le *bis*-POM allylphosphonate **150** (type II) et l'oléfine 1,1-disubstituée **167** (type III). Afin de vérifier les résultats obtenus en série *bis*-OMe, un premier essai a été réalisé avec 15 mol% de **NG-II** (ajouté en 3 fois) en chauffage classique à 40 °C. De la même façon qu'en série *bis*-OMe, nous avons observé l'accumulation de l'homodimère qui ne s'engage que très faiblement dans la métathèse croisée. Dans ces conditions, le produit a été isolé avec seulement 19 % de rendement (Schéma 31). La métathèse s'avérant inefficace en chauffage classique, nous avons réalisé la réaction sous ultrasons à 55°C avec 15 mol%-**NG-II** (ajouté en 3 fois). Dans ces conditions nous avons observé une augmentation spectaculaire du rendement pour obtenir 81 % du produit désiré **204**. Ce résultat prouve

une fois de plus l'existence d'un effet positif des ultrasons pour cette réaction de métathèse. Néanmoins, l'utilisation d'une charge catalytique élevée reste nécessaire en série *bis*-(POM).

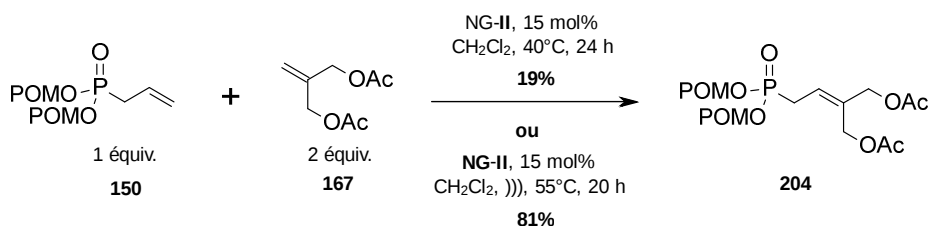


Schéma 31. Métathèse croisée en série *bis*-POM.

1.3. Apport des ultrasons en métathèse et influence sur le mécanisme

1.3.1. Principe des ultrasons : la cavitation acoustique

Les résultats inattendus précédemment exposés sont en grande partie dus à un "effet ultrasons" qui a permis d'une part la consommation de l'homodimère et d'autre part la réduction de la charge catalytique. Dans un milieu liquide, les ultrasons provoquent une rapide succession de vagues de compression et de dépression. Ces vagues successives générées par les ultrasons sont à l'origine d'un phénomène physique appelé **cavitation acoustique**.¹⁴⁷

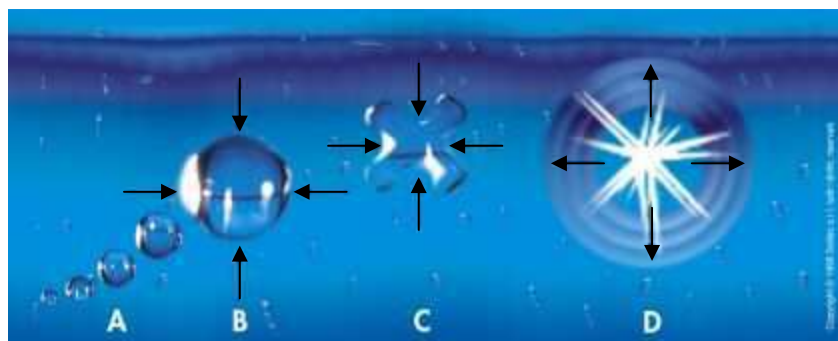


Figure 44. Phénomène de cavitation.¹⁴⁸

Le phénomène de cavitation acoustique peut être divisé en 4 étapes tel que présenté dans la figure 44 :

(A) Phase de dépression : la formation et l'expansion de microbulles de gaz marque le début de la cavitation.

(B) Phase de compression : la microbulle subit une forte compression ultrasonique causant une augmentation de la température du gaz contenu dans les microbulles.

(C) et (D) La compression se poursuit jusqu'à l'implosion de la microbulle générant une énorme énergie d'impact. L'implosion des microbulles peut être suffisamment violente pour générer localement des points chauds pouvant atteindre 5 000 °C et des pressions de l'ordre de 2 000 atm.¹⁴⁹

¹⁴⁷ Timothy, J.; Peters, M. and D., Practical Sonochemistry Power Ultrasound Uses and Applications. Horwood Publishers, Chichester, **2002**.

¹⁴⁸ <http://www.soltec.it/d1/en/principles-ultrasonic-cleaning>.

¹⁴⁹ Dragutan, I.; Dragutan, V.; Filip, P.; Demonceau, A. Activation of Cycloolefin Metathesis by Ultrasonic Irradiation. *Green metathesis chemistry* **2009**, Springer.



Figure 45. Appareil à ultrasons utilisé (Elmasonic P30H).

1.3.2. Apport des ultrasons dans la métathèse

La cavitation fournit une force mécanique considérable au milieu réactionnel. Ainsi, les vagues générées par la cavitation font considérablement augmenter l'énergie vibrationnelle des molécules causant successivement étirement et compression de leur structure moléculaire. À un certain point, cette force mécanique génère une énergie cinétique suffisante pour casser les liaisons chimiques. De cette façon, ce phénomène peut tout à fait intervenir dans le cas de la rupture de liaisons ligand-métal présentes dans les complexes de métaux de transitions tels que les catalyseurs au ruthénium utilisés dans la réaction de métathèse. En effet, Sijbesma *et al.*¹⁴⁶ ont récemment reporté dans le cadre d'une métathèse cyclisante (RCM) que l'activation du catalyseur était favorisée par l'apport d'une force mécanique amené par les ultrasons. Bien que dans l'exemple reporté le catalyseur au ruthénium est de type *bis*-carbène, il est probable que cette dissociation ligand-métal puisse être extrapolée aux catalyseurs plus généralement utilisés tels que les catalyseurs de Nolan/Hoveyda-Grubbs **NG-II** et **HG-II**.

Le mécanisme de cette réaction de métathèse croisée peut par conséquent être revu tel que décrit dans la schéma 32. Dans un premier temps, le catalyseur sous sa forme à 14 électrons (**a**) perd son ligand phosphine pour arriver à sa forme active à 16 électrons (**b**). Cette dissociation étant habituellement réversible, il est d'usage de la représenter sous la forme d'un équilibre. Cependant, si nous considérons la force mécanique engendrée par les ultrasons, nous pouvons supposer que cet équilibre est déplacé en faveur de la formation de l'espèce à 16 électrons (**b**) ce qui signifie une plus grande concentration de catalyseur sous forme active dans le milieu. Entré dans le cycle **I**, le catalyseur réalise ensuite la cycloaddition [2+2] avec le diméthyle allylphosphonate pour former l'espèce alkylidène ruthénique (**d**). Ce dernier va ensuite préférentiellement réagir via une seconde cycloaddition [2+2] avec une autre molécule de diméthyle allylphosphonate, car elle constitue l'oléfine la plus réactive du milieu générant ainsi l'homodimère et l'espèce ruthénique (**f**). Le cycle catalytique va ensuite se répéter jusqu'à la consommation totale du diméthyle allylphosphonate dans le milieu en générant un équivalent d'éthylène après chaque cycle. Il est donc normal d'observer l'accumulation de l'homodimère au début de la réaction.

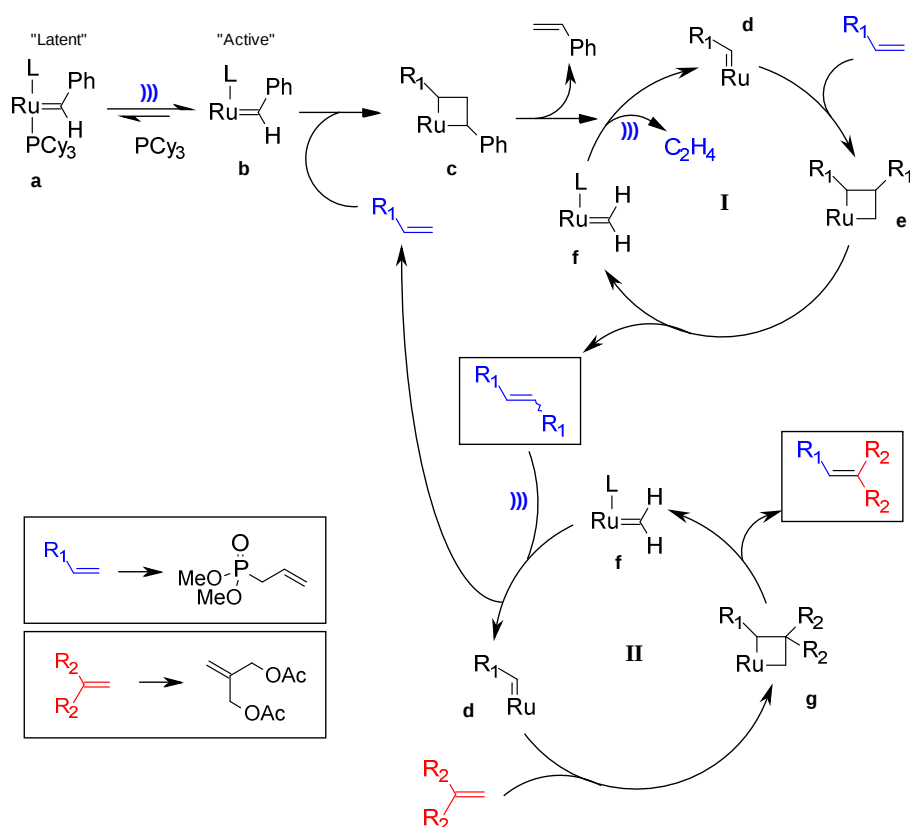


Schéma 32. Mécanisme détaillé de la réaction de métathèse sous ultrason.¹⁵⁰

Il est à noter qu'il est extrêmement important d'expulser l'éthylène du milieu réactionnel pour éviter la régénération de l'oléfine terminale. C'est à ce point que les ultrasons peuvent jouer à nouveau un rôle important en facilitant le départ de ce gaz. En effet, la sonication, utilisée aujourd'hui dans de nombreux domaines, est une méthode très efficace notamment pour le dégazage des solvants. On rencontre de nombreux exemples dans la littérature où l'expulsion de l'éthylène est indispensable pour que la réaction de métathèse se fasse efficacement.¹⁵¹ La méthode la plus commune consiste à imposer un léger flux d'argon ou d'azote au-dessus du milieu réactionnel de sorte à éviter la resolubilisation du gaz dans le solvant une fois chassé de celui-ci. Toutefois, cette méthode n'a pas été effective dans notre cas, seule l'utilisation des ultrasons est suffisamment efficace pour permettre à la réaction de se faire. Dans le cycle catalytique **II**, l'homodimère réagit ensuite avec l'espèce ruthénique (**f**) de sorte à reformer l'intermédiaire (**d**). Ce dernier réagit enfin avec l'oléfine 1,1-disubstituée via une nouvelle cycloaddition [2+2] pour former le ruthénocyclobutane (**g**) qui donne finalement l'oléfine *tri*-substituée désirée.

¹⁵⁰ Sari, O.; Hamada, M.; Roy, V.; Nolan, S. P.; Agrofiglio, L. A. The Preparation of Trisubstituted Alkenyl Nucleoside Phosphonates under Ultrasound-Assisted Olefin Cross-Metathesis. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4390-4393.

¹⁵¹ Pietraszuk, C.; Marciniak, B.; Fischer, H. Cross-Metathesis of Vinylsilanes with Styrene Catalyzed by Ruthenium-Carbene Complexes. *Organometallics* **2000**, *19*, 913-917.

1.4. Déprotection chémo-enzymatique régiosélective

La différenciation des groupements fonctionnels qui présentent une similarité stérique et électronique est un véritable challenge lorsqu'il est nécessaire de réaliser une déprotection régiosélective. Cette difficulté est d'autant plus élevée lorsque ces deux groupements sont identiques et aucunement différenciables du point de vue de leur réactivité chimique. De ce fait, il est souvent nécessaire dans ces situations de réaliser un certain nombre d'étapes de protection/déprotection afin de pouvoir isoler la fonction que l'on souhaite faire réagir. Alternativement, les enzymes, et plus précisément les lipases, sont parfaitement adaptées à la résolution de ce type de problème de par leur excellente régiosélectivité. C'est dans ce contexte que nous avons été amenés à nous intéresser à l'hydrolyse régiosélective de la fonction *trans*-acétyle du diacétate **165** en vue de préparer le dérivé hydroxylé **164** (Schéma 33).

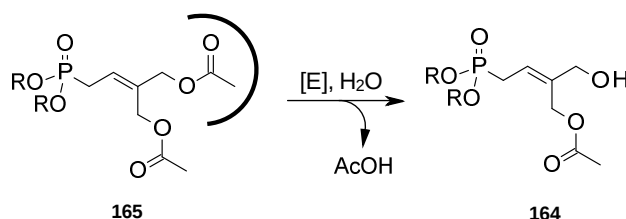


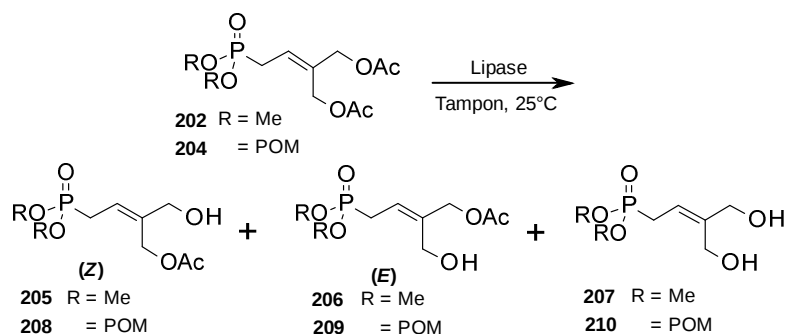
Schéma 33. Hydrolyse enzymatique de la fonction *trans*-acétyle de **165**.

1.4.1. Hydrolyse régiosélective du phosphonate diacétate

Les données de la littérature soulignent une compatibilité intéressante entre la lipase PPL et les acétates dissymétriques. C'est donc naturellement que l'on choisit d'étudier préalablement l'hydrolyse régiosélective du diacétate **202** (série *bis*-OMe) par cette lipase. Nous avons décidé de réaliser cette réaction avec PPL (100 % w/w) dans un tampon phosphate (pH 7) à température ambiante (25 °C) sans ajouter de DMSO à notre mélange. En effet, lors de nos essais préliminaires nous avons remarqué que le produit hydrolysé présentait une solubilité plus importante en phase aqueuse qu'en phase organique. Dès lors, il nous était impossible de séparer le produit désiré du DMSO par extraction.

Ainsi, nous avons décidé de mettre au point notre propre procédure pour cette hydrolyse enzymatique. Toutefois, dans les conditions citées précédemment, nous obtenons un mélange de régio-isomères *cis* **205** et *trans* **206** avec respectivement 21 % et 41 % de rendement (Tableau 9, Entrée 1). La sélectivité étant en faveur du composé *trans*, nous avons été contraints d'abandonner la lipase PPL. Notre second choix s'est porté sur la lipase Amano PS autrement appelée *Burkholderia cepacia* lipase. L'hydrolyse en présence de cette lipase s'est avérée beaucoup plus lente, nous avons donc prolongé le temps de réaction à 48 h. Malheureusement, nous avons obtenu à nouveau un mélange de produits ou plus précisément une quantité équivalente de composés *cis* et *trans* avec respectivement 32 % et 33 % de rendement (Entrée 2). Le produit di-déprotégé **207** n'a été détecté qu'à l'état de traces avec PPL et Amano PS.

Tableau 9. Optimisation de l'hydrolyse régiosélective enzymatique.



Entrée	R	Lipase (% w/w)	Temps (h)	205 (%)	206 (%)	207 (%)	202 (%)
1	Me	PPL (100)	24	21	41	traces	n.d
2	Me	Amano PS (100)	48	32	33	traces	n.d
3	Me	CAL-B (100)	16	83	0	11	0

Entrée	R	Lipase (% w/w)	Temps (h)	208 (%)	209 (%)	210 (%)	204 (%)
4	POM	CAL-B (100)	24	52	0	nd	10
5	POM	CAL-B (50)	24	63	0	nd	14

PPL: *Porcine Pancreas* lipase
 Amano PS : *Burkholderiacepacia* lipase
 CAL-B : *Candida Antarctica* lipase B

Finalement, les résultats escomptés ont été obtenus avec la lipase *Candida Antarctica* B (CAL-B). En effet, l'hydrolyse catalysée par CAL-B a donné exclusivement le produit *cis* **205** avec 83 % de rendement accompagné de 11 % du diol **207** et aucune trace de l'isomère *trans* **206** après seulement 16 h (Entrée 3). Nous avons ensuite appliqué cette procédure à l'hydrolyse du diacétate **204** (série *bis*-POM). Néanmoins, ce substrat s'est avéré plus problématique de part sa faible solubilité liée à son caractère lipophile. Cette faible solubilité provoque un ralentissement de la réaction et par conséquent une réduction du taux de conversion. Durant notre premier essai avec CAL-B, c'est avec seulement 52 % de rendement que l'on obtient le produit désiré **208** (Entrée 4). On retrouve également 10 % du produit de départ **204** dans le milieu réactionnel. Le bilan massique incomplet de cette réaction est dû à une dégradation du produit par l'enzyme. En effet, les groupements biolabiles POM présents sur notre structure sont relativement sensibles aux lipases.¹⁵² Nous avons tout de même réussi à augmenter le rendement à 63 % en réduisant la charge enzymatique à 50 % w/w (Entrée 5). En contrepartie, la quantité de produits de départ **204** n'ayant pas réagi s'élève à 14 %.

¹⁵² Leroy, E.; Bense, N.; Raymond, J.-L. A low background high-Throughput screening (HTS) fluorescence assay for lipases and esterases using acyloxymethylethers of umbelliferone. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2105-2108.

1.4.2. Identification des régioisomères

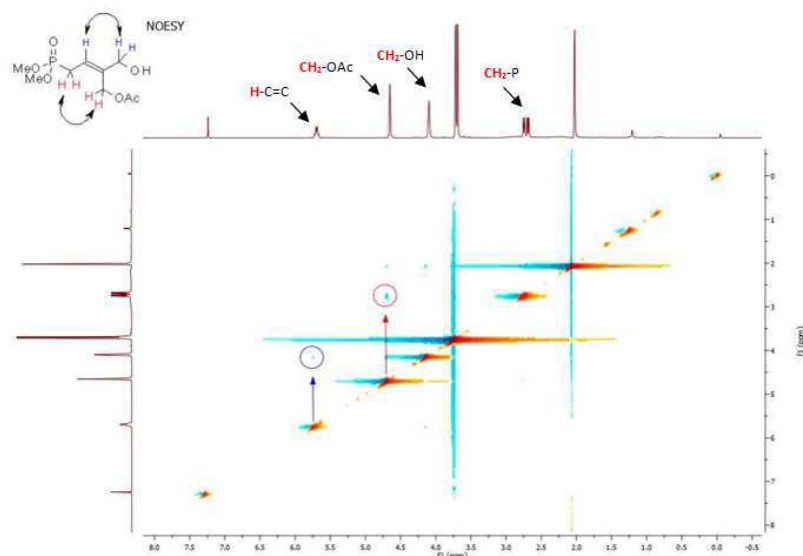


Figure 46. Expérience NOESY du produit hydrolysé *cis* en série *bis*-OMe

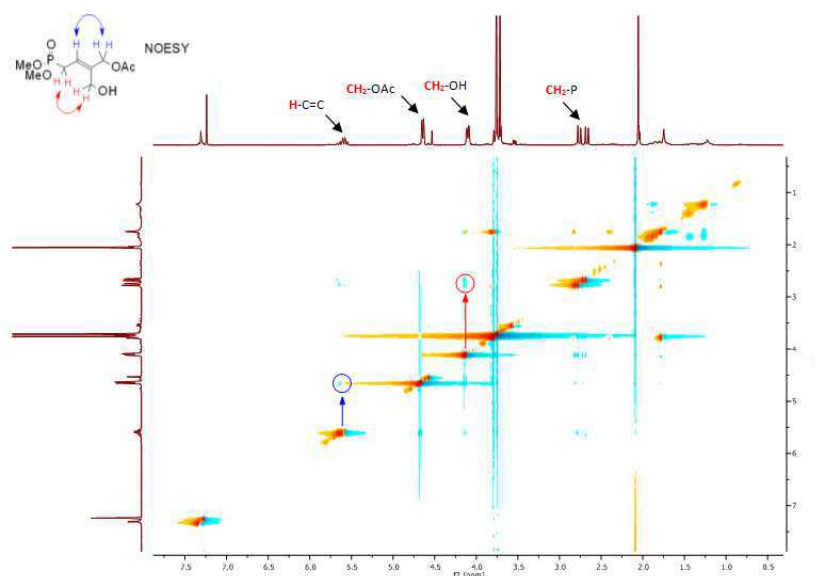


Figure 47. Expérience NOESY du produit hydrolysé *trans* en série *bis*-OMe.

La détermination de la structure et de la configuration des produits hydrolysés a été réalisée par expérience NOESY (Figure 46). Le composé régiosélectivement hydrolysé *cis* en série *bis*-OMe **205** a été identifié par observation d'un effet NOESY entre le proton vinylique et le méthylène portant la fonction hydroxyle libre. Un second effet NOESY existe également entre le méthylène en *alpha* du phosphore et le méthylène portant l'acétate. Ces résultats confirment bien la configuration *cis* de notre produit. De la même façon, la configuration de l'autre isomère **206** est attribuée par observation d'un effet NOESY entre le proton vinylique et le méthylène portant l'acétate (Figure 47). L'effet NOESY entre le méthylène en *alpha* du phosphore et le méthylène portant l'hydroxyle libre permet de confirmer la configuration *trans* de cet isomère non désiré. L'attribution de la configuration du composé en série *bis*-POM a été réalisée selon la même procédure.

1.4.3. Mécanisme de l'hydrolyse enzymatique

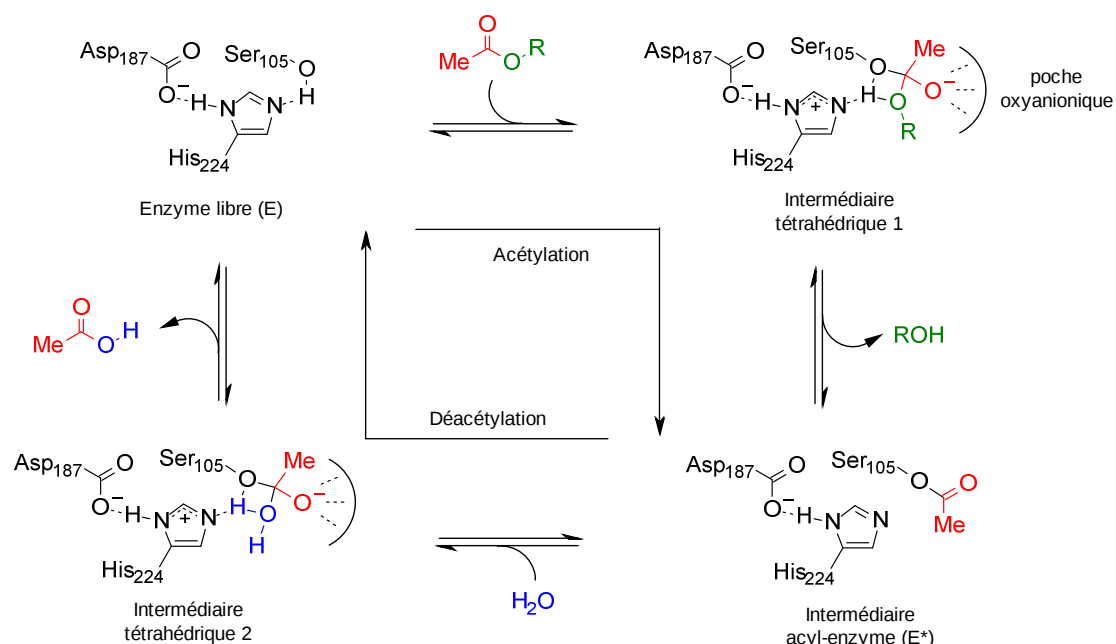


Figure 48. Mécanisme de l'hydrolyse enzymatique par CAL-B.¹⁵³

L'action catalytique de la lipase *Candida Antarctica* B repose principalement sur la triade Asp187, His224 et Ser105 (Figure 48).¹⁵³ Dans le cycle catalytique, le substrat acétylé est d'abord complexé de façon réversible à l'enzyme libre formant ainsi le complexe de Michaelis-Menten. Après positionnement du substrat dans le site actif, l'attaque nucléophile de la Ser105 sur le groupement carbonyle du substrat donne l'espèce intermédiaire tétraédrique 1. La charge négative générée sur le substrat est alors stabilisée par trois liaisons hydrogènes provenant des protons amides des résidus Thr40, Gln106 et de la chaîne latérale de la Thr40 provenant de la poche oxyanionique. La forme protonée de His224, obtenu après récupération du proton de la Ser105, est stabilisée par interaction avec Asp187. Le résidu His224 transfère alors ce proton à l'alkyle oxygène du substrat pour retrouver la neutralité provoquant ainsi le départ du produit déacétylé R-OH. Il en résulte une forme intermédiaire dite "acyl-enzyme" dans laquelle le résidu Ser105 est sous forme acétylé. La déacétylation de ce dernier se fait par une attaque nucléophile de H₂O sur le groupement carbonyle de l'acyl-enzyme conduisant ainsi à l'intermédiaire tétraédrique 2. Pendant ce processus, un proton est transféré de H₂O vers His224 tandis que les charges positives et négatives sont stabilisées de la même façon que décrite précédemment. Le proton de His224 est alors transféré à l'alkyle oxygène de la Ser105 de façon à restaurer la liaison carbonyle du substrat. L'enzyme libre est régénéré après départ de l'acide acétique du site actif de l'enzyme finalisant ainsi le cycle catalytique.

¹⁵³ Anderson, E. M.; Larsson, K. M.; Kirk, O. One Biocatalyst—Many Applications: The Use of *Candida Antarctica* B-Lipase in Organic Synthesis. *Biocatal. Biotransform.* **1998**, *16*, 181-204.

1.5. Couplage avec les nucléobases

Le synthon hydroxylé **205** a ensuite été couplé avec différentes nucléobases de types pyrimidiques et puriques dans les conditions de Mitsunobu. Afin d'éviter au maximum la formation de produits secondaires et de faciliter les purifications, les nucléobases seront préalablement protégées. Les bases azotées que nous envisageons d'utiliser dans cette étude sont : l'uracile, la thymine, la cytosine, la 5-fluorocytosine, la 6-chloropurine, la 2-amino-6-chloropurine et enfin l'adénine. Il est à noter que cette partie traitera uniquement de la synthèse des dérivés en série *bis*-OMe, car faute de temps la série *bis*-POM n'a pas pu être développée davantage.

1.5.1. Protection des nucléobases

L'uracile et la thymine sont dibenzoylés en N¹ et N³ par utilisation d'un excès de chlorure de benzyle dans un mélange ACN/pyridine (Schéma 34).¹⁵⁴ Les produits obtenus sont ensuite sélectivement déprotégés en N¹ par un traitement avec une solution aqueuse de carbonate de potassium dans le 1,4-dioxane à 70 °C pendant 2 h. Après traitement, les produits **213** et **214** sont obtenus avec des rendements respectifs de 90 et 96 %.

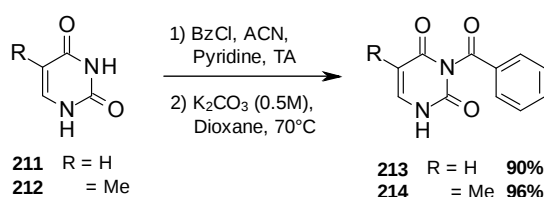


Schéma 34. N³-benzoylation de l'uracile et de la thymine

Pour la cytosine **215** et la 5-fluorocytosine **216** nous avons opté pour une protection par des groupements *tert*-butyloxycarbonyl (Boc) (Schéma 35). Dans un premier temps, les dérivés sont préparés dans leur forme *tri*-Boc. Cette dernière est ensuite traitée avec une solution méthanolique de bicarbonate de sodium à 50 °C pendant 1 h pour déprotéger sélectivement l'azote N₁ et ainsi donner les formes *di*-Boc **217** et **218** avec des rendements variant de 58 % à 62 %.¹⁵⁵

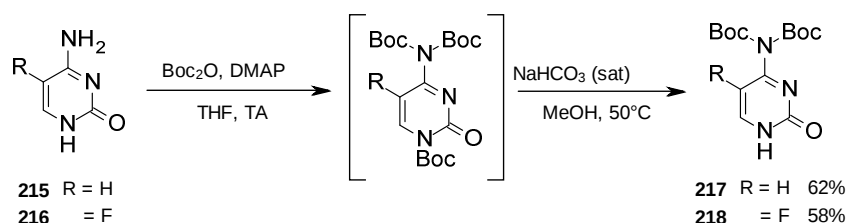


Schéma 35. Protection de la cytosine et de la 5-fluorocytosine

La protection de l'adénine **219** et de la 2-amino-6-chloropurine **220** est réalisée en suivant un protocole similaire. Après avoir préparé les formes *tri*-Boc, les dérivés sont traités comme précédemment avec une solution méthanolique de bicarbonate de sodium à 50 °C pendant 1 h (Schéma 36). La déprotection a lieu

¹⁵⁴ Frieden, M.; Giraud, M.; B. Reese, C.; Song, Q. Synthesis of 1-[cis-3-(hydroxymethyl)cyclobutyl]-uracil, -thymine and -cytosine. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 2827-2832.

¹⁵⁵ Porcheddu, A.; Giacomelli, G.; Piredda, I.; Carta, M.; Nieddu, G. A Practical and Efficient Approach to PNA Monomers Compatible with Fmoc-Mediated Solid-Phase Synthesis Protocols. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 34, 5786-5797.

cette fois sélectivement sur l'azote N₉ pour donner les formes *di*-Boc **221** et **222** avec respectivement 70 % et 60 % de rendement.¹⁵⁶

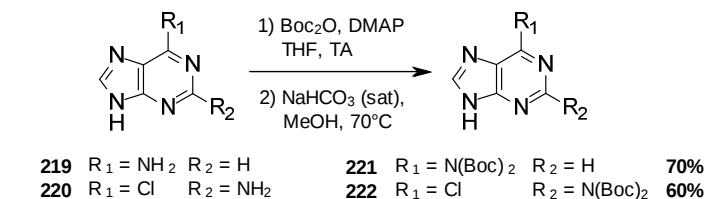


Schéma 36. Protections de l'adénine et de la 2-amino-6-chloropurine.

1.5.2. Réaction de Mitsunobu

La réaction de Mitsunobu¹⁵⁷ a été largement utilisée dans la préparation des analogues de nucléosides.¹⁵⁸ Son utilisation est relativement fréquente dans le cas des bases puriques qui peuvent poser des problèmes de régiosélectivité. Toutefois, les bases puriques sont connues pour avoir une faible solubilité dans les solvants organiques non polaires et également une faible nucléophilie envers les hydroxyles activés.^{158d}

Initialement, nous avons tenté de déterminer le meilleur solvant pour réaliser ce couplage en utilisant la 6-chloropurine comme nucléobase de départ. En effet, selon le solvant utilisé ainsi que l'encombrement stérique en position 6, la réaction de Mitsunobu peut donner lieu à la formation d'un mélange d'isomères N⁹/N⁷. Nous avons donc réalisé la réaction entre la 6-chloropurine **223** (1 équiv.), le substrat **205** (1.5 équiv.) en présence de PPh₃ (1.5 équiv.) et de diisopropylazodicarboxylate (1.5 équiv.) (Tableau 10).

Précédemment, cette réaction a été utilisée avec succès au laboratoire pour la préparation d'analogues acycliques butényle portant des bases puriques en utilisant le 1,4-dioxane comme solvant à température ambiante.¹⁰³ Toutefois, dans ces conditions nous avons obtenu un rendement assez faible de 34 % avec une légère contamination de produit N⁷-alkylé. Guo *et al.*¹⁵⁹ ont également reporté avec succès la préparation de nucléosides acycliques dans le xylène. Cependant, seulement des traces de produit ont été observées dans ce solvant avec un ratio N⁹/N⁷ de 50/50 déterminé par RMN ¹H.

¹⁵⁶ Dey, S.; Garner, P. Synthesis of tert-Butoxycarbonyl (Boc)-Protected Purines. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7697-7699.

¹⁵⁷ Mitsunobu, O. The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products. *Synthesis* **1981**, *1981*, 1-28.

¹⁵⁸ Quelques exemples : (a) Du, J.; Wang, G., Synthesis of Unsaturated Carboacyclic Nucleoside Analogues via Mitsunobu Reactions. *Nucleos., Nucleot. Nucleic Acids* **2000**, *19*, 867-879. (b) Tang, Y.; Muthyala, R.; Vince, R. Synthesis and biological evaluation of carboacyclic nucleosides with (Z) and (E)-9-[4,4-bis(hydroxymethyl)]-2-butenyl side chain. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 5866-5875. (c) Yin, X.-q.; Li, W.-k.; Schneller, S. W. An efficient Mitsunobu coupling to adenine-derived carbocyclic nucleosides. *Tet. Lett.* **2006**, *47*, 9187-9189. (d) Lu, W.; Sengupta, S.; Petersen, J. L.; Akhmedov, N. G.; Shi, X. Mitsunobu Coupling of Nucleobases and Alcohols: An Efficient, Practical Synthesis for Novel Nonsugar Carbon Nucleosides. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5012-5015. (e) Fletcher, S.; Shahani, V. M.; Gunning, P. T. Facile and efficient access to 2,6,9-tri-substituted purines through sequential N9, N2 Mitsunobu reactions. *Tet. Lett.* **2009**, *50*, 4258-4261.

¹⁵⁹ Guo, H.-M.; Wu, Y.-Y.; Niu, H.-Y.; Wang, D.-C.; Qu, G.-R. Synthesis of Acyclic Nucleosides with a Chiral Amino Side Chain by the Mitsunobu Coupling Reaction. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 3863-3866.

Tableau 10. Optimisation des conditions de Mitsunobu.

205 $\xrightarrow[\text{Solvant, Temp}]{\text{6-chloropurine 223, DIAD, PPh}_3}$ 224

Entrée	Solvant	Temp (°C)	Rendement	N ⁹ /N ⁷
1	1,4-dioxane	25	34 %	97/3
2	Xylène	25	traces	50/50
3	THF	25	traces	100/0
5	THF	70	77 %	100/0

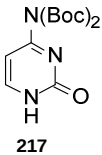
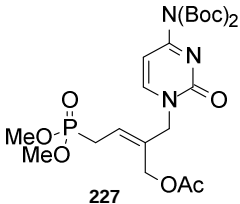
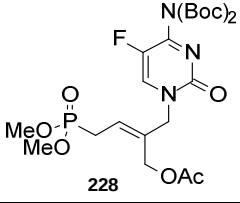
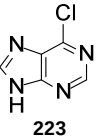
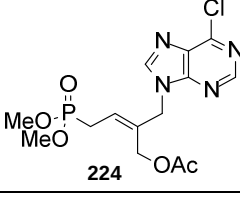
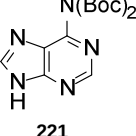
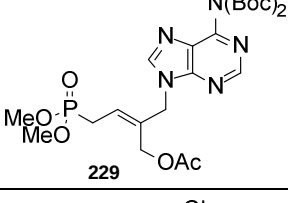
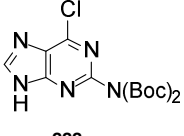
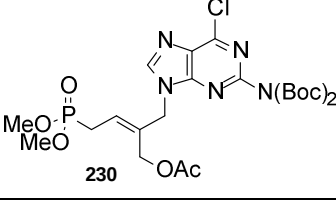
Enfin nous avons réalisé cette réaction dans le THF qui est considéré comme le solvant idéal pour la réaction de Mitsunobu. En effet, l'utilisation de THF offre une parfaite régiosélectivité en permettant notamment d'obtenir exclusivement l'isomère N⁹. Lorsque la réaction est menée à température ambiante dans le THF, le produit n'est observable qu'à l'état de trace en RMN après 24 h, avec toutefois une sélectivité pour la formation de l'isomère N⁹. Le problème lié à cette faible conversion a été résolu en réalisant la réaction à reflux du THF. En effet, dans ces conditions, nous avons réussi à obtenir un rendement de 77 % pour le produit de couplage **224**. Les conditions précédemment optimisées ont ensuite été appliquées au couplage avec les différentes bases puriques et pyrimidiques que nous avons préalablement protégées. Les résultats sont résumés dans le tableau 11.

Tableau 11. Couplage avec les nucléobases dans les conditions de Mitsunobu.

205 $\xrightarrow[\text{THF, 70°C, 24 h}]{\text{DIAD, PPh}_3}$ 225

B = base purique/pyrimidique

Entrée	Base	Produit	Rendement
1			85 %
2			68 %

3	 217	 227	52 %
4	 218	 228	51 %
5	 223	 224	77 %
6	 221	 229	70 %
7	 222	 230	74 %

Dans l'ensemble les rendements s'avèrent relativement bons. Ainsi, les dérivés de l'uracile **225** et de la thymine **226** sont obtenus respectivement avec 85 % et 66 % de rendement (Tableau 11, Entrée 1 et 2). Les résultats obtenus pour les dérivés de cytosine **227** et 5-fluorocytosine **228** sont légèrement inférieurs à la moyenne avec 52 % et 51 % de rendement (Entrée 3 et 4). Les réactions réalisées avec les formes protégées des bases puriques, parfaitement solubles dans le THF à reflux, ont donné d'excellents résultats avec des rendements variant de 70 % à 77 % (Entrée 5-7). La N⁹-alkylation de nos composés a été systématiquement confirmée par expérience HMBC. À titre d'exemple, pour le dérivé de l'adénine **229** nous observons une corrélation entre les protons H^{1'} de la chaîne acyclique et le carbone quaternaire C⁴ (Figure 49). Ce même carbone présente également une corrélation en J³ avec le proton aromatique H². Le produit correspond donc à l'isomère alkylé en position N⁹.

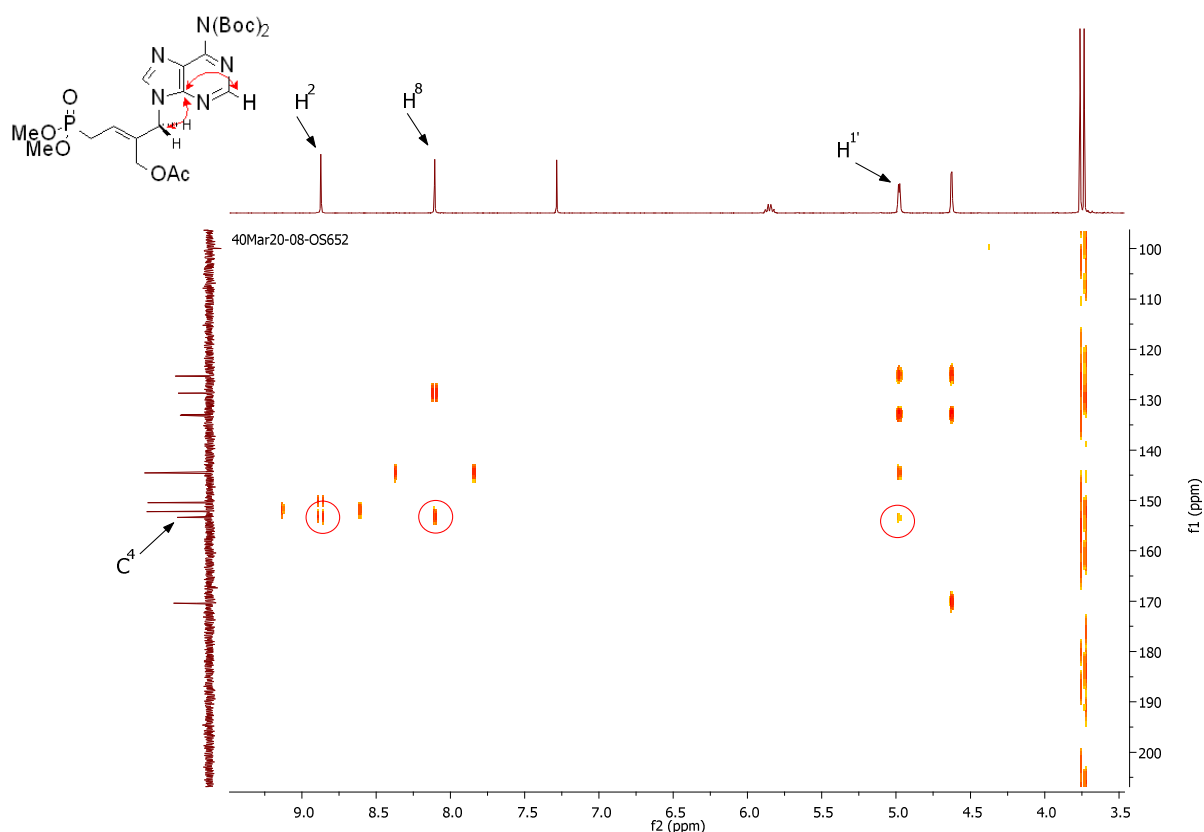


Figure 49. Expérience HMBC du composé **229**.

1.6. Mise au point des étapes de déprotection

▪ Conditions basiques

Dans notre stratégie de départ l'étape de déprotection de nos composés devait être réalisé par traitement avec de l'ammoniac méthanolique ou encore avec le potassium carbonate dans le méthanol. Si l'on prend l'exemple du dérivé de l'uracile **225**, cette étape devait nous permettre de cliver simultanément les groupements benzyle et acétyle. Cependant dans ces conditions basiques le produit donne lieu à la formation du diène débzoylé **231** (Schéma 37). Ce type de réaction secondaire a déjà été observée sur les chaînes butényles phosphonate possédant un bon nucléofuge en position allylique.⁸⁹ Cette élimination est en réalité favorisée par l'acidité des protons en *alpha* du phosphonate. La déprotection dans des conditions basiques n'est donc pas envisageable.

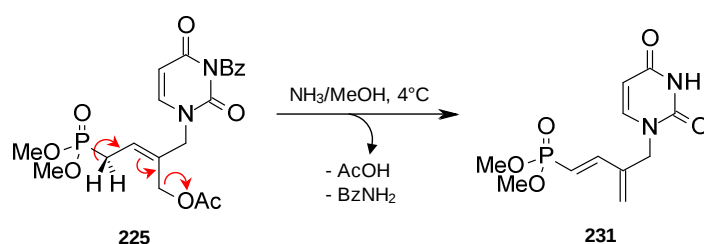


Schéma 37. Déprotection en conditions basiques.

▪ Conditions neutres

Nous avons ensuite exploré la possibilité de réaliser cette déprotection dans des conditions neutres tamponnées à pH 7 en faisant intervenir à nouveau les lipases. Un premier essai réalisé avec la *Porcine Pancreas* lipase a donné lieu à la formation d'un mélange de produits déacétylés **232** ou débenzoylés **233** (Schéma 38). De façon assez étonnante, le produit majoritaire de la réaction a été le produit uniquement débenzoylé. Toutefois la conversion à l'issue de 48 h étant relativement faible nous avons tenté à nouveau la réaction en faisant intervenir cette fois la lipase *Candida Antarctica* B. Dans ces conditions on obtient le résultat opposé avec comme produit majoritaire le produit uniquement déacétylé **232**. Malheureusement, l'hydrolyse catalysée par cette enzyme s'est également avérée très lente.

Étant donné que ces deux lipases présentaient chacune une sélectivité différente, nous avons réalisé un dernier essai en combinant les deux lipases. Une fois de plus, un mélange des deux produits en quantité comparable a été observé. Enfin, aucune amélioration n'a été apportée par l'élévation de la température du milieu réactionnel à 37 °C. Le taux de conversion et la cinétique faible de cette réaction peuvent être attribués à l'encombrement assez conséquent de notre substrat qui défavorise beaucoup trop l'approche des différentes lipases. La déprotection enzymatique a donc finalement dû être abandonnée.

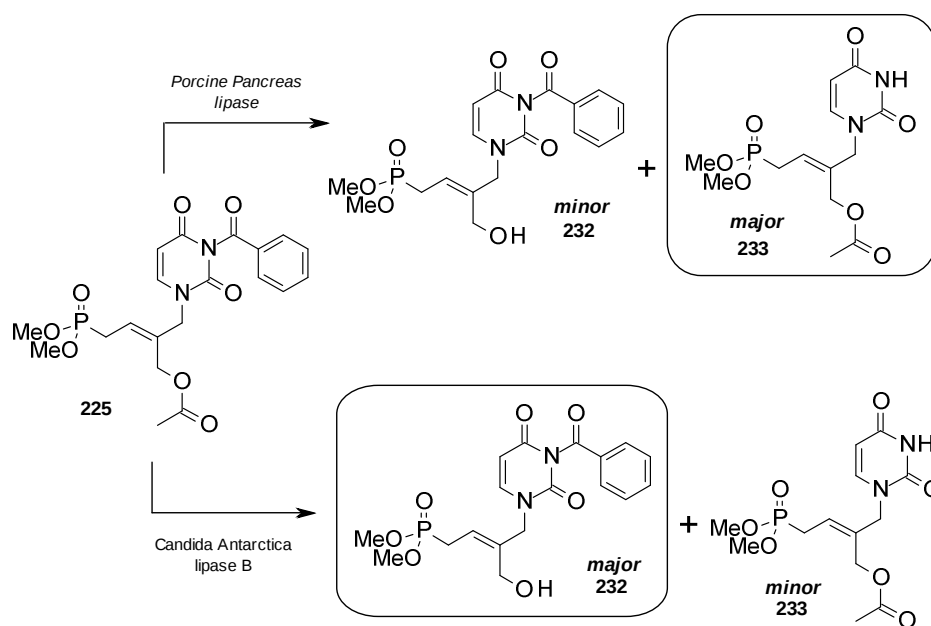


Schéma 38. Tentative de déprotection enzymatique.

▪ Conditions acides

La dernière option qu'il nous restait était de réaliser cette déprotection en milieu acide. En effet la déprotection d'acétates peut être réalisée par une réaction de transésterification en milieu acide.¹⁶⁰ Ainsi, nous avons tenté la déprotection de notre dérivé de l'uracile **225** dans une solution d'acide *p*-toulènesulfonique (1 équiv) dans le méthanol à reflux (Schéma 39). Après 20 h, nous avons pu observer la

¹⁶⁰ (a) Mitchell, M.; Qaio, L.; Wong, C.-H., Chemical-Enzymatic Synthesis of Iminocyclitol Phosphonic Acids. *Adv. Synth. Cat.* **2001**, 343, 596-599. (b) Birck, M. R.; Clinch, K.; Gainsford, G. J.; Schramm, V. L.; Tyler, P. C. Syntheses of 5-Chlorouracils/Thymines with 1-[Phosphono(Methyl)(Difluoromethyl)]-1,2-Unsaturated-Moiety-Substituted Methyl Groups at N(1) and Human Thymidine Phosphorylase Inhibitory Activity. *Helv. Chim. Acta* **2009**, 92, 823-838.

formation d'un mélange de deux produits correspondant au produit attendu **234** et au produit seulement déacétylé **232** avec respectivement 55 % et 42 % de rendement. Nous n'avons volontairement pas prolongé ce temps de réaction en raison de la formation de divers sous produits. L'augmentation du nombre d'équivalents d'APTS n'a également pas été envisagée, car ce dernier reste difficile à séparer du produit sur colonne chromatographique. Additionnelement, nous avons tenté cette déprotection dans une solution méthanolique d'acide sulfurique (5 % v/v), mais seul le groupement acétyle a pu être clivée dans ces conditions. L'utilisation du mélange APTS/MeOH reste donc la meilleure option pour la déprotection de **225** même si le groupement benzoyle n'est pas complètement déprotégé dans ces conditions.

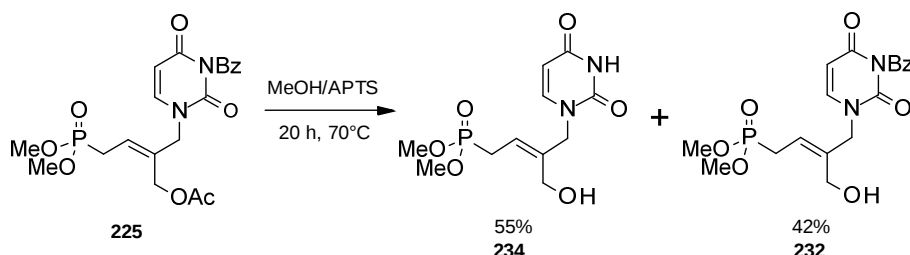


Schéma 39. Déprotection en milieu acide.

Le produit déprotégé a ensuite été traité avec le bromure de triméthylsilane (TMSBr) dans le dichlorométhane de sorte à former l'acide phosphonique correspondant. Cependant dans ces conditions, nous avons observé la formation du dérivé bromé **235** par substitution de la fonction hydroxyle (Schéma 40). Ceci peut être expliqué par la contamination inévitable du TMSBr par de l'acide bromhydrique. Afin d'éviter cette réaction secondaire, il a donc été nécessaire d'ajouter une base dans le milieu réactionnel. En effet, il existe plusieurs exemples dans la littérature où l'addition d'une base est indispensable en présence d'hydroxyles libres sur la structure.¹⁶¹

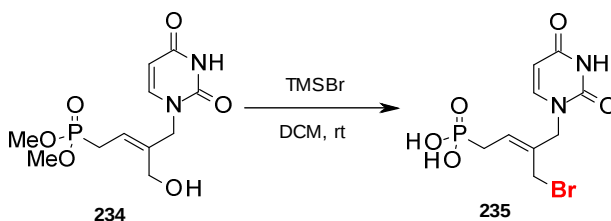


Schéma 40. Réaction secondaire en présence de TMSBr.

Ainsi, lorsque la réaction a été menée en présence de 2,6-lutidine nous avons obtenu le produit sous la forme de sels de lutidine (Schéma 41). Un passage à travers une résine échangeuse d'ions suivi d'un traitement à l'acide formique permet alors d'obtenir le produit sous sa forme acide phosphonique **236**. Bien que les produits obtenus à l'issue de cette réaction soient généralement propres, le degré de pureté n'était malheureusement pas satisfaisant dans cette série même après une purification additionnelle sur phase inverse. Par conséquent, tous les produits sous forme acide phosphonique (identifiés par MS) de la série qui va suivre nécessiteront une purification par HPLC semi-préparative (**en cours**).

¹⁶¹ Hocková, D.; Holý, A.; Masojdková, M.; Keough, D. T.; Jersey, J. d.; Guddat, L. W. Synthesis of branched 9-[2-(2-phosphonoethoxy)ethyl]purines as a new class of acyclic nucleoside phosphonates which inhibit Plasmodium falciparum hypoxanthine-guanine-xanthine phosphoribosyltransferase. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6218-6232.



Schéma 41. Déprotection du phosphonate acide phosphonique.

Les conditions de déprotection mises au point ont ensuite été appliquées à nos différents analogues. Ainsi, le dérivé de thymine **226** a été déprotégé avec 40 % de rendement (Schéma 42). L'acide phosphonique **238** est ensuite obtenu selon la méthode décrite ci-dessus.

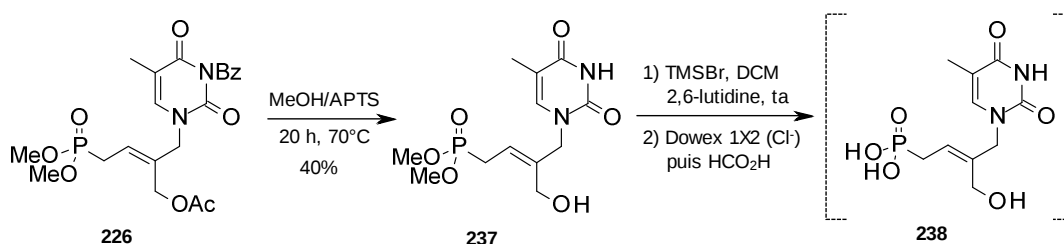


Schéma 42. Déprotection du dérivé de la thymine.

La déprotection des dérivés *N*-Boc-cytosine **227** et **228** a posé quelques problèmes de purification en raison de la forte polarité des composés déprotégés ainsi qu'une séparation difficile de l'APTS. Nous avons donc opté pour l'utilisation d'une solution méthanolique d'acide chlorhydrique 1 M pour les dérivés protégés par des groupements Boc (Schéma 43). Dans ces conditions, les produits déprotégés **239** et **240** sont obtenus avec des rendements supérieurs à 90 % après seulement 8 h à reflux. La conversion de ces dérivés en acide phosphonique **241** et **242** a été réalisée dans l'acétonitrile en raison de leur insolubilité dans le dichlorométhane. Le même protocole est ensuite appliqué au dérivé *N*-Boc-adénine **229** pour donner le produit déprotégé **243** avec 78 % de rendement et enfin l'acide phosphonique **244** après traitement avec TMSBr.

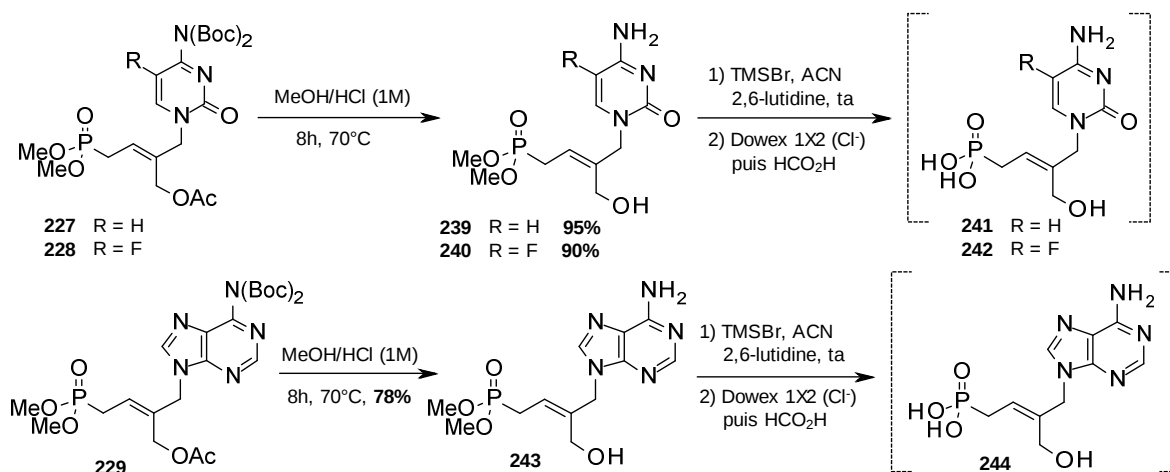


Schéma 43 Déprotection des dérivés de cytosines et de l'adénine.

La 6-chloropurine et de 2-amino-6-chloropurine sont respectivement des précurseurs d'hypoxanthine et de guanine. Leur conversion est généralement réalisée en milieu acide concentré à reflux. Cependant, nous avons décidé de réaliser cette réaction dans des conditions plus douces à 40 °C dans un mélange (1:1) acide

formique/eau (Schéma 44). Le produit désiré **244** est alors obtenu avec 34 % de rendement puis converti également sous sa forme acide phosphonique **247**. Le faible rendement de cette réaction est dû à la persistance du groupement acétate dans ces conditions puisque nous avons également isolé le produit sous sa forme acétylée **246** avec 66 % de rendement. Toutefois, ce dernier peut être très facilement être déprotégé en appliquant les conditions précédemment décrites pour la déprotection des composés **227-228**.

Enfin la déprotection du précurseur de guanine **230** est également réalisée dans un mélange (1:1) acide formique/eau. Cependant, l'extrême polarité du produit déprotégé **248** a rendu sa purification impossible. En effet, l'élution du produit sur silice est quasiment nulle et son caractère très polaire ne permet pas sa purification par silice phase inverse. Nous avons donc décidé d'abandonner la synthèse de ce dernier jusqu'à ce qu'une méthode alternative de purification soit trouvée.

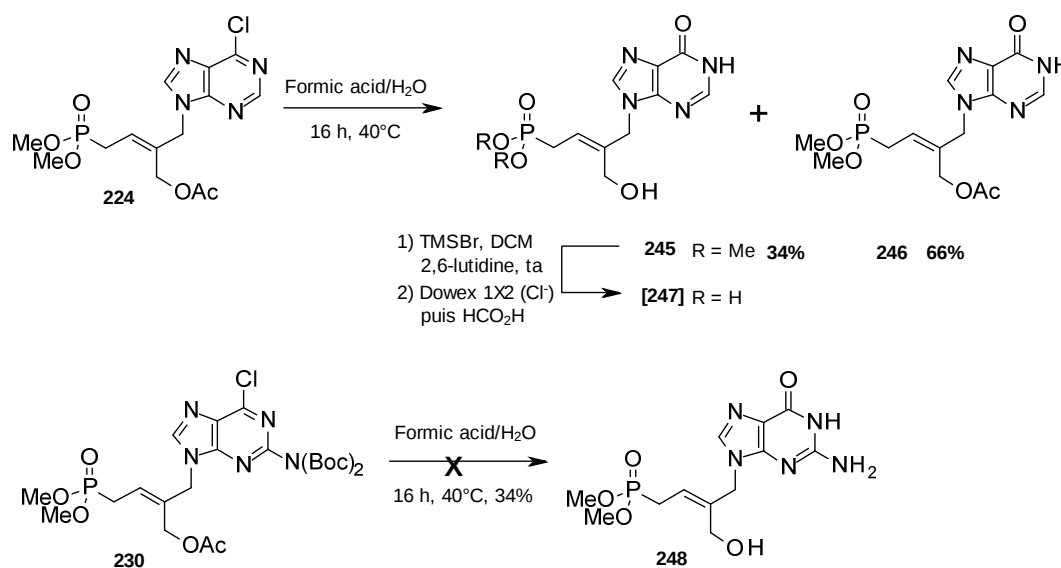


Schéma 44. Déprotection du dérivé de 6-chloropurine et 2-amino-6-chloropurine.

2. Synthèse de dérivés 3'-méthyl-butèn-2-yl phosphonate portant une pyrimidine

Les différentes méthodologies développées dans le chapitre précédent nous ont permis d'élaborer une stratégie similaire pour la synthèse d'analogues alkényles des dérivés PMP. Comme abordé dans les objectifs, la synthèse de cette deuxième série d'ANP oléfinique en série pyrimidique se fera par métathèse croisée sur les nucléobases préalablement alkylées tandis. Pour les bases puriques, un synthon phosphonate hydroxylé sera préalablement préparé par métathèse croisée et sera couplé avec les nucléobases dans les conditions de Mitsunobu.

2.1. Série pyrimidique sous forme acide phosphonique

2.1.1. Synthèse des intermédiaires alkylés

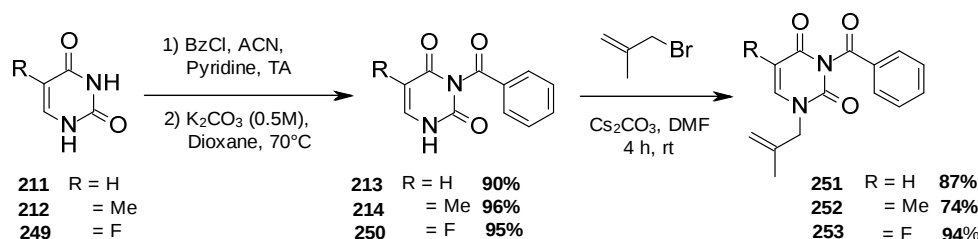
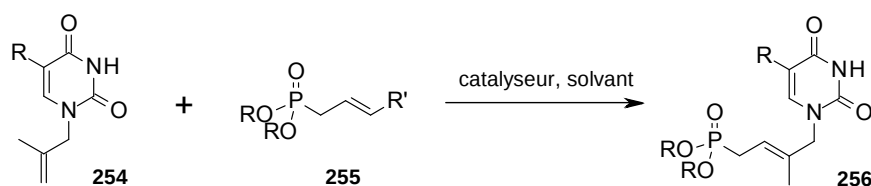


Schéma 45. Protection et alkylation des dérivés C⁵-substitués de l'uracile.

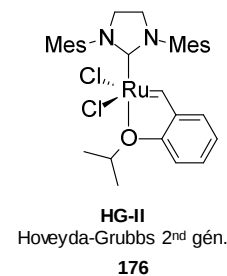
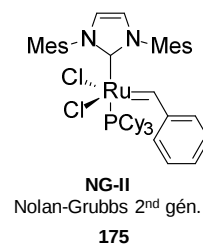
La synthèse des intermédiaires alkylés de l'uracile, de la thymine ainsi que du 5-fluoro-uracile débute par une réaction de benzoylation afin d'isoler l'azote N¹ (Schéma 45). Les produits protégés sont ensuite *N*-alkylés avec le 3-bromo-2-méthylpropène pour donner les dérivés **251-253** avec de bons rendements. Il semble ici judicieux de conserver ce groupement protecteur en prévision de la réaction de métathèse qui est sensible aux fonctions NH libres, mais aussi afin de faciliter la séparation des isomères *E* et *Z*.

2.1.2. Métathèse croisée : résultats préliminaires

Tableau 12. Précédentes optimisations réalisées au laboratoire.¹⁶²



Entry	R	R'	Catalyseur	Solvant	Température	Time	Rendement
1	Me	Et	NG-II	CH ₂ Cl ₂	40 °C	72 h	Pas de réaction
2	Me	Et	NG-II	CH ₂ Cl ₂	80 °C (MO)	5 min	Pas de réaction
3	Me	Et	NG-II	CH ₂ Cl ₂	80 °C (MO)	15 min	Pas de réaction
4	Me	Et	NG-II	Toluène	80 °C	48 h	Pas de réaction
5	Me	Et	NG-II	Toluène	100 °C (MO)	10 min	Pas de réaction
6	Me	Et	HG-II	CH ₂ Cl ₂	40 °C	3 j	Pas de réaction
7	H	Et	NG-II	CH ₂ Cl ₂	40 °C	3 j	Pas de réaction
8	H	Et	NG-II	Toluène	80 °C	4 j	Pas de réaction
9	H	Et	NG-II	Toluène	110 °C (MO)	15 min	Pas de réaction
10	H	Et	HG-II	CH ₂ Cl ₂	80 °C (MO)	15 min	Pas de réaction
11	H	Et	HG-II	CH ₂ Cl ₂	40 °C	3 j	20 %
12	H	Me	HG-II	CH ₂ Cl ₂	40 °C	24 h	21 %



¹⁶² Travaux réalisés par le Dr. Aurélien MONTAGU (Thèse).

Les précédents travaux réalisés au laboratoire sur la réaction de métathèse entre l'intermédiaire alkylé **254** (forme non-benzoylée) avec l'allyle/crotyle phosphonate **255** pour former le dérivé acyclique **256** sont décrit dans le tableau 12. Le screening des différents paramètres tels que le type d'oléfine phosphonate (I ou II), le catalyseur, le solvant, le type de chauffage (classique ou micro-onde) ainsi que le temps de réaction n'ont pas donné de résultat satisfaisant. Le meilleur résultat a été obtenu avec le catalyseur d'Hoveyda-Grubbs 2^{ème} génération (5 mol%) avec un rendement de 21 %.

2.1.3. Obtention des analogues par métathèse croisée

Au vu des résultats préliminaires et des différentes optimisations réalisées dans la synthèse des 3'-hydroxyméthyl-but-2'-ényle phosphonates dans le chapitre précédent, nous avons décidé d'accomplir cette réaction de métathèse sous ultrasons tel que décrit dans le schéma 46. Ainsi, la réaction entre 1 équivalent de diméthyle allylphosphonate et de 2 équivalents de base pyrimidique alkylée protégée en présence de 15 mol% de catalyseur [Ru]-I (additionné en trois fois) sous ultrason à 55 °C pendant 20 h permet d'obtenir les produits désirés avec d'excellents rendements variant de 90 % à 98 %. A titre de comparaison, les rendements obtenus dans ces conditions sont similaires, voir supérieurs, à ceux observés pour la synthèse des dérivés acycliques non-substitués (travaux antérieurs, p47). L'apport des ultrasons semble donc toujours présent pour ce système. Toutefois, faute de temps, nous n'avons pas tenté ces réactions en réduisant la charge catalytique. Il est certainement possible de réduire cette charge à un taux plus raisonnable, de la même façon que dans la série précédente, sans impacter considérablement le rendement. Enfin, il est à noter que la présence du groupement benzoyle semble indispensable pour obtenir un bon rendement.

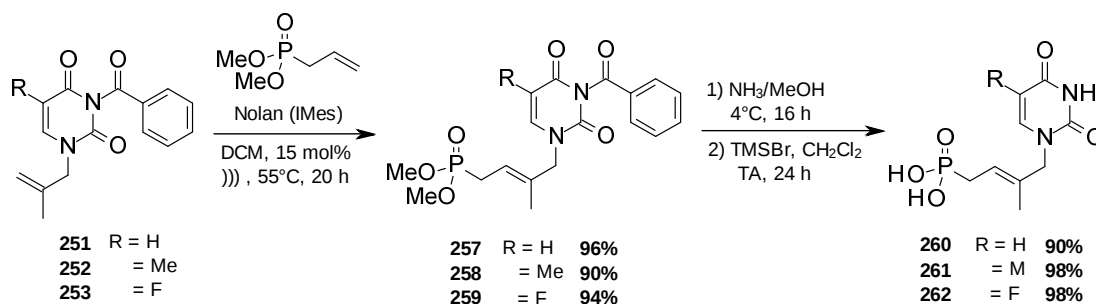


Schéma 46. Métathèse croisée et étapes de déprotections.

Les composés débenzoylés **260a-262a** sont obtenus avec de très bons rendements par déprotection du produit avec de l'ammoniac méthanolique. Les intermédiaires sont ensuite traités avec le bromure de triméthylsilane pour donner quantitativement les formes acides phosphoniques **260b-262b**.

2.2. Série pyrimidique sous forme prodrogue

2.2.1. Synthèse des intermédiaires alkylés

La synthèse des analogues sous forme prodrogue a nécessité une légère modification du schéma réactionnel. En effet, l'utilisation de groupement protecteur benzoyle est à éviter, car impossible à déprotéger par la suite en présence des groupements biolabiles sur la molécule. Il nous fallait donc préalablement déprotéger les intermédiaires alkylés avant la réaction de métathèse (Schéma 47). La

déprotection du groupement benzoyle a été réalisée par un traitement avec de l'ammoniac méthanolique à 4 °C. Toutefois le benzamide généré lors de la déprotection avait une polarité très proche de nos produits rendant les purifications difficiles.

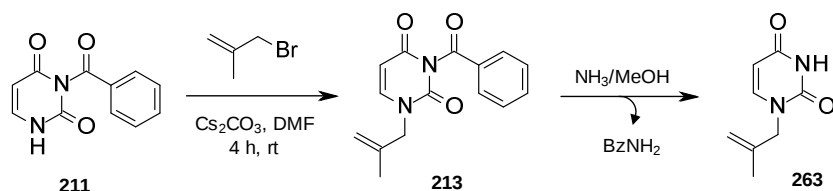


Schéma 47. Stratégie initiale pour la préparation de **203**.

Nous nous sommes donc intéressés aux réactions permettant d'alkyler sélectivement l'azote N¹. Il existe un certain nombre de procédures permettant cela. Dans ce travail, c'est la réaction de Vorbruggen¹⁶³ que nous avons mis en œuvre, car elle répond parfaitement à ce critère. Les différentes bases pyrimidiques sont donc dans un premier temps converties sous leur forme silylée avec l'hexaméthylidisilazane dans le DCE (Schéma 48). Ces intermédiaires sont ensuite alkylés avec le 3-bromo-2-méthylpropène en présence d'une quantité catalytique de diiode pour donner les composés alkylés **263-265** avec des rendements satisfaisants.

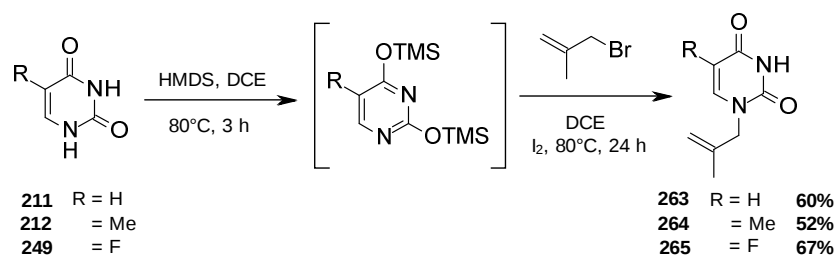


Schéma 48. Alkylation sans étape de protection.

2.2.2. Obtention des analogues par métathèse croisée

La réaction de métathèse réalisée avec les bases déprotégées s'est avérée plus difficile comme nous l'avions prévu. Malgré l'utilisation du catalyseur plus réactif [Ru]-II (Hoveyda-Grubbs), les rendements restent assez décevants. En effet, la réaction de 1 équivalent de *bis*-POM allylphosphonate avec 2 équivalents de base déprotégée en présence de 10 mol% de [Ru]-II sous ultrasons à 55 °C pendant 20 h a conduit aux produits désirés **266-268** avec des rendements modestes variant de 27 % à 39 % (Schéma 49). Il est à noter que les charges catalytiques sont volontairement réduites par rapport aux exemples décrits précédemment. Ni l'augmentation de cette charge ni le changement du catalyseur n'ont permis d'améliorer les rendements. Cette chute brutale de rendement avec les molécules déprotégées a déjà été observée lors de précédents travaux au laboratoire. D'une manière générale les catalyseurs au ruthénium sont connus pour avoir un *turnover* catalytique amoindri en présence d'amine libre ou d'amide dans une moindre mesure en raison d'une coordination avec le complexe ruthénique.

¹⁶³ Kamal, A.; Shaik, A. A.; Azeeda, S.; Malik, M. S.; Sandbhor, M. Chemoenzymatic synthesis of (5S)- and (5R)-hydroxymethyl-3,5-dimethyl-4-(methoxymethoxy)-5H-thiophen-2-one: a precursor of thiolactomycin and determination of its absolute configuration. *Tet. Asymm.* **2006**, *17*, 2890-2895.

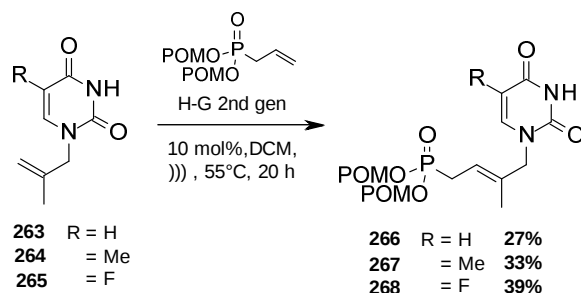


Schéma 49. Préparation des dérivés sous forme prodrogue.

3. Synthèse de dérivés 3'-méthyl-butèn-2-yl phosphonates portant une purine

Comme nous avons pu le voir dans le chapitre précédent, l'approche synthon consiste à préparer la chaîne phosphonate et de la coupler avec la nucléobase. Cette approche brevetée par le laboratoire dans le cadre de chaînes butényles phosphonates s'avère très intéressante dans la mesure où elle permet de synthétiser les dérivés de bases puriques qui sont plus contraignants en terme de réactivité par rapport aux bases pyrimidiques dans le cadre de la réaction de métathèse.¹⁶⁴

Lorsque cette approche a été imaginée, l'utilisation d'un synthon phosphonate bromé **157** paraissait plus pratique, car il pouvait permettre d'obtenir le produit désiré par une simple réaction de substitution nucléophile avec une nucléobase (Schéma 50). Cependant, les problèmes cités dans le chapitre précédent liés aux problèmes de régiosélectivité N⁷/N⁹ (**269/268**) ainsi que l'instabilité du synthon **157** en milieu basique menant majoritairement au produit d'élimination **270**, ont mené le laboratoire à abandonner les substitutions nucléophiles directs au profit d'une réaction de Mitsunobu avec un synthon phosphonate hydroxylé.¹⁶⁵

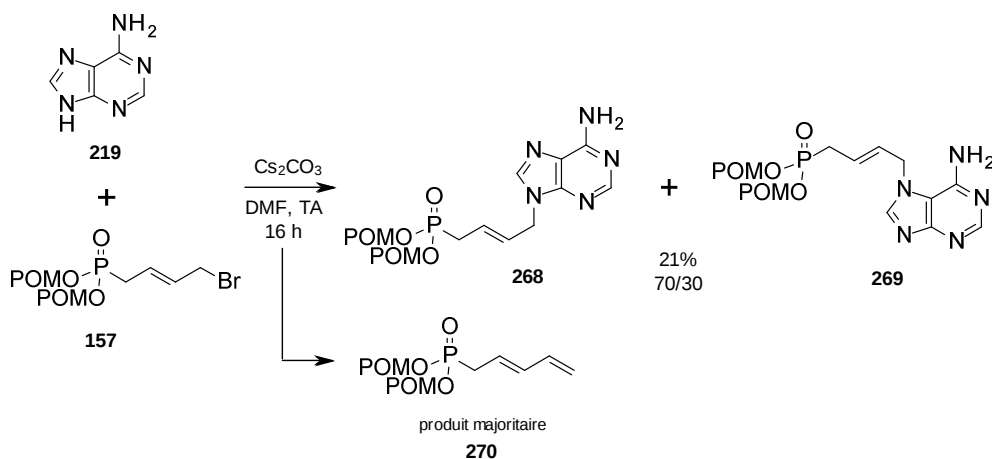


Schéma 50. Problèmes de régiosélectivité et d'élimination avec le synthon phosphonate bromé.¹⁵⁵

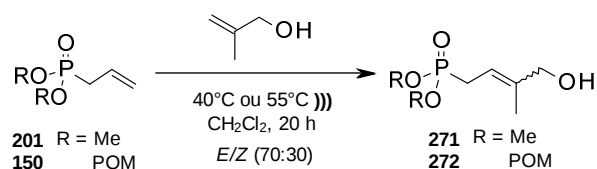
¹⁶⁴ brevet : Phosphonates synthons for the synthesis of phosphonates derivatives showing better bioavailability, WO 2010146127 A1.

¹⁶⁵ Travaux réalisés par le Dr. Ugo PRADERE (Thèse).

3.1. Synthèse du synthon phosphonate hydroxylé

La préparation d'un synthon phosphonate hydroxylé qui sera couplé à la nucléobase par la réaction de Mitsunobu semble une fois de plus la solution la plus adaptée. Ainsi, la synthèse du synthon *bis*-OMe **271** a été réalisée par la réaction de métathèse entre 1 équivalent de diméthyle allylphosphonate et de 2 équivalents de 2-méthyl-2-propèn-1-ol (Tableau 13).

Tableau 13. Synthèse du synthon phosphonate hydroxylé sous forme *bis*-OMe et *bis*-POM.



Entrée	R	Catalyseur	Charge	Temp.	Temps	Rendement ^a
1	Me	NG-II	10 mol% ^b	40 °C	24 h	70 %
2	Me	NG-II	15 mol% ^c	40 °C	24 h	79 %
3	Me	NG-II	15 mol% ^c	55 °C)))	20 h	74 %
4	POM	HG-II	10 mol% ^b	40 °C	24 h	60 %

^a Rendement en produit isolé

^b catalyseur ajouté en 4 fois

^c catalyseur ajouté en 3 fois

Dans un premier essai, la réaction a été menée en présence de 10 mol% **NG-II** (ajouté en 4 fois) en chauffage classique pour obtenir le produit désiré avec un rendement satisfaisant de 70 % et un ratio *E/Z* de 7/3 (Entrée 1). Toutefois, après 24 h, la RMN du brut réactionnel met en évidence une quantité non négligeable d'homodimère n'ayant pas réagi mettant en cause l'activité du catalyseur. La présence d'une fonction hydroxyle libre sur la structure semble favoriser la dégradation du catalyseur et donc de réduire le *turnover* catalytique de ce dernier. L'augmentation de la charge catalytique à 15 mol% **NG-II** a permis d'atteindre un rendement de 79 % (Entrée 2). La réaction a ensuite été reproduite avec 15 mol% **NG-II** sous ultrasons à 55 °C pendant 20 h (Entrée 3). Dans ces conditions, le produit désiré **271** a été isolé avec 74 % de rendement. Ce résultat est relativement proche de celui obtenu par chauffage classique (Entrée 2, 79 %). Par conséquent, l'utilisation des ultrasons ne présentent pas d'intérêt dans la métathèse de ces 2 oléfines. La faisabilité de cette réaction en chauffage classique peut être expliquée par un encombrement stérique moins important de l'oléfine 2-méthyl-2-propèn-1-ol comparé au diacétate **167** utilisé dans la série précédente. En effet, l'encombrement des oléfines influence de façon significative leur réactivité vis-à-vis des catalyseurs.

Enfin, le synthon en série *bis*-POM **272** a été obtenu avec 60 % de rendement en utilisant le catalyseur d'Hoveyda-Grubbs **HG-II** avec une charge catalytique de 10 mol% en chauffage classique (Entrée 4). L'augmentation de la charge catalytique n'a pas donné de meilleurs résultats.

3.2. Couplage de Mitsunobu en série bis-OMe avec les bases puriques

Le synthon obtenu a ensuite été couplé avec les différentes bases puriques. Les réactions ont été réalisées entre 1 équivalent de nucléobase et 1.5 équivalent de synthon **271** en présence de 1.5 équivalent triphénylphosphine et de DIAD (Tableau 14). Il est à noter que contrairement à la série précédente, la réaction a été réalisée ici à température ambiante. Cette meilleure réactivité du synthon peut être expliquée par une accessibilité plus favorable de la fonction hydroxyle. Ainsi, nous avons synthétisé 4 dérivés différents de bases puriques. Les dérivés de 6-chloropurine **274** et 2,6-dichloropurine **275** sont tous deux obtenus avec un rendement de 51 %. Le dérivé de l'adénine bis-Boc **276** a quant à lui été obtenu avec un rendement très satisfaisant de 79 %. Enfin, le produit de couplage issu de la bis-Boc-2-amino-6-chloropurine a posé un problème de purification en raison d'une polarité identique avec le synthon ajouté en excès dans la réaction. Nous avons donc décidé de convertir le produit dans sa version guanine afin de pouvoir le séparer. Le produit a donc été traité par un mélange TFA/H₂O (3:1) à température ambiante pour donner le dérivé **277** avec 45 % de rendement sur 2 étapes.

Tableau 14. Couplage du synthon avec différentes bases puriques

Entrée	Base	Produit	Rendement
1			51 %
2			51 %
3			79 %
4			45 %

3.3. Etapes de déprotection

Le dérivé de 6-chloropurine **274** a été converti en hypoxanthine **278** par traitement avec une solution aqueuse d'acide formique à 40 °C avec un rendement de 98 % (Schéma 51). L'acide phosphonique correspondant **279** est obtenu quantitativement après traitement avec du TMSBr.

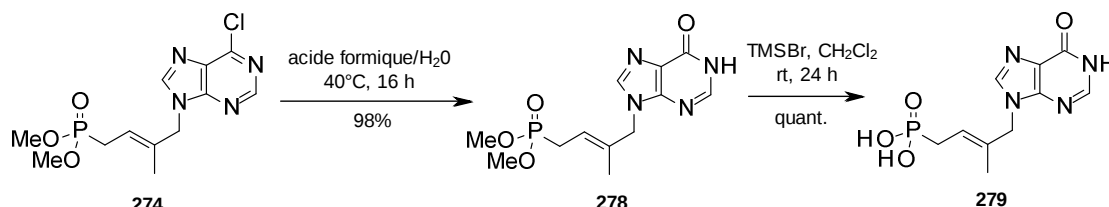


Schéma 51. Déprotection du dérivé de 6-chloropurine

Le dérivé de 2,6-dichloropurine **275** a été synthétisé en vue de préparer le dérivé 2,6-diaminopurine correspondant. Ce dernier a été synthétisé en deux étapes. Dans un premier temps les atomes de chlore sont déplacés par un azide via l'azoture de sodium dans un mélange EtOH/H₂O à reflux (Schéma 52). L'intermédiaire diazidé a été ensuite réduit avec le dihydrate de chlorure d'étain dans l'éthanol à reflux pour donner le dérivé 2,6-diaminopurine **280** avec 98 % de rendement. Un dernier traitement avec le TMSBr a finalement donné l'acide phosphonique désiré **281**.

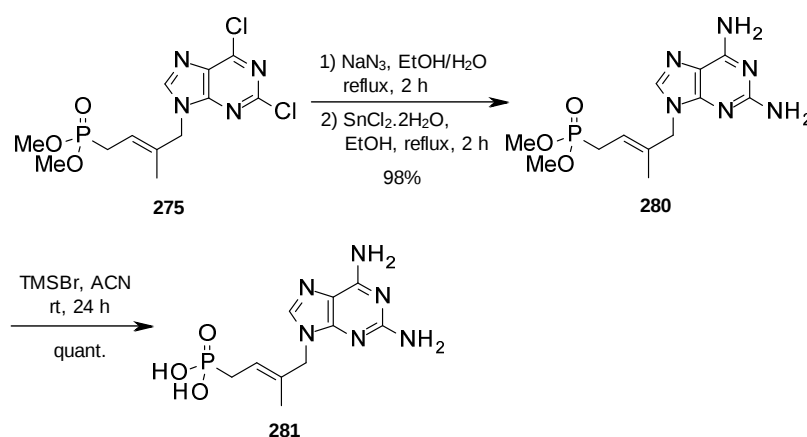


Schéma 52. Conversion de la 2,6-dichloropurine en 2,6-diaminopurine puis déprotection

La déprotection des groupements Boc de **282** a été réalisée par un traitement classique au TFA pour donner le dérivé de l'adénine **282** avec 61 % de rendement (Schéma 53). La molécule sous sa forme acide phosphonique **283** a été obtenue par traitement avec le TMSBr.

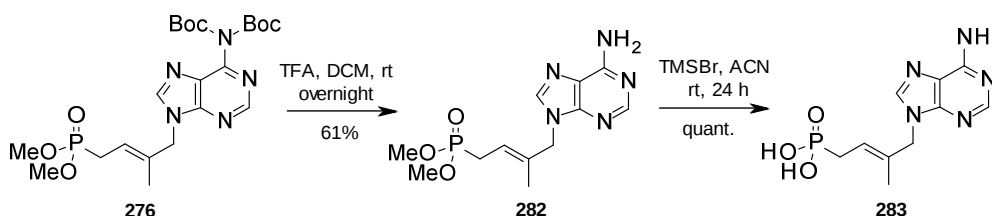


Schéma 53. Déprotection du dérivé de l'adénine

Enfin, le dérivé de guanine **277** est également converti sous sa forme acide phosphonique **284** comme décrit précédemment (Schéma 54).

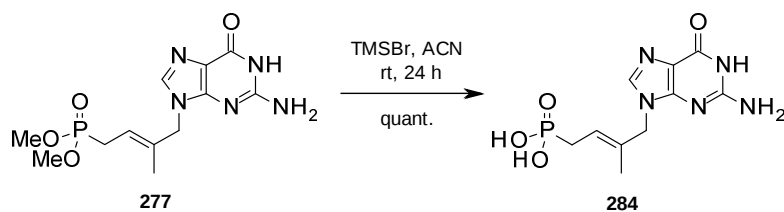


Schéma 54. Déprotection du dérivé de guanine.

3.1. Couplage de Mitsunobu en série *bis*-POM avec les bases puriques

La réaction de Mitsunobu s'est révélée beaucoup plus difficile avec le synthon en série *bis*-POM **272**. En effet les milieux réactionnels sont nettement moins propres avec ce synthon et les produits obtenus extrêmement difficiles à isoler. Dans cette série, les réactions de Mitsunobu n'ont donné aucun produit lorsque le solvant utilisé était le THF. L'élévation de la température à 70 °C a mené à la dégradation du synthon. Nous avons donc choisi de réaliser cette réaction dans le 1,4-dioxane à température ambiante. Dans ces conditions, le dérivé de 6-chloropurine **285** a été obtenu avec 60 % de rendement. Un traitement avec l'acide formique a permis d'obtenir le dérivé d'hypoxanthine **268** avec 78 % de rendement (Schéma 55).

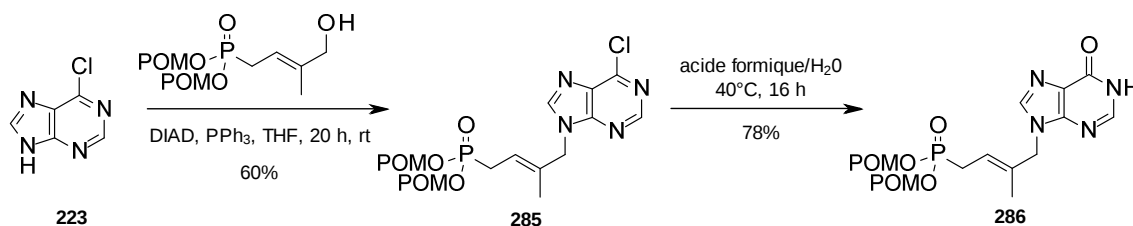


Schéma 55. Préparation du dérivé d'hypoxanthine sous forme *bis*-POM.

Le couplage de l'adénine *bis*-Boc **221** avec le synthon **272** a donné le produit **287**. La purification de ce dernier n'étant pas possible en raison d'une polarité identique à l'oxyde de triphénylphosphine, le produit a été déprotégé par un traitement à l'acide formique aqueux pour donner le dérivé de l'adénine **288** avec un rendement assez faible de 15 % de rendement sur 2 étapes (Schéma 56).

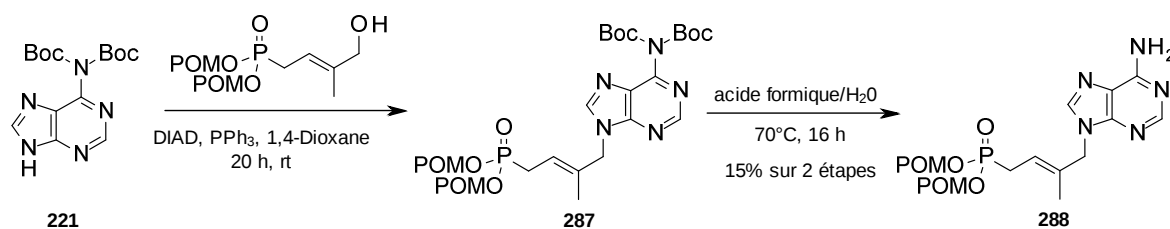


Schéma 56. Préparation du dérivé d'adénine sous forme *bis*-POM

VII. Conclusion et perspectives

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à la synthèse de dérivés acycliques alkényles 2'-substitués. Ainsi, nous avons synthétisé 6 dérivés alkényles analogues des HPMPs sous forme acide phosphonique ainsi que 12 analogues alkényles des PMP sous forme acide phosphonique et prodrogue *bis*-POM. Ces dérivés sont actuellement testés à l'institut Rega (Belgique) et par l'équipe du Pr. Schinazi (États-Unis) pour évaluer leurs activités antivirales.

Les formes alkényles des dérivés HPMP ont été obtenues par une approche convergente faisant intervenir le synthon phosphonate hydroxylé **205** (Schéma 57). La préparation de ce dernier nous a conduit à étudier la réaction de métathèse entre le diméthyle allylphosphonate et l'oléfine 1,1-disubstituée **167**. Au cours de notre optimisation, nous avons mis en évidence un effet positif des ultrasons sur la consommation de l'homodimère qui avait tendance à s'accumuler dans le milieu réactionnel en chauffage classique. L'utilisation des ultrasons nous a permis d'obtenir d'excellents rendements pour cette réaction de métathèse avec des charges catalytiques plus conventionnelles. Le diacétate **202** a ensuite été hydrolysé régiosélectivement grâce à la sélectivité remarquable de la lipase *Candida Antarctica B*. Le couplage du synthon **205** avec différentes bases puriques et pyrimidiques dans les conditions de Mitsunobu suivi des étapes de déprotections ont finalement permis l'obtention des analogues acides phosphoniques désirés.

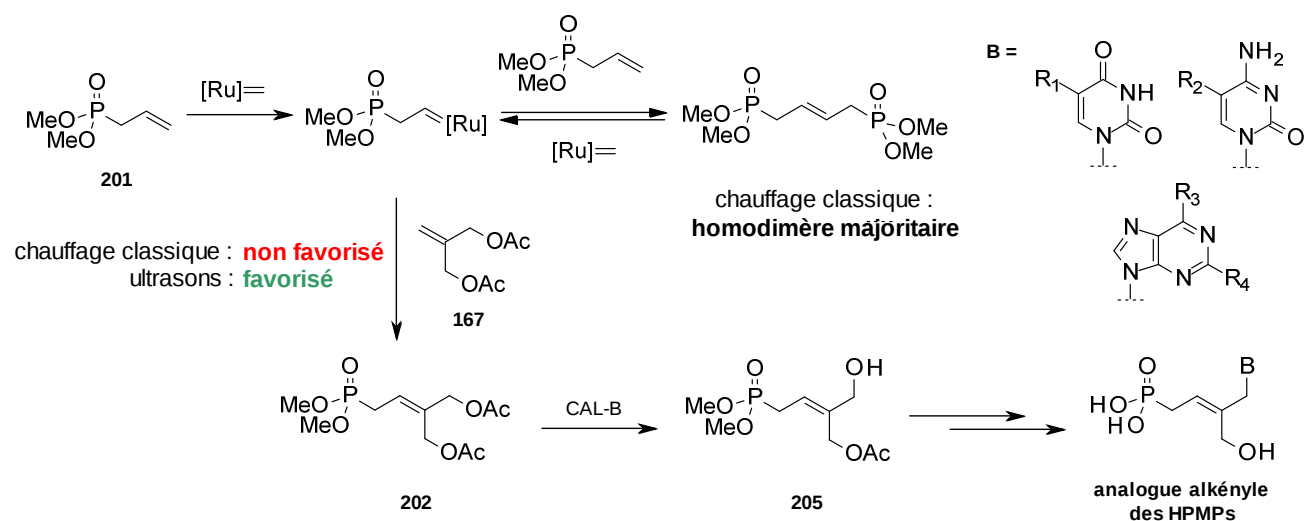


Schéma 57. Chauffage classique comparé aux ultrasons.

Les analogues alkényles des PMPs en série pyrimidique ont été synthétisés par la réaction de métathèse croisée entre un allyle phosphonate (*bis*-OMe/POM) et une base convenablement alkylée (Schéma 58).

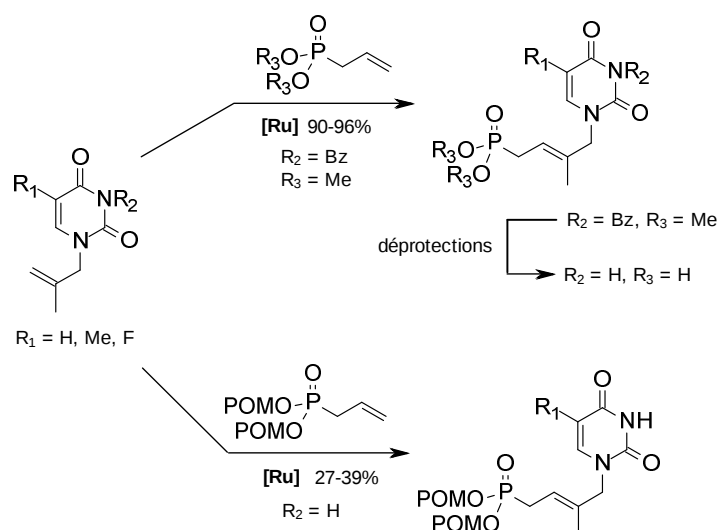


Schéma 58. Synthèse pour les analogues alkényles des PMPs en série pyrimidique.

D'autre part, les dérivés substitués par une base purique ont été préparés via la réaction de couplage avec les synthons phosphonates hydroxylés *bis*-OMe et *bis*-POM. Ces derniers ont été synthétisés par la réaction de métathèse entre un allyle phosphonate et le 2-méthylprop-2-èn-1-ol (Schéma 59). L'utilisation des ultrasons pour cette réaction n'a pas montré d'amélioration comparée au chauffage classique.

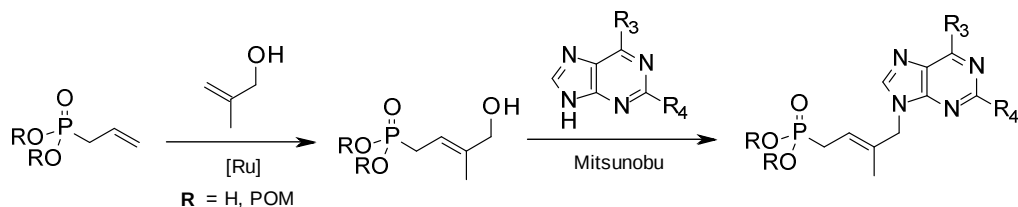


Schéma 59. Synthèse pour les analogues alkényles des PMPs en série purique.

La méthodologie développée dans ce projet pourrait être étendue à la préparation de divers ANPs oléfiniques substitués en 2'. Parmi les différentes modifications envisageables, l'introduction d'un atome de fluor en 2' pourrait s'avérer particulièrement intéressant d'un point de vue biologique. Ainsi, les ANPs de type fluorovinyle pourrait être obtenu par métathèse croisée entre un allylphosphonate et une base alkylé avec un dérivé de type fluorovinyle tel que décrit dans le schéma 60. Néanmoins, les métathèses croisées impliquant un fluorovinyle sont souvent reportées comme étant difficile à réaliser. Ainsi, d'un point de vue méthodologique, il serait intéressant d'étudier l'apport des ultrasons dans cette réaction.

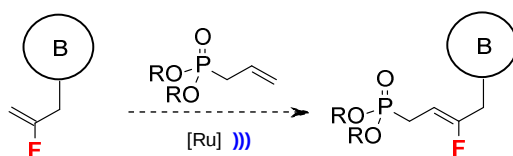
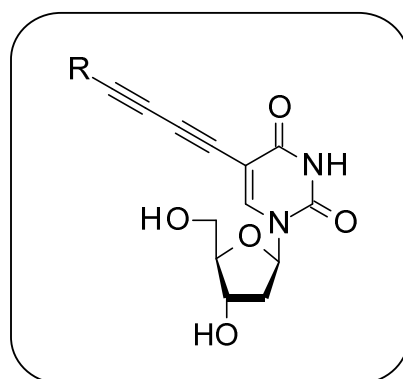


Schéma 60. Préparation d'ANPs oléfiniques 2'-substitués par un fluor via métathèse croisée.

PARTIE A

Chapitre 2

Synthèse et évaluation antivirale de dérivés C⁵-(1,3-diyne)-2'-déoxyuridines



I. Les dérivés pyrimidiques C⁵-substitués

Les différentes nucléobases (Adénine, Cytosine, Guanine, Thymine et Uracile) que l'on retrouve dans la structure des nucléosides codent notre information génétique sous la forme d'ADN. Les nucléobases naturelles possèdent des fonctions polaires qui peuvent créer des liaisons hydrogènes avec les enzymes responsables de leur incorporation dans l'ADN ainsi qu'avec leur base complémentaire pour créer les paires de base (A-T, G-C et A-U) nécessaires à la stabilisation structurale de l'ADN et de l'ARN. À ce titre, la conception d'analogues de nucléosides à base modifiée pouvant inhiber les différentes enzymes impliquées dans le cycle de réplication constitue un domaine de recherche particulièrement prometteur pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques. Ces modifications peuvent se faire par l'addition d'un seul atome/d'une fonction chimique, par substitution d'un atome du squelette hétérocyclique ou encore par remplacement avec un nouvel hétérocycle. De cette façon, elles peuvent conférer des propriétés pharmaceutiques diverses aux nucléosides aussi bien antivirales, qu'antitumorales ou antibactériens.

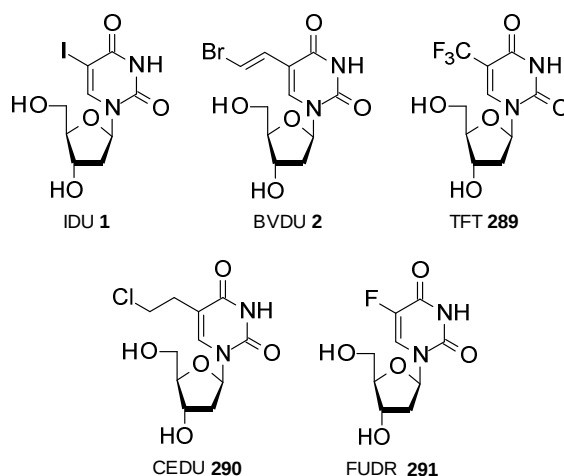


Figure 50. Structures de quelques médicaments de type 2dU modifié en C⁵.

Depuis la synthèse de la 5-iodo-2'-déoxyuridine (IDU, **1**)⁴ par William Prusoff vers la fin des années 50, les nucléosides modifiés ont connu un intérêt grandissant en raison de leur fort potentiel antiviral et antitumoral (Figure 50). L'IDU, considéré comme étant le premier analogue de nucléoside à visée thérapeutique, fut initialement utilisé dans le traitement des infections liées aux virus à herpès, mais également dans le cadre de certaines chimiothérapies. Cependant, la forte toxicité causée par son manque de sélectivité a grandement réduit son utilisation. Toutefois, ce composé a ouvert la voie à de nombreuses modifications sur l'ensemble de la structure du nucléoside et plus particulièrement en C⁵ des bases pyrimidiques. En effet, principalement étudié en série 2'-déoxy, les nucléosides C⁵-modifiés ont fait l'objet d'intenses pharmacomodulations et d'études SAR ayant permis le développement de nombreux médicaments. Parmi ces derniers, le E-5-(2-bromovinyl)-2'-déoxyuridine **2** (BVDU), possédant un substituant insaturé de type bromovinyle en C⁵, s'est révélé être un puissant inhibiteur sélectif de la réplication du virus *herpes simplex* de type 1 (HSV-1) et du varicellez virus (VZV) (Figure 50).¹⁶⁶ À ce jour, le BVDU est encore

¹⁶⁶ Allaudeen, H.S.; Kosarich, J.W.; Bertino, J. R.; De Clercq, E., Mechanism of selective inhibition of herpesvirus replication by BVDU. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1981**, 78, 2698-2702.

considéré comme la molécule la plus active sur HSV-1.¹⁶⁷ Le succès du BVDU, commercialisé sous le nom Brivudine, réside dans sa capacité à être phosphorylé sélectivement par la thymidine kinase (TK) virale sans être reconnu comme substrat par la kinase correspondante de la cellule hôte.¹⁶⁸ De la même façon, la forme triphosphate du BVDU inhibe plus efficacement l'ADN polymérase virale de HSV-1 que l'ADN polymérase cellulaire.¹⁶⁶ La trifluridine **289** (TFT)¹⁶⁹ et la 5-(2-chloroéthyl)-2'-déoxyuridine **290** (CEDU)¹⁷⁰ font également partie de la famille des médicaments anti-herpétiques. Enfin, la floxuridine¹⁷¹ **291** (FUDR) C⁵-substitué par un atome de fluor a été approuvée par la FDA pour le traitement du cancer colorectal.

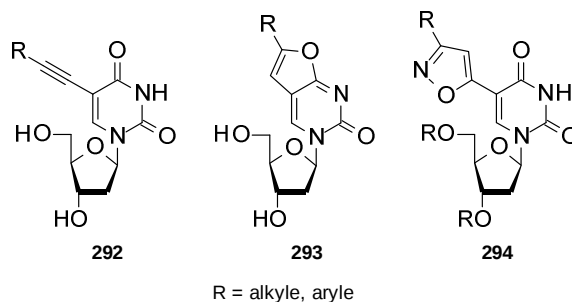


Figure 51. Analogues portant un motif éthyne, furanopyrimidine et oxazole.

Parmi les différents substituants en C⁵, le groupement éthyne a été particulièrement étudié (Figure 51).¹⁷² En effet, les structures de formule générale **292** ont révélé d'excellentes activités inhibitrices contre HSV-1, HSV-2 ainsi que le virus de la vaccine (VV) à des concentrations μ molaire relativement faibles.¹⁷³ La préparation de ces nucléosides C⁵-éthynyles se fait généralement par couplage pallado-catalysé de la 5-iodo-2'-déoxyuridine avec des alcynes terminaux.¹⁷⁴ Un produit secondaire fluorescent issu de ce couplage a été identifié par de nombreuses équipes comme étant le bicyclic furanopyrimidine **293**. Les premières évaluations antivirales de ce sous-produit (R=H) n'ont révélé aucune activité contre HSV-1, HSV-2, CMV et VZV.¹⁷⁵ En revanche, McGuigan reporta plus tard que certains analogues de **293** portant de longues chaînes alkyles en C⁶, typiquement 8 à 10 carbones, présentent des activités remarquables ainsi qu'une spécificité sans précédent pour VZV.¹⁷⁶ À titre de comparaison ces composés sont aussi actifs que le BVDU et 300 fois plus actifs que l'acyclovir. Bien que ces composés présentent une activité contre VZV TK⁺ (OKA et YS), ils s'avèrent totalement inactifs lorsque le virus est dépourvu de thymidine kinase (VZV TK⁻). Ceci suggère que

¹⁶⁷ De Clercq, E. Discovery and development of BVDU (brivudin) as a therapeutic for the treatment of herpes zoster. *Biochem. Pharmacol.* **2004**, *68*, 2301-2315.

¹⁶⁸ Cheng, Y. C.; Dutschman, G.; De Clercq, E.; Jones, A. S.; Rahim, S. G.; Verhelst, G.; Walker, R. T. Differential affinities of 5-(2-Halogeno vinyl)-2'-deoxyuridines for deoxythymidine kinases of various origins. *Molec. Pharmacol.* **1981**, *20*, 230-233.

¹⁶⁹ Carmine, A. A.; Brogden, R. N.; Heel, R. C.; Speight, T. M.; Avery, G. S. Trifluridine: A Review of its Antiviral Activity and Therapeutic Use in the Topical Treatment of Viral Eye Infections. *Drugs* **1982**, *23*, 329-353.

¹⁷⁰ De Clercq, E.; Bernaerts, R.; Merta, A.; Rosenwirth, B. Mechanism of action of 5-(2-chloroethyl)-2'-deoxyuridine, a selective inhibitor of herpes simplex virus replication. *Molec. Pharmacol.* **1990**, *37*, 658-664.

¹⁷¹ (a) Kemeny, N.; Huang, Y.; Cohen, A. M.; Shi, W.; Conti, J. A.; Brennan, M. F.; Bertino, J. R.; Turnbull, A. D.; Sullivan, D.; Stockman, J.; Blumgart, L. H.; Fong, Y. Hepatic arterial infusion of chemotherapy after resection of hepatic metastases from colorectal cancer. *New Engl. J. Med.* **1999**, *341*, 2039-2048. (b) Grem, J. L. 5-Fluorouracil: Forty-plus and still ticking. A review of its preclinical and clinical development. *Invest. New Drugs* **2000**, *18*, 299-313.

¹⁷² De Clercq, E.; Descamps, J.; Balzarini, J.; Giszewicz, J.; Barr, P. J.; Robins, M. J. Nucleic acid related compounds. 40. Synthesis and biological activities of 5-alkynyluracil nucleosides. *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 661-666.

¹⁷³ De Clercq, E.; Descamps, J.; Verhelst, G.; Walker, R. T.; Jones, A. S.; Torrence, P. F.; Shugar, D. Comparative efficacy of antiherpes drugs against different strains of herpes simplex virus. *J. Infect. Dis.* **1980**, *141*, 563-574.

¹⁷⁴ Robins, M. J.; Barr, P. J. Nucleic-Acid related-compounds. 31. Smooth and efficient palladium copper catalyzed coupling of terminal alkynes with 5-iodouracil nucleosides. *Tet. Lett.* **1981**, *22*, 421-424.

¹⁷⁵ (a) Kumar, R.; Knaus, E. E.; Wiebe, L. I. Synthesis and biological evaluation of 5-(1-alkoxy-2- haloethyl)-2'-deoxyuridines and related uracil analogs. *J. Het. Chem.* **1991**, *28*, 1917-1925. (b) Kumar, R.; Wiebe, L. I.; Knaus, E. E. Synthesis of 5-(1-azidovinyl) and 5-[2-(1-aziriny)] analogs of 2'-deoxyuridine. *Canad. J. Chem.* **1996**, *74*, 1609-1615.

¹⁷⁶ McGuigan, C.; Yarnold, C. J.; Jones, G.; Velázquez, S.; Barucki, H.; Brancale, A.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Balzarini, J. Potent and selective inhibition of varicella-zoster virus (VZV) by nucleoside analogues with an unusual bicyclic base. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4479-4484.

ces composés requièrent absolument l'intervention de la TK viral du VZV lors de la première phosphorylation. De plus, l'absence de toute activité antivirale de ces furanopyrimidines contre les autres virus appartenant à famille des herpès supporte le fait que ces composés nécessitent une phosphorylation spécifique que seule la TK du VZV peut effectuer. Compte tenu de cette sélectivité, ces composés forment une famille unique puisque la plupart des molécules présentant une activité contre VZV possèdent également, presque toujours, une activité anti-HSV. On suppose aujourd'hui que cette sélectivité est probablement liée aux longues chaînes alkyles présentes sur la structure qui entreraient en interaction avec une poche hydrophobe de la TK du VZV vraisemblablement absente chez la NTK du HSV. Par la suite, McGuigan a également reporté des variantes de furanopyrimidines substitués cette fois par des aromatiques para-substitué par diverses chaînes alkyles.¹⁷⁷ L'apport d'un aromatique supplémentaire couplé à une chaîne à 5 carbones a ainsi donné la molécule la plus active à ce jour contre VZV avec un EC₅₀ de l'ordre de 0.1-0.3 nM (30 fois plus actif que le BVDU).

L'influence de la substitution par divers aromatiques a également été reporté par de nombreuses équipes. En 2009, Kim *et al.*¹⁷⁸ ont développé des structures C⁵-substitué **294** par des noyaux isoxazoles (et triazoles) portant divers motifs alkyles et aryles. Certains dérivés de cette série ont révélé des activités supérieures à l'acyclovir contre HSV-1 et HSV-2 avec des EC₅₀ < 0.1 µM. En revanche, ils se sont révélés extrêmement toxiques avec des indices de sélectivité de l'ordre de 1.8-2.8 contre >27 pour l'acyclovir. Les produits présentant des toxicités importantes sont souvent étudiés pour leur activité antitumorale.¹⁷⁹ Ainsi, les structures **294** acétylés (R = Ac) ont révélé des activités intéressantes notamment sur l'inhibition du développement des cellules cancéreuses NUGC-3 (estomac) et PC-3 (prostate). L'activité des structures déprotégées (R = H) s'étant révélée plus faible, les fonctions acétyles agiraient donc ici comme groupements biolabiles qui seraient clivés *in cellulo* par les carboxylestérases.

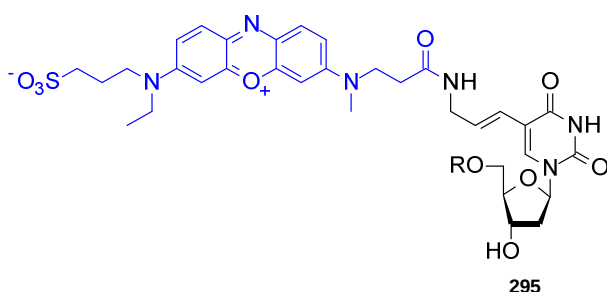


Figure 52. Analogue de nucléoside portant une sonde fluorescente en C⁵

La préparation de sondes nucléosidiques fluorescentes constitue également un domaine très important dans l'étude de l'ADN. Les nucléobases naturelles présentant une fluorescence relativement faible, il est souvent nécessaire de réaliser des dérivations afin d'amplifier leur fluorescence. Dans ce contexte, la position C⁵ des bases pyrimidiques semble idéale pour accueillir des groupements fluorophore. La figure 52 présente un exemple de produit portant un "tag" avec la structure **295**. La sonde fluorescente est ici reliée au nucléoside via un bras espaceur de type amine par un simple couplage peptidique.

¹⁷⁷ McGuigan, C.; Barucki, H.; Carangio, A.; Blewett, S.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Balzarini, J. Highly potent and selective inhibition of varicella-zoster virus (VZV) by bicyclic furo pyrimidine nucleosides bearing an aryl side-chain. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4993-4997.

¹⁷⁸ Lee, Y.-S.; Park, S. M.; Kim, B. H. Synthesis of 5-isoxazol-5-yl-2'-deoxyuridine exhibiting antiviral activity against HSV and several RNA viruses. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 1126-1128.

¹⁷⁹ Lee, Y.-S.; Park, S. M.; Kim, H. M.; Park, S.-K.; Lee, K.; Lee, C. W.; Kim, B. H. C⁵-Modified nucleosides exhibiting anticancer activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4688-4691.

II. Productions du laboratoire

Depuis quelques années notre laboratoire s'intéresse également à la synthèse de nucléosides pyrimidiques C⁵-modifiés visant une activité thérapeutique. Ainsi, en 2008, notre groupe a reporté la synthèse de dihalovinyles **298**. La préparation de ces structures a été réalisée par dihalogénéation de la 2'-déoxyuridine protégée **296** portant une fonction éthyne en C⁵ (Schéma 61).¹⁸⁰ L'utilisation de divers agents d'halogénéation tels que I₂, IBr, ICl et Br₂ a permis de synthétiser 4 différents composés dihalogénés avec d'excellents rendements variant de 91 % à 97 %. Les composés déprotégés **298** ont ensuite été évalués pour leurs activités antivirales contre VIH-1 et VHC. Certains composés de cette série ont présenté une activité modérée contre ces deux virus avec toutefois une cytotoxicité importante.

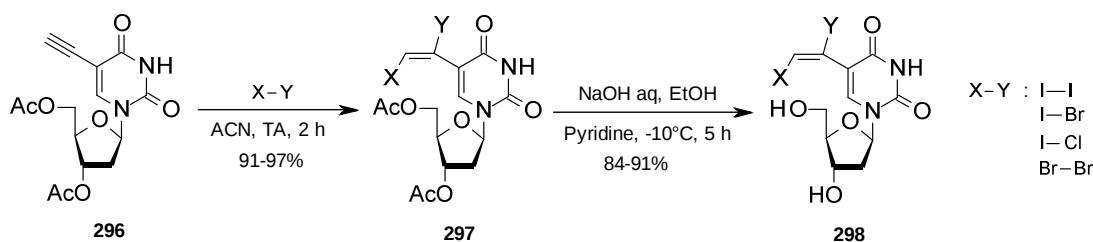


Schéma 61. Synthèse d'analogues C⁵-dihalovinyle.¹⁸⁰

Le motif dihalovinyle a également été utilisé dans la conception et la synthèse d'analogues du FLT **304** et de l'AZT **17**.¹⁸¹ Ces derniers ont été synthétisés via l'intermédiaire clé **299** qui a été préparé en 5 étapes à partir de la 2'-déoxyuridine (Schéma 62). L'introduction du fluor pour la synthèse des analogues du FLU a été réalisée par une double inversion de la configuration en 3' par traitement de l'intermédiaire mésylé **299** avec de la soude suivi du DAST. La dihalogénéation de l'alcyne a été réalisée selon la méthode décrite précédemment. Un dernier traitement acide a finalement permis d'obtenir les analogues **301**.

La préparation des dérivés azidés a été réalisée suivant une stratégie similaire. Ainsi, le dérivé mésylé **299** est traité par l'azoture de sodium dans le DMF à reflux entraînant également une double inversion de la configuration avec l'intervention de la partie hétérocyclique (cf. synthèse de l'AZT). Enfin, la dihalogénéation suivie de la déprotection a donné les dérivés azidés **303**. Testé contre VIH-1, ces nouveaux analogues dihalovinyles ont révélé comme précédemment une activité modérée accompagnée d'une toxicité relativement élevée.

¹⁸⁰ Escuret, V.; Aucagne, V.; Joubert, N.; Durantel, D.; Rapp, K. L.; Schinazi, R. F.; Zoulim, F.; Agrofoglio, L. A. Synthesis of 5-haloethynyl- and 5-(1,2-dihalo)vinyluracil nucleosides: Antiviral activity and cellular toxicity. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6015-6024.

¹⁸¹ Joubert, N.; Amblard, F.; Rapp, K. L.; Schinazi, R. F.; Agrofoglio, L. A. Synthesis and anti-HIV activity of 5-haloethynyl and 5-(1,2-dihalo)vinyl analogues of AZT and FLT. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 4444-4452.

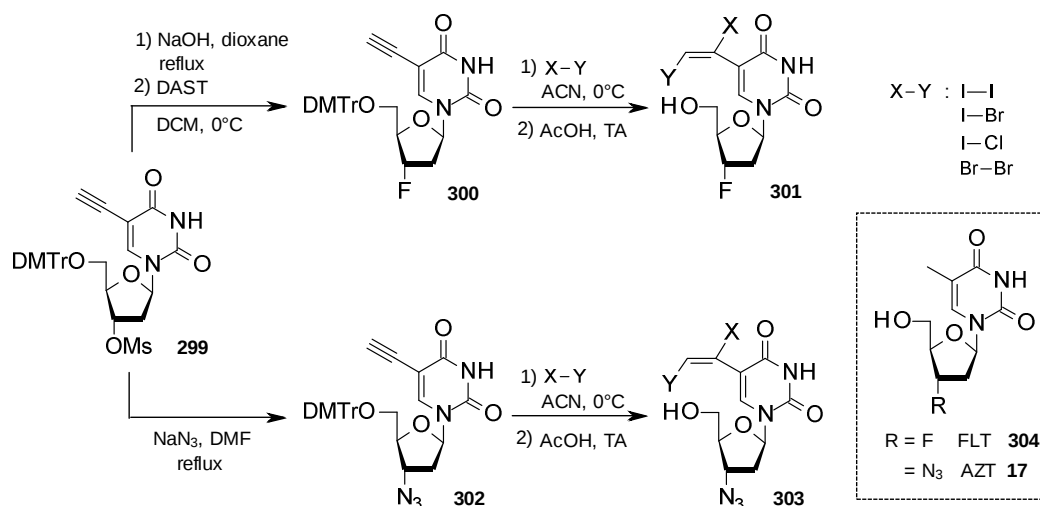


Schéma 62. Analogues dihalovinyles du FLT et de l'AZT.¹⁸¹

Plus récemment, le laboratoire a reporté la synthèse et l'évaluation antivirale d'analogues C⁵-modifiés de 2'-déoxyuridine portant un triazole substitué par différents aromatiques (Schéma 63).¹⁸² Ces analogues ont été synthétisés par réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen ("click") entre le nucléoside C⁵-éthynyle **299** et divers azotures d'aryles. Les régioisomères 1,4 (**305**, 60-90 %) ont été obtenus par utilisation d'une catalyse au cuivre (CuAAC) tandis que la préparation des régioisomères 1,5 (**307**, 71-80 %) a nécessité l'utilisation du complexe ruthénique [Cp^{*}RuCl₂(PPh₃)₂] (RuAAC) développé par Sharpless *et al.*¹⁸³

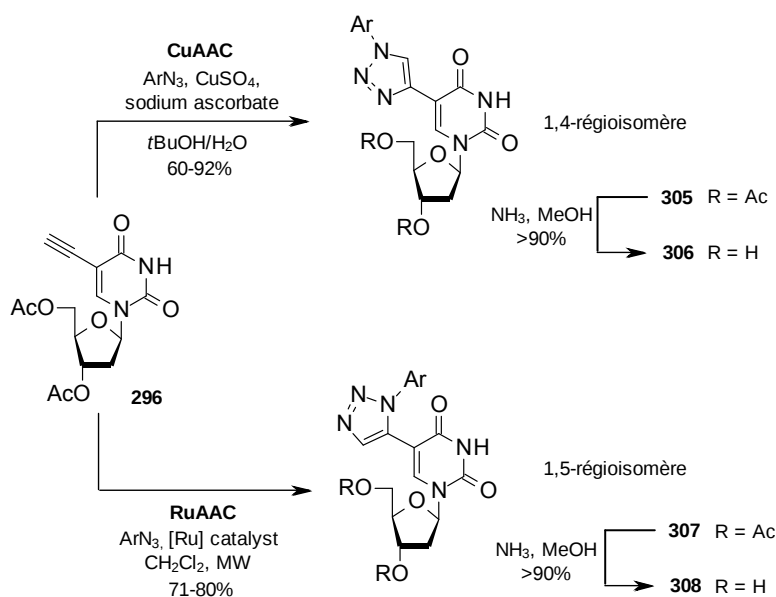


Schéma 63. Synthèse d'analogues C⁵-substitués par un triazole.¹⁸²

Les produits désirés **306** et **308**, obtenus par déprotection dans l'ammoniac méthanolique, ont été évalué pour leur activité antivirale. Certains des régioisomères 1,4 possèdent des activités à des concentrations μM intéressantes contre VV, mais une nouvelle fois avec une forte toxicité apportant aux composés un intérêt

¹⁸² Montagu, A.; Roy, V.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Agrofoglio, L. A. Synthesis of new C5-(1-substituted-1,2,3-triazol-4 or 5-yl)-2'-deoxyuridines and their antiviral evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 778-786.

¹⁸³ Zhang, Li.; Chen, X.; Xue, P.; Sun, H. H. Y.; Williams, I. D.; Sharpless, K.B.; Fokin, V. V.; Jia, G. Ruthenium-catalyzed cycloaddition of alkynes and organic azides. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 15998-15999.

potentiel en tant qu'antitumoral. En revanche les régioisomères 1,5 n'ont mis en évidence aucune activité remarquable contre les différents virus à ADN testés.

III. Notre objectif

Au regard des différentes études menées sur les dérivés pyrimidiques C⁵-modifiés, il apparaît que l'encombrement en C⁵ est bien toléré par les enzymes puisque les composés sont substrat des kinases et des polymérases. Dans ce contexte, les structures C⁵-éthynyles, qui présentent des propriétés biologiques particulièrement intéressantes, ont souvent inspiré la conception de nouveaux analogues C⁵-modifiés. C'est également celui-ci qui nous a amenés à nous intéresser à des structures substituées en C⁵ par un motif de type 1,3-diène (Figure 53). Très peu étudiés, les seuls analogues C⁵-(1,3-diène) reportés dans la littérature sont destinés à être incorporés aux oligonucléotides pour des études de fluorescence. La préparation de ces structures sera détaillée à la suite de ce chapitre. Par conséquent, à ce jour, aucun analogue de 2'-désoxyuridine portant une fonction C⁵-(1,3-diène) n'a été reporté pour son activité antivirale. Il a donc été envisagé de préparer une petite bibliothèque d'analogues C⁵-(1,3-diène) **309** substitués par différents groupements aryles et alkyles afin d'évaluer leur activité antivirale contre les virus à ADN.

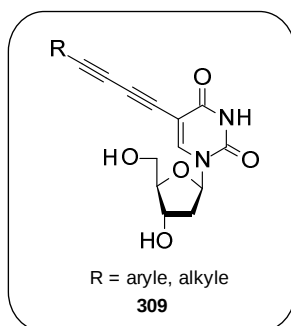


Figure 53. Structure cible portant un motif C⁵-(1,3-diène).

L'étape clé dans la préparation de ces dérivés repose sur un hétérocouplage acétylénique métallo-catalysé entre le nucléoside C⁵-éthynyle **296** et un second alcyne terminal (Schéma 64). Ce type de transformation s'inscrit parfaitement dans la tendance actuelle qui privilégie les synthèses respectant la notion d'économie d'atomes. Toutefois, la principale difficulté de cette réaction est liée au contrôle de la sélectivité en raison des réactions secondaires d'homocouplages qui peuvent fortement affecter le rendement. En effet cette réaction peut théoriquement former 3 produits : le produit d'hétérocouplage désiré **310** ainsi que les produits d'homocouplages **310** et **311**. Le choix des conditions à appliquer se fera donc après une étude approfondie des différentes méthodologies décrites dans la littérature.

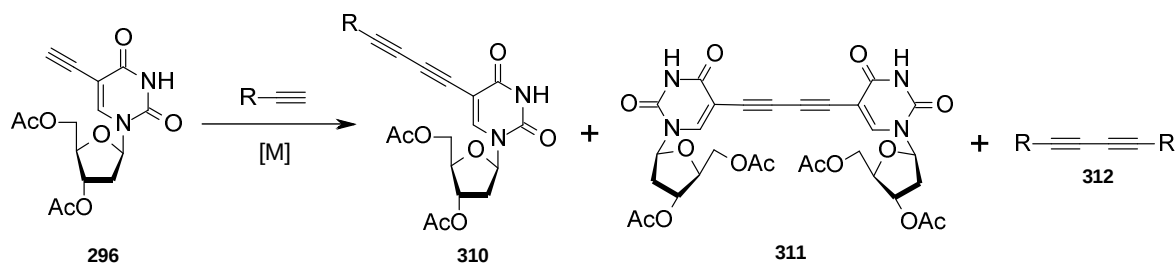


Schéma 64. Couplage acétylénique entre EdU et alcyne terminal.

IV. Les couplages acétyléniques de type 1,3-diène : homo- et hétérocouplages

Bien que les premiers exemples de couplage acétyléniques remontent au XIX^{ème} siècle, c'est au cours de ces dernières années qu'ils ont été particulièrement développés. Rigide et stériquement peu encombré, du fait de leur configuration linéaire, les motifs di- et oligoacétyléniques sont fréquemment rencontrés dans les produits naturels. Ils trouvent également de plus en plus d'applications comme élément structural clé dans la reconnaissance moléculaire par les récepteurs biologiques. Cet assemblage de systèmes π ultra-conjugué confère aux structures qui les portent des propriétés optiques et électroniques uniques. Le développement des couplages acétyléniques a longtemps été entravé par une faible compréhension des mécanismes mis en jeu. Les récents développements apportés dans ce domaine ont mené à une amélioration importante de la sélectivité et de la fiabilité aussi bien pour les homo- et que pour les hétérocouplages permettant leurs applications à des systèmes toujours plus complexes. Les différentes voies d'accès aux diynes par homo- et hétérocouplage sont résumées dans le schéma 65.

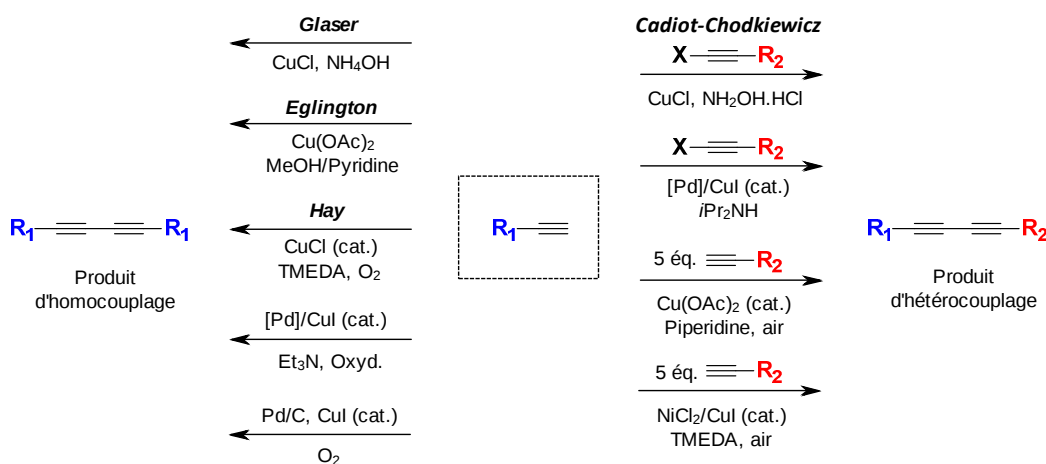


Schéma 65. Voies d'accès aux diynes par homo- et hétérocouplage (X = halogène).

1. Couplages acétyléniques catalysés au cuivre

▪ Couplage de Glaser

L'histoire des couplages acétyléniques commença plus précisément en 1869 par les travaux précurseurs de Carl Glaser.¹⁸⁴ Ce dernier reporta que l'exposition à l'air du phénylacétylide de cuivre(I) **314**, obtenu par addition du chlorure de cuivre sur le phénylacétylène **313** en milieu basique, causait la dimérisation oxydante du dérivé pour former le diphenyldiacétylène **315** (Schéma 66). Par la suite, cet outil de synthèse novateur a été largement validé sur divers autres composés organiques possédant des alcynes terminaux. Aujourd'hui, la réaction de Glaser est encore fréquemment utilisée dans les réactions d'homocouplages.

¹⁸⁴ Glaser, C. Beiträge zur Kenntniss des Acetenylbenzols. *Ber. Deut. Chem. Ges* **1869**, 2, 422–424.

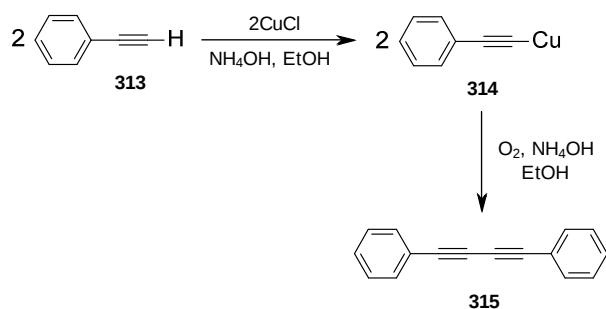


Schéma 66. Premier couplage acétylénique décrit par Glaser.

Le processus de dimérisation dépend donc de l'efficacité de la formation de l'acétylide de cuivre **317**. Ce dernier est obtenu par activation de la triple liaison sous la forme d'un complexe π avec le cuivre(I) tel qu'il a été postulé en 1964 par Bohlmann *et al.*¹⁸⁵ (Schéma 67). Cette activation permet alors la déprotonation du carbone éthyne qui est souvent réalisée par l'action d'une base aminée (Et_3N , NH_4OH , etc...) formant ainsi l'acétylide de cuivre. Il est ensuite supposé que ce complexe forme un dimère d'acétylide de cuivre (**c**) qui mène à la formation de la liaison C-C de l'homodimère **318** tel qu'illustré dans le schéma 67.

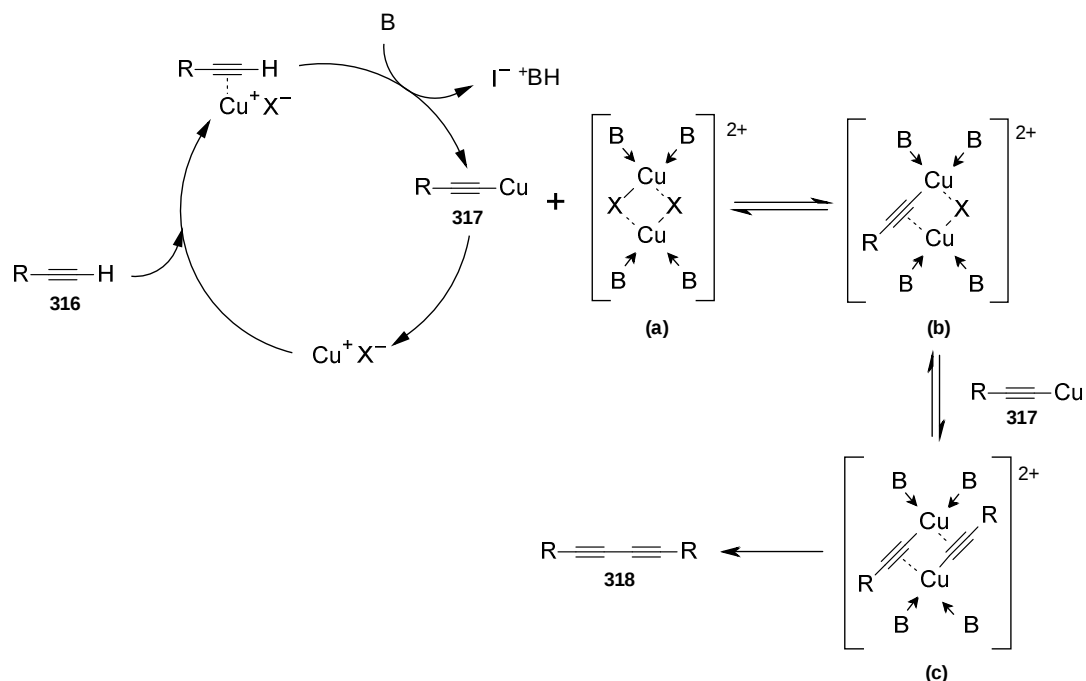


Schéma 67. Activation par π complexe et couplage via un dimère d'acétylide de cuivre.

Il paraît alors évident que l'acidité des acétylènes est directement liée à l'efficacité du processus de dimérisation. De plus, il est à noter que la complexation du cuivre est plus faible pour les substrats poly-conjugués dont le système π est fortement délocalisé, qui par conséquent, réagissent plus lentement lors des couplages.

¹⁸⁵ Bohlmann, F.; Schönowsky, H.; Inhoffen, E.; Grau, G., Polyacetylenverbindungen, LII. Über den Mechanismus der oxydativen Dimerisierung von Acetylenverbindungen. *Chem. Ber.* **1964**, 97, 794-800.

▪ Couplage de Eglinton

En 1956, Eglinton¹⁸⁶ reporta une procédure alternative pour le couplage oxydant des acétylènes terminaux utilisant des sels de cuivres (II) dans un mélange pyridine/méthanol. La découverte de cette méthode fut d'un grand intérêt notamment pour la préparation de nouveaux macrocycles insaturés.¹⁸⁷ À titre d'exemple, le schéma 68 décrit la synthèse de l'annulène **320** réalisé par Sondheimer *et al.* qui fait appel au couplage d'Eglinton par utilisation d'un excès d'acétate de cuivre(II) pour réaliser la fermeture de cycle avec des rendements variant de 20 % à 40 %.¹⁸⁸

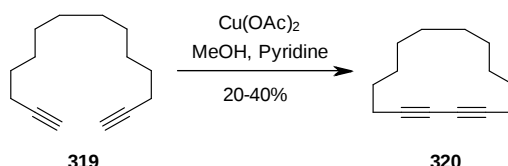


Schéma 68. Préparation de l'annulène **320** selon la procédure d'Eglinton.

▪ Couplage de Hay

Une autre modification importante a été reportée en 1962 par Hay, qui réalisa le couplage acétylénique oxydant sous O_2 en présence d'une quantité catalytique du ligand bidentate *N,N,N',N'*-tetraméthyléthylènediamine (TMEDA) et de chlorure de cuivre(I).¹⁸⁹ Le principal avantage apporté par cette méthode est la plus grande solubilité des espèces réactives, et plus particulièrement du complexe $CuCl \cdot TMEDA$, qui facilite grandement la réaction.

▪ Couplage de Cadiot et Chodkiewicz

Parallèlement au développement des réactions d'homocouplages, Cadiot et Chodkiewicz reportèrent en 1957 une procédure ouvrant la voie aux réactions d'hétérocouplages (Schéma 69).¹⁹⁰ La réaction consiste à faire réagir un alcyne vrai et un partenaire de type 1-haloacétylénique en présence d'une amine et d'une quantité catalytique de sels de cuivre(I). Ces conditions ont longtemps été utilisées comme mode opératoire de référence pour les réactions d'hétérocouplages.

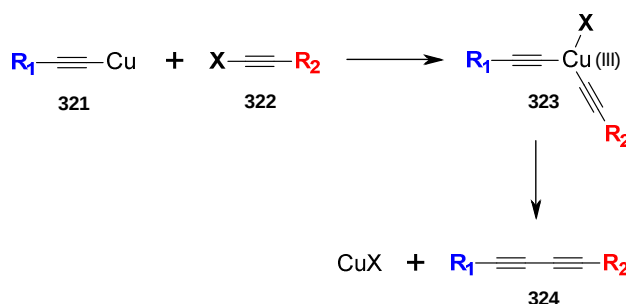


Schéma 69. Mécanisme de la réaction de Cadiot-Chodkiewicz.

¹⁸⁶ Eglinton, G.; Galbraith, A. R. 182. Macrocyclic acetylenic compounds. Part I. Cyclotetradeca-1,3-diyne and related compounds. *J. Chem. Soc.* **1959**, 889-896.

¹⁸⁷ Krebs, A. in *"Chemistry of Acetylenes"*, H. G. Viehe, Ed., Marcel Dekker, New York **1969**, 987-1062.

¹⁸⁸ Sondheimer, F. Recent advances in the chemistry of large-ring conjugated systems. *Pure Appl. Chem.* **1963**, 7, 363-388.

¹⁸⁹ Hay, A. S. Oxidative Coupling of Acetylenes. II. *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 3320-3321.

¹⁹⁰ (a) Chodkiewicz, W. *Ann. Chim. (Paris)* **1957**, 1, 819-869. (b) Cadiot, P.; Chodkiewicz, W. in *"Chemistry of Acetylenes"*, H. G. Viehe, Ed., Marcel Dekker, New York **1969**, 597.

Il existe très peu d'études mécanistiques pour les réactions d'hétérocouplages catalysées au cuivre telle que la réaction de Cadiot-Chodkiewicz. Ceci est principalement dû à la grande réactivité des haloalcynes **322** employés qui rendent toute étude cinétique particulièrement difficile. Toutefois, on suppose que le couplage passe d'abord par un acétylide de cuivre **321** qui est formé tel que décrit précédemment. L'addition oxydante de l'halogénure d'alcyne génère alors un intermédiaire Cu(III) **323**.^{190b} Enfin, une étape d'élimination réductrice donne le produit de couplage **324**.

2. Couplages acétyléniques pallado-catalysés en présence de cuivre

La découverte des couplages catalysés au palladium il y a maintenant plus de 40 ans a initié un développement sans précédent dans la chimie organométallique. Les premières observations réalisées lors des couplages pallado-catalysés entre alcynes terminaux et halogénures d'aryles ont permis de mettre en évidence la formation de diynes symétriques.

▪ Homocouplages acétyléniques pallado-catalysés

Rossi *et al.*¹⁹¹ et Kim *et al.*¹⁹² ont optimisé ce processus pour en faire une méthode très efficace d'homocouplage entre alcynes terminaux. Ainsi, la dimérisation de l'acétylpyrrole **325** a été réalisée avec 92 % de rendement en présence triéthylamine, d'un mélange [Pd(PPh₃)₄]/CuI comme catalyseur et de chloroacétone comme oxydant (Schéma 70a). Plus récemment, en 2007, Sajiki *et al.*¹⁹³ reportèrent la dimérisation oxydante sous O₂ d'alcynes terminaux via une catalyse dans des conditions plus "verte" au Pd/C et CuI. Le point fort de cette méthode réside dans le niveau charge catalytique de palladium extrêmement bas requis pour amorcer la réaction d'homocouplage. En effet, l'utilisation de seulement 0.01 mol% de Pd/C permet d'obtenir le diyne **328** avec 96 % de rendement (Schéma 70b). En conséquence, ces réactions d'homocouplages pallado-catalysés pourraient représenter d'excellentes alternatives à la réaction de Glaser.

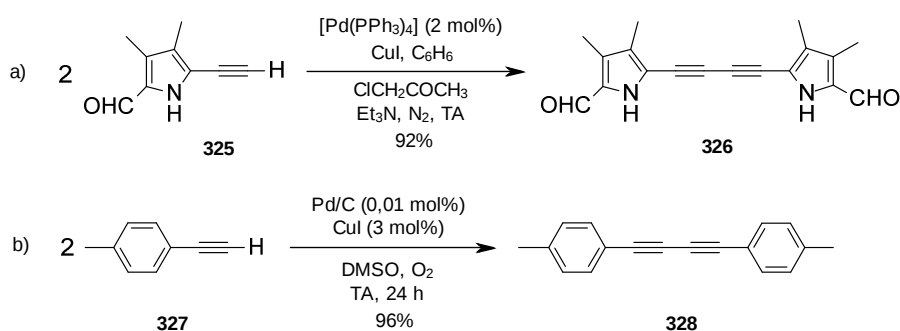


Schéma 70. Homocouplages acétyléniques catalysés au Pd.

¹⁹¹ Rossi, R.; Carpita, A.; Bigelli, C. A palladium-promoted route to 3-alkyl-4-(1-alkynyl)-hexa-1,5-dyn-3-enes and/or 1,3-diynes. *Tet. Lett.* **1985**, 26, 523-526.

¹⁹² Cho, D. H.; Lee, J. H.; Kim, B. H. An Improved Synthesis of 1,4-Bis(3,4-dimethyl-5-formyl-2-pyrryl)butadiyne and 1,2-Bis(3,4-dimethyl-5-formyl-2-pyrryl)ethyne. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 8048-8050.

¹⁹³ Kurita, T.; Abe, M.; Maegawa, T.; Monguchi, Y.; Sajiki, H. Ligand- and Base-Free Synthesis of 1,3-Diynes Catalyzed by Low Loading of Heterogeneous Pd/C and CuI. *Synlett* **2007**, 2521-2524.

Le cycle catalytique proposé pour la dimérisation oxydante pallado-catalysée réalisée utilisant I_2 comme oxydant est présentée dans le schéma 71.¹⁹⁴ Le mécanisme des réactions pallado-catalysées fait vraisemblablement intervenir une espèce intermédiaire de type dialcynylpalladium(II). La formation de cette espèce peut être réalisée soit par insertion oxydante directe du palladium sur l'alcyne, soit par substitution d'un ligand par un anion acétylide ou encore par transmétallation de l'acétylide de cuivre(I). Cependant, le très faible taux de conversion obtenu en absence de cuivre(I) suggère que l'activation de l'alcyne par le cuivre via formation d'un complexe π est nécessaire à l'amorçage du cycle catalytique. L'élimination réductrice de l'espèce intermédiaire *bis*(triphénylphosphine) dialcynylpalladium(II) génère ensuite du Pd(0) et le produit de couplage. Le diiode intervient pour régénérer le Pd(II) et renouveler le cycle catalytique.

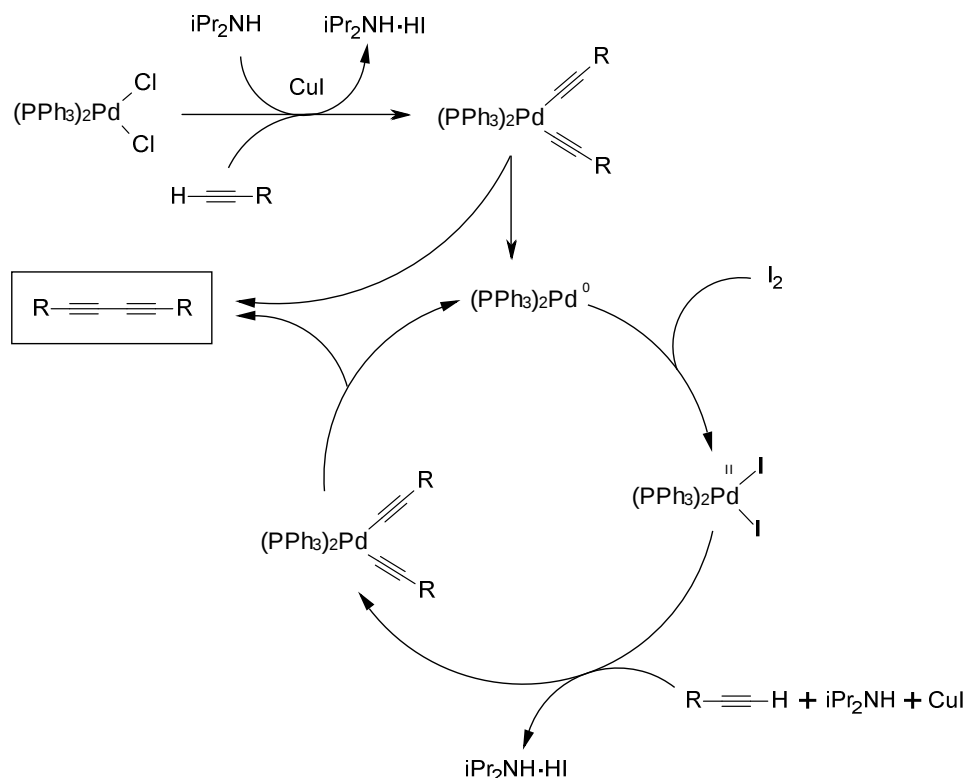


Schéma 71. Mécanisme du couplage acétylénique pallado-catalysé par Burton *et al.*²³³

▪ Hétérocouplage acétylénique pallado-catalysé

Il existe également quelques réactions pallado-catalysées permettant de réaliser l'hétérocouplage des alcynes terminaux. Le principe reprend souvent celui de la réaction Cadiot-Chodkiewicz, impliquant un alcyne terminal et un 1-haloalcyne, à laquelle on applique une catalyse au palladium. C'est en 1991 que Wityak *et al.*¹⁹⁵ reportèrent la première variante de la réaction d'hétérocouplage de Cadiot-Chodkiewicz catalysée par un mélange $[Pd(PPh_3)_2Cl_2]/CuI$. En utilisant ce système catalytique, les auteurs ont réalisé avec succès l'hétérocouplage du triméthylsilyl acétylène **329** et le 1-iodoéthynylbenzène **330** avec un rendement de 91 % (Schéma 72). La réaction d'homocouplage n'a pas été observée dans ces conditions, même lorsque le milieu réactionnel n'a pas été rigoureusement dégazé (pour enlever O_2).

¹⁹⁴ Liu, Q.; Burton, D. J. A facile synthesis of diynes. *Tet. Lett.* **1997**, *38*, 4371-4374.

¹⁹⁵ Wityak, J.; Chan, J. B. Synthesis of 1,3-Diynes Using Palladium-Copper Catalysis. *Synth. Comm.* **1991**, *21*, 977-979.

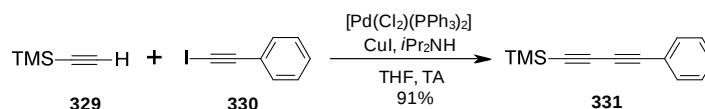


Schéma 72. Hétérocouplage acétylénique catalysé au Pd (Wityak *et al.*).¹⁹⁵

3. Couplage acétylénique catalysé au nickel en présence de cuivre

En 2009, Yin *et al.*¹⁹⁶ reportèrent l'hétérocouplage d'alcyne terminaux sous O₂ catalysé par un complexe de Ni(II). Utilisant initialement le protocole de Hay (CuI 5 mol%, TMEDA 10 mol%, O₂) pour réaliser la dimérisation du phénylacétylène **313**, les auteurs ont observé que l'addition de 5 mol% de NiCl₂·6H₂O permettait d'augmenter notablement le rendement d'homocouplage de 25 % à 93 % (Schéma 73a). Ce résultat semble indiquer que le NiCl₂·6H₂O et le CuI agissent en synergie durant le cycle catalytique pour améliorer le processus de couplage. La procédure a ensuite été appliquée à la réaction d'hétérocouplage entre le phénylacétylène **313** et le prop-2-ynyl acétate **332**. Afin de favoriser la formation de l'hétérodimère **333**, un des alcyne est utilisé avec un excès de 5 équivalents laissant la distribution des différents produits sous contrôle statistique (Schéma 73b). Suivant ces conditions, le produit **333** a été obtenu avec un rendement très satisfaisant de 86 %. Ce dernier est également accompagné des homodimères **315** et **334** avec respectivement 64 % et 5 % de rendement.

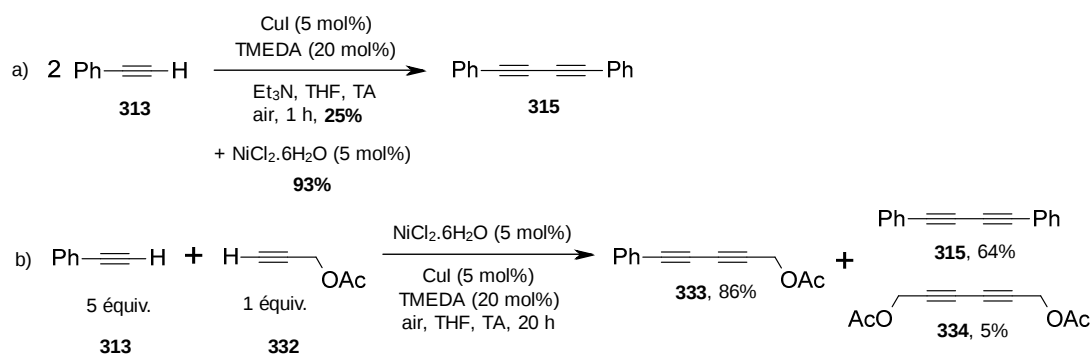


Schéma 73. Couplage acétylénique catalysé au Ni(0) selon Yin *et al.*¹⁹⁶

Plusieurs études ont montré que les complexes de Ni(0) pouvait être oxydé par O₂ de la même façon que le Pd ou le Pt. Dans de nombreux cas, le produit d'oxydation a été identifié comme étant l'espèce NiO₂.¹⁹⁷ Le mécanisme proposé pour ce couplage suggère que l'espèce NiO₂ réalise successivement deux transmétalements sur les acétylides de cuivre générant ainsi un complexe dialcynyl-Ni(II) (Schéma 74). Le produit de couplage est obtenu par élimination réductrice de la même façon que pour les réactions pallado-catalysées. Cette dernière étape régénère également le complexe Ni(0) qui est alors disponible à l'oxydation par O₂ pour un nouveau cycle catalytique.¹⁹⁸

¹⁹⁶ Yin, W.; He, C.; Chen, M.; Zhang, H.; Lei, A. Nickel-Catalyzed Oxidative Coupling Reactions of Two Different Terminal Alkynes Using O₂ as the Oxidant at Room Temperature: Facile Syntheses of Unsymmetric 1,3-Diynes. *Org. Lett.* **2008**, *11*, 709-712.

¹⁹⁷ (a) Lanci, M. P.; Brinkley, D. W.; Stone, K. L.; Smirnov, V. V.; Roth, J. P. Structures of Transition States in Metal-Mediated O₂-Activation Reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7273-7276. (b) Kieber-Emmons, M. T.; Riordan, C. G. Dioxygen Activation at Monovalent Nickel. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 618-625.

¹⁹⁸ Smith, E. H.; Whittall, J. Coupling of Alkynyllithiums to 1,3-Diynes by Reaction with Dichlorobis(triphenylphosphine)nickel(II) in the Presence of Triphenylphosphine and Guanidine or Amidine Bases. *Organometallics* **1994**, *13*, 5169-5172.

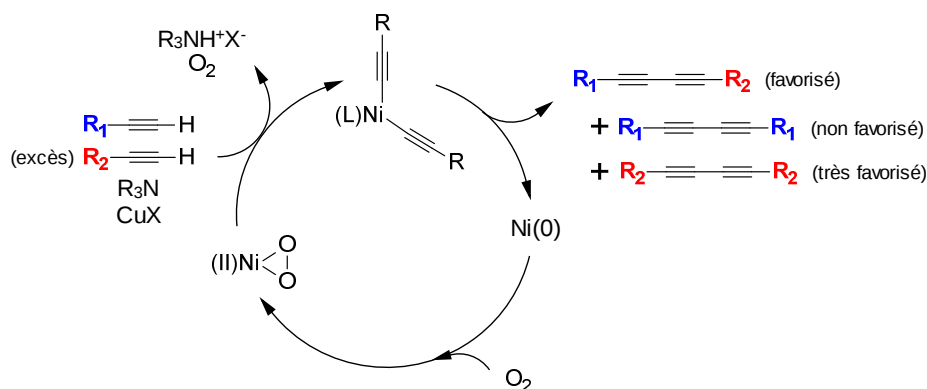


Schéma 74. Mécanisme du couplage catalysé au Ni(II).

La stratégie consistant à utiliser un des alcynes en excès pour favoriser l'hétérocouplage peut évidemment être appliquée aux couplages acétyléniques reportés jusqu'alors uniquement dans le cadre d'homocouplages. Ainsi, Balaraman *et al.*¹⁹⁹ ont réussi à réaliser des hétérocouplages dans les conditions de Hay en utilisant 5 équivalents pour l'un des alcynes.

V. Le motif 1,3-diyné dans la chimie des nucléosides

La littérature recense deux références reportant la synthèse d'analogues de nucléosides pyrimidiques portant un motif C^5 -(1,3-diyné). Ces derniers ont été reportés dans le cadre de la préparation de sondes fluorescentes nucléosidiques destinées à être incorporées aux oligonucléotides. C'est récemment, en 2003, que le premier exemple d'homocouplage du C^5 -éthynyle nucléoside **335** a été reporté par Minakawa *et al.* (Schéma 75).²⁰⁰ La réaction a été réalisée dans les conditions de Hay impliquant une catalyse au chlorure de cuivre sous O_2 en présence de TMEDA dans le DMF. L'homodimère **336** a été obtenu avec 78 % de rendement après 24 h. Il est à noter que la réaction est également réalisable dans un mélange 80 % ACN/ H_2O pour donner le produit de couplage avec 87 % de rendement avec cependant un temps de réaction de 48 h.

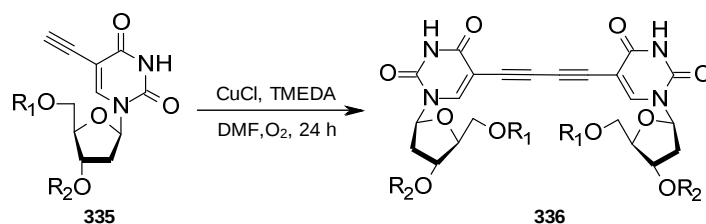


Schéma 75. Homocouplage du nucléoside C^5 -éthynyle dans les conditions de Hay

La procédure a ensuite été utilisée pour la mise en place d'une nouvelle méthode de dérivation d'oligonucléotides sur colonne. L'oligodéoxynucléotide (ODN) supporté **337** portant un EdU en position 5'-terminal est obtenu par une synthèse automatisée en utilisant une stratégie de type phosphoramidite. L'ODN greffé sur résine est ensuite placé dans une colonne à laquelle est ajoutée une solution du dérivé de

¹⁹⁹ Balaraman, K.; Kesavan, V. Efficient Copper(II) Acetate Catalyzed Homo- and Heterocoupling of Terminal Alkynes at Ambient Conditions. *Synthesis* **2010**, 3461-3466.

²⁰⁰ Minakawa, N.; Ono, Y.; Matsuda, A. A Versatile Modification of On-Column Oligodeoxynucleotides Using a Copper-Catalyzed Oxidative Acetylenic Coupling Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11545-11552.

fluorescéine et du complexe CuCl.TMEDA dans le DMF (Schéma 76). L'unité encadrée constitue le bras espaceur de la sonde fluorescente qui porte un alcyne très réactif permettant de limiter l'homocouplage de l'ODN. Ce mélange est agité sous atmosphère d'O₂ à 50 °C pendant 48 h pour donner le produit de couplage qui est ensuite libéré de la résine puis déprotégé pour obtenir le produit tagué **338** avec 83 % de rendement.

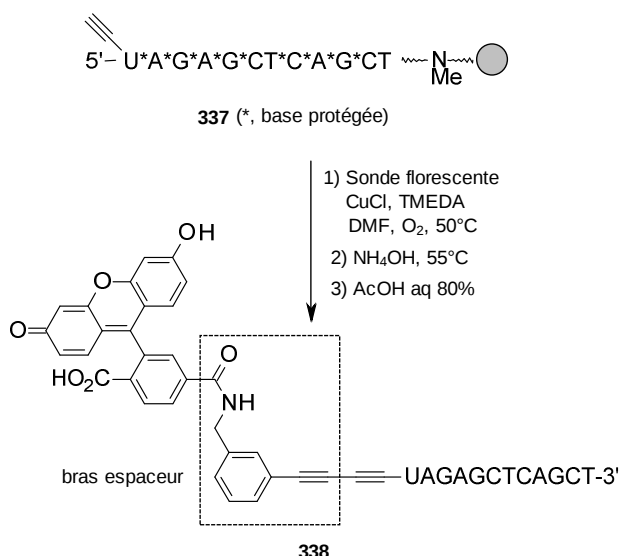


Schéma 76. Couplage acétylénique du dérivé de fluorescéine avec l'ODN **337**.

Brown *et al.*²⁰¹ ont choisi une méthode plus linéaire pour fonctionnaliser la position C⁵ de la 2'-déoxyuridine (2dU) avec une sonde fluorescente de type anthracène qui est portée par un motif 1,3-diène (Schéma 77). Dans un premier temps, l'alcyne **340** a été préparé en 2 étapes à partir du bromoanthracène commercial **339**. La réaction pallado-catalysée de **339** avec le *cis*-1,2-dichloroéthylène en présence de CuI et de *n*-butylamine permet d'obtenir le produit de couplage **341** avec 62 % de rendement.

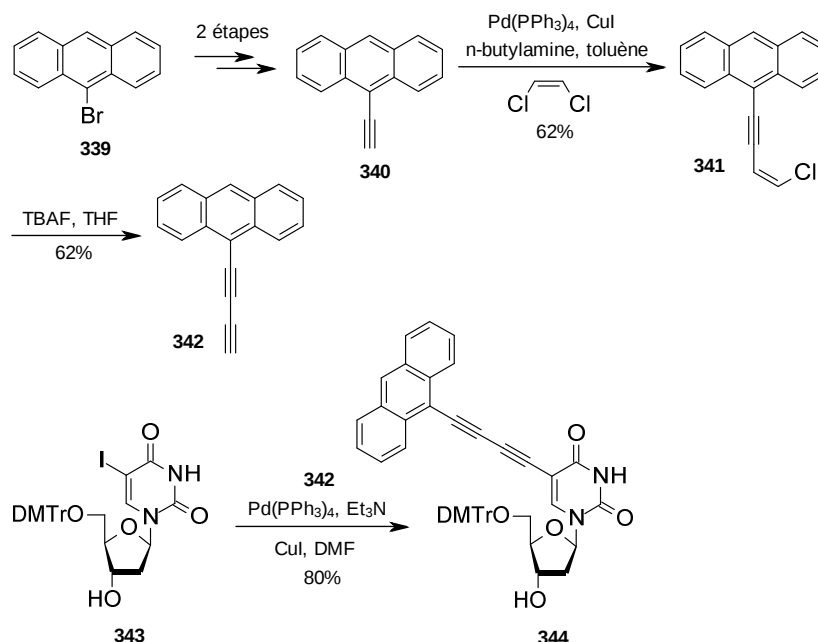


Schéma 77. Préparation de la sonde *bis*-éthynylantracène puis couplage avec la 2dU protégée.

²⁰¹ Xiao, Q.; Ranasinghe, R. T.; Tang, A. M. P.; Brown, T. Naphthalenyl- and anthracenyl-ethynyl dT analogues as base discriminating fluorescent nucleosides and intramolecular energy transfer donors in oligonucleotide probes. *Tetrahedron* **2007**, 63, 3483-3490.

Ce dernier est converti en *bis*-éthynylantracène **342** avec 62 % de rendement par traitement avec du fluorure de tétrabutylammonium dans le THF. Le *bis*-éthynylantracène **342** est ensuite couplé avec la 5-iodo-2'-déoxyuridine protégée **343** par une réaction de Sonogashira pour donner l'analogue C⁵-(1,3-diène) **344** avec un rendement de 80 %. Le passage par un couplage acétylénique aurait sans doute permis de réduire significativement le nombre d'étape de cette synthèse. Le produit tagué est ensuite soumis à la procédure standard de phosphitylation afin de préparer le monomère phosphoramidite correspondant. Celui-ci a été incorporé à un oligodéoxynucléotide par synthèse automatisé en phase solide afin de réaliser différentes études de luminescence, notamment, lors de la formation de duplex avec l'ADN.

VI. Notre travail : synthèse de dérivés C⁵-(1,3-diène)-2'-déoxyuridines

1. Préparation de l'intermédiaire C⁵-éthynyle

La première étape de notre synthèse consiste en la préparation du dérivé de 2'-déoxyuridine (2dU) **345** portant un alcyne vrai en position 5. Ce dernier servira ensuite d'intermédiaire clé pour les couplages acétyléniques. La synthèse de cet intermédiaire, précédemment reportée par notre laboratoire,¹⁸⁰ est initiée par une réaction de peracétylation des fonctions hydroxyles de la 2dU dans un mélange d'anhydride acétique et de pyridine dans l'acétonitrile, pour donner le dérivé **346** avec 96 % de rendement (Schéma 78).¹⁸⁰ L'introduction de la fonction éthynyle nécessite ensuite l'iodation de la position 5. Les dérivés de 5-iodouridines étant des intermédiaires particulièrement importants dans la synthèse d'analogues de nucléosides, différentes méthodologies ont été reportées pour leur préparation. Toutefois, l'ensemble des méthodes nécessite une source d'ion iodonium (I⁺). Celui-ci peut être obtenu à partir de diiode (I₂),²⁰² de chlorure d'iode (ICl),²⁰³ mais aussi de *N*-iodosuccinimide (NIS).²⁰⁴

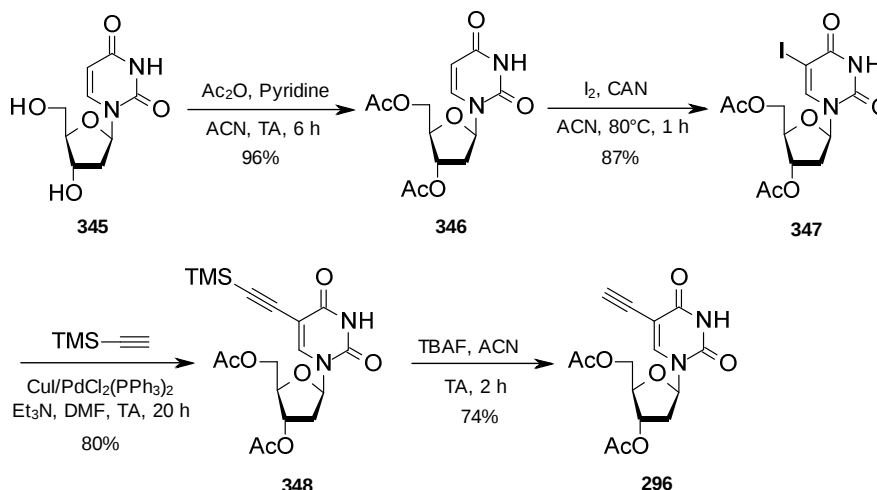


Schéma 78. Préparation de l'intermédiaire C⁵-éthynyle.¹⁸⁰

²⁰² Jessel, S.; Hense, E.; Meier, C. Cyclopentane-nucleobase coupling in the synthesis of carbocyclic L-nucleosides : is a S_N2 reaction an alternative to the Mistunobu reaction. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* **2007**, 26, 1181-1184.

²⁰³ Rai, D.; Johar, M.; Srivastav, N. C.; Manning, T.; Agrawal, B.; Kunimoto, D. Y.; Kumar, R. Inhibition of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, and *Mycobacterium avium* by novel dideoxy nucleosides. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 4766-4774.

²⁰⁴ Kumar, V.; Yap, J.; Muroyama, A.; Malhotra, S. V. Highly efficient method for C-5 halogenation of pyrimidine based nucleosides in ionic liquids. *Synthesis* **2009**, 23, 3957-3962.

Compte tenu des paramètres tels que la toxicité et la stabilité, le diiode a été choisi pour l'étape d'iodation. Cette réaction peut être effectuée par utilisation de I_2 seul,²⁰² en présence d'acide nitrique²⁰⁵ ou encore par l'intermédiaire de sels de cérium tel que le CAN $[(NH_4)_2Ce(NO_3)_6]$.²⁰⁶ Les réactions d'iodations réalisées en présence de nitrate de cérium et d'ammonium présentent plusieurs avantages comparés aux autres méthodes reportées. En effet, les conditions sont plus douces avec des temps de réaction relativement courts. Finalement, l'étape d'iodation, réalisée par traitement du dérivé **346** avec I_2 en présence de CAN dans l'acétonitrile à reflux pendant 1 h, a donné le produit iodé **347** avec 87 % de rendement.

Le mécanisme de cette réaction implique d'abord une réaction d'oxydo-réduction qui permet de générer l'ion iodonium par oxydation du diiode par CAN (Schéma 79). Il est intéressant de noter que cette réaction génère deux équivalents d'ion I^+ . Par conséquent, la réaction nécessite seulement 0.5 équivalent de I_2 . Enfin, l'iodation de la base pyrimidique se fait par attaque nucléophile de la position 5 par assistance du doublet de l'azote N_1 .

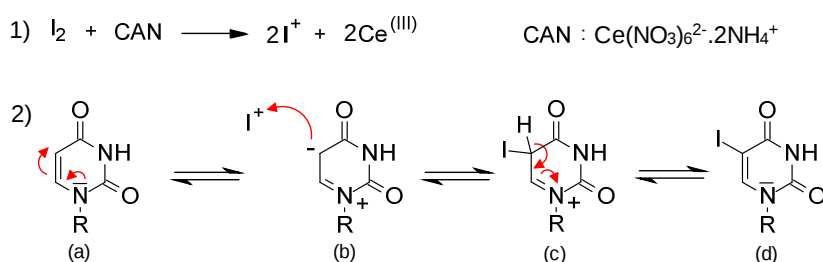


Schéma 79. Mécanisme de la réaction d'iodation en présence de I_2 /CAN.

L'introduction de la fonction éthyne en C^5 a été accomplie par réaction pallado-catalysée selon les conditions reportées par Sonogashira.^{180,207} Ainsi, le couplage du dérivé de 5-iodouridine **347** avec le triméthylsilylacétylène a été réalisé en présence de $PdCl_2(PPh_3)_2$, de Et_3N et de CuI (co-catalyseur) dans le DMF à température ambiante (Schéma 80). Bien que le produit de couplage **348** soit obtenu avec un bon rendement de 80 %, la réaction donne aussi lieu à la formation de sous-produit tel que le bicyclic furanopyrimidine **349** avec des rendements souvent inférieurs à 10 %. Toutefois, le choix du DMF comme solvant pour cette réaction permet de réduire significativement la formation de ce sous-produit.²⁰⁸

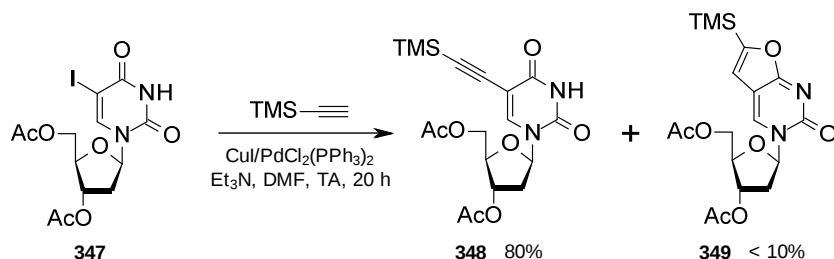


Schéma 80. Couplage de Sonogashira en vue d'introduire la fonction éthyne.

Comme précisé dans l'introduction, la formation du dérivé furanopyrimidine est toujours observée lorsque les réactions de Sonogashira sont réalisées sur les bases pyrimidiques dont l'azote N^3 est libre. La formation

²⁰⁵ Choi, M. H.; Lee, C. K.; Kim, H. D. Design and synthesis of 3'-fluoropenciclovir analogues as antiviral agents. *Arch. Pharm. Res.* **2010**, *33*, 197-202.

²⁰⁶ (a) Asakura, J.; Robins, M. J. Cerium (IV) catalyzed iodination at C^5 of uracil nucleosides. *Tet. Lett.* **1988**, *29*, 2855-2858. (b) Asakura, J.; Robins, M. J. Cerium(IV)-mediated halogenations at C-5 of uracil derivatives. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4928-4933.

²⁰⁷ Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. A convenient synthesis of acetylenes: catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes and bromopyridines. *Tet. Lett.* **1975**, *16*, 4467-4470.

²⁰⁸ Robins, M. J.; Vinayak, R. S.; Wood, S. G. Solvent, not palladium oxidation state, is the primary determinant for successful coupling of terminal alkynes with iodo-nucleosides. *Tet. Lett.* **1990**, *31*, 3731-3734.

de ce sous-produit est due à la complexation du cuivre(I) sur la triple liaison qui rend cette dernière plus électrophile (Schéma 81). Ainsi, c'est l'attaque nucléophile de l'oxygène en C⁴, amorcé par la déprotonation de l'azote N³, qui permet à la cyclisation de se faire. Cette réaction de cyclisation, relativement lente, donne de meilleurs résultats lorsqu'elle est menée au reflux du méthanol en présence de CuI et de triéthylamine.²⁰⁹ Une procédure alternative impliquant une catalyse au nitrate d'argent a également été développée par notre laboratoire.²¹⁰

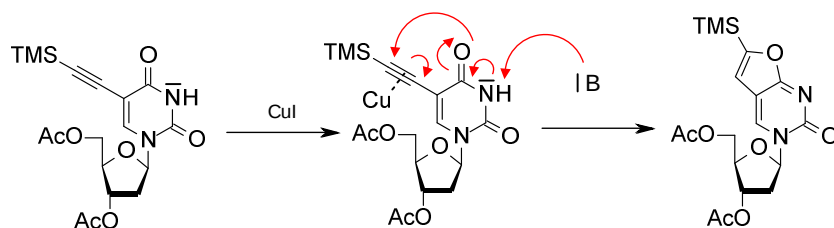


Schéma 81. Mécanisme de la formation de la furanopyrimidine.

Enfin, le nucléoside C⁵-éthynyle **296** est obtenu par déprotection du groupement triméthylsilyle par traitement avec du fluorure de tétrabutylammonium dans l'acétonitrile avec un rendement de 74 %.

2. Synthèse des analogues C⁵-(1,3-diynes) par hétérocouplage acétylénique

Une fois cet intermédiaire clé obtenu, nous nous sommes intéressés à l'étape de couplage acétylénique afin de préparer les structures C⁵-(1,3-diynes) désirées. Parmi les nombreuses méthodes qui ont été présentées dans le chapitre précédent, ce sont les réactions catalysées au palladium qui ont retenu notre attention. Plus particulièrement, notre choix initial s'est porté sur la réaction développée par Sajiki *et al.*¹⁹³ nécessitant une charge catalytique en palladium relativement faible. Bien que cette réaction ait été reportée pour les réactions d'homocouplages, nous avons tenté de l'appliquer à la préparation de diynes non symétriques. Ainsi, le couplage entre le nucléoside C⁵-éthynyle **296** et le phénylacétylène **313** en présence de Pd/C et de CuI sous O₂ (ballon) est choisi comme réaction modèle pour l'optimisation des conditions (Tableau 15). Afin de favoriser le processus d'hétérocouplage, la réaction est conduite avec un excès de l'alcyne le plus réactif qui en l'occurrence est le phénylacétylène. La première tentative de couplage a été réalisée à température ambiante dans le DMF en présence de 2.5 mol% de Pd/C et 15 mol% de CuI avec 4 équivalents de phénylacétylène.

Entrée 1 et 2 : Malheureusement, la réaction s'est avérée extrêmement lente puisqu'une quantité non négligeable de produits de départ restait non consommée après 3 jours d'agitation. Le produit désiré a tout de même été isolé avec 48 % de rendement (Entrée 1). La faible conversion obtenue peut être attribuée à la réaction d'homocouplage irréversible du phénylacétylène qui cause une réduction significative du réactif dans le milieu réactionnel. Cependant, l'augmentation de la quantité de phénylacétylène à 8 équivalents n'a pas permis d'améliorer le taux de conversion de façon significative, même lorsque le temps de réaction est

²⁰⁹ Robins, M. J.; Barr, P. J. Nucleic acid related compounds. 39. Efficient conversion of 5-iodo to 5-alkynyl and derived 5-substituted uracil bases and nucleosides. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 1854-1862.

²¹⁰ Aucagne, V.; Amblard, F.; Agrofoglio, L.A., Highly efficient AgNO₃-Catalysed Preparation of substituted furanopyrimidine nucleosides. *Synlett* **2004**, 2406.

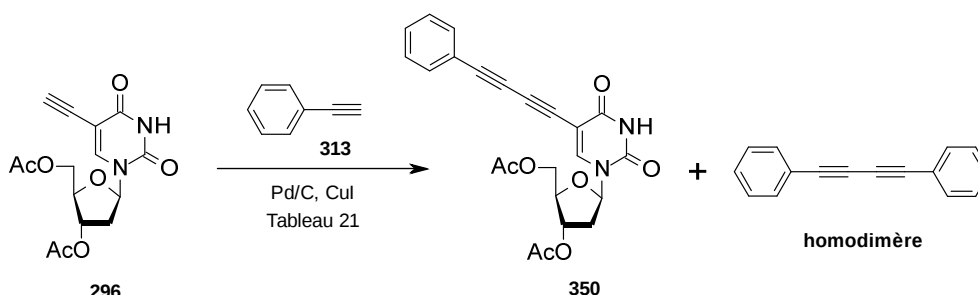
prolongé à 4 jours (Entrée 2). Il est à noter que, dans ces conditions, la formation de l'homodimère nucléosidique n'a pas été observée.

Entrée 3, 4 et 5 : L'utilisation du DMSO comme solvant ne semble pas non plus présenter d'avantage puisque le produit est isolé avec un rendement assez proche de 43 % après 6 jours (Entrée 3). Afin de réduire les temps de réaction qui sont extrêmement longs, la réaction a été conduite à 100 °C dans le DMF (Entrée 4). Le produit a alors été isolé avec 42 % après seulement 1h30. Toutefois, un début de dégradation a été observé dans ces conditions. Cette observation s'est confirmée lorsque le temps de chauffage a été augmenté à 5 h avec une dégradation totale du nucléoside (Entrée 5).

Entrée 6 : Lorsque la réaction a été réalisée sous irradiation micro-onde à 100 °C pendant 2 h, le produit a été isolé avec 48 % de rendement (Entrée 6). Le résultat étant assez proche de celui obtenu en chauffage classique, l'utilisation des micro-ondes ne semble pas avoir d'intérêt pour cette réaction.

Finalement, les conditions de l'Entrée 4 avec un temps de chauffage maximal de 2 h ont été choisies pour la préparation des différents analogues. Malheureusement, bien que le couplage acétylénique pallado-catalysé a été appliqué avec succès sur un alcyne simple tel que le phénylacétylène, le protocole s'est avéré nettement moins efficaces pour les alcynes non aromatiques ou les structures substituées par une fonction amine ou hydroxyle. Cette limitation réduisant fortement le champ d'application de la réaction, des conditions alternatives ont été choisies.

Tableau 15. Optimisation de l'hétérocouplage catalysé au Pd/C et CuI.

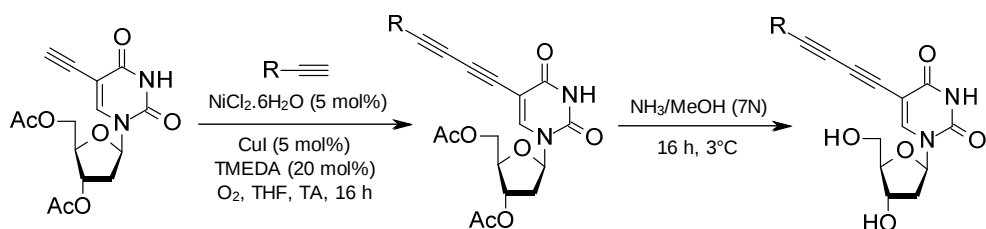


Entrée	Durée	Conditions	Rendement du produit 350
1	3 jours	Pd/C, CuI, DMF, O ₂ , TA, phénylacétylène (4 équiv.)	48 % + 296 + homodimère
2	4 jours	Pd/C, CuI, DMF, O ₂ , TA, phénylacétylène (8 équiv.)	50 % + 296 + homodimère
3	6 jours	Pd/C, CuI, <u>DMSO</u> , O ₂ , TA, phénylacétylène (4 équiv.)	43 % + 296 + homodimère
4	1 h 30	Pd/C, CuI, DMF, O ₂ , <u>100 °C</u> , phénylacétylène (4 équiv.)	42 % + 296 + homodimère + dégradation
5	5 h	Pd/C, CuI, DMF, O ₂ , <u>100 °C</u> , phénylacétylène (4 équiv.)	Dégradation
6	2 h	Pd/C, CuI, DMF, O ₂ , <u>MO</u> , 100 °C, phénylacétylène (4 équiv.)	48 % + 296 + homodimère + dégradation

Notre second choix s'est alors porté sur la réaction d'hétérocouplage acétylénique reporté par Yin *et al.*¹⁹⁶ Ce couplage, catalysé par un complexe de nickel(II) et d'iodure de cuivre, a déjà été appliqué avec succès aux alcynes non aromatiques et semble particulièrement tolérant vis-à-vis des groupements fonctionnels.

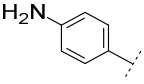
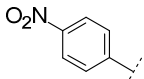
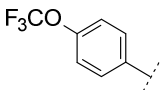
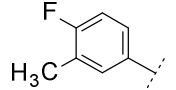
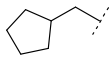
Par conséquent, les conditions de Yin *et al.* ont été appliquées à notre système sans optimisation complémentaire. Ainsi, le couplage de **296** avec le phénylacétylène a été réalisé en présence de NiCl₂.6H₂O (5 mol%), CuI (5 mol%) et TMEDA (20 mol%) dans le THF à température ambiante sous atmosphère d'oxygène (Tableau 16). Après 16 h, le produit d'hétérocouplage a été isolé avec un rendement de 53 %. De plus, le profil CCM associé à cette réaction s'est révélé nettement plus propre que celui des réactions pallado-catalysées facilitant grandement les purifications. Le couplage a ensuite été étendu avec succès à des alcynes aromatiques substitués par divers groupements, mais également à des alcynes non aromatiques. Dans l'ensemble, les produits **350-363** ont été obtenus avec des rendements assez modestes variant de 22 % à 58 % selon les alcynes utilisés. En effet, l'efficacité du processus de couplage dépend directement de l'acidité du proton éthyne. À ce titre, les meilleurs rendements ont été obtenus avec les alcynes aromatiques *para*-substitués par des groupements électro-attracteurs de type nitro ou trifluorométhoxy (Entrée 8 et 9). À l'opposé, les alcynes portant des aromatiques *meta*- et *para*-substitués par des groupements donneurs de type alkyle ou amino ont donné les produits correspondant avec des rendements relativement faibles (Entrée 2, 3 et 7). Enfin les produits finaux **364-377** ont été obtenus par déprotection dans l'ammoniac méthanolique.

Tableau 16. Hétérocouplage acétylénique catalysé au NiCl₂.6H₂O/CuI et déprotection.²¹¹



Entrée	R	Couplage diyne		Déprotection	
		Produit	Rendement	Produit	Rendement
1		350	53 %	364	68 %
2		351	32 %	365	66 %
3		352	31 %	366	71 %
4		353	53 %	367	73 %
5		354	39 %	368	73 %
6		355	45 %	369	65 %

²¹¹ Sari, O.; Roy, V.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Agrofoglio, L. A. Synthesis and antiviral evaluation of C5-substituted-(1,3-diyne)-2'-deoxyuridines. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 53, 220-228.

7		356	36 %	370	72 %
8		357	50 %	371	54 %
9		358	58 %	372	71 %
10		359	56 %	373	62 %
11		360	30 %	374	65 %
12		361	55 %	375	52 %
13		362	20 %	376	62 %
14		363	54 %	377	43 %

La formation du cycle furanopyrimidine **378** n'a pas été observée dans les différentes conditions utilisées pour le couplage acétylénique. Toutefois, sa formation a pu être observée à l'état de traces sur CCM sous la forme d'une tache fluorescente après plusieurs jours, suivant les protocoles au CuI ou AgNO₃ tel que décrit précédemment (Schéma 82). La cyclisation sur le système 1,3-diène est donc nettement moins favorisée dans ce cas. Ceci peut être attribué à la stabilité de la structure électronique hyper-conjuguée des diynes.

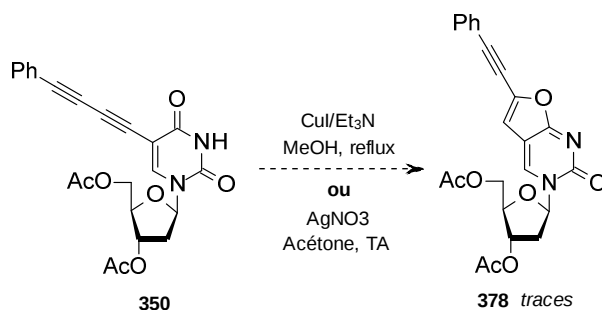


Schéma 82. Tentative de cyclisation avec les dérivés 1,3-diynes.

3. Évaluation antivirale

Les composés **364-377** ont été testés sur une grande variété de virus tels que VZV, CMV, VV, HSV-1, HSV-2, H1N1, H3N2, reovirus-1, Sindbis virus, Punta Toro virus, Vesicular stomatitis (VSV), Coxsackie B4, etc... Toutefois, seuls les résultats obtenus contre les virus VZV TK⁺ (YS et OKA et TK⁻ (07/1) et CMV (AD-169 et Davis) sont présentés dans le Tableau 17.

Parmi les composés synthétisés, certains ont montré des EC₅₀ particulièrement intéressants contre VZV TK⁺ dont notamment les dérivés **365** ($3.7 \pm 1.8 \mu\text{M}$), **372** ($0.9 \pm 0.2 \mu\text{M}$) et **375** ($2.1 \pm 0.8 \mu\text{M}$). Les activités obtenues sont similaires et parfois légèrement supérieures à celles de l'acyclovir. Cependant, les composés de cette série sont nettement moins actifs que la Brivudine contre VZV TK⁺ (YS et OKA). D'autre part, les

composés **365** et **366** ont révélé des activités supérieures aux références contre VZV TK⁻ (07/1) avec respectivement 14 μ M et 9.5 μ M. L'évaluation de la cytotoxicité a montré que les structures de cette série n'affectent pas la morphologie cellulaire (MCC > 100 μ M) tandis que les valeurs de CC₅₀ sont généralement supérieures à 50 μ M.

Tableau 17. Résultats de l'évaluation antivirale contre VZV et CMV.

Entrée	Composé	EC ₅₀ (μ M) ^a			EC ₅₀ (μ M) ^a		MCC ^b (μ M)	CC ₅₀ ^c (μ M)
		VZV (YS)	VZV (OKA)	TK- VZV (07/1)	CMV (AD-169)	CMV (Davis)		
1	364	> 20	> 20	> 20	> 20	> 20	> 100	> 100
2	365	2.77	3.7 $\pm$ 1.8	14 $\pm$ 0.3	> 20	> 20	> 100	52 $\pm$ 9.1
3	366	6.44	8.8 $\pm$ 0.1	9.5 $\pm$ 0.2	> 20	> 20	> 100	35 $\pm$ 6.1
4	367	38.07	39 $\pm$ 1.0	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
5	368	2.06	5.1 $\pm$ 1.5	20	49	> 4	> 20	1.5 $\pm$ 1.0
6	369	-	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
7	370	-	>100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
8	371	-	> 20	> 20	> 20	> 20	> 100	89
9	372	1.08	0.9 $\pm$ 0.2	> 4	> 20	> 20	> 100	55 $\pm$ 1.1
10	373	9.13	14 $\pm$ 3.7	> 20	> 20	> 20	> 100	45 $\pm$ 11
11	374	12.71	20 $\pm$ 5.3	> 100	> 100	> 100	> 100	9.5 $\pm$ 6.6
12	375	6.24	2.1 $\pm$ 0.8	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
13	376	33.74	42 $\pm$ 5.7	> 100	> 100	> 100	> 100	89 $\pm$ 15
14	377	-	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
15	Acyclovir	2.18	2.5 $\pm$ 0.3	92 $\pm$ 70	-	-	> 300	470 $\pm$ 490
16	Ganciclovir	-	-	-	7.5 $\pm$ 2.3	7.1 $\pm$ 0	> 350	130 $\pm$ 86
17	Brivudine	0.0075	0.0087	74	-	-	> 150	> 100
18	Cidofovir	-	-	-	1.0 $\pm$ 0.4	1.1 $\pm$ 0	> 350	64 $\pm$ 16

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

^b Concentration cytotoxique minimum qui cause une altération morphologique des cellules visible au microscope

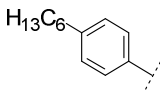
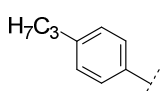
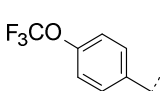
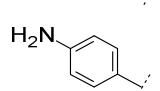
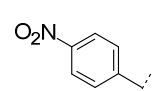
^c Concentration cytotoxique requise pour réduire de 50% la croissance des cellules.

Au vu des résultats de l'évaluation antivirale, il semblerait que le caractère hydrophobe des structures portant un aromatique semble particulièrement important pour l'activité des molécules. En effet, le calcul du log(P) met en évidence que les composés les plus actifs **366**, **365** et **372** possèdent les log(P) les plus élevés (Tableau 18). Inversement les structures aryles les moins actives **370** et **371** possèdent un caractère hydrophobe plus faible.

Cependant, la substitution du noyau aromatique en faveur d'un motif alkyle inverse la tendance. En effet, la présence d'un groupement hydrophile pouvant créer des liaisons hydrogène tel que la fonction hydroxyle de **373** et **374** semble plus favorable pour l'activité antivirale. En effet, la substitution par des motifs très hydrophobes tels qu'un cyclopentyle **376** ou un cyclopropyle **377** mène à des composés peu actifs.

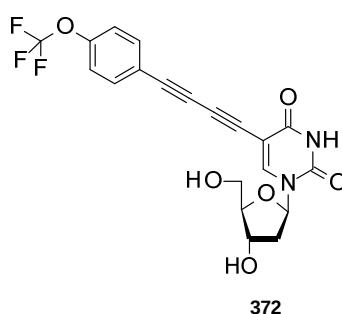
Pour finir, il semble assez surprenant que les composés **365** et **366** possédant un groupement aromatique *para*-substitué par une chaîne alkyle ne présentent pas une meilleure activité anti-VZV, comparé aux activités nM des analogues bicycles furanopyrimidine de McGuigan.

Tableau 18. Calcul du log(P) pour les structures les plus et moins actives

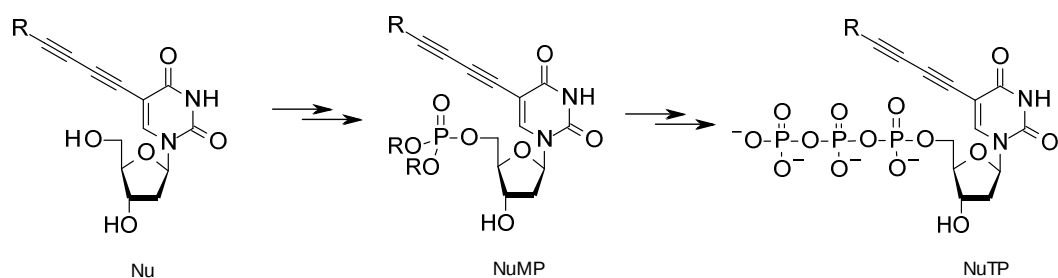
Composé	R	EC ₅₀ (μM) VZV (OKA)	log(P)
366		0.9-1.08	3.70
365		3.7 ± 1.8	2.37
372		2.1-6.2	2.39
370		>100	0.9
371		>20	0.13

VII. Conclusion et perspectives

Au cours de ce projet, une petite bibliothèque de 14 analogues nucléosidiques C⁵-substitués par un motif 1,3-diyné ont été synthétisés. Ces composés ont été obtenus par couplage croisé entre deux alcynes vrais, avec d'un côté, un dérivé de la 2'-déoxyuridine C⁵-éthynyle, et de l'autre, divers alcynes commerciaux aromatiques ou alkyle. Initialement, les conditions opératoires ont été optimisées avec une catalyse au Cu-Pd/C. Toutefois, cette réaction a montré plusieurs limitations notamment au niveau du temps de réaction et de la tolérance aux groupements fonctionnels. L'utilisation d'une catalyse au Cu-Ni a finalement permis la préparation des dérivés aromatiques, alkyles et fonctionnalisés par des fonctions polaires de type hydroxyles et amines. Les composés désirés ont été obtenus avec des rendements assez modestes variant de 22 % à 58 % selon la réactivité des alcynes utilisés.



Les composés synthétisés ont été évalués pour leurs activités antivirales contre plusieurs virus à ADN. Certains composés ont montré des activités antivirales intéressantes de l'ordre du μM contre VZV. Ainsi, le dérivé **372** possédant un EC₅₀ de 0.9 μM (VZV, OKA) et un CC₅₀ de 55 μM représente le composé le plus actif de cette série. Les activités observées indiquent que les composés sont capables de pénétrer dans la cellule. De plus, le caractère hydrophobe des structures semble être directement lié à l'activité biologique observée.



Enfin, il pourrait être intéressant de tester les formes phosphorylées de ces structures afin de mieux comprendre le mécanisme d'action biologique ou antivirale de ces analogues de nucléosides. Plus particulièrement, l'intermédiaire monophosphate serait utile pour l'étude de la phosphorylation par les NMPKs tandis que la forme triphosphate servirait à étudier les interactions avec les polymérases virales et cellulaires.

PARTIE B

Introduction :

Intégrase du VIH et inhibiteurs

I. L'intégrase du VIH

Le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH), rétrovirus de la famille des *lentivirus*, est responsable du syndrome de l'immunodéficience acquise, qui est un état affaibli du système immunitaire. Le génome du VIH contenu dans chacune des capsides virales est constitué de deux exemplaires de brin d'ARN accompagnés de 3 enzymes qui sont nécessaires à sa réplication : la transcriptase inverse, la protéase ainsi que l'intégrase.

En 1996, l'arrivée des traitements antirétroviraux (ARV) et des trithérapies HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy), a marqué un tournant dans la lutte contre le VIH. Les premiers ARV approuvés par la FDA ciblent principalement l'inhibition de 2 étapes clés du cycle de réplication du VIH : la rétrotranscription et la maturation protéolytique. Les traitements sont alors constitués d'un inhibiteur de la protéase (PI), ou d'un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (NNRTI), associé à deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (NRTI).²¹² Toutefois, bien que très efficace, la mise en place de l'HAART est relativement onéreuse et peut s'avérer inefficace pour les patients présentant des multirésistances. La recherche de nouvelles cibles thérapeutiques et de traitements possédant des mécanismes d'actions différents reste donc toujours d'actualité. Dans ce contexte, les inhibiteurs de l'intégrase font l'objet d'intenses recherches dans les compagnies pharmaceutiques.²¹³ Cette enzyme est une cible de choix, car étant spécifique des rétrovirus, elle ne possède aucun homologue cellulaire.²¹⁴ Elle a pour rôle de catalyser l'insertion de l'ADN viral, produit de la transcription inverse de l'ARN viral génomique, dans les chromosomes de la cellule hôte. Cette intégration est essentielle pour la génération des gènes proviraux qui permettront la production des futurs virions.

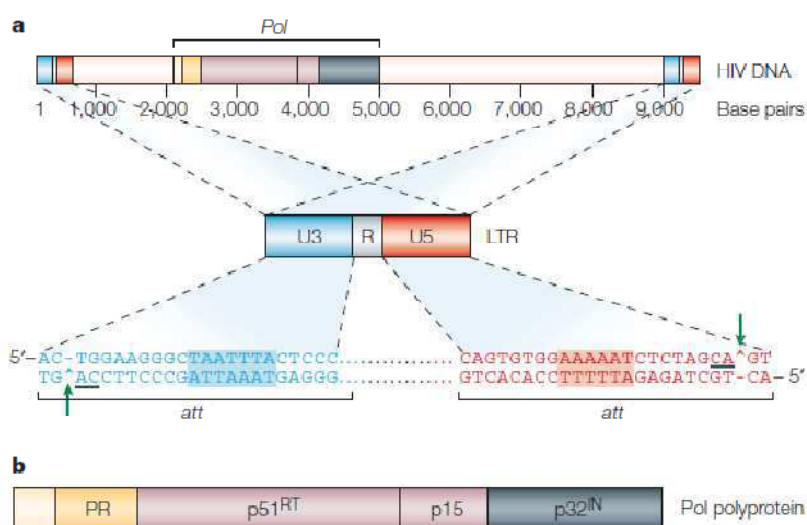


Figure 54. Structure de l'ADN viral du VIH contenant le gène *Pol*.²¹³

L'ADN viral du VIH présenté dans la figure 54 contient 3 unités clés : le gène *Pol* ainsi que deux unités LTRs (*Long Terminal Repeats*) qui sont composées de 3 éléments invariable U3-R-U5. Le gène *Pol* code pour le polypeptide précurseur des 3 enzymes virales précédemment citées : la protéase (PR), la transcriptase

²¹² Hammer, S. M.; Eron, J. J.; Reiss, P.; Schooley, R. T.; Thompson, M. A.; Walmsley, S.; Cahn, P.; Fischl, M. A.; Gatell, J. M.; Hirsch, M. S.; Jacobsen, D. M.; Montaner, J. S.; Richman, D. D.; Yeni, P. G.; Volberding, P. A. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society USA panel. *JAMA* **2008**, 300, 555-570.

²¹³ Pommier, Y.; Johnson, A. A.; Marchand, C. Integrase inhibitors to treat HIV/AIDS. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, 4, 236-248.

²¹⁴ De Clercq, E. New approaches towards anti-HIV chemotherapy. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 1297-1313.

inverse (RT) et l'intégrase (IN). L'intégrase, constituée de 288 acides aminés, est générée durant la maturation par clivage de la polyprotéine *Pol* par la protéase virale (PR). Appartenant à la famille des polynucléotidyl-transférases, l'intégrase possède trois domaines d'expressions indépendants²¹⁵ : un domaine central responsable de l'activité catalytique, un domaine *N*-terminal nécessaire à l'oligomérisation et un domaine C-terminal qui permet de fixer l'ADN. L'intégrase intervient dans la catalyse de deux processus essentiels à la réplication du virus : le **3'-processing** et le **transfert de brin** (*strand transfer*).

Le *3'-processing* a lieu dans le cytoplasme à l'issue du processus de transcription inverse. Durant cette étape, l'intégrase catalyse une section en 3' des deux brins de l'ADN viral aux extrémités des unités LTRs. Cette section est réalisée juste après les dinucléotides conservés CA des unités U3 et U5 générant deux dinucléotides 5'-GT ainsi que deux sites réactifs 3'-hydroxyle (Figure 54a, 55a et b).

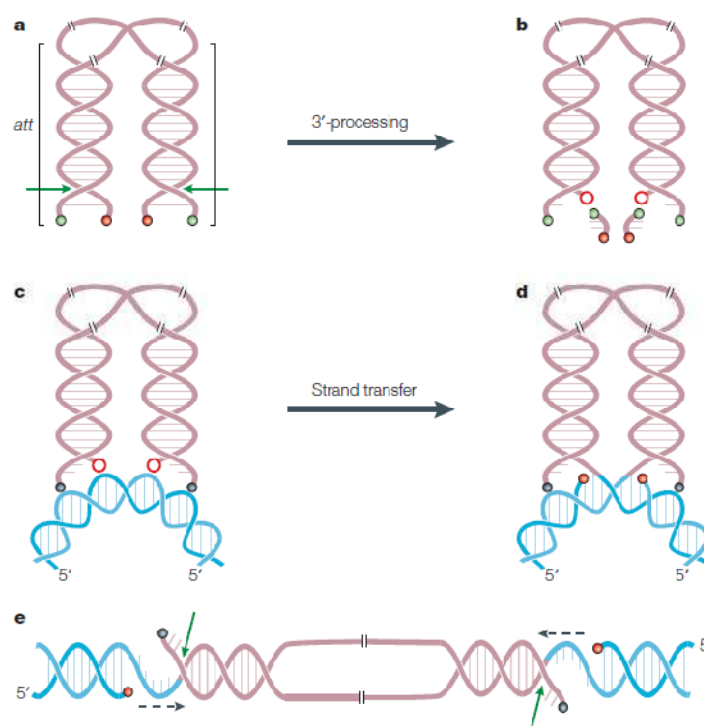


Figure 55. Etapes de *3'-processing* et *strand transfer*.²¹³

Une fois dans le noyau, l'ADN clivé est alors inséré de façon covalente dans le génome de la cellule infectée. Le transfert des brins est réalisé par l'attaque nucléophile des fonctions 3'-hydroxyles terminales de l'ADN viral générées par le *3'-processing* sur la liaison phosphodiester de chaque brin de l'ADN de la cellule hôte. Cette réaction a lieu simultanément aux deux extrémités de l'ADN viral et se fait avec un décalage précis de 5 paires de base en laissant un di-nucléotide non apparié sur chacune des extrémités 5' (Figure 55c et d). La réparation des écarts de remplissages ainsi que le *5'-processing*, permettant de cliver les nucléotides non

²¹⁵ (a) Asante-Appiah, E.; Skalka, A. M. HIV-1 integrase: structural organization, conformational changes, and catalysis. *Adv. Virus Res.* **1999**, *52*, 351-369. (b) Esposito, D.; Craigie, R. HIV integrase structure and function. *Adv. Virus Res.* **1999**, *52*, 319-333. (c) Dyda, F.; Hickman, A.B.; Jenkins, T.M.; Engelman, A.; Craigie, R.; Davies, D. R. Crystal structure of the catalytic domain of HIV-1 integrase: similarity to other polynucleotidyl transferases. *Science* **1994**, *266*, 1981-1986.

appariés, est assurée par les enzymes cellulaires.²¹⁶ Cette dernière étape assure la fixation définitive de l'ADN proviral qui aboutit à la présence d'un provirus colinéaire de l'ADN génomique.

L'intégrase nécessite 3 paramètres structuraux pour réaliser la réaction d'intégration avec succès²¹⁷ :

- La conservation des unités terminales U3 et U5 de l'ADN virale qui est primordiale pour l'étape de 3'-*processing*. Une mutation dans la séquence de ces unités rend impossible le 3'-*processing*.²¹³
- la triade catalytique intervenant dans l'étape de transfert de brin composée de 3 résidus d'acides aminés : Asp64, Asp116 et Glu156. Chacun de ces acides aminés est strictement requis pour l'activité catalytique de l'enzyme.²¹⁸
- Deux cofacteurs métalliques divalents Mg^{2+} et/ou Mn^{2+} qui forment un complexe de coordination avec les résidus Asp64 et Asp116. Ce complexe vient se coordonner au phosphodiester de sorte à favoriser l'attaque nucléophile de la fonction 5'-hydroxyle de l'ADN viral.²¹⁹

II. Inhibiteurs de l'intégrase et β -dicétoacides

1. Inhibiteurs de l'intégrase comme agent anti-VIH

Bien que les premières molécules possédant une activité sur l'intégrase aient été reportées il y a une vingtaine d'années²²⁰, ce n'est que récemment, en 2007, que le premier inhibiteur de l'intégrase, le Raltégravir **379**²²¹, a été approuvé par la FDA pour le traitement des patients infectés par le VIH (Figure 56). Commercialisé sous la marque Isentress® par Merck, il est administré en combinaison avec d'autres agents antirétroviraux. Les études cliniques ont montré que le Raltégravir est aussi bien actif sur le VIH-1 que le VIH-2. Il est très bien toléré par les patients et s'avère également actif pour les patients présentant des résistances aux antirétroviraux classiques. Durant les études préliminaires, le Raltégravir a révélé une

²¹⁶ Brin, E.; Yi, J.; Skalka, A. M.; Leis, J. Modeling the late steps in HIV-1 retroviral integrase-catalyzed DNA integration. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 39287-39295.

²¹⁷ Shibagaki, Y.; Holmes, M. L.; Appa, R. S.; Chow, S.A. Characterization of feline immunodeficiency virus integrase and analysis of functional domains. *Virology* **1997**, *230*, 1-10.

²¹⁸ (a) Drelich, M.; Wilhelm, R.; Mous, J. Activities and substrate specificity of the evolutionarily conserved central domain of retroviral integrase *Virology* **1992**, *188*, 459-468. (b) Engelman, A.; Craigie, R. Identification of conserved amino acid residues critical for human immunodeficiency virus type 1 integrase function *in vitro*. *J. Virol.* **1992**, *66*, 6361-6369.

²¹⁹ (a) Ellison, V.; Brown, P.O. A stable complex between integrase and viral DNA ends mediates human immunodeficiency virus integration *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 7316-7320. (b) Vink, C.; Lutzke, R.A.; Plasterk, R.H. Formation of a stable complex between the human immunodeficiency virus integrase protein and viral DNA. *Nucl. Acids Res.* **1994**, *22*, 4103-4110. (c) Hazuda, D. J.; Felock, P. J.; Hastings, J. C.; Pramanik, B.; Wolfe, A. L. Differential divalent cation requirements uncouple the assembly and catalytic reactions of human immunodeficiency virus type 1 integrase. *J. Virol.* **1997**, *71*, 7005-7011.

²²⁰ (a) Kohn, K. W.; Leteurtre, F. & Pommier, Y. Inhibitors of human immunodeficiency virus integrase. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 2399-2403. (b) Cushman, M. & Sherman, P. Inhibition of HIV-1 integration protein by aurintricarboxylic acid monomers, monomer analogs, and polymer fractions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, *185*, 85-90. (c) Carreau, S.; Mouscadet, J.-F.; Goulaouic, H.; Subra, F.; Auclair, C. Inhibitory effect of the polyanionic drug suramin on the *in vitro* HIV DNA integration reaction. *Arch. Biochem. Biophys.* **1993**, *305*, 606-610.

²²¹ (a) Summa, V.; Petrocchi, A.; Bonelli, F.; Crescenzi, B.; Donghi, M.; Ferrara, M.; Fiore, F.; Gardelli, C.; Paz, O.G.; Hazuda, D.J.; Jones, P.; Kinzel, O.; Laufer, R.; Monteagudo, E.; Muraglia, E.; Nizi, E.; Orvieto, F.; Pace, P.; Pescatore, G.; Scarpelli, R.; Stillmock, K.; Witmer, M.V.; Rowley, M. Discovery of raltegravir, a potent, selective orally bioavailable HIV-integrase inhibitor for the treatment of HIV-AIDS infection. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5843-5855. (b) Markowitz, M.; Nguyen, B.-Y.; Gotuzzo, E.; Mendo, F.; Ratanasuwana, W.; Kovacs, C.; Prada, G.; Morales-Ramirez, J. O.; Crumpacker, C. S.; Isaacs, R. D.; Gilde, L. R.; Wan, H.; Miller, M.D.; Wenning, L. A.; Teppler, H. Rapid and durable antiretroviral effect of the HIV-1 integrase inhibitor raltegravir as part of combination therapy in treatment-naïve patients with HIV-1 infection: results of a 48-weeks controlled study. *J. Acq. Immun. Def. Synd.* **2007**, *46*, 125-133. (c) Cabrera, C. Raltegravir, an HIV-1 integrase inhibitor for HIV infection. *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2008**, *9*, 885-898.

inhibition *in vitro* spectaculaire du *strand transfer* avec un IC_{50} inférieur à 10 nM (MT-4).²²² Le L870,810²²³ **380** a été le deuxième composé à entrer en phase clinique. Toutefois, les traitements à long terme ont révélé une toxicité importante sur le foie et le rein conduisant à l'abandon de la molécule.²²⁴ En 2012, l'Elvitégravir **381**²²⁵ a été approuvé par la FDA uniquement en combinaison avec l'emtricitabine (FTC), le Ténofovir disoproxil fumarate (Truvada®) et le Cobicistat (ralentit la métabolisation de l'Elvitégravir). Ce cocktail de 4 médicaments est commercialisé sous le nom Stribild® par Gliléad. Enfin, le Dolutégravir²²⁶ **382** (Tivicay®), développé par GlaxoSmithKline, vient tout juste d'être approuvé (août 2013). Selon les derniers résultats cliniques, le Tivicay® permettrait une réduction de la charge virale équivalente, voire supérieure à Isentress®. De plus, Tivicay® présente l'avantage d'un traitement via une seule pilule quotidienne de 50 mg contre deux doses de 400 mg pour Isentress®.

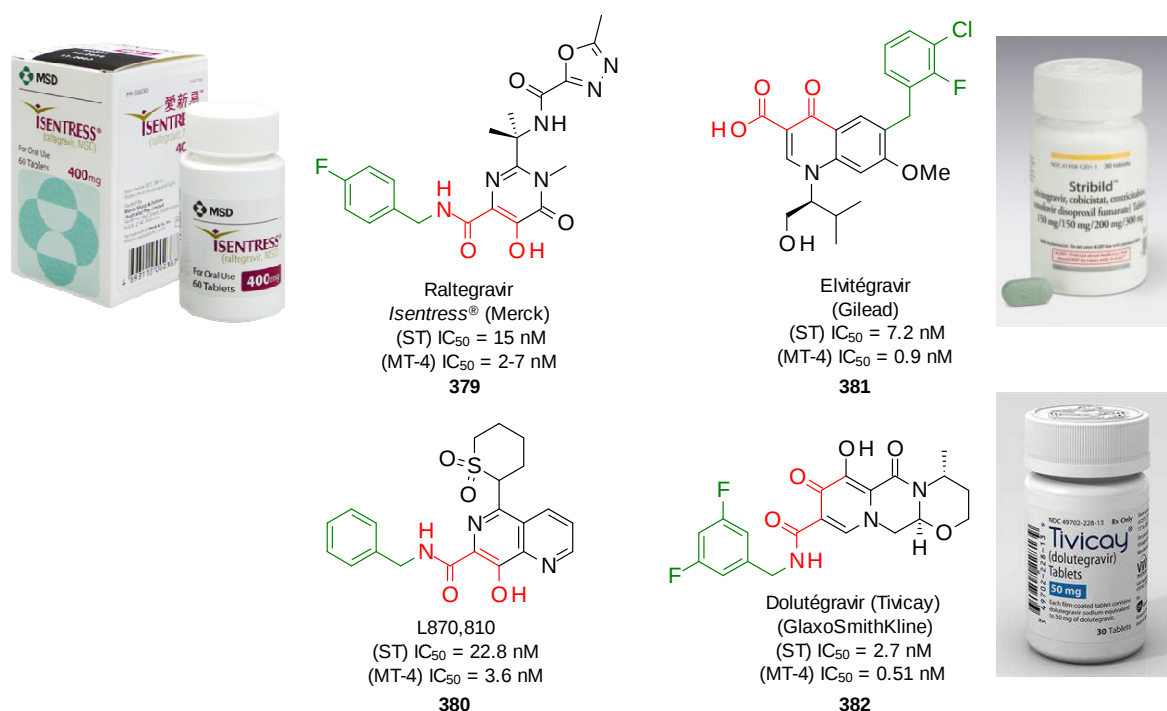


Figure 56. Structure du Raltégravir **379**, L870,810 **380**, Elvitégravir **381**, Dolutégravir **382**.

Néanmoins, malgré leurs excellentes propriétés thérapeutiques, ces composés n'échappent pas aux phénomènes de résistance liés au caractère extrêmement mutagène du VIH. En effet, dans certains cas, le

²²² Hicks, C.; Gulick, R. M. Raltegravir: The First HIV Type 1 Integrase Inhibitor. *Clin. Infect. Dis.* **2009**, *48*, 931-939.

²²³ Hazuda, D. J.; Anthony, N. J.; Gomez, R. P.; Jolly, S. M.; Wai, J. S.; Zhuang, L.; Fisher, T. E.; Embrey, M.; Guare, J. P.; Egbertson, M. S.; Vacca, J. P.; Huff, J. R.; Felock, P. J.; Witmer, M. V.; Stillmock, K. A.; Danovich, R.; Grobler, J.; Miller, M. D.; Espeseth, A. S.; Jin, L.; Chen, I.-W.; Lin, J. H.; Kassahun, K.; Ellis, J. D.; Wong, B. K.; Xu, W.; Pearson, P. G.; Schleif, W. A.; Cortese, R.; Emini, E.; Summa, V.; Holloway, M. K.; Young, S. D. A naphthyridine carboxamide provides evidence for discordant resistance between mechanistically identical inhibitors of HIV-1 integrase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 11233-11238.

²²⁴ Serrao, E.; Odde, S.; Ramkumar, K.; Neamati, N. Raltegravir, elvitegravir, and metoogravir: the birth of "me-too" HIV-1 integrase inhibitors. *Retrovirology* **2009**, *6*, 1-14.

²²⁵ (a) Sato, M.; Motomura, T.; Aramaki, H.; Matsuda, T.; Yamashita, M.; Ito, Y.; Kawakami, H.; Matsuzaki, Y.; Watanabe, W.; Yamataka, K.; Ikeda, S.; Kodama, E.; Matsuoka, M.; Shinkai, H. Novel HIV-1 integrase inhibitors derived from quinolone antibiotics. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1506-1508. (b) Sorbera, L. A.; Serradell, N. GS-9137: anti-HIV agent HIV integrase inhibitor. *Drugs Future* **2006**, *31*, 310-313.

²²⁶ (a) Vandekerckhove, L. GSK-1349572, a novel integrase inhibitor for the treatment of HIV infection. *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2010**, *11*, 203-212. (b) Min, S.; Song, I.; Borland, J.; Chen, S.; Lou, Y.; Fujiwara, T.; Piscitelli, S. C. Pharmacokinetics and safety of S/GSK1349572, a next generation HIV integrase inhibitor, in healthy volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *54*, 254-258. (c) Johns, B. A.; Kawasuji, T.; Weatherhead, J. G.; Taishi, T.; Temelkoff, D. P.; Yoshida, H.; Akiyama, T.; Taoda, Y.; Murai, H.; Kiyama, R.; Fuji, M.; Tanimoto, N.; Jeffrey, J.; Foster, S. A.; Yoshinaga, T.; Seki, T.; Kobayashi, M.; Sato, A.; Johnson, M. N.; Garvey, E. P.; Fujiwara, T. Carbamoyl Pyridone HIV-1 Integrase Inhibitors 3. A Diastereomeric Approach to Chiral Nonracemic Tricyclic Ring Systems and the Discovery of Dolutegravir (S/GSK1349572) and (S/GSK1265744). *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 5901-5916.

développement de mutations dans le domaine catalytique de l'intégrase durant le traitement par ces dérivés peut engendrer une réduction significative de leur activité antivirale.²²⁷ L'identification de l'origine moléculaire de ces résistances d'une part et la compréhension des interactions entre l'intégrase et ses partenaires cellulaires d'autre part, devraient permettre l'identification de nouveaux composés susceptibles de surmonter ces résistances.

2. L'inspiration par les dérivés β -dicétoacides

D'un point de vue structural, les dérivés **379-382** ont en commun un motif benzyle et une fonction β -hydroxy-amide qui a été développé par analogie avec la fonction β -dicétoacide (DKA) (Figure 57). En effet, les dérivés β -dicétoacides sont les premiers composés reportés comme inhibiteur potentiel de l'intégrase. Ils ont été la preuve de concept qu'une inhibition sélective de l'étape de transfert de brin pouvait effectivement réduire la réplication du VIH.²²⁸ Les DKAs sont remarquables par leur aptitude à inhiber sélectivement l'étape de transfert de brin sans interférer sur le *3'-processing*.²²⁹ Ce motif présente la particularité de pouvoir chélater les ions métalliques et entrent en interaction avec les ions divalents Mg^{2+} et Mn^{2+} dans le site catalytique de l'intégrase.

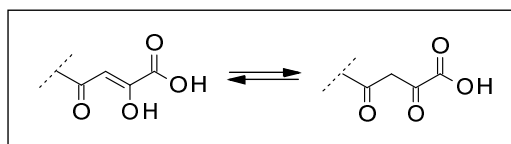


Figure 57. Structure générale et équilibre céto-énolique de la fonction β -dicétoacide.

Avec leur mode d'action unique, les dicétoacides font partie de la famille des inhibiteurs d'interfaces. En effet, les DKAs bloquent l'étape de transfert de brin en s'intercalant à l'interface du complexe intégrase-ADN (Figure 58). L'intégrase possède deux sites de fixation : le site accepteur pour l'ADN viral et le site donneur pour l'ADN de la cellule hôte (**a**). Après l'étape de *3'-processing*, le complexe intégrase-ADN subit un changement structural qui active le site accepteur pour la fixation de l'ADN cellulaire (**b**). En temps normal, la fixation de l'ADN cellulaire au site accepteur est suivie par le transfert de brin (**c**). En présence d'un dérivé dicétoacide, le site accepteur est bloqué immédiatement après l'étape de *3'-processing* rendant impossible l'approche de l'ADN cellulaire et donc le transfert de brin (**d**). La complexation du dérivé DKA a lieu à l'interface de la triade catalytique DDE de l'intégrase et de l'ADN viral par l'intermédiaire des cofacteurs métalliques divalents (**e**). Ce complexe serait également stabilisé par une liaison hydrogène entre Asp64 et

²²⁷ (a) Sichtig, N.; Sierra, S.; Kaiser, R.; Däumer, M.; Reuter, S.; Schuler, E.; Altmann, A.; Fatkenheuer, G.; Dittmer, U.; Pfister, H.; Esser, S. Evolution of raltegravir resistance during therapy. *J. Antimicrob. Chemother.* **2009**, *64*, 25-32. (b) Goethals, O.; Clayton, R.; Van Ginderen, M.; Vereycken, I.; Wagemans, E.; Geluykens, P.; Dockx, K.; Strijbos, R.; Smits, V.; Vos, A.; Meersseman, G.; Jochmans, D.; Vermeire, K.; Schols, D.; Hallenberger, S.; Hertogs, K. Resistance mutations in human immunodeficiency virus type 1 integrase selected with elvitegravir confer reduced susceptibility to a wide range of integrase inhibitors. *J. Virol.* **2008**, *82*, 10366-10374. (c) Metifiot, M.; Marchand, C.; Maddali, K.; Pommier, Y. Resistance to integrase inhibitors. *Viruses* **2010**, *2*, 1347-1366. (d) Metifiot, M.; Maddali, K.; Naumova, A.; Zhang, X.; Marchand, C.; Pommier, Y. Biochemical and Pharmacological Analyses of HIV-1 Integrase Flexible Loop Mutants Resistant to Raltegravir. *Biochemistry* **2010**, *49*, 3715-3722. (e) Da Silva, D.; Van Wesenbeeck, L.; Breilh, D.; Reigadas, S.; Anies, G.; Van Baelen, K.; Morlat, P.; Neau, D.; Dupon, M.; Wittkop, L.; Fleury, H.; Masquelier, B. HIV-1 resistance patterns to integrase inhibitors in antiretroviral-experienced patients with virological failure on raltegravir containing regimens. *J. Antimicrob. Chemother.* **2010**, *65*, 1262-1269.

²²⁸ Hazuda, D. J. *et al.* Integrase Inhibitors and cellular immunity suppress retroviral replication in rhesus macaques. *Science* **2004**, *305*, 528-532.

²²⁹ (a) Hazuda, D. J.; Felock, P.; Witmer, M.; Wolfe, A.; Stillmock, K.; Grobler, J. A.; Espeseth, A.; Gabryelski, L.; Schleif, W.; Blau, C.; Miller, M. D. Inhibitors of strand transfer that prevent integration and inhibit HIV-1 replication in cells. *Science* **2000**, *287*, 646-650. (b) Espeseth, A. S.; Felock, P.; Wolfe, A.; Witmer, M.; Grobler, J.; Anthony, N.; Egbertson, M.; Melamed, J. Y.; Young, S.; Hamill, T.; Cole, J. L.; Hazuda, D. J. HIV-1 integrase inhibitors that compete with the target DNA substrate define a unique strand transfer conformation for integrase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 11244-11249.

l'hydroxyl-énol de l'inhibiteur DKA. Enfin, il a été démontré quand l'absence de ces cofacteurs métalliques, les dérivés DKAs ne peuvent pas se lier à l'intégrase.²³⁰

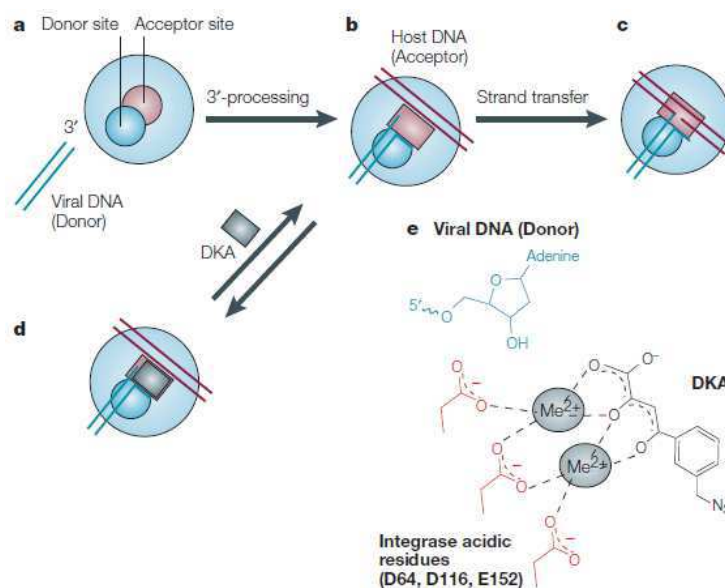


Figure 58. Mécanisme d'action des dicétoacides.²¹³

Initialement, l'engouement autour des β -dicétoacides et leurs dérivés a débuté avec la découverte des composés L-708,906 **383**^{229a} et de L-731,988 **386**²³¹ en raison de leur inhibition sélective de l'étape de transfert de brin, avec des EC_{50} de l'ordre du sub- μ M (Figure 59). Le noyau aromatique de **383** tolère une grande variété de substituant. On peut notamment citer le composé **384** substitué par un benzyle ou le composé **385** possédant une fonction azide. Toutefois ces dérivés se sont révélés moins actifs que le composé de référence **383**.

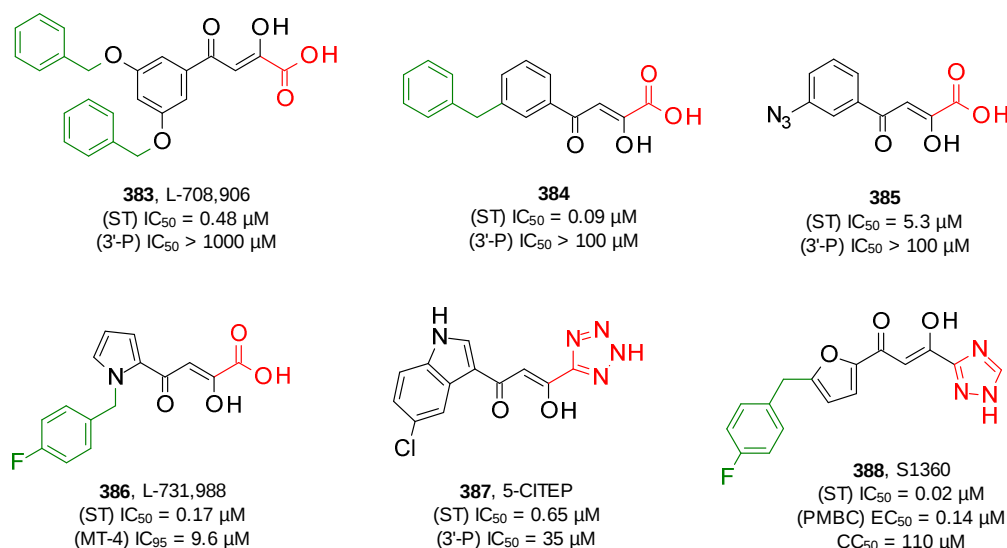


Figure 59. Structures portant un motif β -dicétoacide et dérivés isostères.

²³⁰ Grobler, J. A. *et al.* Diketo acid inhibitor mechanism and HIV-1 integrase: implications for metal binding in the active site of phosphotransferase enzymes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 6661–6666.

²³¹ Wai, J. S.; Egbertson, M. S.; Payne, L. S.; Fisher, T. E.; Embrey, M. W.; Tran, L. O.; Melamed, J. Y.; Langford, H.M.; Guare, J. P. Jr.; Zhuang, L.; Grey, V. E.; Vacca, J. P.; Holloway, M. K.; Naylor-Olsen, A. M.; Hazuda, D. J.; Felock, P. J.; Wolfe, A. L.; Stillmock, K. A.; Schleif, W. A.; Gabryelski, L. J.; Young, S. D., 4-Aryle-2,4-dioxobutanoic acid inhibitors of HIV-1 integrase and viral replication in cells. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4923–4926.

L'étude approfondie de la relation structure activité de ces dérivés β -dicétoacides a permis de mettre en évidence le noyau minimum requis pour aboutir à un composé actif et d'identifier les résidus impliqués dans la *binding*. Les DKAs requièrent d'une part un noyau aromatique et d'autre part un cœur dicéto ainsi qu'une fonction acide carboxylique ou une fonction isostère à celle-ci (Figure 60). Ainsi, le 5-CITEP **387**, développé par les laboratoires de recherches de *Shionogi & Company*, a été le premier dérivé DKA à être co-cristallisé au sein du domaine catalytique de l'intégrase en association avec la triade catalytique DDE.²³²

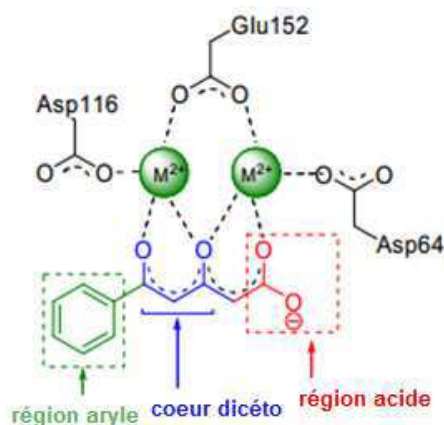


Figure 60. Structure minimale requise pour les DKAs.²¹³

La résolution de la structure de ce complexe a mis en évidence que le dicétotétrazole, bioisotère du pharmacophore dicétoacide, se logeait dans la poche réservée aux liaisons avec les phosphates via des interactions avec les résidus Lys156 et Lys159 alors que la fonction aryle occupait une poche hydrophobe proche du site actif. En effet, de nombreuses études SAR ont par la suite confirmé l'importance du noyau aromatique dans le maintien de l'activité antivirale²³³ et de la sélectivité²³⁴ pour le transfert de brin. Par la suite, la compagnie a également reporté le S-1360 **388**.²³⁵ Ce composé représente le dérivé DKA le plus actif connu à ce jour. Toutefois, les tests cliniques menés jusqu'en phase II ont été abandonnés en raison d'une métabolisation trop rapide par réduction de la fonction énole par les aldo-céto réductases et/ou les déshydrogénases/réductases situées dans le foie qui est vraisemblablement suivi d'une glucuronidation.²³⁶

En 2006, Nair *et al.*²³⁷ ont décrit une série de dérivés β -dicétoacides, portés en C⁵ de noyaux pyrimidiques, qui sont actifs à la fois sur l'étape de 3'-*processing* et le transfert de brin. En effet, le dérivé **389** substitué en N¹ et N³ par un groupement benzyle a révélé des activités de l'ordre du sub- μ M lors des tests enzymatiques et nM *in vitro* avec un excellent indice de sélectivité (SI = IC₅₀/CC₅₀) (Figure 61). Bien que l'on connaisse assez bien le mode d'action des DKAs sur le transfert de brin dans le noyau, le mécanisme d'inhibition du 3'-*processing* par **389** dans le cytoplasme reste incertain.

²³² Goldgur, Y. *et al.* Structure of the HIV-1 integrase catalytic domain complexed with an inhibitor: A platform for antiviral drug design. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 13040–13043.

²³³ Pais, G. C. *et al.* Structure activity of 3-aryl-1,3-diketotetrahydro-2H-1,2,4-triazole-4-carboxylic acid derivatives as HIV-1 integrase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3184–3194.

²³⁴ (a) Engelman, A., Bushman, F. D.; Craigie, R. Identification of discrete functional domains of HIV-1 integrase and their organization within an active multimeric complex. *EMBO J.* **1993**, *12*, 3269–3275. (b) Marchand, C. *et al.* Structural determinants for HIV-1 integrase inhibition by β -diketo acids. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 12596–12603.

²³⁵ Billich, A. S-1360 (Shionogi-GlaxoSmithKline). *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2003**, *4*, 206–209.

²³⁶ Rosemond, M. J. C.; St. John-Williams, L.; Yamaguchi, T.; Fujishita, T.; Walsh, J. S. Enzymology of a carbonyl reduction clearance pathway for the HIV integrase inhibitor, S-1360: role of human liver cytosolic aldo-keto reductases. *Chem. Biol. Interact.* **2004**, *147*, 129–139.

²³⁷ Nair, V.; Chi, G.; Ptak, R.; Neamati, N. HIV integrase inhibitors with nucleobase scaffolds: discovery of a highly potent anti-HIV Agent. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 445–447.

Toutefois, selon les auteurs, la molécule semble agir avec un mode d'action similaire sur les deux étapes catalysées par l'intégrase par interaction avec le domaine catalytique DDE de l'enzyme ainsi que d'autres résidus à proximité via une chélation avec les cofacteurs métalliques. Plus précisément, il semblerait qu'un seul ion Mg^{2+} soit impliqué dans l'étape de *3'-processing* dans le cytoplasme, tandis que deux seraient nécessaires à l'accomplissement du transfert de brin dans le noyau.²³⁸ De plus, les études de docking ont suggéré une contribution importante du noyau uracile sur l'inhibition du *3'-processing*. En effet, en comparaison, le composé L-708,906 **383**, construit autour d'un simple noyau benzénique, n'a présenté aucune inhibition du *3'-processing* ($3'P$) $IC_{50} > 1000 \mu M$).²³⁹ Des analogues possédant des fonctions isostères de l'acide carboxylique ont également été développés pour ces composés.²⁴⁰ On peut notamment citer l'acide phosphonique **390** ou le tétrazole **391**. Les auteurs ont également reporté des analogues puriques tels que le composé **392**. Toutefois, ces dérivés ont montré des activités moins bonnes avec une plus grande toxicité. Il en résulte que le carboxylate est important pour la chélation avec les cofacteurs métalliques bien qu'il ne semble pas indispensable pour la liaison à l'intégrase.²³⁰

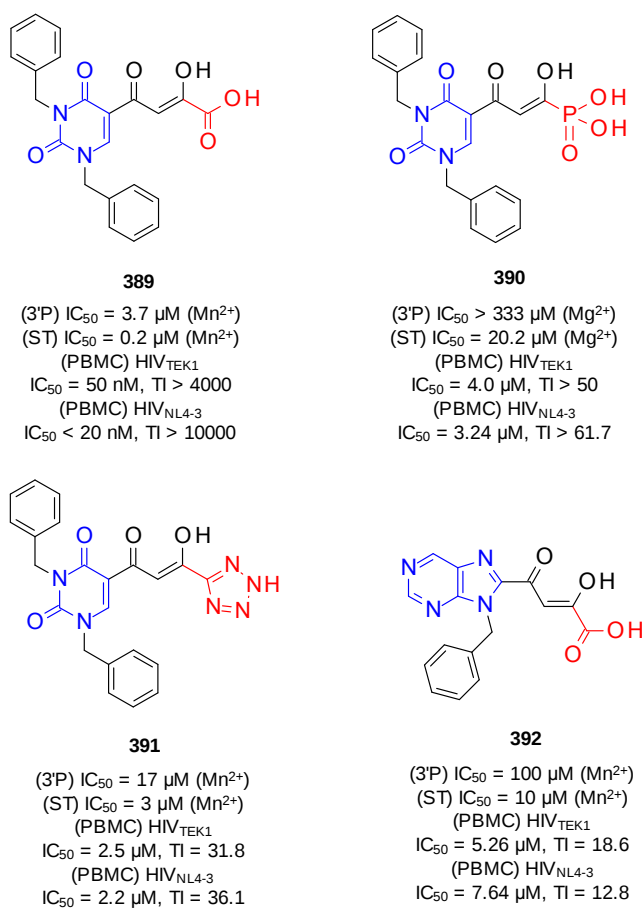


Figure 61. β -dicétoacides avec un noyau de type nucléobase.

²³⁸ Sechi, M.; Bacchi, A.; Carcelli, M.; Compari, C.; Duce, E.; Fisicaro, E.; Rogolino, D.; Gates, P.; Derudas, M.; Al-Mawsawi, L.Q.; Neamati, N. From ligand to complexes: inhibition of human immunodeficiency virus type 1 integrase by β -diketo acid metal complexes. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 4248-4260.

²³⁹ Pais, G.C.G.; Zhang, X.; Marchand, C.; Neamati, N.; Cowansage, K.; Svarovskaia, E.S.; Pathak, V. K.; Tang, Y.; Nicklaus, M.; Pommier, Y.; Burke, T. R. Structure activity of 3-aryl-1,3-diketocontaining compounds as HIV-1 integrase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3184-3194.

²⁴⁰ brevet : Diketo acids with nucleobase scaffolds : anti-HIV replication inhibitors targeted at HIV integrase in combination therapy, WO2007106450.

En 2007, Vince *et al.*²⁴¹ ont reporté des composés pyrimidiques hybrides **394** constitués d'éléments pharmacophores de l'intégrase et de la transcriptase inverse (RT) (Figure 62). En effet, sa structure est constituée d'une part, de l'inhibiteur sélectif de la transcriptase inverse TNK-651 **393** et, d'autre part, d'une partie de l'aryle β -dicétoacide **384** qui est un inhibiteur sélectif du transfert de brin catalysé par l'intégrase. La conception de ces structures tient compte des deux paramètres structuraux requis pour la liaison avec l'intégrase : le groupement β -dicétoacide indispensable pour la liaison de la molécule à l'enzyme par complexation des cofacteurs métalliques et un groupement de type benzyle qui va se loger dans la poche hydrophobe proche du site actif.^{234b,242} Les dérivés hybrides ainsi obtenus présentent une excellente activité sur le 3'-P et le ST et s'avèrent également très actifs *in vitro* sur le VIH avec un EC₅₀ de 17 nM et un indice thérapeutique supérieur à 600. Les auteurs ont également noté que la fonctionnalisation de la position N³ de l'uracile faisait perdre complètement l'activité anti-RT des structures, mais que celle-ci n'avait pas de conséquence sur l'inhibition du *strand transfer*.

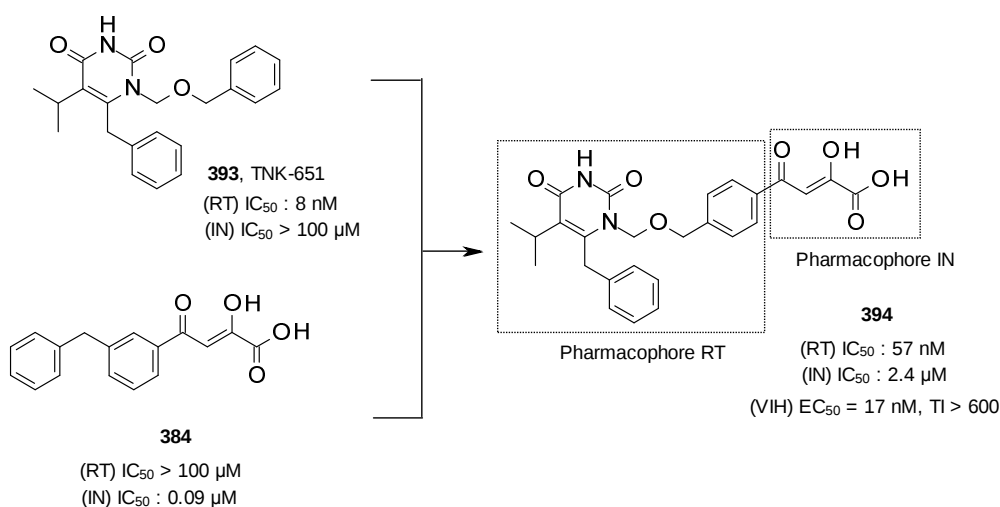


Figure 62. Conception d'inhibiteur de la RT et de l'IN(ST).²⁴¹

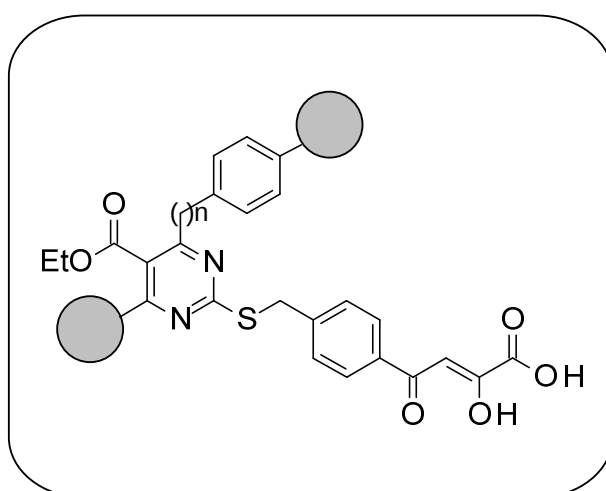
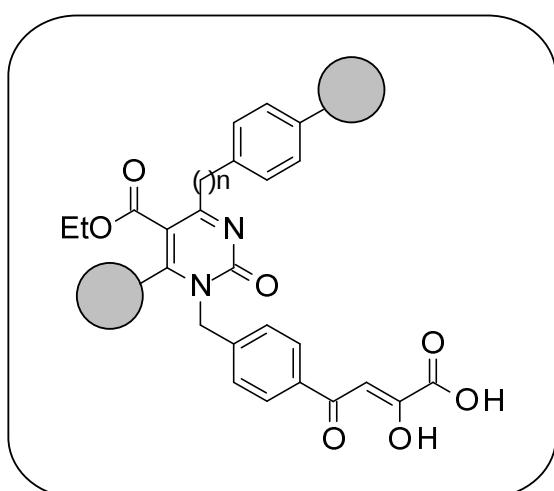
Des progrès remarquables ont été réalisés ces dernières années dans la compréhension des mécanismes mis en jeu par l'intégrase pour intégrer l'ADN viral dans l'ADN génomique. Ils ont permis d'optimiser considérablement la conception de nouveaux composés toujours plus actifs contre cette enzyme. Par ailleurs, l'identification récente de plusieurs cofacteurs de l'intégrase permet d'avoir une vue plus précise sur le processus d'intégration *in vivo*, ouvrant la voie à de nouvelles perspectives de recherches pharmacologiques. Parmi les nombreux composés identifiés comme inhibiteur de l'intégrase, les inhibiteurs sélectifs de l'étape de transfert de brin semblent les plus prometteurs. À ce titre, les dérivés β -dicétoacides et leurs isostères sont aujourd'hui incontournables parmi les inhibiteurs de l'intégrase avec trois composés approuvés (Raltégravir, Elvitégravir et Dolutégravir).

²⁴¹ Wang, Z.; Bennett, E.M.; Wilson, D.J.; Salomon, C.; Vince, R. Rationally designed dual inhibitors of HIV reverse transcriptase and integrase. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 3416-3419.

²⁴² (a) Bacchi, A.; Biemmi, M.; Carcelli, M.; Carta, F.; Compari, C.; Fiscaro, E.; Rogolino, D.; Sechi, M.; Sippel, M.; Sotriffer, C. A.; Sanchez, T. W.; Neamati, N., From Ligand to Complexes. Part 2. Remarks on Human Immunodeficiency Virus type 1 Integrase Inhibition by β -Diketo Acid Metal Complexes. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 7253-7264. (b) Dayam, R.; Sanchez, T.; Neamati, N., Diketo Acid Pharmacophore. 2. Discovery of Structurally Diverse Inhibitors of HIV-1 Integrase. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 8009-8015. (d) Dayam, R.; Sanchez, T.; Clement, O.; Shoemaker, R.; Sei, S.; Neamati, N., β -Diketo Acid Pharmacophore Hypothesis. 1. Discovery of a Novel Class of HIV-1 Integrase Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 111-120.

PARTIE B

Synthèse de dihydropyrimidines β -dicétoacides ciblant l'intégrase du VIH



I. Nos objectifs

Par analogie avec les travaux de Vince *et al.*²⁴¹ présentés précédemment, l'objectif de ce travail a été de synthétiser des structures mixtes constituées d'un motif aryle β -dicétoacide **396** porté par un noyau de type dihydropyrimidine **395** (DHPM) (Figure 63). L'aryle β -dicétoacide, considéré comme la structure minimal pour assurer une liaison avec l'intégrase, constituera le motif invariable de nos structures. La diversité sera principalement introduite sur la DHPM en position 4 (R_1) avec des aromatiques différemment substitués ainsi qu'en position 6 (R_2) avec des groupements alkyles et aromatiques plus ou moins encombrés. La synthèse de ces dérivés a été envisagée initialement en série 2-oxo **397** puis étendue par la suite à une seconde série de type 2-thio **398**.

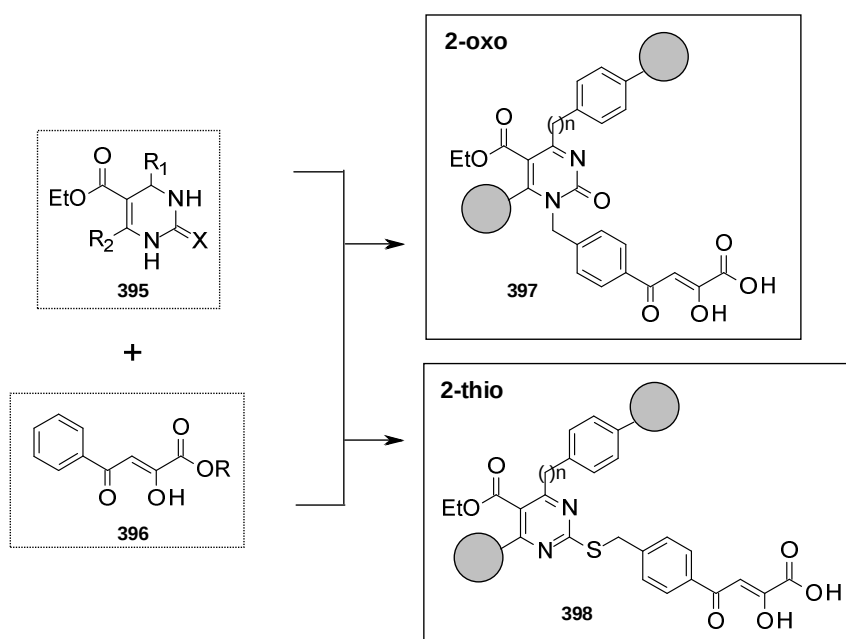


Figure 63. Conception des dihydropyrimidines portant un aryle β -dicétoacides.

II. Les dihydropyrimidines (DHPMs) : voie d'accès et potentiel thérapeutique

1. La réaction de Biginelli

La synthèse des dihydropyrimidines a été mentionnée pour la première fois en 1981 par le chimiste italien P. Biginelli.²⁴³ Dans la continuité des travaux de Hantzsch qui reporta avant lui la synthèse des dihydropyridines,²⁴⁴ il fit réagir un mélange équimolaire de benzaldéhyde **399**, d'acétoacétate d'éthyle **400** et de l'urée **401** en présence d'acide chlorhydrique dans l'éthanol à reflux (Schéma 83). Cette réaction multicomposante donna lieu à la formation d'un solide blanc identifié comme étant la 3,4-dihydropyrimidin-

²⁴³ (a) Biginelli, P. Ueber Aldehyduramide des Acetessigäthers. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1891**, *24*, 1317-1319. (b) Biginelli, P. Ueber Aldehyduramide des Acetessigäthers. II. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1891**, *24*, 2962-2967. (c) Biginelli, P. *Gazz. Chim. Ital.* **1889**, *19*, 212.

²⁴⁴ (a) Hantzsch, A. Condensationsprodukte aus Aldehydammoniak und ketonartigen Verbindungen. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1881**, *14*, 1637-1638. (b) Hantzsch, A., Ueber die Synthese pyridinartiger Verbindungen aus Acetessigäther und Aldehydammoniak. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1882**, *215*, 1-82.

2(1*H*)-ones **402** que l'on nomme désormais composé de Biginelli. La variation des trois réactifs de cette réaction permet d'apporter aisément une grande diversité structurale aux DHPMs.

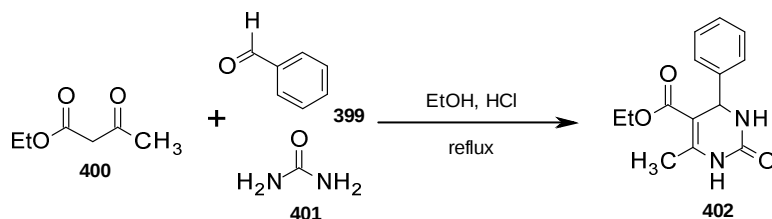


Schéma 83. La réaction multicomposante de Biginelli.

Le mécanisme de cette réaction a été étudié par de nombreuses équipes et corrigé à plusieurs reprises. À ce jour, le mécanisme le plus largement accepté par la communauté a été proposé par O. Kappe en 1997 (Figure 64).²⁴⁵ Ce mécanisme débute dans un premier temps par une attaque nucléophile de l'urée sur l'aldéhyde (**a**) déficient en électron pour donner l'espèce intermédiaire (**b**) qui mène à la formation de l'ion *N*-acyliminium (**c**) (base de Schiff) après une étape de déshydratation. Cette séquence, cinétiquement déterminante, est favorisée en présence d'une source catalytique d'acide. L'ester acétoacétique s'additionne ensuite à la base de Schiff par une réaction de type Michael pour former l'espèce (**d**). Une seconde condensation de l'urée sur la fonction carbonyle suivie d'une déshydratation mène enfin à la dihydropyrimidine (**e**).

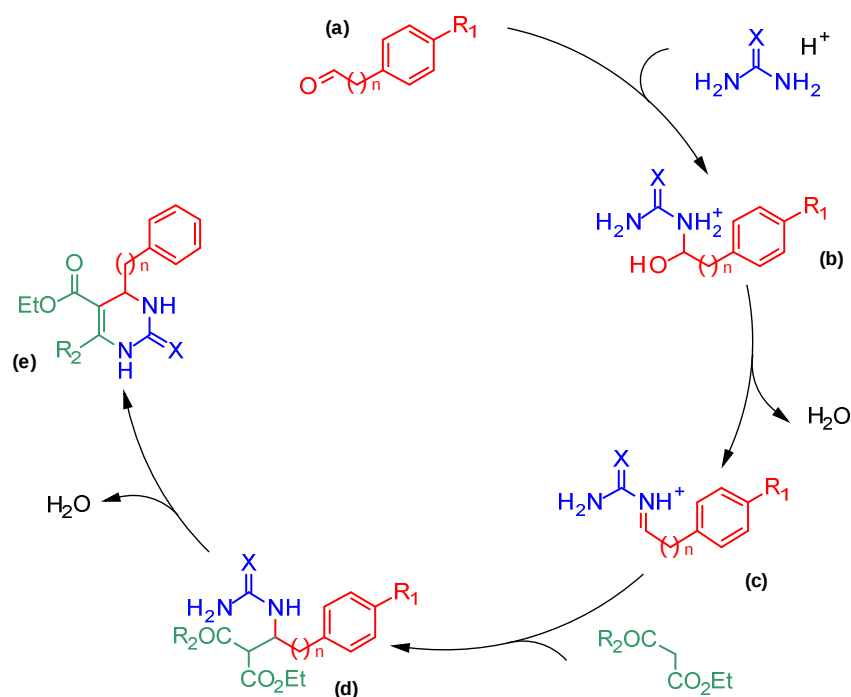


Figure 64. Mécanisme de la réaction de Biginelli.²⁴⁵

²⁴⁵ Kappe, C. O. A Reexamination of the Mechanism of the Biginelli Dihydropyrimidine Synthesis. Support for an *N*-Acyliminium Ion Intermediate. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 7201-7204.

2. Potentiel thérapeutique des DHPMs

Le choix des DHPMs comme *scaffold* aromatique pour nos structures a été motivé par leur fort potentiel biologique. En effet, les structures construites autour des dihydropyrimidines sont fréquemment reportées pour leurs activités antitumorales, antiprolifératives, antivirales (VIH, VHB, malaria, etc...), anti-inflammatoire, antibactérien, antiépileptique, antimycosique ou encore antituberculeux.²⁴⁶ À titre d'exemple, la figure 65 rassemble une sélection de quelques dérivés de DHPMs présentant des propriétés thérapeutiques d'un grand intérêt. Le Monastrol **403** est le premier dérivé DHPM à avoir été reporté comme anticancéreux par inhibition de la kinésine mitotique humaine Eg5.²⁴⁷ Le DMT-3024 **404** a été identifié comme un puissant inhibiteur de la croissance du parasite *Plasmodium falciparum* responsable de la malaria.²⁴⁸ Le dérivé Bay41-4109 **405** est actuellement en cours d'études précliniques en temps qu'agent anti-VHB par inhibition de la maturation de la nucléocapside virale.²⁴⁹

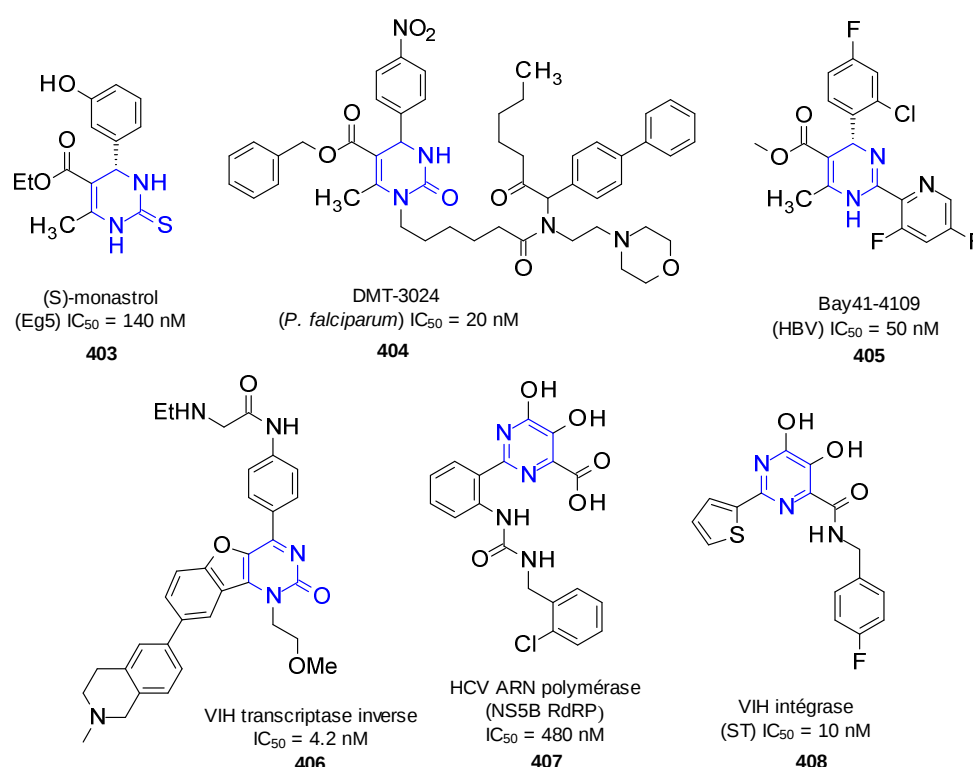


Figure 65. Les dérivés DHPMs comme agents thérapeutiques

À ce jour, seuls quelques dérivés de DHPMs ont été reportés pour leur activité anti-VIH. Récemment, Tremblay *et al.*²⁵⁰ ont reporté une série de composés benzofuranopyrimidin-2-ones présentant une très forte activité anti-VIH. Ainsi, le composé **406** a révélé un IC_{50} de 4.2 nM lors de tests réalisés *in vitro* et 30 nM

²⁴⁶ Sandhu, J. and S. Past, present and future of the Biginelli reaction: a critical perspective. *Rev. Acc.* **2012**, *1*, 66-133.

²⁴⁷ Cochran, J. C.; Gatjal, J. E.; Kapoor, T. M.; Gilbert, S. P., Monastrol Inhibition of the Mitotic Kinesin Eg5. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 12658-12667.

²⁴⁸ Chiang, A. N.; Valderramos, J.-C.; Balachandran, R.; Chovatiya, R. J.; Mead, B. P.; Schneider, C.; Bell, S. L.; Klein, M. G.; Huryn, D. M.; Chen, X. S.; Day, B. W.; Fidock, D. A.; Wipf, P.; Brodsky, J. L. Select pyrimidinones inhibit the propagation of the malarial parasite, *Plasmodium falciparum*. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1527-1533.

²⁴⁹ Zhu, X.; Zhao, G.; Zhou, X.; Xu, X.; Xia, G.; Zheng, Z.; Wang, L.; Yang, X.; Li, S. 2,4-Diaryl-4,6,7,8-tetrahydroquinazolin-5(1H)-one derivatives as anti-HBV agents targeting at capsid assembly. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 299.

²⁵⁰ Tremblay, M.; Bethell, R. C.; Cordingley, M. G.; DeRoy, P.; Duan, J.; Duplessis, M.; Edwards, P. J.; Faucher, A.-M.; Halmos, T.; James, C. A.; Kuhn, C.; Lacoste, J.-É.; Lamorte, L.; LaPlante, S. R.; Malenfant, É.; Minville, J.; Morency, L.; Morin, S.; Rajotte, D.; Salois, P.; Simoneau, B.; Tremblay, S.; Sturino, C. F. Identification of benzofurano[3,2-d]pyrimidin-2-ones, a new series of HIV-1 nucleotide-competing reverse transcriptase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 2775-2780.

in vivo. L'activité anti-VIH de cette famille de composé repose sur une inhibition de la *transcriptase inverse* par compétition avec les dNTP. Outre cette famille d'inhibiteur non nucléosidique de la *transcriptase inverse*, on recense également quelques dérivés de DHPMs ciblant l'intégrase du VIH. Ainsi, Summa *et al.*²⁵¹ ont reporté que les acides dihydroypyrimidin-4-carboxylique tel que le composé **407** pouvait chélater les cofacteurs métalliques de la même façon que le motif β -dicétoacide. Cependant, les dérivés sous forme acide carboxylique, qui avait préalablement était développé pour leur activité anti-VHC, n'ont montré aucune activité sur l'inhibition du transfert de brin (ST). Toutefois, en 2006, le même groupe reporta que les composés sous forme carboxamide pouvait devenir d'excellents inhibiteurs de l'intégrase avec par exemple un IC₅₀ (ST) de 10 nM pour le composé **408**.²⁵²

III. Notre travail

1. Schéma de rétrosynthèse

Le schéma de rétrosynthèse envisagé pour la synthèse des dérivés en série 2-oxo est présenté dans le schéma 84. Le motif β -dicétoacide de **397** peut être préparé à partir de la fonction cétone de **409**. Cette dernière peut être introduite via une aryle cétone par une réaction de substitution nucléophile réalisée par l'azote N¹. Enfin, la suppression du centre asymétrique en position 4 en vue d'isoler la position N₁ pour l'étape d'alkylation pourrait être réalisée par l'aromatisation oxydante des DHPMs **411**.

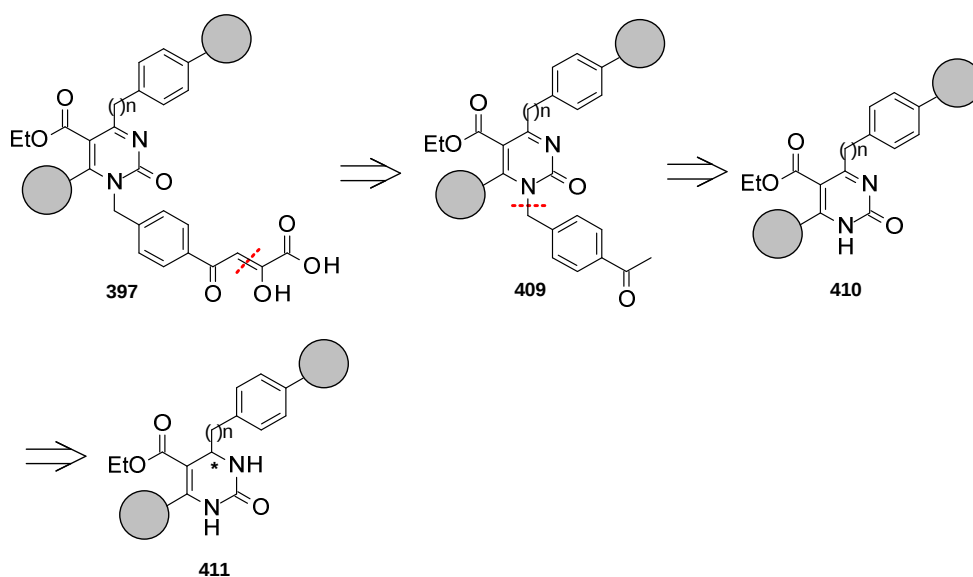


Schéma 84. Rétrosynthèse envisagée pour la préparation des β -dicétoacides

²⁵¹ Koch, U.; Attenni, B.; Malancona, S.; Colarusso, S.; Conte, I.; Di Filippo, M.; Harper, S.; Pacini, B.; Giomini, C.; Thomas, S.; Incitti, I.; Tomei, L.; De Francesco, R.; Altamura, S.; Matassa, V. G.; Narjes, F. 2-(2-Thienyl)-5,6-dihydroxy-4-carboxypyrimidines as Inhibitors of the Hepatitis C Virus NS5B Polymerase: Discovery, SAR, Modeling, and Mutagenesis. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1693-1705.

²⁵² Pace, P.; Di Francesco, M. E.; Gardelli, C.; Harper, S.; Muraglia, E.; Nizi, E.; Orvieto, F.; Petrocchi, A.; Poma, M.; Rowley, M.; Scarpelli, R.; Laufer, R.; Gonzalez Paz, O.; Montegudo, E.; Bonelli, F.; Hazuda, D.; Stillmock, K. A.; Summa, V. Dihydroypyrimidine-4-carboxamides as Novel Potent and Selective HIV Integrase Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2225-2239.

La rétrosynthèse envisagée pour la préparation des dérivés soufrés (série 2-thio) diffère légèrement de celle présentée ci-dessus pour la série 2-oxo. En effet, les données de la littérature suggèrent la possibilité de réaliser l'alkylation de façon sélective sur l'atome de soufre sans nécessiter de conditions particulières. Ceci est rendu possible par la nucléophilie supérieure du soufre par rapport à l'azote, et par conséquent, contrairement à la série 2-oxo, la réaction d'aromatisation des composés sera effectuée après S-alkylation des DHPMs.

2. Synthèse des DHPMs

Suivant la réaction de Biginelli, une vingtaine de DHPMs diversement fonctionnalisés a été synthétisés. Sur ces dernières, la position R_1 peut être substituée par un phényle lui-même *para*-substitué par un méthoxy, un fluor ou 3,5-disubstitué par des méthyles (Figure 66). L'apport d'une flexibilité a également été envisagé avec notamment une substitution par un groupement benzyle. D'autre part, nous avons décidé d'étudier l'influence de l'encombrement stérique en position 6 de la DHPM sur l'activité des molécules. Sur les divers dérivés qui ont été synthétisés, le groupement R_2 en position 6 peut correspondre à un méthyle, un éthyle, un *isopropyle* ou encore un phényle.

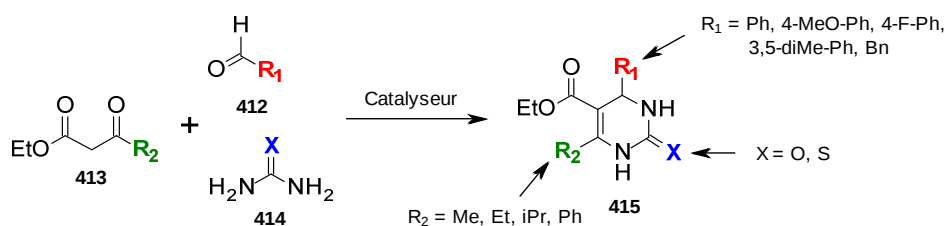


Figure 66. Pharmacomodulations autour du noyau DHPM.

Pour les dérivés 2-oxo, X représentera un oxygène tandis qu'en série 2-thio il représente un atome de soufre. Par conséquent, la synthèse des DHPMs de ces deux séries fera respectivement intervenir l'urée ou la thiourée. La diversité au niveau du groupement R_1 se fera par variation de l'aldéhyde **412** tandis que le groupement R_2 sera dépendant du dérivé 1,3-dicarbonyl **413** utilisé. La structure des différents dérivés DHPMs rencontrés dans la littérature semble indiquer que les esters en position 5 des DHPMs sont relativement importants pour leurs activités biologiques. Par conséquent, nous avons décidé de maintenir ce motif pour nos dérivés en travaillant avec un ester éthylique qui sera conservé sur la structure finale.

La réaction de Biginelli peut être catalysée de différentes façons. En effet, il existe à ce jour des centaines de catalyseurs reportés pour cette réaction. Cependant, ces derniers peuvent être classés dans 5 catégories : les acides de Brønsted (HCl ²⁵³, H_2SO_4 ²⁵⁴, etc...), les acides de Lewis (InBr_3 ²⁵⁵, $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ ²⁵⁶, etc...), les liquides ioniques ($[\text{Bmim}][\text{FeCl}_4]$ ²⁵⁷, etc...) ou encore les organocatalyseurs (acide citrique²⁵⁸, acide tartrique²⁵⁹, etc...).

²⁵³ Světlík, J.; Kettmann, V. The chameleon-like behaviour of 3-amino-1,2,4-triazole in the Biginelli reaction: unexpected formation of a novel spiroheterocyclic system. *Tet. Lett.* **2011**, 52, 1062-1066.

²⁵⁴ Hassani, Z.; Islami, M. R.; Kalantari, M. An efficient one-pot synthesis of octahydroquinazolinone derivatives using catalytic amount of H_2SO_4 in water. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 4479-4482.

²⁵⁵ Fu, N.-Y.; Yuan, Y.-F.; Cao, Z.; Wang, S.-W.; Wang, J.-T.; Peppe, C. Indium(III) bromide-catalyzed preparation of dihydropyrimidinones: improved protocol conditions for the Biginelli reaction. *Tetrahedron* **2002**, 58, 4801-4807.

Dans ce travail, ce sont des catalyseurs de type acides de Lewis qui ont été utilisés pour réaliser la synthèse des DHPMs. En effet, ces derniers sont suffisamment réactifs tout en offrant des conditions de réaction douces et sont faciles à éliminer en fin de réaction. Dans un premier temps, les dérivés de **420-424**, substitués en position R₂ par un Me, ont été synthétisés en utilisant 5 mol% de nitrate de cérium hexahydrate Ce(NO₃)₃·6H₂O (Schéma 85).²⁶⁰ Après seulement 15 minutes à 70 °C, le milieu réactionnel prend en masse en donnant les produits désirés avec des rendements variant de 41 % à 98 %. Le rendement modeste du composé **31** est dû à la faible réactivité de l'aldéhyde aliphatique utilisé.

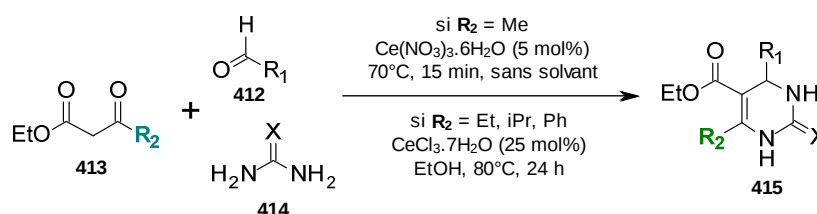


Schéma 85. Synthèse des DHPMs.

La préparation des composés **425** à **434**, fonctionnalisés en position R₂ par Et, *i*Pr et phényle, a donné des résultats insatisfaisants avec le protocole précédemment décrit. En effet, à l'issue de 24 h à 70 °C, le milieu réactionnel ne prend pas en masse, mais forme plutôt une huile très visqueuse qui rend l'isolation du produit extrêmement difficile. Ceci est probablement dû à une conversion incomplète. Néanmoins, la préparation de ce type de composé a déjà été reportée avec succès via une catalyse au chlorure de cérium heptahydrate CeCl₃·7H₂O.²⁶¹ Ainsi, la réaction nécessite d'être réalisée avec une charge catalytique plus élevée (25 mol%) au reflux de l'éthanol pendant 24 h.²⁶² Finalement, l'utilisation de ce protocole a permis l'obtention des produits **425** à **434** avec des rendements allant de 33 % à 76 %. Dans la plupart des cas, le produit précipite après refroidissement ou après ajout de glace pilée dans le milieu réactionnel. Les rendements obtenus indiquent que plus le dérivé 1,3-dicarbonyle est encombré plus la réaction est défavorisée. À titre d'exception, les rendements supérieurs obtenus avec les dérivés substitués en C⁶ par un phényle sont dus à la plus grande réactivité du dérivé 1,3-dicarbonyle correspondant qui bénéficie de la réactivité de la position benzylique. Malgré nos différentes tentatives, nous n'avons pas réussi à synthétiser de dérivés portant un groupement benzyle et un groupement autre que méthyle en position R₂ en raison d'une trop faible réactivité des réactifs correspondants (Schéma 86). En effet, la faible réactivité du phénylacétaldéhyde **416**, déjà observé lors de la préparation de **424**, couplé à la faible réactivité des composés 1,3-dicarbonyle encombrés doivent probablement rendre la réaction très difficile à réaliser. Le fait que la littérature ne recense aucun composé de ce type semble confirmer cette hypothèse.

²⁵⁶ Matache, M.; Dobrota, C.; Bogdan, N. D.; Dumitru, I.; Ruta, L. L.; Paraschivescu, C. C.; Farcasanu, I. C.; Baci, I.; Funeriu, D. P. Synthesis of fused dihydro-pyrimido[4,3-d]coumarins using Biginelli multicomponent reaction as key step. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 5949-5957.

²⁵⁷ Chen, X.; Peng, Y. Chloroferrate(III) Ionic Liquid: Efficient and Recyclable Catalyst for Solvent-free Synthesis of 3,4-Dihydropyrimidin-2(1H)-ones. *Catal. Lett.* **2008**, *122*, 310-313.

²⁵⁸ Ramu, E.; Kotra, V.; Bansal, N.; Varala, R.; Adapa, S. R. Green approach for the efficient synthesis of Biginelli compounds promoted by citric acid under solvent-free conditions. *Ras. J. Chem.* **2008**, *1*, 188.

²⁵⁹ Gore, S.; Baskaran, S.; Koenig, B. Efficient synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2-ones in low melting tartaric acid-urea mixtures. *Green Chem.* **2011**, *13*, 1009-1013.

²⁶⁰ Adib, M.; Ghanbary, K.; Mostofi, M.; Ganjali, M. Efficient Ce(NO₃)₃·6H₂O-Catalyzed Solvent-Free Synthesis of 3,4-Dihydropyrimidin-2(1H)-ones. *Molecules* **2006**, *11*, 649-654.

²⁶¹ Han, B.; Han, R.-F.; Ren, Y.-W.; Duan, X.-Y.; Xu, Y.-C.; Zhang, W. Efficient aerobic oxidative dehydrogenation of dihydropyrimidinones and dihydropyrimidines. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 5615-5620.

²⁶² Bose, D. S.; Fatima, L.; Mereyala, H. B. Green Chemistry Approaches to the Synthesis of 5-Alkoxy carbonyl-4-aryl-3,4- dihydropyrimidin-2(1H)-ones by a Three-Component Coupling of One-Pot Condensation Reaction: Comparison of Ethanol, Water, and Solvent-free Conditions. *J. Org. Chem.* **2002**, *68*, 587-590.

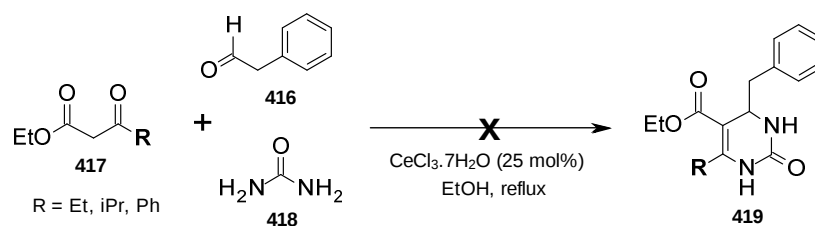


Schéma 86. Synthèse de dérivés substitués par un Bn en C⁴ et un groupement encombré en C⁶.

La synthèse de la série 2-thio a été réalisée après les premiers retours des activités biologiques de la série 2-oxo que nous aborderons à la fin de ce chapitre. Il a donc été décidé de synthétiser seulement les composés substitués en C⁶ par un groupement éthyle ou phényle. Ainsi, les DHPMs soufrées **435** à **440** sont obtenues avec de bons rendements variant de 48 % à 94 % et semblent suivre les mêmes règles de réactivités que pour la série 2-oxo. Les structures des DHPMs synthétisées **420-440** sont résumées dans la figure 67.

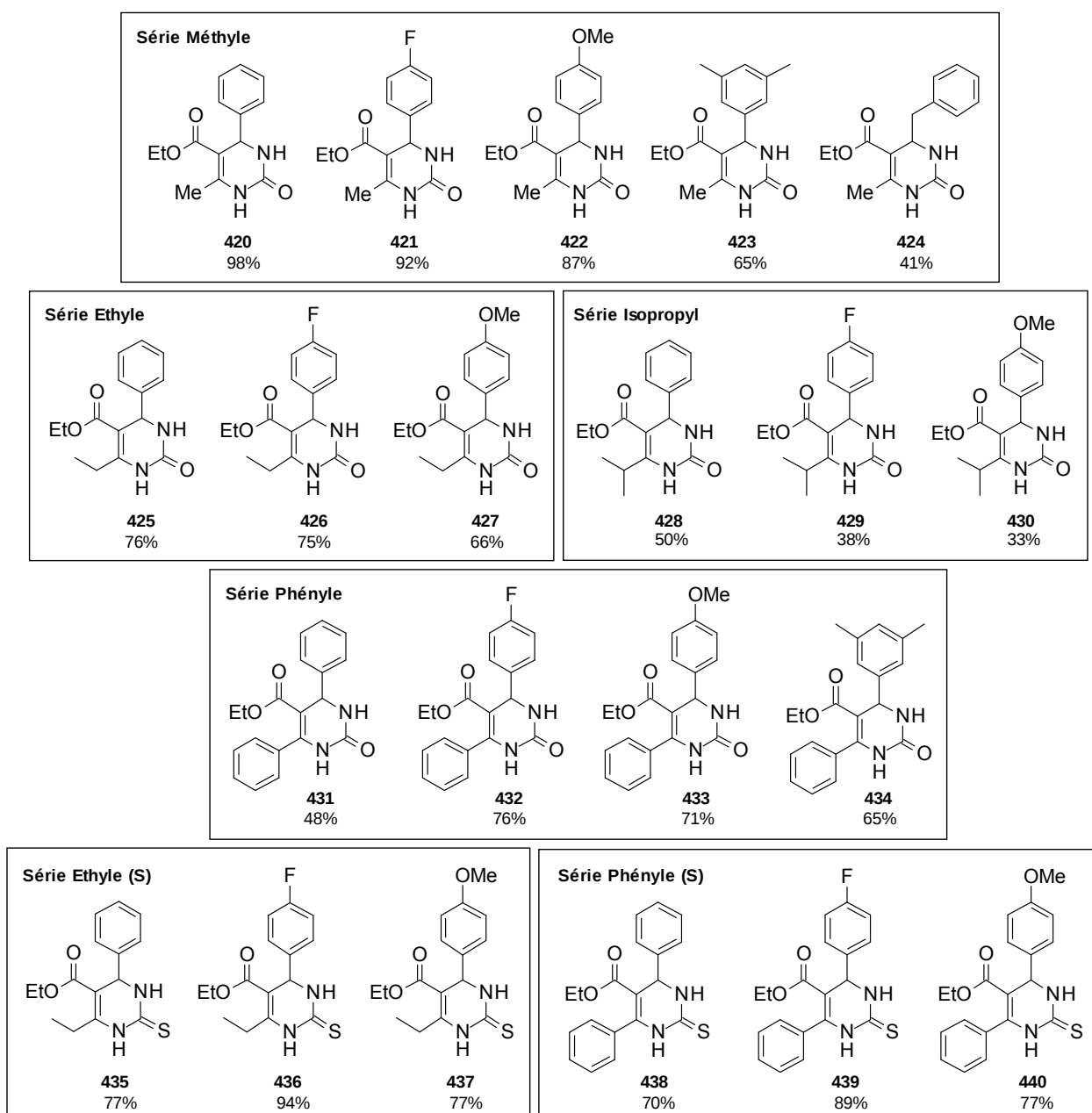


Figure 67. Librairie de DHPMs synthétisées

3. Aromatisation oxydante des DHPMs

La réaction d'aromatisation des 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones **441**, par déshydrogénation oxydante radicalaire, se solde par la perte d'un proton sur les positions 3 et 4 pour former le dérivé pseudo-aromatique **442** (Schéma 87). Ce dernier peut également être dessiné sous sa forme tautomère aromatique **50**. La littérature recense une multitude de conditions permettant de réaliser cette réaction dont voici une liste non exhaustive : MnO_2 ,²⁶³ DDO,²⁶³ PCC,²⁶³ KMnO_4 ,²⁶³ $\text{NaNO}_2/\text{AcOH}$,²⁶³ Pd/C ,²⁶⁴ $\text{RuCl}_3/\text{O}_2/\text{AcOH}$,²⁶⁵ Br_2 ,²⁶⁶ sulfure,²⁶⁷ FeCl_3 ,²⁶⁸ HNO_3 ,²⁶⁹ $\text{CuCl}_2/\text{K}_2\text{CO}_3/\text{tert-butylhydroperoxide}$,²⁷⁰ CAN/AcOH ,²⁷¹ $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}/\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$,²⁷² ou encore photo-oxydation²⁷³.

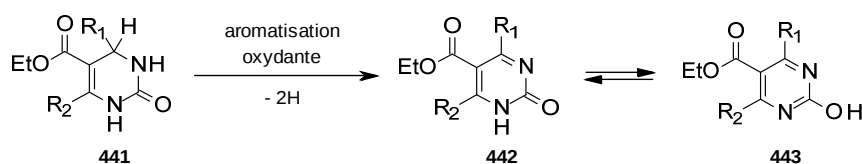
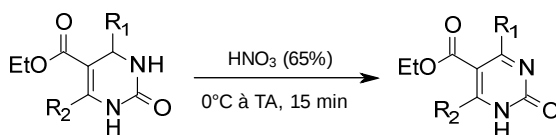


Schéma 87. Réaction d'aromatisation oxydante des DHPMs

Après avoir screené quelques-unes des méthodes listées ci-dessus, nous avons finalement opté pour l'utilisation de l'acide nitrique selon la procédure établie par Kappe *et al.*²⁶⁹ En effet, l'acide nitrique permet de réaliser l'aromatisation oxydante des DHPMs de façon très rapide avec des temps de réaction variant de 15 à 30 minutes selon les substrats (Tableau 19). La réaction étant relativement propre, l'isolation des produits aromatisés **444** à **458** nécessite seulement les étapes successives de neutralisation, extraction, recristallisation. Reportée uniquement avec des DHPMs substituées en C⁶ par un groupement méthyle, la réaction s'avère également opérationnelle avec les groupements Et, *i*Pr et Ph mais aussi pour le dérivé **31** portant un groupement benzyle en position 4. Dans l'ensemble, les rendements sont très satisfaisants et varient de 59 % à 92 %.

Tableau 19. Aromatisation oxydante des DHPMs avec l'acide nitrique à 65 %.



²⁶³ Vanden Eynde, J. J.; Audiart, N.; Canonne, V.; Michel, S.; Van Haverbeke, Y.; Kappe, C. O. Synthesis and Aromatization of Dihydropyrimidines Structurally Related to Calcium Channel Modulators of the Nifedipine-Type. *Heterocycles* **1997**, *45*, 1967-1978.

²⁶⁴ Rizzo, R. C.; Tirado-Rives, J.; Jorgensen, W. L. Estimation of Binding Affinities for HEPT and Nevirapine Analogues with HIV-1 Reverse Transcriptase via Monte Carlo Simulations. *J. Med. Chem.* **2000**, *44*, 145-154.

²⁶⁵ Mashraqui, S. H.; Karnik, M. A. Bismuth Nitrate Pentahydrate: A Convenient Reagent for the Oxidation of Hantzsch 1,4-Dihydropyridines. *Synthesis* **1998**, 713-714.

²⁶⁶ Snyder, C. A.; Thorn, M. A.; Klijanowicz, J. E.; Southwick, P. L. Preparation of compounds in the new dipyrrolo[3,4-b:3',4'-e]-pyridine series from 1-benzylidene-2,3-dioxopyrrolidines. A variation of the hantzsch synthesis. *J. Het. Chem.* **1982**, *19*, 603-607.

²⁶⁷ S. Varma, R.; Kumar, D. Solid state oxidation of 1,4-dihydropyridines to pyridines using phenyliodine(III) bis(trifluoroacetate) or elemental sulfur. *J. Chem. Soc., Perkin Tran.* **1999**, 1755-1758.

²⁶⁸ Lu, J.; Bai, Y.; Wang, Z.; Yang, B.; Li, W. Ferric chloride hexahydrate: a convenient reagent for the oxidation of hantzsch 1,4-dihydropyridines. *Synth. Comm.* **2001**, *31*, 2625-2630.

²⁶⁹ Puchala, A.; Belaj, F.; Kappe, C. O.; Bergman, J. On the reaction of 3,4-dihydropyrimidones with nitric acid. Preparation and x-ray structure analysis of a stable nitrolic acid. *J. Het. Chem.* **2001**, *38*, 1345-1352.

²⁷⁰ Yamamoto, K.; Chen, Y. G.; Buono, F. G. Oxidative Dehydrogenation of Dihydropyrimidinones and Dihydropyrimidines. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4673-4676.

²⁷¹ Shanmugam, P.; Perumal, P. T. Regioselective dehydrogenation of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones mediated by ceric ammonium nitrate. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 9726-9734.

²⁷² Shanmugam, P.; Perumal, P. T. An unusual oxidation-dealkylation of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones mediated by $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}/\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ in aqueous acetonitrile. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 666-672.

²⁷³ Memarian, H.; Farhadi, A. Light-induced dehydrogenation of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones. *Monatshefte für Chemie* **2009**, *140*, 1217-1220.

Entrée	DHPMs	R ₁	R ₂	Aromatisé	Rendement
1	420	Ph	Me	444	84 %
2	421	4-F-Ph	Me	445	59 %
3	422	4-MeO-Ph	Me	446	76 %
4	423	3,5-diMe-Ph	Me	447	81 %
5	424	Bn	Me	448	92 %
6	425	Ph	Et	449	86 %
7	426	4-F-Ph	Et	450	62 %
8	427	4-MeO-Ph	Et	451	81 %
9	428	Ph	<i>i</i> Pr	452	88 %
10	429	4-F-Ph	<i>i</i> Pr	453	74 %
11	430	4-MeO-Ph	<i>i</i> Pr	454	82 %
12	431	Ph	Ph	455	59 %
13	432	4-F-Ph	Ph	456	71 %
14	433	4-MeO-Ph	Ph	457	74 %
15	434	3,5-diMe-Ph	Ph	458	85 %

4. Alkylation des dérivés aromatisés avec une aryle cétone

4.1. Préparation de l'aryle cétone

Les dérivés aromatisés sont ensuite alkylés avec l'aryle cétone **460**. Cette dernière est obtenue par bromation radicalaire de la 4-méthylacetophénone **459** avec le *N*-bromosuccinimide en présence d'AIBN avec un rendement de 90 % (Schéma 88).²⁷⁴

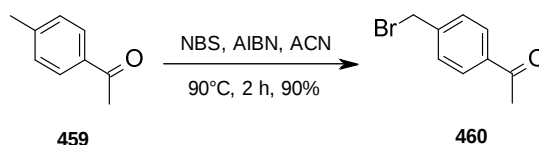


Schéma 88. Synthèse de l'aryle cétone **1** par bromation radicalaire

4.2. Réaction d'alkylation avec les DHPMs aromatisées

L'alkylation est réalisée par déprotonation en N¹ avec du carbonate de césium dans le DMF suivi de l'ajout de l'aryle cétone **460**. La réaction, réalisée à température ambiante, est relativement lente et nécessite entre 24

²⁷⁴ Pieck, J. C.; Kuch, D.; Grolle, F.; Linne, U.; Haas, C.; Carell, T. PNA-Based Reagents for the Direct and Site-Specific Synthesis of Thymine Dimer Lesions in Genomic DNA. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1404-1405.

h et 36 h pour atteindre une conversion totale. Les rendements obtenus pour les produits alkylés **461** à **475** sont relativement faible variant de 31 % à 56 % (Tableau 20). Il est à noter que les rendements restent inchangés lorsque l'on élève la température ou que l'on réalise la réaction avec un plus grand excès de **460**. Cette faible réactivité peut être attribuée à la proximité de l'ester α,β -insaturé qui appauvrit la nucléophilie de l'azote. On remarque également que plus on augmente la taille du groupement alkyle en 6, plus le rendement de la substitution nucléophile est amélioré. Ce résultat peut être expliqué par un effet inductif donneur plus important des groupements alkyles vers l'azote augmentant légèrement sa nucléophilie.

Tableau 20. N¹-Alkylation des dihydropyrimidines avec **460**

Entrée	DHPM	R ₁	R ₂	N ¹ -alkylé	Rendement
1	444	Ph	Me	461	31 %
2	445	4-F-Ph	Me	462	35 %
3	446	4-MeO-Ph	Me	463	38 %
4	447	3,5-diMe-Ph	Me	464	32 %
5	448	Bn	Me	465	33 %
6	449	Ph	Et	466	46 %
7	450	4-F-Ph	Et	467	43 %
8	451	4-MeO-Ph	Et	468	49 %
9	452	Ph	<i>i</i> Pr	469	53 %
10	453	4-F-Ph	<i>i</i> Pr	470	56 %
11	454	4-MeO-Ph	<i>i</i> Pr	471	54 %
12	455	Ph	Ph	472	39 %
13	456	4-F-Ph	Ph	473	43 %
14	457	4-MeO-Ph	Ph	474	44 %
15	458	3,5-diMe-Ph	Ph	475	36 %

Une structure possédant un bras espaceur de type di-aryle a également été synthétisée afin d'évaluer l'impact de l'éloignement de la fonction β -dicétoacide de la DHPM sur l'inhibition de l'intégrase. La préparation de l'unité **480** que l'on souhaite greffer à la DHPM a été réalisée en 3 étapes à partir du 4-(bromométhyl)benzoate de méthyle **476** (Schéma 89). Dans un premier temps, l'ester méthylique est réduit en alcool par traitement avec un excès de DIBAL-H pour donner quantitativement **477**.²⁷⁵ Un couplage de

²⁷⁵ Bridger, G. J.; Skerlj, R. T.; Hernandez-Abad, P. E.; Bogucki, D. E.; Wang, Z.; Zhou, Y.; Nan, S.; Boehringer, E. M.; Wilson, T.; Crawford, J.; Metz, M.; Hatse, S.; Princen, K.; De Clercq, E.; Schols, D. Synthesis and Structure–Activity Relationships of Azamacrocyclic C-X-C Chemokine Receptor 4

Suzuki avec l'acide boronique **478** permet ensuite d'introduire le second aromatique avec un rendement de 77 %. ²⁴¹ La fonction hydroxyle benzylique de **479** est ensuite convertie en brome par une variante de la réaction d'Appel. Ainsi, un traitement par la triphénylphosphine et le *N*-bromosuccinimide a permis l'obtention du bromure de benzyle **480** avec un rendement de 98 %. Enfin, c'est l'intermédiaire aromatisé **449** qui a été choisi pour réaliser l'étape d'alkylation suivant le protocole décrit précédemment pour obtenir le dérivé alkylé **481** avec 52 % de rendement.

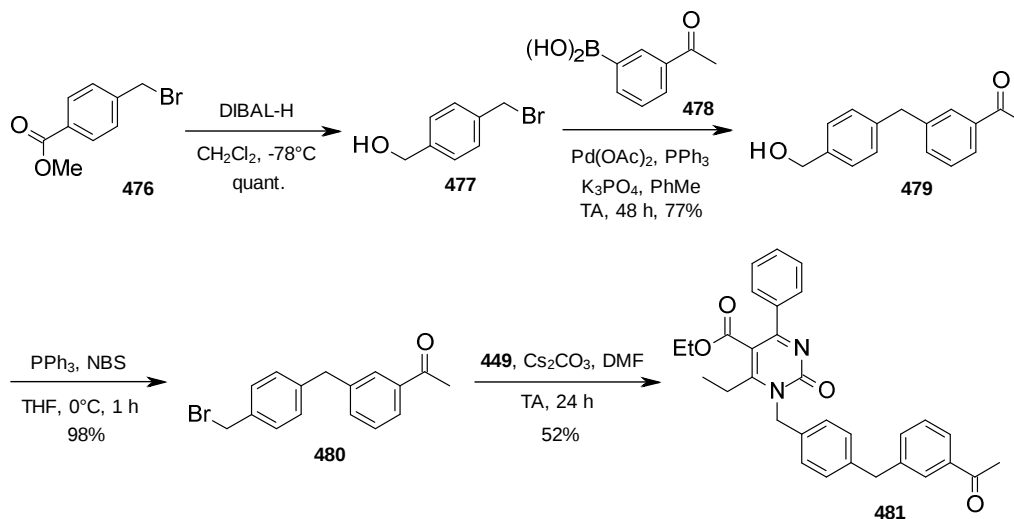


Schéma 89. Préparation d'un analogue portant un espaceur di-aryle.

5. Développement de la série 2-thio

Comme signalé précédemment, le schéma réactionnel impliquant les dérivés 2-thio a nécessité une légère modification afin d'obtenir les composés *S*-alkylés aromatisés désirés. En effet, lors de nos essais préliminaires, la tentative d'aromatisation oxydante de la DHPM **438** par l'acide nitrique selon le protocole présenté précédemment pour la série 2-oxo s'est soldée par un échec. En effet, au contact de l'acide nitrique à 0 °C, la DHPM a réagi violemment de façon exothermique menant rapidement à la dégradation du composé probablement par oxydation de l'atome de soufre (Schéma 90).

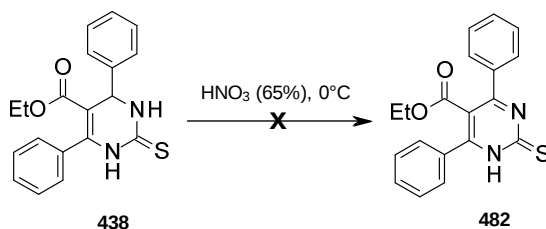
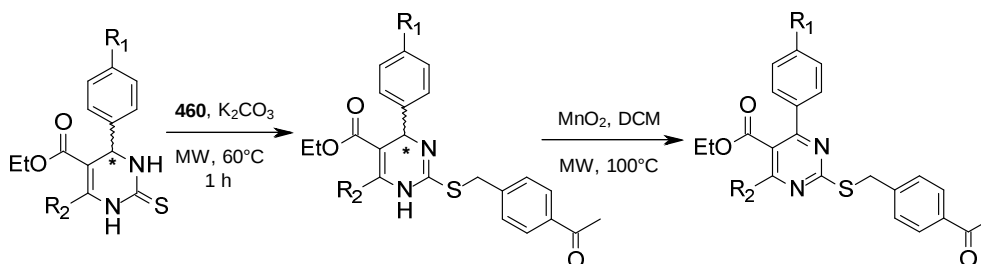


Schéma 90. Tentative d'aromatisation des dérivés soufrés avec HNO₃.

Nous nous sommes donc tournés vers une approche différente qui fait d'abord intervenir une étape d'alkylation. Cette dernière se fait sélectivement sur l'atome de soufre en raison de sa plus grande nucléophilie comparé aux atomes d'azotes présents sur la structure. Ainsi, les DHPMs **435** à **440** ont été *S*-

alkylées avec **460** après déprotonation avec K_2CO_3 sous irradiation micro-onde à 60 °C pendant 1 h (Tableau 21).²⁷⁶ L'analyse RMN 1H du brut réactionnel a mis en évidence la présence de deux isomères due au centre asymétrique en position 4. Ceci ne constituait pas un problème puisque l'aromatisation de la structure à l'étape suivante permet de s'affranchir du centre asymétrique. Ainsi, le mélange d'isomères a été traité avec l'oxyde de manganèse dans le dichlorométhane sous irradiation micro-onde à 100 °C pendant 30 min.²⁷⁶ De cette façon, les dérivés S-alkylés aromatisés **483-488** sont obtenus avec des rendements variant de 39 % à 49 % sur deux étapes.

Tableau 21. Alkylation aromatisation des dérivés soufrés



Entrée	DHPM	R ₁	R ₂	S-alkylé	Rendement ^a
1	435	H	Et	483	48 %
2	436	F	Et	484	43 %
3	437	OMe	Et	485	49 %
4	438	H	Ph	486	35 %
5	439	F	Ph	487	49 %
6	440	OMe	Ph	488	39 %

^a rendement sur 2 étapes

En parallèle, nous avons également étudié la séquence alkylation/aromatisation de la DHPM **95** possédant un groupement benzyle en position 4 (Schéma 91). L'étape d'alkylation en vue d'obtenir le dérivé S-alkylé **96** a été réalisée avec succès suivant les conditions décrites précédemment. Toutefois, un résultat inattendu a été observé après l'étape d'aromatisation avec MnO_2 . En effet, l'analyse RMN du produit obtenu **97** a montré la perte du groupement benzyle et l'apparition d'un proton relativement déblindé à 8.94 ppm qui correspond au proton H^4 . En réalité, les réactions d'aromatisations sur ce type de noyau sont extrêmement difficiles à réaliser lorsqu'un groupement alkyle se trouve en position 4. En effet, une réaction de déalkylation rentre alors en compétition avec la déshydrogénation que l'on souhaite réaliser. Ce type de réaction secondaire a déjà été observée avec des structures similaires substituées en 4 par des groupements propyle, isopropyle ou encore *tert*butyle.²⁷⁰ Il est important de noter que la réaction de déalkylation est favorisée lorsque l'espèce radicalaire générée est stabilisée. Ainsi, un groupement *tert*butyle, menant à un radical tertiaire, sera plus facilement déalkylé de la DHPM qu'un groupement propyle. Dans notre cas, le clivage du groupement benzyle de **490** peut être expliqué par le mécanisme illustré dans le schéma 92.

²⁷⁶ Matloobi, M.; Kappe, C. O. Microwave-Assisted Solution- and Solid-Phase Synthesis of 2-Amino-4-arylpyrimidine Derivatives. *J. Comb. Chem.* **2007**, *9*, 275-284.

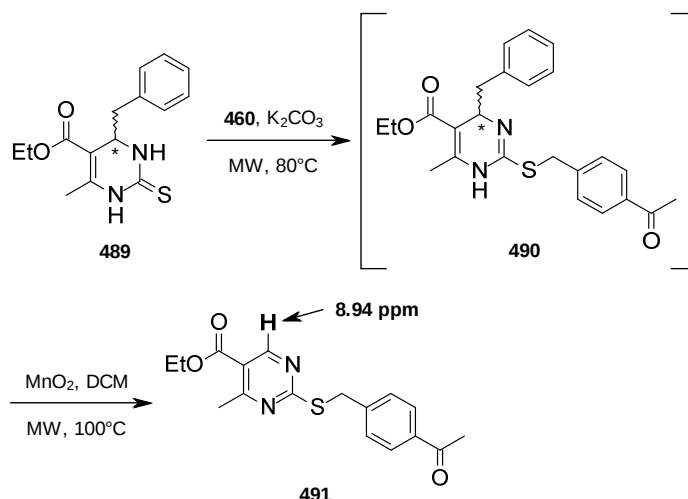


Schéma 91. Tentative d'alkylation/aromatisation de la DHPM 95.

L'action de l'oxyde de manganèse permet dans un premier temps l'abstraction d'un proton $H^\bullet$ par coupure homolytique de la liaison N^1-H qui génère le radical **492**, lui même en équilibre avec **493**. Ce dernier peut ensuite évoluer de deux façons différentes. Une première possibilité est l'abstraction d'un second $H^\bullet$ menant au composé désiré **494**. Alternativement, il peut y avoir départ d'un radical benzylique menant au composé déalkylé **491**. Dans notre cas, nous avons observé quasi exclusivement le produit de déalkylation **493** accompagné seulement de traces du produit désiré **494**.

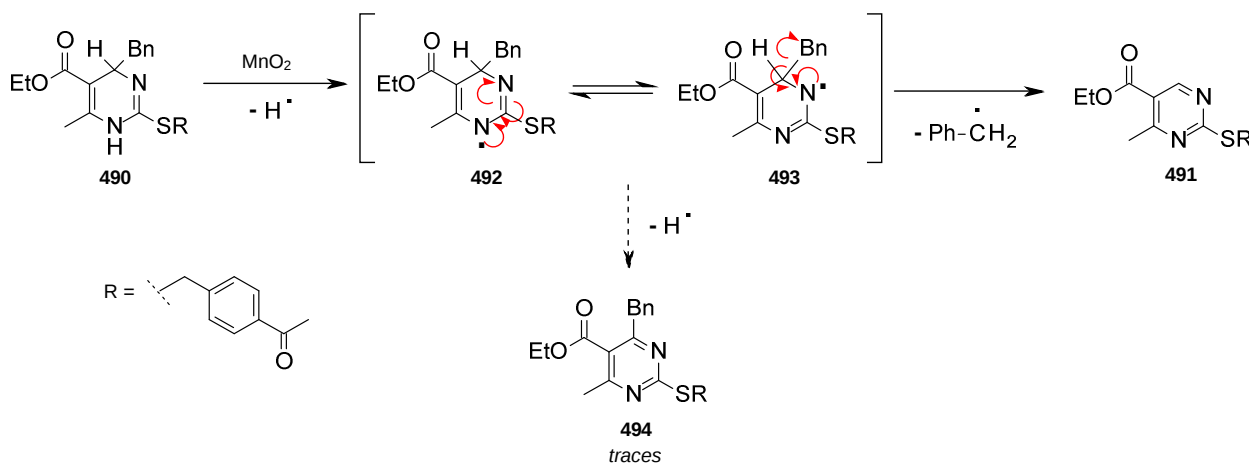


Schéma 92. Mécanisme de la réaction de déalkylation.

Il en résulte que le départ du radical benzylique $Ph-CH_2^\bullet$ est beaucoup plus favorable que le départ de $H^\bullet$. Ce résultat n'est pas surprenant lorsque l'on considère la très grande stabilité des radicaux benzyliques qui sont eux-mêmes plus stables que les radicaux alkyles. De façon intéressante, la DHPMs correspondante en série 2-oxo n'avait pas donné lieu à ce type de réaction secondaire puisque le dérivé aromatisé avait été obtenu avec un excellent rendement. Ce phénomène de déalkylation constitue donc une limitation importante des réactions d'aromatisations oxydantes en série 2-thio. De plus, ce type de déalkylation a également été reporté plus généralement pour les dihydropyridines DHPs (composés de Hantzsch).²⁷⁷ Faute de temps, nous n'avons pas pu pousser notre investigation plus loin pour cette réaction.

²⁷⁷ (a) Jin, M.-Z.; Yang, L.; Wu, L.-M.; Liu, Y.-C.; Liu, Z.-L. Novel photoinduced aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines. *Chem. Comm.* **1998**, 2451-2452. (b) Zhu, X.-Q.; Zhao, B.-J.; Cheng, J.-P. Mechanisms of the Oxidations of NAD(P)H Model Hantzsch 1,4-Dihydropyridines by Nitric Oxide

6. Synthèse des dérivés β -dicétoacides

La méthode la plus courante pour obtenir les β -dicétoacides nécessite le passage par un β -dicétoester. Sa préparation consiste à condenser une méthyle cétone sur un ester oxalique. De nombreuses bases ont été reportées pour la déprotonation de la méthyle cétone parmi lesquelles on retrouve : Me/EtONa²⁴¹, tBuONa/Li²⁷⁸, NaH²³⁹, K/LiHMDS²⁷⁹. Bien que le MeONa semble être la base la plus fréquemment utilisée, dans notre cas, nous avons préféré éviter l'utilisation d'alcoolate en raison de la présence d'un ester éthylique sur notre structure. L'utilisation de NaH posait également un problème puisque selon les protocoles décrits dans la littérature, il était nécessaire de porter la réaction à reflux afin d'obtenir une conversion totale. En effet, voulant mener la réaction plutôt à basse température de façon contrôlée, notre choix s'est porté sur le LiHMDS qui est moins réactif que le BuLi mais qui réagit très bien à -78 °C. Les conditions choisies ont d'abord été appliquées à un modèle simple avec la 4-méthylacétophénone **459** (Schéma 93). Le traitement de la méthyle cétone avec LiHMDS à -78 °C dans le THF pendant 1 h suivi de l'ajout du diéthyle oxalate a permis d'obtenir aisément le produit de condensation **495** sous forme de sels de lithium. Une dernière étape d'hydrolyse acide a finalement mené au produit désiré **496** avec un rendement de 98 %.

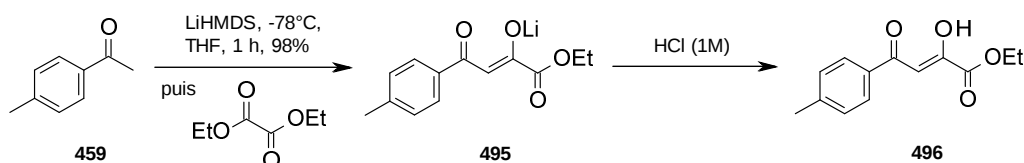


Schéma 93. Préparation de β -dicétoester à partir d'une méthyle cétone.

Ces conditions ont ensuite été appliquées à nos substrats. Parmi ces derniers, les dérivés **461** à **464** ont posé des problèmes liés à la formation de produits secondaires lors de la réaction. En effet, ces composés possèdent un groupement méthyle en position 6 dont les protons présentent une acidité suffisante pour être déprotonnée par le LiHMDS et réagissent par conséquent avec le diéthyle oxalate. Tous ces dérivés mènent donc irrémédiablement à des mélanges difficilement séparables de plusieurs produits. De plus, les produits issus de l'étape de condensation ne peuvent être purifiés sur colonne en raison d'une instabilité du β -dicétoester sur gel de silice. Par conséquent, les produits bruts sont engagés dans la réaction de saponification pour obtenir la fonction β -dicétoacide. Celle-ci est réalisée par un traitement avec une solution aqueuse de LiOH (1M) dans le THF à température ambiante pendant 1 h. Les produits finaux étant extrêmement polaire et instable sur silice (acide), une chromatographie phase inverse C18 a été choisie pour l'étape de purification. Toutefois, les composés **499** et **500** n'ont malheureusement pas pu être séparés des différents produits secondaires de la réaction. En revanche, les dérivés β -dicétoacide **497**, **498** et **501** ont pu

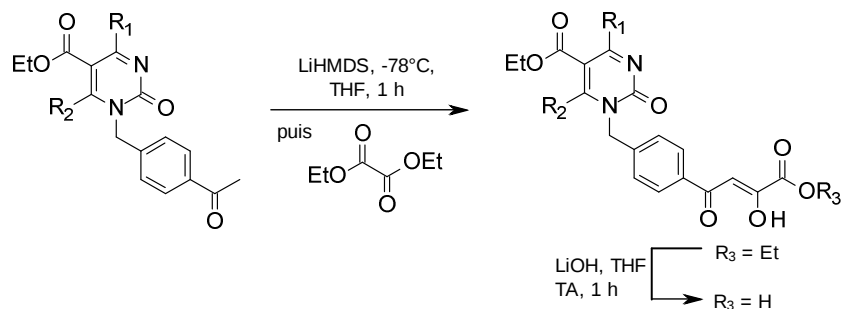
and Its Donor N-Methyl-N-nitrosotoluene-p-sulfonamide. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 8158-8163. (c) Anniyappan, M.; Muralidharan, D.; Perumal, P. T. A novel application of the oxidizing properties of urea nitrate and peroxydisulfate-cobalt(II): aromatization of NAD(P)H model Hantzsch 1,4-dihydropyridines. *Tetrahedron* **2002**, 58, 5069-5073. (d) Han, B.; Liu, Q.; Liu, Z.; Mu, R.; Zhang, W.; Liu, Z.-L.; Yu, W., A Metal-Free Catalytic Aerobic Aromatization of Hantzsch 1,4-Dihydro-pyridines by N-Hydroxyphthalimide. *Synlett* **2005**, 2333-2334.

²⁷⁸ (a) Nair, V.; Uchil, V.; Neamati, N. β -Diketo acids with purine nucleobase scaffolds: Novel, selective inhibitors of the strand transfer step of HIV intégrase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 1920-1923. (b) Jiang, J.-A.; Huang, W.-B.; Zhai, J.-J.; Liu, H.-W.; Cai, Q.; Xu, L.-X.; Wang, W.; Ji, Y.-F. 'One-pot' synthesis of 4-substituted 1,5-diaryl-1H-pyrazole-3-carboxylates via lithium tert-butoxide-mediated sterically hindered Claisen condensation and Knorr reaction. *Tetrahedron* **2013**, 69, 627-635.

²⁷⁹ Zhao, X. Z.; Semenova, E. A.; Liao, C.; Nicklaus, M.; Pommier, Y.; Burke Jr, T. R. Biotinylated biphenyl ketone-containing 2,4-dioxobutanoic acids designed as HIV-1 integrase photoaffinity ligands. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 7816-7825. (b) Hwang, S. H.; Wagner, K. M.; Morisseau, C.; Liu, J.-Y.; Dong, H.; Weckler, A. T.; Hammock, B. D. Synthesis and Structure-Activity Relationship Studies of Urea-Containing Pyrazoles as Dual Inhibitors of Cyclooxygenase-2 and Soluble Epoxide Hydrolase. *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 3037-3050.

être isolés avec des rendements moyens variant de 51 % à 66 % en deux étapes (Tableau 22). Les substrats **466-475** possédant un groupement éthyle, *isopropyle* ou *phényle* n'ont posé aucun problème de réactivité menant aux β -dicétoacide **502-511** avec d'excellents rendements variant de 89 % à 98 % en deux étapes.

Tableau 22. Préparation des dérivés β -dicétoacides en série 2-oxo.



Entrée	Départ	R_1	R_2	β -dicétoacide	Rendement ^a
1	461	Ph	Me	497	51 %
2	462	4-F-Ph	Me	498	57 %
3	463	4-MeO-Ph	Me	499	n.d. ^b
4	464	3,5-diMe-Ph	Me	500	n.d. ^b
5	465	Bn	Me	501	66 %
6	466	Ph	Et	502	98 %
7	467	4-F-Ph	Et	503	91 %
8	468	4-MeO-Ph	<i>Et</i>	504	93 %
9	469	Ph	<i>iPr</i>	505	93 %
10	470	4-F-Ph	<i>iPr</i>	506	92 %
11	471	4-MeO-Ph	<i>iPr</i>	507	96 %
12	472	Ph	Ph	508	92 %
13	473	4-F-Ph	Ph	509	94 %
14	474	4-MeO-Ph	Ph	510	95 %
15	475	3,5-diMe-Ph	Ph	511	89 %

^a Rendement sur 2 étapes

^b Mélange inséparable de plusieurs produits

Le composé possédant le bras espaceur di-aryle **481** a également été soumis au même protocole donnant le β -dicétoacide **512** avec 96 % de rendement (Schéma 94).

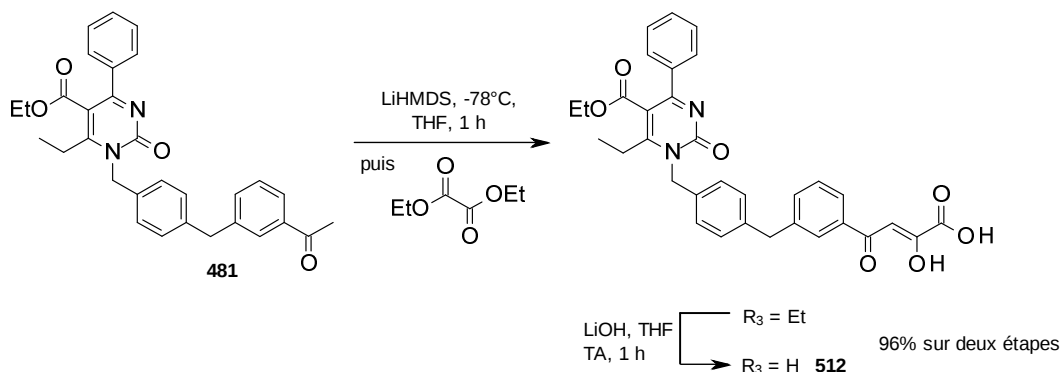
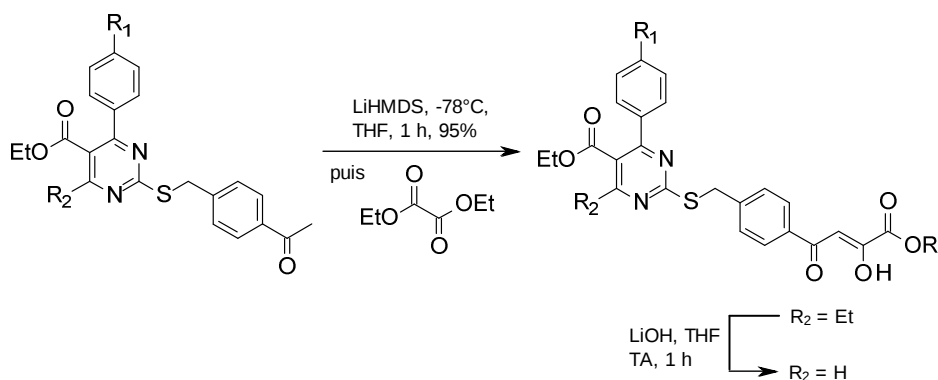


Schéma 94. Préparation du dérivé β -dicétoacide portant un espaceur diaryle.

Les composés *S*-alkylés aromatisés **483-488** ont été traités de la même façon pour obtenir les dérivés β -dicétoacides **513-518** avec des rendements variant de 89 % à 98 % sur deux étapes (Tableau 23). Pour finir, nous avons réalisé le profil HPLC de tous les produits finaux et confirmé une pureté supérieure à 95 % pour chacun d'entre eux.

Tableau 23. Préparation des dérivés β -dicétoacides en série 2-thio.



Entrée	Départ	R ₁	R ₂	β -dicétoacide	Rendement ^a
1	483	H	Et	513	96 %
2	484	F	Et	514	94 %
3	485	OMe	Et	515	89 %
4	486	H	Ph	516	98 %
5	487	F	Ph	517	92 %
6	488	OMe	Ph	518	90 %

^a Rendement sur 2 étapes

7. Évaluation antivirale

7.1. Tests enzymatiques

Les composés β -dicétoacides synthétisés dans ce travail ont été testés pour leur activité inhibitrice de l'intégrase du VIH au niveau du 3'-processing (3'-P) et du transfert de brin (ST) par l'équipe du Pr. Yves Pommier du *National Institute of Health* de Bethesda, aux États-Unis. Le principe des tests enzymatique est expliqué dans la figure 68. Dans la partie (a) de cette figure, nous pouvons voir l'oligonucléotide à 21 paires qui sera utilisé comme "ADN viral". La séquence de cet oligonucléotide, radiomarqué au ^{32}P en position 5'-terminal, est identique à la partie U5 de l'unité LTR que l'on retrouve aux 2 extrémités de l'ADN viral. Suite au 3'-P, qui se solde par l'excision du dinucléotide GT, on obtient un nouvel oligonucléotide à 19 paires qui peut aisément être séparé par électrophorèse. D'autre part, la réaction de transfert de brin génère une série de produits dont la séquence est naturellement supérieure à 21 paires. Les parties (b) et (c) de la figure représentent respectivement une expérience d'inhibition du 3'-P et du ST. La séparation est réalisée sur gel par électrophorèse (élution vers le bas). Pour chaque expérience, le premier dépôt ne contient que l'oligonucléotide à 21 paires (ADN). Dans le second on réalise le mélange oligonucléotide + intégrase (IN). Enfin, dans les 4 derniers dépôts, on ajoute également un inhibiteur de 3'-P ou de ST à différentes concentrations. L'inhibition du 3'-P est caractérisée par l'absence ou la diminution du spot concernant l'oligonucléotide à 19 paires. L'inhibition du ST se remarque par l'absence ou la diminution des spots situés dans la moitié supérieure. Il est à noter que les inhibiteurs de ST n'interfèrent pas sur le 3'-P puisque l'intensité du spot concernant l'oligonucléotide à 19 paires reste inchangée.

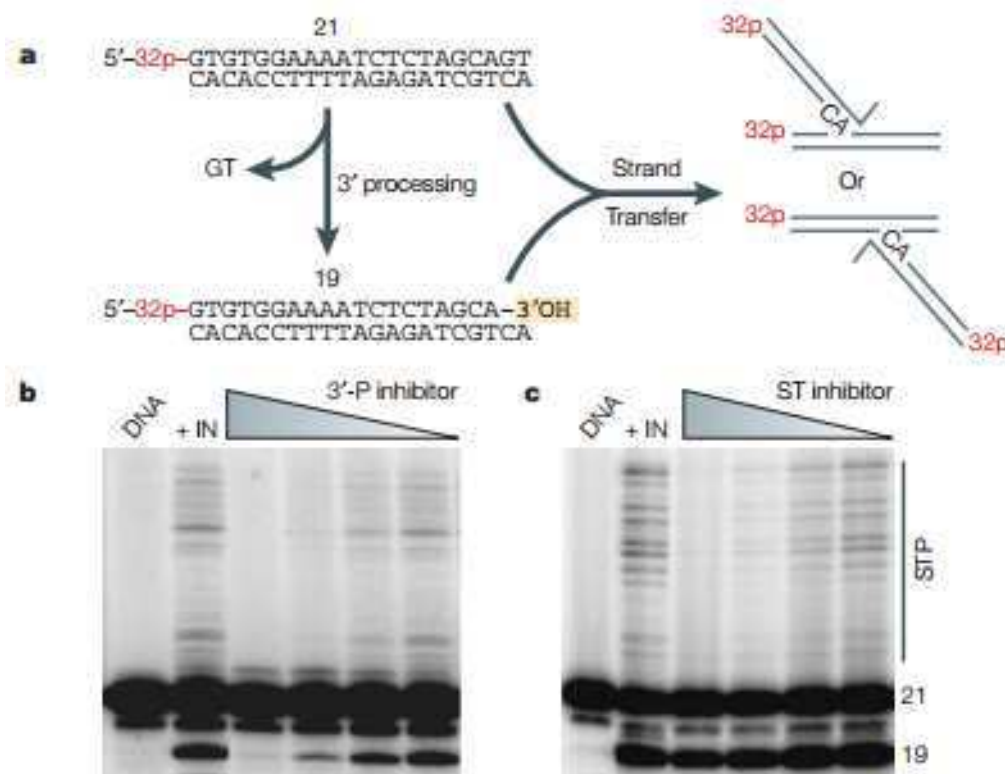


Figure 68. Principe des tests enzymatiques.²¹³

Les IC₅₀ (en μM) obtenus avec nos dérivés sont résumés dans le tableau 24. Tout d'abord on remarque que nos composés inhibent préférentiellement l'étape de ST avec des IC₅₀ de l'ordre du sub- μM . Bien que les IC₅₀ obtenus sont sensiblement du même ordre de grandeur, il semble que certains paramètres stériques puissent influencer sur l'activité. En effet, l'encombrement en C⁶ apparaît comme étant défavorable puisque les composés **505** à **511**, en série 2-oxo, et **516** à **518**, en série 2-thio, substitués par des groupements *i*Pr et Ph présentent les moins bonnes activités. Seules les structures substituées en C⁶ par un méthyle ou un éthyle présentent des activités intéressantes. Parmi ces dernières, le dérivé **62** possédant un groupement benzyle en position 4 se démarque de façon significative du reste avec un IC₅₀ de 0.19 μM . Concernant la substitution des aromatiques, dans l'ensemble, la présence d'un atome de fluor est plus favorable que celle d'un groupement méthoxy. Le dérivé **502** possédant un aromatique non substitué et un groupement éthyle en position 6 s'avère également être un bon inhibiteur avec un IC₅₀ de 0.64 μM . L'espaceur di-aryle du dérivé **512** n'apporte aucune amélioration significative puisqu'il possède une activité comparable au produit **502**.

Tableau 24. Résultat des tests enzymatiques sur l'intégrase.

Entrée	β -DKAs	R ₁	R ₂	X	3'-P		ST	
					IC ₅₀ ^b (μM)	SD	IC ₅₀ ^b (μM)	SD
1	497	Ph	Me	O	> 111	-	2.4	1.9 - 3.0
2	498	4-F-Ph	Me	O	17.4	15.2 - 20.2	1.3	1.2 - 1.4
5	501	Bn	Me	O	16.9	14.0 - 20.4	0.19	0.08 - 0.45
6	502	Ph	Et	O	19.1	15.7 - 23.2	0.64	0.49 - 0.82
7	503	4-F-Ph	Et	O	35	± 8	1.1	± 0.4
8	504	4-MeO-Ph	Et	O	72	31 - 165	5.6	2.2 - 14.0
9	505	Ph	<i>i</i> Pr	O	37.5	32.3 - 43.6	2.3	1.7 - 3.1
10	506	4-F-Ph	<i>i</i> Pr	O	40	± 12	3.6	± 0.8
11	507	4-MeO-Ph	<i>i</i> Pr	O	19.2	14.9 - 24.7	3.3	2.1 - 5.2
12	508	Ph	Ph	O	18.4	16.7 - 20.2	2.0	1.7 - 2.4
13	509	4-F-Ph	Ph	O	16.6	14.3 - 19.3	2.4	1.9 - 3.1
14	510	4-MeO-Ph	Ph	O	17.2	14.3 - 20.6	1.9	1.3 - 2.9
15	511	3,5-diMe-Ph	Ph	O	16.3	13.1 - 20.3	1.3	0.9 - 1.9
16	512	Ph ^a	Et	O	22.5	20.5 - 24.5	0.85	± 0.12
17	513	Ph	Et	S	21.1	± 1.2	2.23	± 0.27
18	514	4-F-Ph	Et	S	29.3	± 3.5	0.92	± 0.14
19	515	4-MeO-Ph	Et	S	30.7	± 2.7	2.27	± 0.28
20	516	Ph	Ph	S	30.0	± 4	6.1	± 1.4
21	517	4-F-Ph	Ph	S	22.0	± 4	2.8	± 0.9
22	518	4-MeO-Ph	Ph	S	23.0	± 4	1.2	± 0.3
23	Raltégravir	-	-	-	-	-	0.013	± 0.001

^a structure avec un bras espaceur di-aryle

^b concentration requise pour induire 50 % d'inhibition

7.2. Etude de docking

Afin de mieux comprendre les interactions de nos composés avec l'intégrase, une étude de docking a été réalisée en collaboration avec l'équipe du Pr. Pascal Bonnet au service de modélisation moléculaire de l'ICOA. Cette étude a été réalisée avec la structure pdb actualisée de l'intégrase 3OYA référencée récemment par Cherpanov *et al.*²⁸⁰ Divers travaux de docking au sein du site actif de l'intégrase ont déjà été réalisés avec notamment le Raltégravir **379** qui a été choisi comme référence dans cette étude.²⁸¹ Pour commencer, le docking du Raltégravir a été renouvelé au sein de la structure RX de l'intégrase afin de déterminer les résidus impliqués dans les interactions (Figure 69). La seconde étape consistait ensuite à réaliser le docking de nos structures et d'observer les différences et les superpositions par rapport au Raltégravir. Parmi les molécules soumises au docking seule la structure **502** (Figure 70 et 71) a été retenue, car elle reproduit la pose du Raltégravir avec la double chélation plane sur les 2 ions Mg^{2+} . Il est à noter que cette structure représente l'un des dérivés les plus actifs au niveau enzymatique. Au vu des résultats de docking obtenus, on observe la perte de plusieurs interactions de π stacking observées avec le Raltégravir. En effet, malgré une bonne superposition du motif chélatant DKA, l'orientation du reste de la molécule se fait vers le solvant du côté ADN provoquant la perte des interactions de stacking.

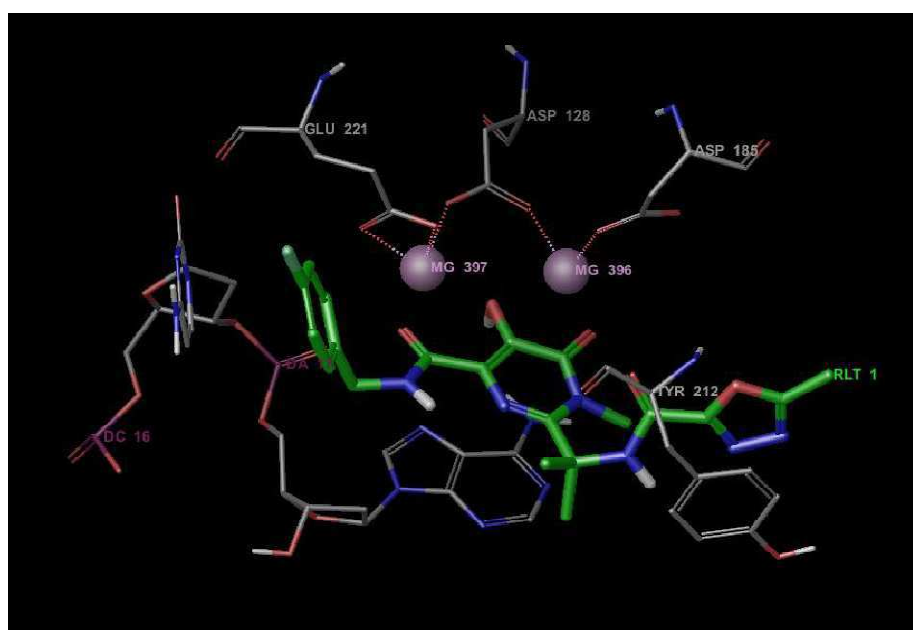


Figure 69. Interaction Raltégravir/Intégrase/ADN

Chélation avec Mg396 et Mg397 avec comme partenaires de la protéine : Asp185, Asp128 et Glu221.

π stacking entre le cycle oxo diazole et la Tyr212, π stacking entre le *p*-fluorobenzyl et DC16

π stacking entre le cycle central et DA17

²⁸⁰ Hare, S.; Vos, A. M.; Clayton, R. F.; Thuring, J. W.; Cummings, M. D.; Cherepanov, P. Molecular mechanisms of retroviral integrase inhibition and the evolution of viral resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, 1-6.

²⁸¹ Barreca, M. L.; Iraci, N.; De Luca, L.; Chimirri, A. Induced-Fit Docking Approach Provides Insight into the Binding Mode and Mechanism of Action of HIV-1 Integrase Inhibitors. *ChemMedChem* **2009**, 4, 1446-1456.

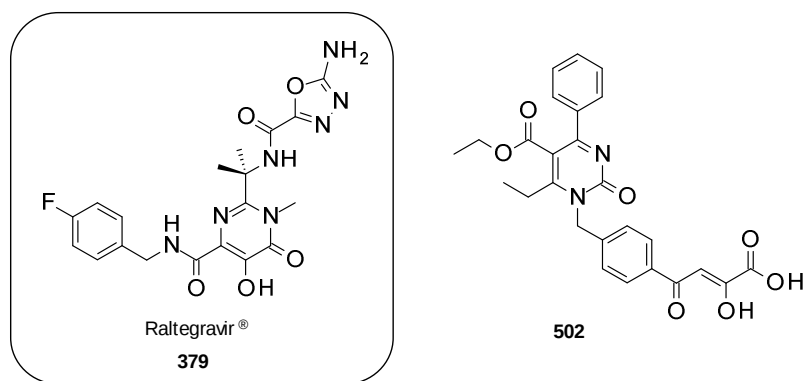


Figure 70. Raltégravir et dérivé de notre série ayant obtenu le meilleur score.

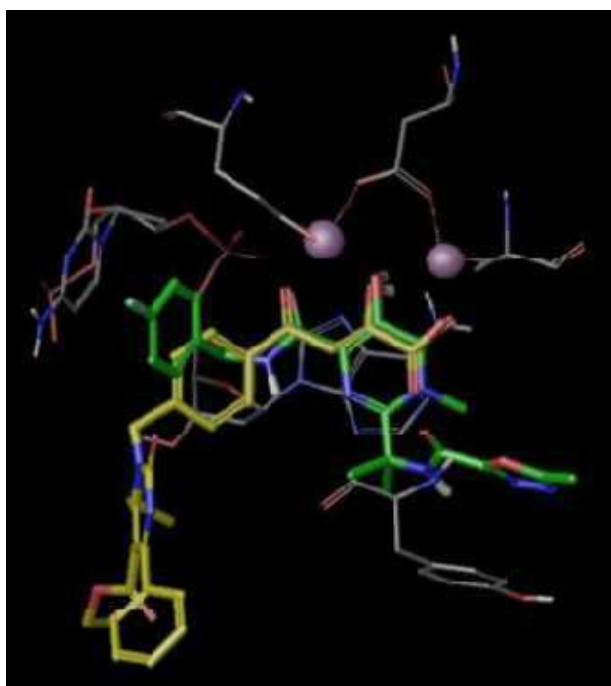


Figure 71. (a) Raltégravir 379 (vert) et 502 (jaune).

7.3. Tests cellulaires

L'évaluation de l'activité antivirale *in vitro* de nos dérivés a été réalisée par l'équipe du Pr. Raymond Schinazi à Atlanta, aux États-Unis. Malheureusement, les tests réalisés contre VIH-1 n'ont pas révélé d'activité significative ni de toxicité aux concentrations testées (100 μ M) (Tableau 25). Compte tenu des résultats encourageants obtenus lors des tests enzymatiques, la perte de l'activité antivirale des composés *in vitro* est probablement liée à une faible pénétration cellulaire.

Nair *et al.*²⁸² ont déjà reporté ce type de problème avec les dérivés β -dicétoacides. A titre d'exemple, sur leur composé *lead*, une perte de 2 log est observée entre l'inhibition du transfert de brin (IC_{50} = 6 nM) lors des

²⁸² Seo, B. I.; Uchil, V. R.; Okello, M.; Mishra, S.; Ma, X.-H.; Nishonov, M.; Shu, Q.; Chi, G.; Nair, V. Discovery of a Potent HIV Integrase Inhibitor That Leads to a Prodrug with Significant anti-HIV Activity. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, 2, 877-881.

tests enzymatiques et l'activité anti-VIH *in vitro* ($EC_{50} = 500$ nM). La fonction acide étant la principale mise en cause, les auteurs ont préparé une forme prodrogue de sorte à masquer la fonction acide par un ester (*iPr*). De cette façon, une activité cellulaire ($EC_{50} = 9$ nM) comparable à l'activité enzymatique a pu être obtenue. Il est à noter que la forme ester de la molécule n'a montré aucune activité sur l'intégrase lors des tests enzymatiques. Ce résultat suggère que l'ester est effectivement hydrolysé dans la cellule et que, par conséquent, la forme acide est bien l'espèce active.

Tableau 25. Résultat des tests cellulaires contre VIH-1.

Entrée	β -DKAs	R ₁	R ₂	X	EC ₅₀ ^b (μ M)	CC ₅₀ ^c (μ M)
1	497	Ph	Me	O	> 100	> 100
2	498	4-F-Ph	Me	O	> 100	> 100
5	501	Bn	Me	O	> 100	> 100
6	502	Ph	Et	O	> 100	> 100
7	503	4-F-Ph	Et	O	96.5	> 100
8	504	4-MeO-Ph	Et	O	67.1	> 100
9	505	Ph	<i>iPr</i>	O	> 100	> 100
10	506	4-F-Ph	<i>iPr</i>	O	> 100	> 100
11	507	4-MeO-Ph	<i>iPr</i>	O	81.9	> 100
12	508	Ph	Ph	O	> 100	> 100
13	509	4-F-Ph	Ph	O	> 100	> 100
14	510	4-MeO-Ph	Ph	O	> 100	> 100
15	511	3,5-diMe-Ph	Ph	O	> 100	> 100
16	512	Ph ^a	Et	O	> 100	> 100
17	513	Ph	Et	S	...	...
18	514	4-F-Ph	Et	S	...	...
19	515	4-MeO-Ph	Et	S	...	...
20	516	Ph	Ph	S	88.5	> 100
21	517	4-F-Ph	Ph	S	> 100	> 100
21	518	4-MeO-Ph	Ph	S	> 100	> 100
23	Raltégravir	-	-	-	0.003	> 100

^a Structure avec un bras espaceur di-aryle.

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

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

Ainsi, il serait intéressant de réaliser la synthèse de la forme prodrogue des molécules les plus actives **501** et **502** (Figure 72). En effet, considérant le log(P), les formes prodrogues sont nettement moins polaires que leur forme acide et par conséquent ils devraient passer plus aisément la membrane cellulaire. La synthèse de

ces formes prodrogues sera prochainement réalisée au laboratoire afin de vérifier l'hypothèse de la faible pénétration cellulaire.

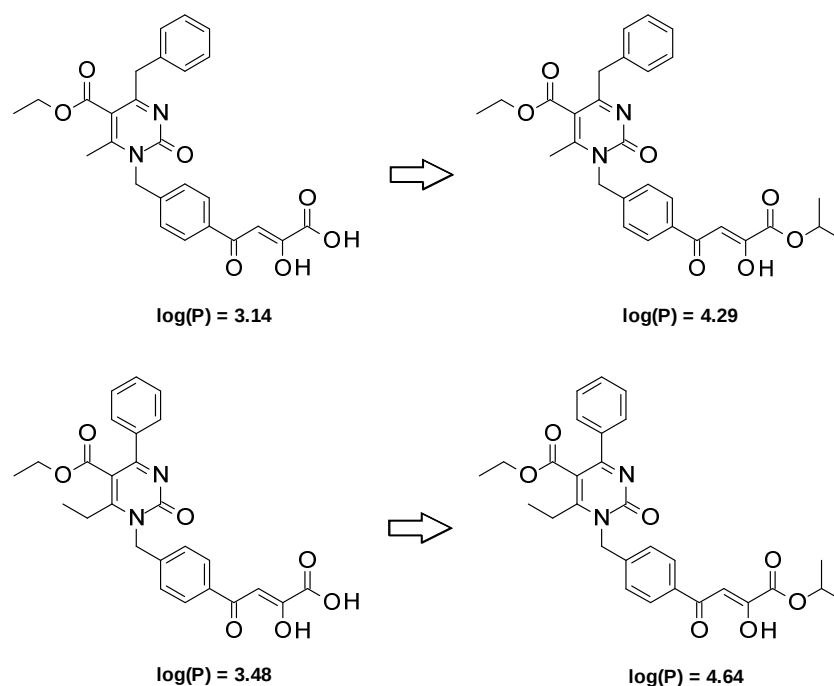


Figure 72. Préparation de la forme prodrogue des produits les plus actifs

IV. Conclusion et perspectives

Au cours de ce projet, 21 dérivés β -dicétoacides construits autour d'un noyau dihydropyrimidine (DHPM) ont été synthétisés. La synthèse des DHPMs, en série 2-oxo et 2-thio, a été réalisée par la réaction de Biginelli. Les réactions successives d'aromatisation/alkylation, en série 2-oxo, et d'alkylations/aromatisations, en série 2-thio, ont permis l'introduction de l'aryle cétone respectivement par *N*-alkylation et *S*-alkylation. Cette cétone a ensuite servi de support pour la préparation de la fonction β -dicétoacide.

L'évaluation de l'activité antivirale des molécules a initialement été réalisée au niveau enzymatique sur l'intégrase du VIH. Certains dérivés ont révélé une inhibition sub- μ molaire sélectivement sur l'étape de transfert de brin. Toutefois, les tests cellulaires n'ont pas révélé d'activité significative. L'activité enzymatique et cellulaire étant généralement bien corrélées pour les β -dicétoacides et leurs isostères, nos structures souffrent probablement d'une faible pénétration cellulaire. Le développement des formes prodrogues de nos structures pourrait donc permettre d'évaluer leur véritable potentiel antiviral.

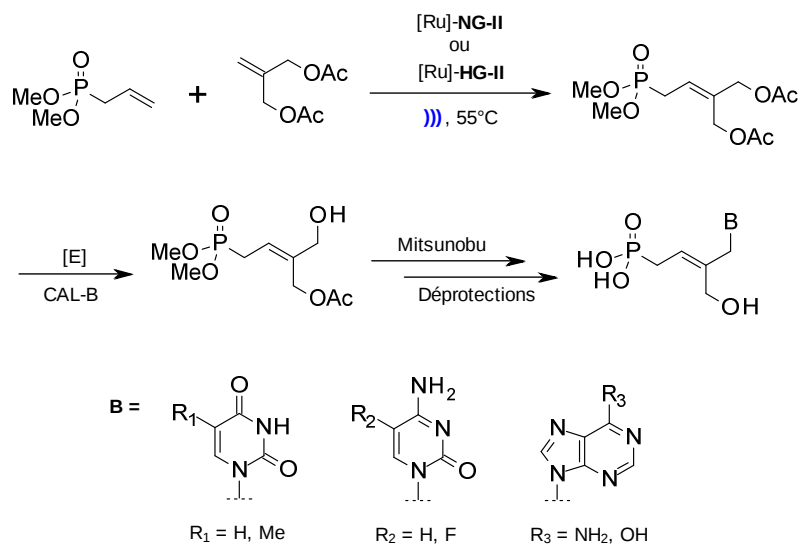
Conclusion générale

Avec plus de 40 composés approuvés, les analogues de nucléosides représentent aujourd'hui une famille incontournable dans la chimiothérapie antivirale. Intensément étudiés et utilisés ces cinquante dernières années, ces outils thérapeutiques se heurtent de plus en plus à des phénomènes de résistances et s'avèrent souvent impuissants face aux virus émergents. C'est pourquoi la conception et la synthèse de nouvelles familles d'antiviraux restent toujours un axe de recherche majeur. De plus, la toxicité intrinsèque de certains médicaments pourrait être diminuée par le développement de nouvelles formes prodrogues plus sélectives tout en améliorant leur activité antivirale ainsi que leur biodisponibilité.

Dans ce contexte, les outils de la synthèse organique moderne tels que les réactions métallo-catalysées permettent de développer des méthodologies particulièrement efficaces pour la préparation de nouvelles molécules à visée thérapeutique. A ce titre, les réactions de métathèse croisée, les différents couplages métallo-catalysés (Sonogashira, 1,3-diène, etc...) ou encore les réactions multicomposantes tel que la réaction de Biginelli peuvent conduire, en un nombre d'étapes limité, à des molécules d'une grande diversité structurale.

▪ C'est ainsi que dans une première partie nous avons d'abord réalisé la synthèse de deux nouvelles familles d'acyclonucléosides alkényles, analogues potentiels des dérivés HPMP et PMP. Ces ANPs oléfiniques, substitués sur leur chaîne acyclique par un hydroxyméthyle ou un méthyle, ont été préparés par réaction de métathèse croisée.

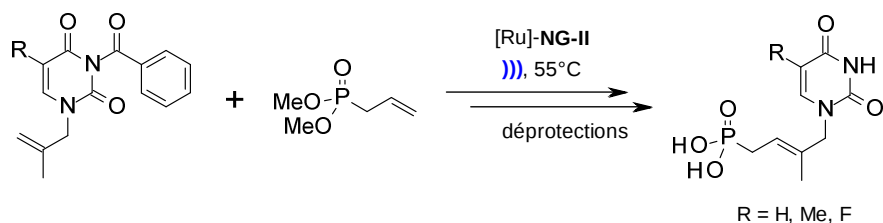
Nous nous sommes d'abord intéressés aux dérivés de type 2'-hydroxyméthyle-but-2'-énylphosphonates. La préparation de ces derniers nous a conduits à étudier la réaction de métathèse entre un allyle phosphonate, oléfine de type I, et une oléfine 1,1-disubstituée de type III. Les différentes optimisations réalisées pour cette réaction nous ont permis de mettre en évidence un "effet ultrasons" qui améliore considérablement la formation de l'oléfine tri-substituée.



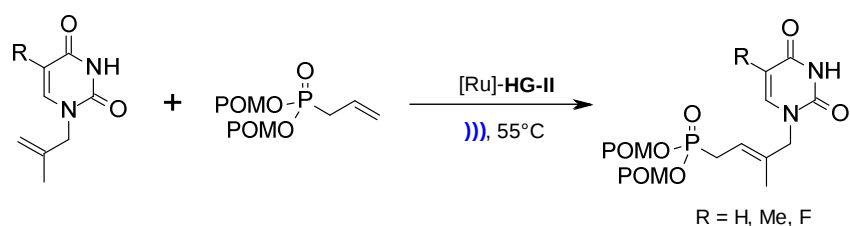
Le diacétate obtenu a ensuite été déprotégé régiosélectivement par une hydrolyse chémoenzymatique. Parmi les enzymes utilisées, seule la lipase *Candida Antarctica* B a montré une sélectivité totale pour le groupement *trans*-acétyle ciblé. Le synthon phosphonate hydroxylé a ensuite été couplé avec différentes bases puriques et pyrimidiques dans les conditions de Mitsunobu. Enfin, les produits sous forme acide phosphonique ont été obtenus après les étapes de déprotections. La préparation du synthon hydroxylé a

également été réalisée sous forme *bis*-POM en suivant la même stratégie. La méthodologie présentée dans cette partie a fait l'objet d'une publication dans le journal *Organic Letters*.¹⁵⁰

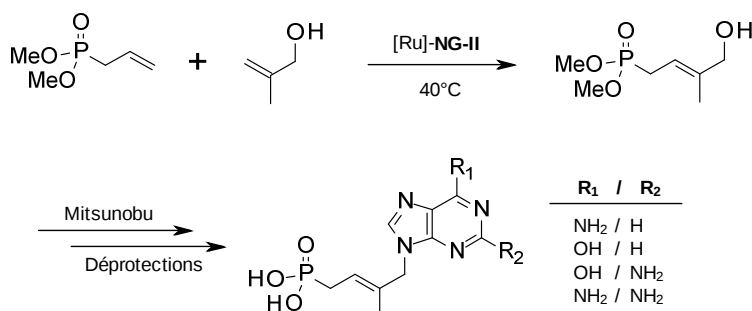
Par la suite, nous avons réalisé la synthèse d'une deuxième série d'ANPs alkényles de type 2'-méthyle-but-2'-énylphosphonates. La méthodologie développée dans la série précédente a été mise à contribution afin d'accéder rapidement aux dérivés sous forme acide phosphonique. Ainsi, la métathèse croisée réalisée sous ultrasons, entre diverses bases pyrimidiques (uracile, thymine et 5-fluorouracile) alkylées et le diméthyle allylphosphonate, a permis d'obtenir les produits désirés avec des rendements supérieurs à 90%.



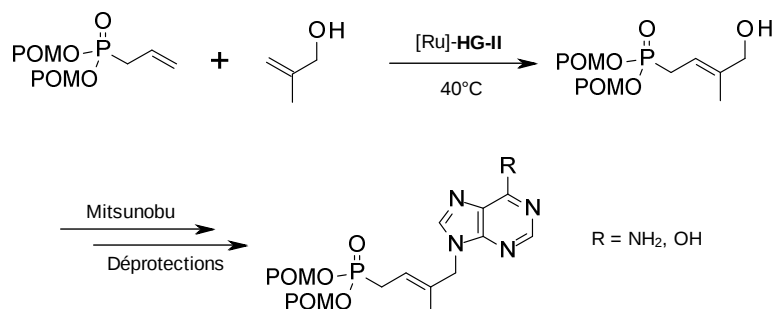
Les dérivés pyrimidiques ont ensuite été préparés sous leur forme prodrogue *bis*-POM en une seule étape par métathèse croisée avec les bases pyrimidiques non-protégées et le *bis*-POM allylphosphonate. Toutefois, malgré l'utilisation du catalyseur, plus réactif, d'Hoveyda-Grubbs (**HG-II**), les rendements de la métathèse dans cette série se sont avérés plus faibles en raison de la présence d'une fonction NH libre sur la structure.



Du fait de l'incompatibilité des bases puriques avec la réaction de métathèse, nous avons adopté une stratégie alternative pour ce type de nucléobase impliquant la préparation d'un synthon phosphonate hydroxylé. Ce dernier a été préparé par métathèse croisée entre le diméthyle allylphosphonate et le 2-méthyl-2-propèn-1-ol. De façon intéressante, cette réaction de métathèse s'est avérée parfaitement opérationnelle en l'absence des ultrasons probablement en raison d'une gêne stérique moins importante sur l'oléfine 1,1-disubstituée. Ce synthon a ensuite été couplé avec les bases puriques en utilisant toujours les conditions de Mitsunobu. Les étapes de déprotections ont finalement permis d'obtenir les dérivés puriques désirés portant une adénine, une guanine, une hypoxanthine ou encore une 2,6-diamopurine.

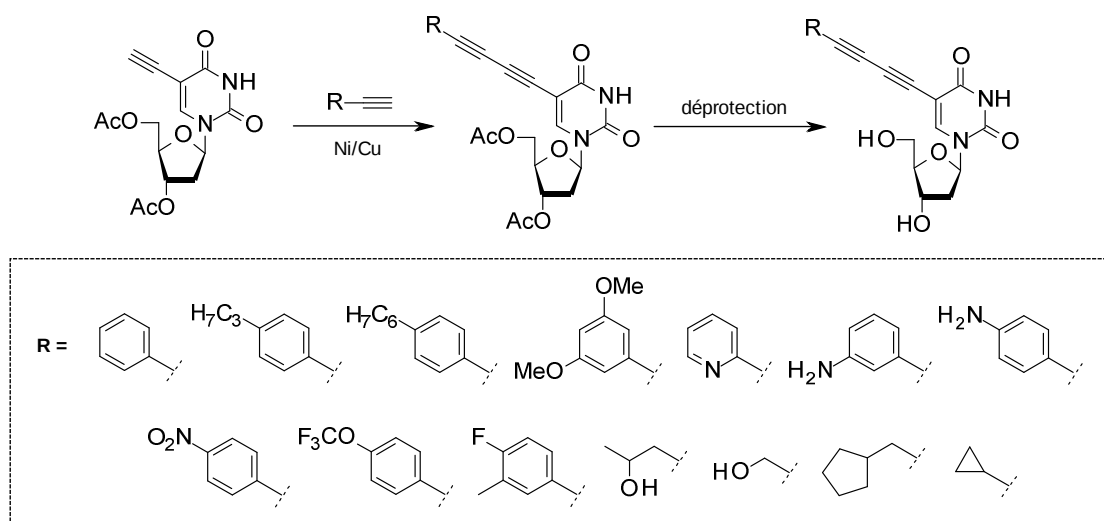


Le même synthon a également été préparé sous forme *bis*-POM en suivant la même stratégie. Ce dernier nous a permis de préparer un dérivé d'adénine et un dérivé d'hypoxanthine sous forme prodrogue.



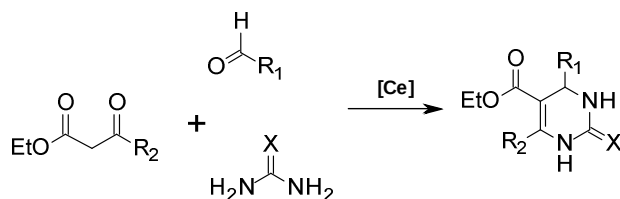
L'évaluation antivirale de tous les composés acycliques décrits dans ce manuscrit est en cours. Les résultats seront prochainement publiés.

■ Nous nous sommes ensuite intéressés aux analogues de nucléosides pyrimidiques C⁵-substitués. Ainsi, nous avons synthétisé une petite bibliothèque de 14 dérivés de 2'-déoxyuridine portant un motif 1,3-diène en position C⁵ de la nucléobase.

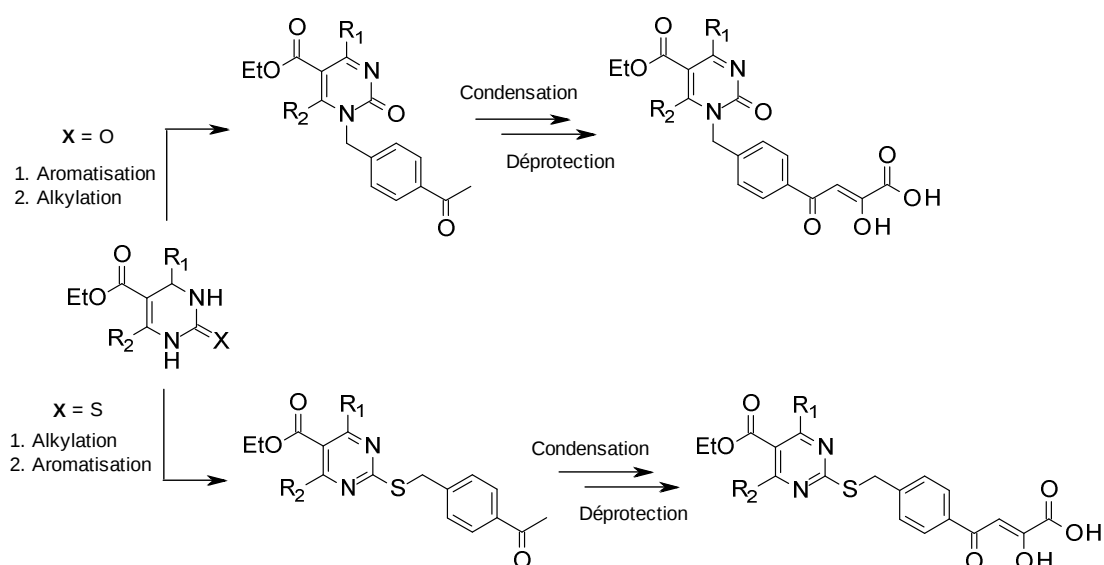


Ces dérivés ont été préparés par un couplage acétylénique entre un nucléoside portant une fonction C⁵-éthynyle et divers alcynes de nature aromatique ou alkyle. Nous avons initialement optimisé une procédure utilisant une catalyse au Pd/C et Cu, mais ce système a montré des incompatibilités avec les alcynes aromatiques fonctionnalisés et les alcynes alkylés. Finalement, les différents dérivés 1,3-diène ont été préparés avec succès via une catalyse au Ni et Cu. Certains dérivés de cette série ont présenté des activités intéressantes à des concentrations μM contre VZV TK⁺ et TK⁻. Ce travail a fait l'objet d'une publication dans le journal *European Journal of Medicinal Chemistry*.²¹¹

■ Enfin, dans la deuxième partie de ce manuscrit, nous avons présenté la synthèse de dérivés de dihydropyrimidines β -dicétoacides visant une activité anti-VIH par inhibition de l'intégrase virale. Les dihydropyrimidines ont été synthétisées par la réaction de Biginelli via une catalyse par les acides de Lewis à base de cérium ($\text{Ce}[\text{NO}_3]_4$, CeCl_3).



Les DHPMs, en série 2-oxo ($X = O$) ont été soumis à une réaction d'aromatisation suivie d'une alkylation en position N^1 de sorte à introduire un motif de type aryle cétone. Cette dernière a ensuite été condensée sur un ester oxalique pour former les β -dicétoesters correspondants qui mènent aux dérivés β -dicétoacides après saponification. Pour la série 2-thio ($X = S$), les DHPMs ont été successivement S -alkylées pour introduire l'aryle cétone puis aromatisées. Les dérivés ainsi obtenus ont ensuite été traités de la même façon qu'en série 2-oxo pour préparer les formes β -dicétoacides.



Les composés synthétisés dans cette série ont été évalués pour leur activité inhibitrice au niveau enzymatique sur l'intégrase. Une inhibition sélective sur l'étape de transfert de brin a été observée pour l'ensemble des composés avec des activités de l'ordre du sub- μ M pour certains d'entre eux. Toutefois, les tests cellulaires n'ont pas montré d'activité significative contre VIH-1. L'absence de corrélation entre l'activité enzymatique et *in vitro* est probablement liée à la faible pénétration cellulaire de nos composés. La préparation de la forme prodrogue des structures les plus actives est envisagée par le laboratoire afin de vérifier cette hypothèse.

Partie expérimentale

Méthodes générales

Les manipulations en milieu anhydre sont effectuées dans de la verrerie flambée ou séchée à l'étuve, avec des solvants anhydres et sous atmosphère inerte (argon). Les solvants sont distillés selon les procédés décrits par D. D. Perrin, W. L. F. Armarego et D. R. Perrin, *Purification of Laboratory Chemicals*, Pergamon, Oxford, 1986.

Le CH_2Cl_2 est distillé sur CaH_2 . Le toluène et le THF sont distillés sur sodium / benzophénone. Le DMF, l'acétonitrile sont simplement séchés et conservés sur du tamis moléculaire.

Les contrôles chromatographiques sur couche mince sont réalisés sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice E. Merck 60F254 (épaisseur 0.2 mm). La visualisation est effectuée sous une lampe UV à 254 nm et 365 nm suivie (si nécessaire) d'une immersion dans un mélange $\text{EtOH} / \text{H}_2\text{O} / \text{H}_2\text{SO}_4$ puis chauffage au moyen d'un décapeur thermique, d'une solution de KMnO_4 ou d'acide phosphomolybdique.

Les séparations chromatographiques flash sont effectuées sur gel de silice E. Merck (0,036-0,063 mm) sous pression d'azote.

Les réactions sous irradiation micro-onde sont réalisées avec un appareil Biotage Initiator dans des vials sellés de 2-5 mL ou 10-20 mL. L'irradiation est réalisée en utilisant le niveau d'absorbance normal.

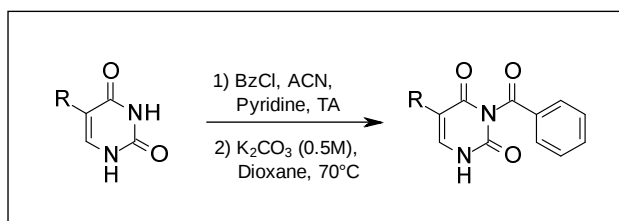
Les réactions sous ultrasons sont réalisées avec un appareil Elmasonic P30H avec une fréquence de 80 kHz et une puissance effective de 100 W.

Les spectres de RMN sont enregistrés à sur un spectromètre 400MHz Brucker Avance2 ou un 250 MHz Brucker Avance DPX250. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par million (ppm) en utilisant le TMS comme référence interne et les constantes de couplage (J) en Hertz (Hz). La multiplicité est exprimée de la manière suivante : singulet (s), doublet (d), triplet (t), quadruplet (q), quintuplet (quint), sextuplet (sex), septuplet (sept), multiplet (m).

Les spectres de masse haute résolution sont réalisés sur un spectromètre Bruker maXis par la plateforme de la "Fédération de Recherche" ICOA/CBM (FR2708).

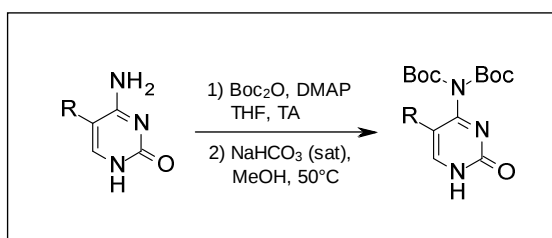
Partie A : Chapitre 1

General procedure 1 : N³-benzoylation of uracil analogs



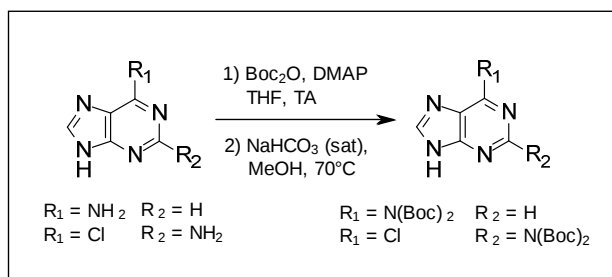
To a solution of C⁵-substituted uracil (1 g) in a 2/5 mixture of dry pyridine and dry acetonitrile (20 mL) was added benzoylchloride (3 equiv.). The reaction mixture was stirred 24 h at room temperature and concentrated under reduced pressure. The residue was partitioned between dichloromethane and water. The organic layer was separated and then evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in a mixture of aqueous potassium carbonate 0.5 M (20 mL) and 1,4-dioxane (40 mL) and stirred at 70 °C until complete conversion (typically 2h). The solution was cooled down to room temperature and the pH was lowered to 5 by addition of glacial acetic acid. The volatiles were evaporated under reduced pressure to initiate precipitation. The aqueous mixture was filtered and the residue was washed with cold water and diethyl ether to obtain the desired N³-denzoylated derivative as a white solid.

General procedure 2 : *bis*-Boc-protection of cytosine derivatives



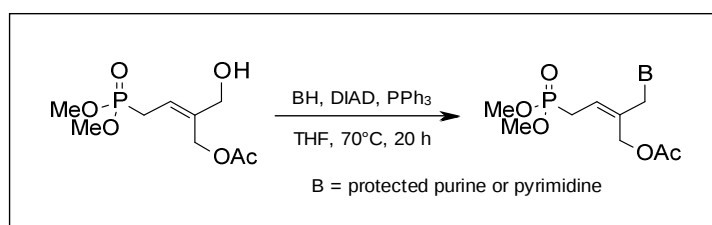
To a solution of cytosine derivative (1 g) in THF (30 mL) were added DMAP (0.1 equiv.) and Boc₂O (4 equiv.) under N₂. The solution was stirred 20 h at room temperature and evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in EtOAc, washed with HCl aq (1N), brine, dried over MgSO₄ and concentrated in *vacuo*. The crude *tris*Boc cytosine was dissolved in MeOH (100 mL) and saturated NaHCO₃ aq (40 mL) was added. The mixture was stirred 1 h at 50 °C and filtered. MeOH was removed from the mixture under reduced pressure and the solution was extracted with CH₂Cl₂, dried over MgSO₄ and concentrated in *vacuo* to afford *bis*-Boc-cytosine derivative as a white solid.

General procedure 3 : *bis*-Boc-protection of purine derivatives



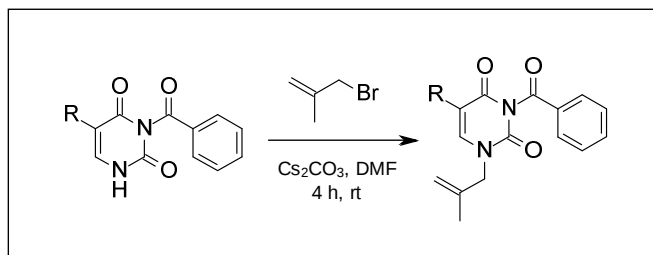
To a solution of purine (10 mmol) in THF (100 mL) was added DMAP (10 mol%) and Boc_2O (4 equiv.). The reaction mixture was stirred under argon atmosphere for 8 h at room temperature. The excess THF was removed by rotary evaporation to give a yellow oil. *Tris*Boc purine (10.0 mmol, unpurified) was dissolved in 400 mL of EtOAc and washed with 1 N aq HCl (30 mL) followed by brine (3 x 100 mL). The EtOAc layer was dried over MgSO_4 and evaporated to give a colorless oil. This oil was dissolved in 100 mL of MeOH, to which 45 mL of saturated aq NaHCO_3 was added. The turbid solution was stirred at 50 °C for 1 h. After evaporation of MeOH under reduced pressure, 100 mL of water was added to the suspension and the aqueous layer was extracted with CHCl_3 (2x 300 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered, and evaporated to give a *bis*-Boc purine as a white solid.

General procedure 4 : Mitsunobu reaction



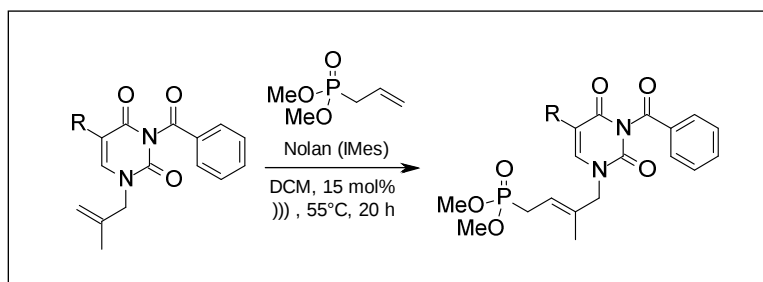
Monoacetate phosphonate derivative **205** (1.5 equiv.) was dissolved in THF (0.1 M), then protected pyrimidine or purine base (1 equiv.) and PPh_3 (1.5 equiv.) were sequentially added, then DIAD (1.5 equiv.) was added dropwise at room temperature. The mixture was heated at 70 °C for 20 h. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography EtOAc /MeOH (97:3) to give desired coupling product.

General procedure 5 : N¹-alkylation of N³-benzoylated uracil



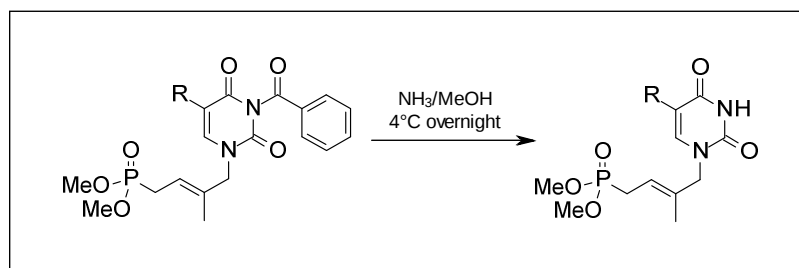
To a DMF (5 mL) solution of C⁵-substituted-N³-benzoyl-uracil derivatives (500 mg) were added K₂CO₃ (1.05 equiv.) and 3-bromo-2-methylpropene (1.05 equiv.) under argon atmosphere. After 3 h stirring at room temperature, the reaction mixture was diluted with EtOAc and then washed with water and brine. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (Petroleum Ether/EtOAc, 7:3 to 5:5) to afford the desired N¹-alkylated uracil derivative as a colorless oil.

General procedure 6 : Cross metathesis with dimethyl allylphosphonate



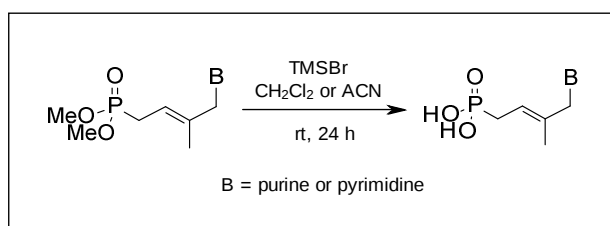
To a solution of dimethyl allylphosphonate (150 mg, 1.0 eq.) and N³-benzoyl-N¹-alkylated-C⁵-substituted uracil (2.0 eq.) in dry CH₂Cl₂ (10 mL, 0.1 M) was added RuCl₂(PCy₃)IMesBenzylidene Nolan's catalyst (15 mol%). The catalyst was added in three equal portions of 5 mol% (3x 0.05 mmol) at t = 0, 2 and 4 h over the course of the reaction. The solution was sonicated at 55 °C under gentle nitrogen flow during 20 h. Volatiles were evaporated and the residue was purified by silica gel column chromatography (CH₂Cl₂/MeOH, 99:1 to 98:2) to give the desired methylphosphonate derivative as a separable cis/trans mixture (15/85).

General procedure 7 : Deprotection of N³-benzoylated uracil derivatives



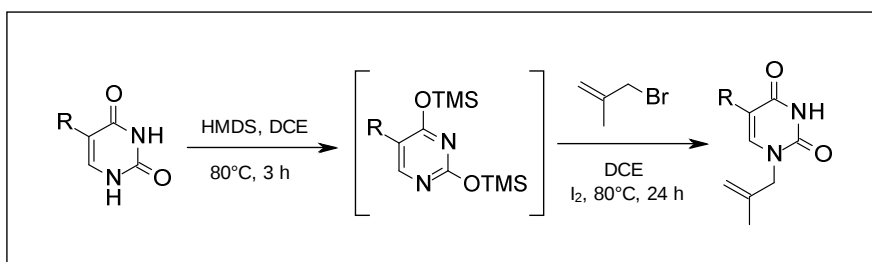
The debenzoylation of C⁵-substituted uracil derivatives (100 mg) was carried out at 4 °C overnight in a 7N methanol solution of ammonia (5 mL). After evaporation of all the volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography CH₂Cl₂/MeOH (99:1 to 93:7) to yield the desired debenzoylated derivative as a colorless oil.

General procedure 8 : Deprotection of methylphosphonates



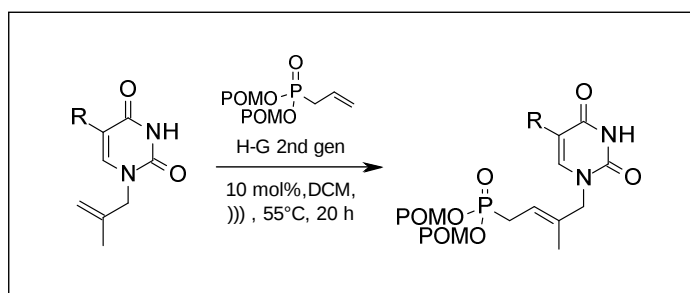
To a dry CH₂Cl₂ (for pyrimidine analogs) or ACN (for purine analogs) solution (0.05 M) of methylphosphonate derivative, TMSBr (6 eq.) was added at room temperature under nitrogen atmosphere. After 20 h stirring, MeOH was added to the reaction mixture which was then concentrated under reduced pressure. Coevaporations were repeated five times with MeOH. The residue was dissolved in deionized H₂O (ELGA® water). The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂. The aqueous layer was evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in water and adjusted to pH 8. The resulting solution was loaded to a column containing DOWEX-1X2 resin and purified with gradient eluent (0–0.25 M HCO₂H) to give the desired phosphonic acid as an amorphous solid.

General procedure 9 : N¹-alkylation of uracil analogs



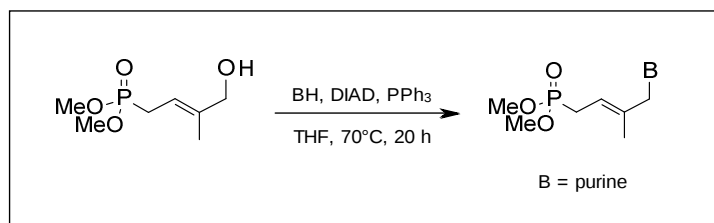
To a solution of uracil (500 mg) in DCE (8 mL) was added HMDS (1.0 equiv.) and TMSCl (one drop). The mixture was refluxed until clear solution was observed (typically 3 h). Volatiles were evaporated **carefully** and a solution of 2-bromomethyl-1-propene (1.0 equiv.) and I₂ (5 mol%) in DCE (9 mL) was added via *cannula*. After 24 h, the solution was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in EtOAc, washed with saturated Na₂S₂O₃, H₂O, brine and dried over MgSO₄. Volatiles were evaporated and the residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Petroleum ether, 3:7) to afford the desired N¹-alkylated derivative as a white solid.

General procedure 10 : Cross metathesis with *bis*-POM allylphosphonate



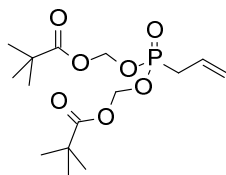
To a solution of *bis*(POM) allylphosphonate (150 mg) and N¹-alkylated-C⁵-substituted uracil (2.0 equiv.) in dry CH₂Cl₂ (5 mL, 0.1 M) was added Hoveyda-Grubbs 2nd generation catalyst (9 mol%). The catalyst was added in three equal portions of 3 mol% at t = 0, 2, 4 h over the course of the reaction. The solution was sonicated at 55 °C (80 kHz, 100 W) under gentle nitrogen flow during 20 h. Volatiles were evaporated and residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Petroleum ether, 5:5) to give the desired *bis*-POM phosphonate derivative as a colorless oil.

General procedure 11 : General procedure for Mitsunobu reaction



Phosphonate synthon **271** (1.5 equiv.) was dissolved in THF (0.1 M), then appropriate purine base (1 equiv.) and PPh₃ (1.5 equiv.) were sequentially added, then DIAD (1.5 equiv.) was added dropwise at 0 °C. The mixture was stirred at room temperature for 20 h. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography to give desired coupling product.

150 : bis-POM allylphosphonate



Formula Weight: 350.34
Formula: C₁₅H₂₇O₇P

Procedure:

Classical heating : To a ACN (18 mL) solution of dimethyl allylphosphonate (2.6 g, 17.3 mmol) and anhydrous sodium iodide (5.2 g, 34.6 mmol), chloromethyl pivalate (6.58 g, 43.3 mmol) was added. This solution was stirred at reflux for 48-72 h under positive pressure of dry argon. After cooling, the solution was diluted with diethyl ether and washed with water. The organic layer was dried over MgSO₄, evaporated and purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Petroleum ether 1:4) to give *bis*(POM) allylphosphonate (4.48 g, 74 %) as a slightly yellow oil.

Microwave irradiation : A 10-20 mL microwave vial was charged with a solution of dimethyl allylphosphonate (1 g, 6.66 mmol) and chloromethyl pivalate (2.9 mL, 20 mmol) in dry ACN (10 mL). Sodium iodide (6 g, 40 mmol) was added and the mixture was irradiated at 100 °C during 2 h. The mixture was diluted with diethyl ether and washed with water and brine. The organic layer was dried over MgSO₄, evaporated and purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Petroleum ether 1:4) to give *bis*(POM) allylphosphonate (1.3 g, 56 %) as a slightly yellow oil.

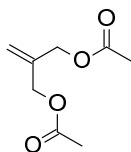
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.74-5.57 (m, 5H, O-CH₂-O, CH₂=CH), 5.22-5.14 (m, 2H, CH₂=CH), 2.64 (dd, J = 22.6, J = 7.3 Hz, 2H, CH₂-P), 1.16 (s, 18H, C(CH₃)₃).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 176.6 (C=O), 125.8, 125.7 (CH₂=CH), 121.0, 120.9 (CH₂=CH), 81.3 (d, J = 6.5 Hz, O-CH₂-O), 38.6 (C(CH₃)₃), 32.7, 31.3 (CH₂-P), 26.7 (C(CH₃)₃).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃): 27.7.

HRMS (ESI): m/z [M+Na]⁺ calcd for C₁₅H₂₇O₇NaP: 373.1392, found: 373.1402.

167 : 1,3-Diacetoxy-2-methylenepropane



Formula Weight: 172.17
Formula: C₈H₁₂O₄

Procedure A : To a suspension of methyltriphenyl phosphonium bromide (3.82 g, 10.7 mmol, 1.5 equiv.) in THF (50 mL) at 0 °C was added LiHMDS (1.0 M in THF, 11.4 mL, 11.4 mmol, 1.6 equiv.). After stirring for 1h, the reaction mixture was cooled down to -78 °C and a solution of ketone **199** (1.24 g, 7.1 mmol, 1.0 equiv.) in THF (15 mL) was added and the mixture was stirred at -78 °C during 3 h. The mixture was quenched with saturated NH₄Cl solution and extracted with Et₂O. The organic layer was washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by short silica gel column chromatography with petroleum ether/EtOAc (8:1) to give the desired olefin (1.14 g, 93 %) as a colorless oil.

Procedure B : To a solution of 2-methylene-1,3-propanediol **200** (4.0 g, 45.4 mmol) and vinyl acetate (9.36 g, 10.9 mmol) in dry DCM (20 mL) was added immobilised *Candida antarctica* lipase B (CAL-B, Sigma, L4777, 400 mg) at room temperature. After stirring for 24 h, the mixture was filtered to remove lipase. The filtrate

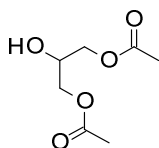
was concentrated *in vacuo* and the residue was purified by short silica gel column chromatography with petroleum ether/EtOAc (8:1) to give quantitatively 1,3-diacetoxy-2-methylenepropane **167** as colorless oil. CAS: 3775-29-9

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.25 (s, 2H), 4.57 (s, 4H), 2.06 (s, 6H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.8, 138.8, 117.0, 64.7, 21.0.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₈H₁₂O₄: 172.0808, found: 173.0810.

198 : 1,3-Diacetylglycerol

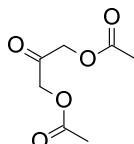


Formula Weight:176,167
Formula:C₇H₁₂O₅

Procedure : To a stirred solution of glycerol (10.0 g, 108.5 mmol, 1.0 equiv.) and vinyl acetate (18.2 g, 260.4 mmol, 2.4 equiv.) in dry CH₂Cl₂ (30 mL) was added immobilized *Candida antarctica* lipase B (CAL-B, Sigma, L4777, 1.0 g) at room temperature. After 24 h stirring, the mixture was filtered to remove lipase. The filtrate was concentrated *in vacuo* and the residue was purified by short silica gel column chromatography with Petroleum ether/EtOAc (4:1) to give 1,3-diacetylglycerol **198** (18.1 g, 95 %) as colorless oil. Its NMR data were identical with that reported previously.

CAS : 105-70-4.

199 : 1,3-Diacetoxyacetone

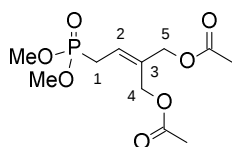


Formula Weight:174,15
Formula:C₇H₁₀O₅

Procedure : To a solution of 1,3-diacetylglycerol **198** (1.80 g, 10.2 mmol, 1.0 equiv.) in DMSO (4 mL) was added IBX (4.28 g, 15.3 mmol, 1.5 equiv.). After 1 h stirring at 80 °C, the mixture was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by short silica gel column chromatography with Petroleum ether/EtOAc (4:1) to give **199** (1.68 g, 95 %) as an amorphous white solid. Its NMR data were identical with that reported previously.

CAS : 6946-10-7.

202 : Dimethyl-4-Acetoxy-3-acetoxymethyl-but-2-enyl-phosphonate



Formula Weight: 294.24
Formula: C₁₁H₁₉O₇P

Procedure :

Method A (classical heating) : To a solution of dimethyl allylphosphonate (1.0 equiv.) and 1,3-diacetoxy-2-methylenepropene **167** (2 equiv.) in dry degassed CH₂Cl₂ (0.1 M) was added catalyst appropriate [Ru] catalyst. The catalyst was added either in one portion or three equal batches at t = 0, 2 and 4 h. The solution was refluxed at 40 °C under gentle nitrogen flow during 24 h. The conversion was checked by ¹H NMR.

Method B (microwave activation) : A 2-5 mL microwave vial was charged with a solution of dimethyl allylphosphonate (1 equiv.) and 1,3-diacetoxy-2-methylenepropene **167** (2.0 equiv.) in dry CH₂Cl₂ (0.1 M). 10 mol% of [Ru] catalyst was added in one portion and the mixture was irradiated at 100 °C during 4 h. The conversion was checked by ¹H NMR.

Method C (ultrasonication) : To a solution of dimethyl allylphosphonate (500 mg, 3.33 mmol, 1.0 equiv.) and 1,3-diacetoxy-2-methylenepropene **167** (1.15 g, 6.66 mmol, 2.0 equiv.) in dry CH₂Cl₂ (33 mL, 0.1 M) was added Hoveyda-Grubbs 2nd generation catalyst (126 mg, 0.21 mmol, 6 mol%). The catalyst was added in three equal portions of 2 mol% (42 mg, 0.07 mmol) at t = 0, 2 and 4 h over the course of the reaction. The solution was sonicated at 55 °C (80 kHz, 100 W) under gentle nitrogen flow during 20 h. All volatiles were evaporated and the residue was purified twice by silica gel column chromatography CH₂Cl₂/MeOH (98:2) to give the desired phosphonate derivative as a light brown oil (872 mg, 89 %).

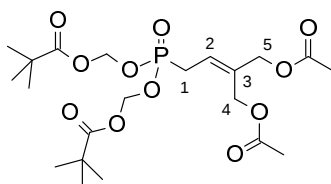
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.81 (q, *J* = 7.9 Hz, 1H, H^{2'}), 4.68 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, H^{4'}), 4.62 (d, *J* = 3.6 Hz, 2H, H^{5'}), 3.78 (s, 3H, OMe), 3.75 (s, 3H, OMe), 2.79 (dd, *J* = 22.7, 8.1 Hz, 2H, H^{1'}), 2.08 (s, 3H, OAc), 2.07 (s, 3H, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.7 (C=O), 170.5 (C=O), 133.8 (d, *J* = 14.0 Hz, C³), 123.3 (d, *J* = 11.0 Hz, C²), 65.8 (d, *J* = 2.2 Hz, C⁵), 59.4 (d, *J* = 1.9 Hz, C⁴), 52.9 (OMe), 52.8 (OMe), 25.5 (d, *J* = 140.5 Hz, C¹), 20.9 (OAc), 20.8 (OAc).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 28.5.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₁H₂₀O₇P: 295.0941, found: 295.0944.

204 : bis(POM)-4-acetoxy-3-(acetoxymethyl)-but-2-enyl-phosphonate



Formula Weight: 494.47
Formula: C₂₁H₃₅O₁₁P

Procedure: To a dry CH₂Cl₂ solution (4 mL) of bis(POM) allylphosphonate **150** (130 mg, 0.371 mmol) and 2-methylene-1,3-propan-diacetate (128 mg, 0.743 mmol) was added RuCl₂(PCy₃)IMesBenzylidene Nolan's catalyst (48 mg, 0.056 mmol, 15 mol%). The catalyst was added in three equal portions of 5 mol% (16 mg, 0.018 mmol) at t = 0, 2 and 4 h over the course of the reaction. The solution was sonicated at 55 °C under nitrogen atmosphere during 16 h. Volatiles were evaporated and residue was purified by silica gel column

chromatography Petroleum ether/EtOAc (7:3) to give the desired phosphonate derivative **204** as a light brown oil (148 mg, 81 %).

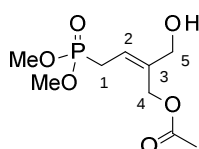
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.76 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H²), 5.71 – 5.64 (m, 4H, O-CH₂-O), 4.66 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, H⁴), 4.60 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, H⁵), 2.88 (dd, *J* = 23.2, 8.0 Hz, 2H, H¹), 2.09 (s, 3H, OAc), 2.07 (s, 3H, OAc), 1.25 (s, 18H, C(CH₃)₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 176.8 (C=O), 170.6 (C=O), 170.5 (C=O), 134.8 (d, *J* = 14.7 Hz, C³), 121.8 (d, *J* = 11.4 Hz, C²), 81.6 (d, *J* = 6.3 Hz, O-CH₂-O), 65.7 (d, *J* = 2.4 Hz, C⁴), 59.4 (d, *J* = 1.9 Hz, C⁵), 38.7, 26.9 (d, *J* = 140.6 Hz, C¹), 26.8 (C(CH₃)₃), 20.8 (OAc), 20.7 (OAc).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 26.5.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₁H₃₆O₁₁P: 495.1990, found: 495.1990.

205 : (Z)-Dimethyl-4-Acetoxy-3-hydroxymethyl-but-2-enyl-phosphonate



Formula Weight: 252.20
Formula: C₉H₁₇O₆P

Procedure : To a suspension of diacetate **202** (376 mg, 1.28 mmol) in phosphate buffer (0.1 M, 13 mL, pH 7.0) was added immobilized *Candida Antarctica* lipase B (CAL-B, Sigma, L4777, 188 mg). The resulting mixture was stirred 16 h at room temperature, filtrated to remove lipase and concentrated in *vacuo*. The residue was purified by short silica gel column chromatography with CH₂Cl₂-MeOH (97:3) to afford monoacetate derivative **205** as a colorless oil (267 mg, 83 %).

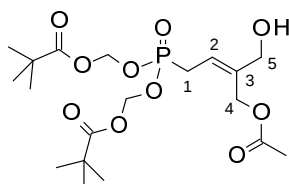
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.70 (q, *J* = 7.5 Hz, 1H, H²), 4.65 (s, 2H, H⁴), 4.10 (s, 2H, H⁵), 3.72 (s, 3H, OMe), 3.69 (s, 3H, OMe), 2.72 (dd, *J* = 22.5, 8.0 Hz, 2H, H¹), 2.02 (s, 3H, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 171.2 (C=O), 138.9 (d, *J* = 13.6 Hz, C³), 120.1 (C²), 65.1 (C⁵), 59.8 (C⁴), 53.0 (OMe), 52.9 (OMe), 25.3 (d, *J* = 140.0 Hz), 21.0 (OAc).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 29.5.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₉H₁₈O₆P: 253.0838, found: 253.0836.

208 : (Z)-bis(POM)-4-Acetoxy-3-hydroxymethyl-but-2-enyl-phosphonate



Formula Weight: 452.43
Formula: C₁₉H₃₃O₁₀P

Procedure : To a suspension of *bis*-POM diacetate **204** (600 mg, 1.21 mmol) in phosphate buffer (12 mL, 0.1 M, pH 7.0) was added immobilized *Candida Antarctica* lipase B (CAL-B, Sigma, L4777, 300 mg, 50 % w/w). The resulting mixture was stirred 24 h at room temperature, diluted with EtOAc (10 mL) and filtrated to remove lipase. The solution was extracted with EtOAc (3 x 10 mL) and combined organic layers were washed with water (10 mL), brine (10 mL), dried over MgSO₄ and concentrated in *vacuo*. The residue was purified by short silica gel column chromatography with Petroleum ether/EtOAc (4:6) to afford the desired monoacetate derivative as colorless oil (345 mg, 63 %).

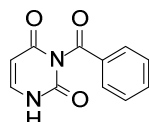
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.72 – 5.52 (m, 5H, O-CH₂-O, H²), 4.66 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, H⁴), 4.11 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H, H⁵), 2.83 (dd, *J* = 23.1, 8.0 Hz, 2H, H¹), 2.04 (s, 18H), 1.22 (s, 3H, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 176.9 (C=O), 170.9 (C=O), 139.7 (d, *J* = 14.6 Hz, C³), 118.6 (d, *J* = 11.6 Hz, C²), 81.6 (d, *J* = 6.5 Hz, O-CH₂-O), 64.8 (d, *J* = 2.6 Hz, C⁵), 59.5 (d, *J* = 2.0 Hz, C⁴), 38.7, 26.8 (C(CH₃)₃), 26.7 (d, *J* = 140.3 Hz, C¹), 20.8 (OAc).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.2.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₉H₃₄O₁₀P : 453.1884, found: 453.1880.

213 : 3-Benzoyluracil

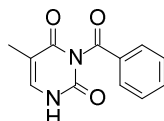


Formula Weight: 216.19
Formula: C₁₁H₈N₂O₃

Procedure : The title compound was prepared from uracil following the general procedure **1**. Yield : 90 %, white solid.

CAS : 2775-87-3.

214 : 3-Benzoylthymine

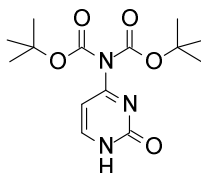


Formula Weight: 230.22
Formula: C₁₂H₁₀N₂O₃

Procedure : The title compound was prepared from thymine following the general procedure **1**. Yield : 96 %, white solid.

CAS : 4330-20-5.

217 : Bis-Boc-cytosine

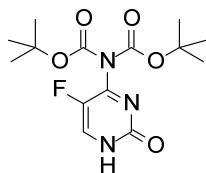


Formula Weight: 311.33
Formula: C₁₄H₂₁N₃O₅

Procedure : The title compound was prepared from cytosine following the general procedure **2**. Yield : 62 %, white solid.

CAS : 1108637-28-0.

218 : Bis-Boc-5-fluorocytosine

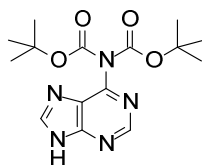


Formula Weight:329,32
Formula:C₁₄H₂₀FN₃O₅

Procedure : The title compound was prepared from 5-fluorocytosine following the general procedure **2**.
Yield : 58 %, white solid.

CAS : 1450880-36-0.

221 : bis-Boc-Adenine

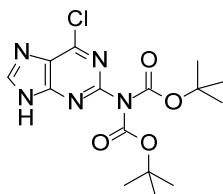


Formula Weight:335,36
Formula:C₁₅H₂₁N₅O₄

Procedure : The title compound was prepared from adenine following the general procedure **3**. Yield : 70 %, white solid.

CAS : 309947-86-2.

222 : bis-Boc-2-amino-6-chloropurine

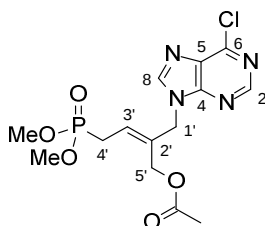


Formula Weight:369,80
Formula:C₁₅H₂₀ClN₅O₄

Procedure : The title compound was prepared from 2-amino-6-chloropurine following the general procedure **3**. Yield : 60 %, white solid.

CAS : 309947-87-3.

224 : N⁹-[(Z)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-acetyloxymethyl-but-2'-enyl]-6-chloropurine



Formula Weight:388,74
Formula:C₁₄H₁₈ClN₄O₅P

Procedure : The title compound was obtained from 6-chloropurine following the general procedure **4**. Yield : 77 %, colorless oil.

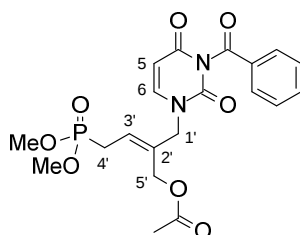
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.72 (s, 1H, H²), 8.15 (s, 1H, H⁸), 5.84 (dd, *J* = 14.6, 8.0 Hz, 1H, H²), 4.96 (d, *J* = 3.4 Hz, 2H, H⁴), 4.58 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, H⁵), 3.73 (s, 3H, OMe), 3.70 (s, 3H, OMe), 2.77 (dd, *J* = 22.7, 8.1 Hz, 2H, H¹), 1.93 (s, 3H, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.3 (C=O), 152.1 (C²), 151.9 (C⁶), 151.1 (C⁴), 145.1 (C⁸), 132.7 (d, *J* = 13.9 Hz, C²), 131.5 (C⁵), 125.7 (d, *J* = 11.2 Hz, C³), 59.6 (d, *J* = 2.0 Hz, C⁵), 52.9 (OMe), 52.8 (OMe), 48.0 (d, *J* = 2.5 Hz, C¹), 25.6 (d, *J* = 140.2 Hz, C⁴), 20.5 (OAc).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.8.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₄H₁₉ClN₄O₅P: 389.0777, found: 389.0776.

225 : 3-benzoyl-*N*'-[(*Z*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-acetyloxymethyl-but-2'-enyl]uracil



Formula Weight: 450.38
Formula: C₂₀H₂₃N₂O₈P

Procedure : The title compound was obtained from **213** following the general procedure **4**. Yield : 85 %, colorless oil.

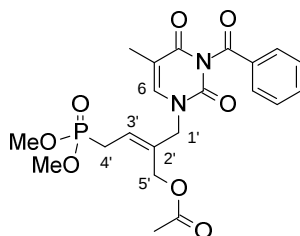
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.02 – 7.93 (m, 2H, H^{Ar}), 7.73 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.65 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H⁶), 7.57 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^{Ar}), 5.85 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H⁵), 5.80 (q, *J* = 7.7 Hz, 1H, H³), 4.71 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, H⁵), 4.51 (d, *J* = 3.8 Hz, 2H, H¹), 3.74 (s, 3H, OMe), 3.72 (s, 3H, OMe), 2.92 (dd, *J* = 22.7, 8.1 Hz, 2H, H⁴), 2.02 (s, 3H, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CD₃OD) δ 172.4 (C=O), 170.4 (C=O), 164.7 (C=O), 151.5 (C=O), 146.9 (C⁶), 136.5 (C^{Ar}), 135.2 (d, *J* = 14.2 Hz, C²), 133.0 (C^{Ar}), 131.6 (C^{Ar}), 130.6 (C^{Ar}), 125.7 (d, *J* = 11.2 Hz, C³), 102.6 (C⁵), 61.0 (d, *J* = 2.0 Hz, C⁵), 53.9 (OMe), 53.8 (OMe), 52.9 (d, *J* = 2.3 Hz, C¹), 25.9 (d, *J* = 139.3 Hz, C⁴), 20.8 (OAc).

³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD) δ 32.4.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₀H₂₄N₂O₈P: 451.1265, found: 451.1265.

226 : 3-benzoyl-*N*'-[(*Z*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-acetyloxymethyl-but-2'-enyl]thymine



Formula Weight: 464.40
Formula: C₂₁H₂₅N₂O₈P

Procedure : The title compound was obtained from **214** following the general procedure **4**. Yield : 62 %, colorless oil.

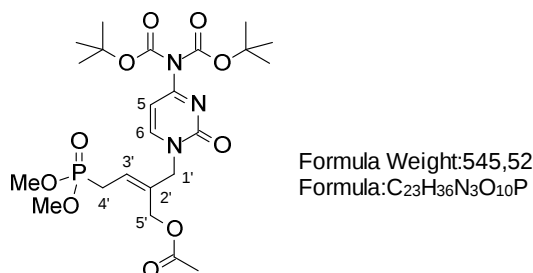
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.95 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.66 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.52 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.12 (s, 1H, H⁶), 5.80 (q, *J* = 7.7 Hz, 1H, H³), 4.68 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, H⁵), 4.45 (d, *J* = 3.6 Hz, 2H, H¹), 3.78 (s, 3H, OMe), 3.75 (s, 3H, OMe), 2.83 (dd, *J* = 22.6, 8.1 Hz, 1H, H⁴), 2.04 (s, 3H, CH₃-Ar), 1.98 (s, 3H, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.6 (C=O), 168.9 (C=O), 162.9 (C=O), 149.9 (C=O), 139.0 (C⁶), 135.0 (C^{Ar}), 133.3 (d, *J* = 13.9 Hz, C^{2'}), 131.6 (C^{Ar}), 130.5 (C^{Ar}), 129.1 (C^{Ar}), 125.2 (d, *J* = 11.1 Hz, C^{3'}), 111.1 (C⁵), 59.6 (C^{5'}), 52.93 (OMe), 52.87 (OMe), 51.4 (C^{1'}), 25.7 (d, *J* = 140.0 Hz, C^{4'}), 20.7 (CH₃-Ar), 12.5 (O^{Ac}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 28.0.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₁H₂₆N₂O₈P : 465.1421, found: 465.1421.

227 : *N*¹-[(*Z*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-acetyloxymethyl-but-2'-enyl]-bisBoc-cytosine



Procedure The title compound was obtained from **217** following the general procedure **4**. Yield : 52 %, colorless oil.

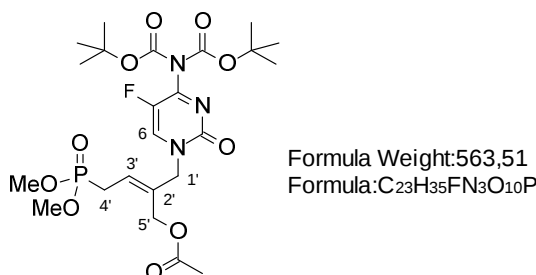
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.55 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, H⁶), 7.05 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, H⁵), 5.74 (q, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^{3'}), 4.63 (d, *J* = 1.9 Hz, 2H, H^{1'}), 4.57 (d, *J* = 3.6 Hz, 2H, H^{5'}), 3.77 (s, 3H, OMe), 3.74 (s, 3H, OMe), 2.80 (dd, *J* = 22.6, 8.1 Hz, 2H, H^{4'}), 2.04 (s, 3H, OAc), 1.57 (s, 18H, *t*Bu).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.6 (C=O), 162.3 (C=O), 154.9 (C=O), 149.5 (C=O), 147.0 (C⁶), 133.3 (d, *J* = 13.9 Hz, C^{2'}), 125.0 (d, *J* = 11.1 Hz, C^{3'}), 96.3 (C⁵), 84.9 (*t*Bu), 59.8 (C^{1'}), 53.2 (C^{5'}), 52.90 (OMe), 52.84 (OMe), 27.7 (*t*Bu), 25.6 (d, *J* = 140.0 Hz, C^{4'}), 20.7 (OAc).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 28.2.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₃₇N₃O₁₀P : 546.2211, found : 546.2211.

228 : *N*¹-[(*Z*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-acetyloxymethyl-but-2'-enyl]-bisBoc-5-fluorocytosine



Procedure : The title compound was obtained from **218** following the general procedure **4**. Yield : 51 %, colorless oil.

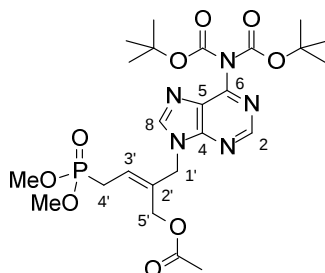
¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 7.67 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H, H⁶), 5.84 (dd, *J* = 14.8, 8.0 Hz, 1H, H^{3'}), 4.66 (d, *J* = 2.6 Hz, 2H, H^{1'}), 4.63 (d, *J* = 3.4 Hz, 2H, H^{5'}), 3.81 (s, 3H, OMe), 3.77 (s, 3H, OMe), 2.84 (dd, *J* = 22.7, 8.1 Hz, 2H, H^{4'}), 2.07 (s, 3H, OAc), 1.52 (s, 18H, *t*Bu).

¹³C NMR (63 MHz, CDCl₃) δ 170.6 (C=O), 153.7 (C=O), 148.9 (C=O), 132.6 (d, *J* = 13.9 Hz, C^{2'}), 132.6 (d, *J* = 32.6 Hz, C⁶), 126.7 (d, *J* = 11.4 Hz, C^{3'}), 84.8 (tBu), 59.6 (C^{1'}), 53.7 (C^{5'}), 53.0 (OMe), 52.8 (OMe), 27.7 (tBu), 25.8 (d, *J* = 139.7 Hz, C^{4'}), 20.68 (OAc).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 28.0.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₃₆FN₃O₁₀P : 564.2117, found : 564.2117.

229 : *N*⁹-[(*Z*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-acetyloxymethyl-but-2'-enyl]-bisBoc-adenine



Formula Weight: 569.54
Formula: C₂₄H₃₆N₅O₉P

Procedure : The title compound was obtained from **221** following the general procedure **4**. Yield : 68 %, colorless oil.

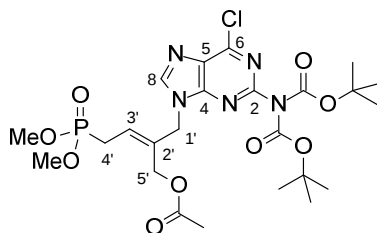
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.87 (s, 1H, H²), 8.11 (s, 1H, H⁸), 5.85 (q, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^{3'}), 4.98 (d, *J* = 3.5 Hz, 2H, H^{1'}), 4.63 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, H^{5'}), 3.76 (s, 3H, OMe), 3.73 (s, 3H, OMe), 2.81 (dd, *J* = 22.7, 8.1 Hz, 2H, H^{4'}), 1.96 (s, 3H, OAc), 1.47 (s, 18H, tBu).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.4 (C=O), 153.4 (C⁴), 152.2 (C²), 150.5 (C=O), 150.4 (C⁶), 144.5 (C⁸), 133.0 (d, *J* = 13.9 Hz, C^{2'}), 128.7 (C⁵), 125.3 (d, *J* = 11.2 Hz, C^{3'}), 83.7, 59.7 (d, *J* = 2.0 Hz, C^{5'}), 52.9 (OMe), 52.8 (OMe), 47.7 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{1'}), 27.8 (tBu), 25.7 (d, *J* = 140.2 Hz, C^{4'}), 20.6 (OAc).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.8.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₃₇N₅O₉P : 570.2323, found : 570.2323.

230 : *N*⁹-[(*Z*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-acetyloxymethyl-but-2'-enyl]-bisBoc-2-amino-6-chloropurine



Formula Weight: 603.99
Formula: C₂₄H₃₅ClN₅O₉P

Procedure : The title compound was obtained from **222** following the general procedure **4**. Yield : 74 %, colorless oil.

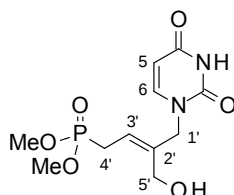
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.17 (s, 1H, H⁸), 5.88 (dd, *J* = 14.5, 7.9 Hz, 1H, H^{3'}), 4.94 (d, *J* = 3.3 Hz, 2H, H^{1'}), 4.62 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, H^{5'}), 3.78 (s, 3H, OMe), 3.75 (s, 3H, OMe), 2.81 (dd, *J* = 22.7, 8.1 Hz, 2H, H^{4'}), 1.95 (s, 3H, OAc), 1.47 (s, 18H, tBu).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.3 (C=O), 152.7 (C²), 152.1 (C⁶), 151.3 (C=O), 150.6 (C⁴), 145.7 (C⁸), 132.7 (d, *J* = 13.9 Hz, C^{2'}), 129.9 (C⁵), 126.0 (d, *J* = 11.3 Hz, C^{3'}), 83.7, 59.6 (d, *J* = 1.8 Hz, C^{5'}), 52.9 (OMe), 52.8 (OMe), 48.1 (d, *J* = 2.3 Hz, C^{1'}), 27.9 (tBu), 25.7 (d, *J* = 140.1 Hz, C^{4'}), 20.5 (OAc).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.7.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₃₆ClN₅O₉P : 604.1934, found : 604.1931.

234 : *N*¹-[(*Z*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-hydroxymethyl-but-2'-enyl]uracil



Formula Weight: 304.23
Formula: C₁₁H₁₇N₂O₆P

Procedure : To a solution of **225** (220 mg, 0.488 mmol) in MeOH (10 mL) was added *p*TSA (92 mg, 0.488 mmol). The mixture was stirred 20 h at 70 °C. The volatiles were evaporated under reduced pressure and the residue was purified by silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 98:2 to 95:5) to afford **234** (63 mg, 42 %) as an amorphous white solid.

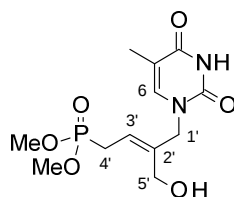
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.08 (s, 1H, NH), 7.28 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H⁶), 5.69 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H⁵), 5.51 (dd, *J* = 14.4, 7.9 Hz, 1H, H^{3'}), 4.45 (d, *J* = 4.6 Hz, 2H, H^{1'}), 4.17 (bs, 1H, OH), 4.10 (s, 3H, H^{5'}), 3.75 (s, 3H, OMe), 3.72 (s, 3H, OMe), 2.73 (dd, *J* = 22.6, 8.1 Hz, 2H, H^{4'}).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 164.1 (C=O), 151.4 (C=O), 144.5 (C⁶), 139.4 (d, *J* = 13.3 Hz, C^{2'}), 119.6 (d, *J* = 11.9 Hz, C^{3'}), 102.4 (C⁵), 57.8 (d, *J* = 2.7 Hz, C^{5'}), 53.2 (OMe), 53.1 (OMe), 51.4 (d, *J* = 2.9 Hz, C^{1'}), 24.8 (d, *J* = 138.7 Hz, C^{4'}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 29.2.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₁H₁₈N₂O₆P : 305.0897, found : 305.0899.

237 : *N*¹-[(*Z*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-hydroxymethyl-but-2'-enyl]thymine



Formula Weight: 318.26
Formula: C₁₂H₁₉N₂O₆P

Procedure : The title compound was obtained from **226** following the procedure described for **234**. Yield : 39 %, amorphous white solid.

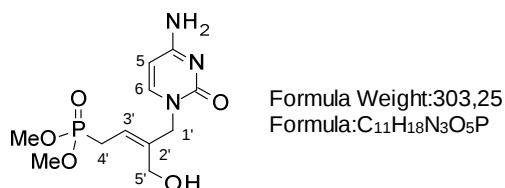
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.41 (s, 1H, NH), 7.08 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H⁶), 5.51 (dd, *J* = 14.4, 8.0 Hz, 1H, H^{3'}), 4.44 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H, H^{4'}), 4.09 (m, 3H, H^{5'} and OH), 3.78 (s, 3H, OMe), 3.75 (s, 3H, OMe), 2.74 (dd, *J* = 22.6, 8.2 Hz, 2H, H^{1'}), 1.92 (d, *J* = 0.8 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 164.3 (C⁴), 151.3 (C²), 140.2 (C⁶), 139.8 (d, *J* = 13.1 Hz, C^{2'}), 119.2 (d, *J* = 12.1 Hz, C^{3'}), 111.1 (C⁵), 57.8 (d, *J* = 2.9 Hz, C^{5'}), 53.2 (OMe), 53.1 (OMe), 51.3 (d, *J* = 3.1 Hz, C^{1'}), 24.8 (d, *J* = 138.6 Hz, C^{4'}), 12.3 (CH₃).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 29.2.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₂H₂₀N₂O₆P : 319.1053, found : 319.1056.

239 : *N*¹-[(*Z*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-hydroxymethyl-but-2'-enyl]cytosine



Procedure : To a solution of **227** (110 mg, 0.202 mmol) in MeOH (3 mL) was added 1 M HCl (3 mL). The mixture was stirred 20 h at 70 °C. The volatiles were evaporated under reduced pressure and the residue was purified by silica gel column chromatography (DCM/EtOH/NH₄OH, 79:19:1) to afford deprotected cytosine derivative **239** (58 mg, 95 %) as an amorphous white solid.

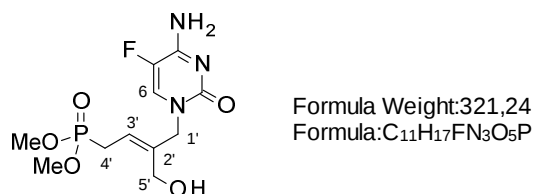
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.61 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H⁶), 5.95 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H⁵), 5.47 (q, *J* = 7.9 Hz, 1H, H^{3'}), 4.53 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, H^{1'}), 4.16 (d, *J* = 2.6 Hz, 2H, H^{5'}), 3.77 (s, 3H, OMe), 3.75 (s, 3H, OMe), 2.85 (dd, *J* = 22.5, 8.0 Hz, 2H, H^{4'}).

¹³C NMR (101 MHz, CD₃OD) δ 165.6 (C⁴), 156.6 (C²), 146.4 (C⁶), 139.1 (d, *J* = 14.0 Hz, C^{2'}), 118.4 (d, *J* = 11.3 Hz, C^{3'}), 94.5 (C⁵), 57.2 (d, *J* = 2.3 Hz, C^{5'}), 52.4 (OMe), 52.3 (OMe), 51.8 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{1'}), 23.8 (d, *J* = 139.3 Hz, C^{4'}).

³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD) δ 30.2.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₁H₁₉N₃O₅P : 304.1057, found : 304.1060.

240 : *N*¹-[(*Z*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-hydroxymethyl-but-2'-enyl]cytosine



Procedure : The title compound was obtained from **228** following the procedure described for **239**. Yield : 90 %, amorphous white solid.

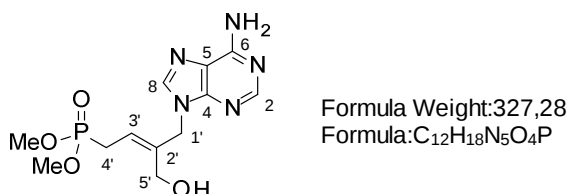
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.77 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H, H⁶), 5.50 (q, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^{3'}), 4.50 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, H^{1'}), 4.16 (d, *J* = 2.7 Hz, 2H, H^{5'}), 3.78 (s, 3H, OMe), 3.75 (s, 3H, OMe), 2.86 (dd, *J* = 22.5, 8.1 Hz, 2H, H^{4'}).

¹³C NMR (101 MHz, CD₃OD) δ 158.1 (d, *J* = 13.9 Hz, C⁴), 156.0 (C²), 139.0 (d, *J* = 14.0 Hz, C^{2'}), 136.8 (d, *J* = 243.9 Hz, C⁵), 130.0 (d, *J* = 31.3 Hz, C⁶), 118.9 (d, *J* = 11.4 Hz, C^{3'}), 57.2 (d, *J* = 2.3 Hz, C^{5'}), 52.4 (OMe), 52.3 (OMe), 52.0 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{1'}), 23.8 (d, *J* = 139.2 Hz, C^{4'}).

³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD) δ 30.3.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₁H₁₈FN₃O₅P : 322.0962, found : 322.0965.

243 : *N*⁹-[(*Z*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-hydroxymethyl-but-2'-enyl]adenine



Procedure : The title compound was obtained from **229** following the procedure described for **239**. Yield : 78 %, amorphous white solid.

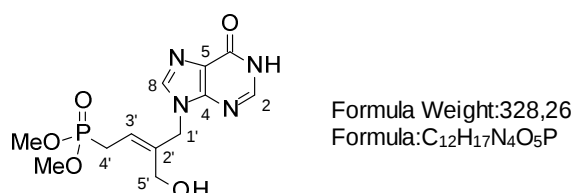
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.44 (s, 1H, H²), 8.37 (s, 1H, H⁸), 5.62 (dd, *J* = 14.6, 7.5 Hz, 1H, H^{3'}), 5.07 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H, H^{1'}), 4.18 (d, *J* = 2.7 Hz, 2H, H^{5'}), 3.77 (s, 3H, OMe), 3.74 (s, 3H, OMe), 2.86 (dd, *J* = 22.6, 8.0 Hz, 2H, H^{4'}).

¹³C NMR (101 MHz, CD₃OD) δ 150.2 (C⁶), 149.1 (C⁴), 144.5 (C⁸), 143.7 (C²), 138.4 (d, *J* = 14.1 Hz, C^{2'}), 120.1 (d, *J* = 11.3 Hz, C^{3'}), 118.2 (C⁵), 57.2 (d, *J* = 2.2 Hz, C^{5'}), 52.4 (OMe), 52.3 (OMe), C^{1'} overlapping with solvent, 23.8 (d, *J* = 139.3 Hz, C^{4'}).

³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD) δ 30.1.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₂H₁₉N₅O₄P : 328.1169, found : 328.1173.

245 : *N*⁹-[(*Z*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-hydroxymethyl-but-2'-enyl]hypoxanthine



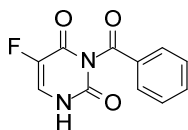
Procedure : To a solution of **224** (92 mg, 0.237 mmol) in H₂O (2.5 mL) was added formic acid (0.5 mL). The mixture was stirred 20 h at 70 °C. The volatiles were evaporated under reduced pressure and the residue was purified by silica gel column chromatography (DCM/EtOH, 95:5 to 85:15) to afford hypoxanthine derivative **245** (30 mg, 34 %) as an amorphous white solid.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.10 (s, 1H, H²), 8.09 (s, 1H, H⁸), 5.51 (q, *J* = 7.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.99 (d, *J* = 4.1 Hz, 2H, H^{1'}), 4.17 (d, *J* = 2.8 Hz, 2H, H^{5'}), 3.75 (s, 3H, OMe), 3.72 (s, 3H, OMe), 2.85 (dd, *J* = 22.6, 8.1 Hz, 2H, H^{4'}).

¹³C NMR (101 MHz, CD₃OD) δ 157.6 (C=O), 145.3 (C²), 141.1 (C⁸), 138.9 (d, *J* = 14.1 Hz, C^{2'}), 123.6, 119.3 (d, *J* = 11.4 Hz, C^{3'}), 57.1 (d, *J* = 2.3 Hz, C^{5'}), 52.3 (OMe), 52.2 (OMe), 46.7 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{1'}), 23.8 (d, *J* = 139.4 Hz, C^{4'}).

³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD) δ 30.1.

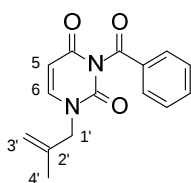
HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₂H₁₈N₄O₅P : 329.1009, found : 329.1013.

250 : 3-Benzoyl-5-fluorouracil

Formula Weight: 234,18
Formula: C₁₁H₇FN₂O₃

Procedure : The title compound was prepared from 5-fluorouracil following the general procedure **1**. Yield : 95 %, white solid.

CAS : 61251-77-2.

251 : 3-benzoyl-*N*¹-(2'-methylallyl)uracil

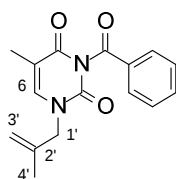
Formula Weight: 270,28
Formula: C₁₅H₁₄N₂O₃

Procedure : The title compound was prepared from N³-benzyluracil **213** following the general procedure **5**. Yield : 87 %, colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.94 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.67 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.51 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.25 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H⁶), 5.83 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H⁵), 5.06 (s, 1H, H^{3a'}), 4.94 (s, 1H, H^{3b'}), 4.31 (s, 2H, H^{1'}), 1.77 (s, 3H, H^{4'}).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 168.7 (C=O), 162.3 (C=O), 149.9 (C=O), 143.6 (C⁶), 139.2 (C^{2'}), 135.1 (C^{Ar}), 131.5 (C^{Ar}), 130.4 (C^{Ar}), 129.2 (C^{Ar}), 114.9 (C^{3'}), 102.3 (C⁵), 53.1 (C^{1'}), 19.8 (C^{4'}).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₅H₁₅N₂O₃ : 271.1077, found : 271.1083.

252 : 3-benzoyl-*N*¹-(2'-methylallyl)thymine

Formula Weight: 284,31
Formula: C₁₆H₁₆N₂O₃

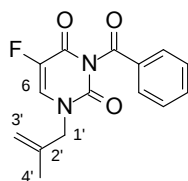
Procedure : The title compound was prepared from N³-benzylthymine **214** following the general procedure **5**. Yield : 74 %, colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.91 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.63 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.48 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.09 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H, H⁶), 5.01 (s, 1H, H^{3a'}), 4.90 (s, 1H, H^{3b'}), 4.26 (s, 2H, H^{1'}), 1.93 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, CH₃-Ar), 1.73 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 169.1 (C=O), 163.1 (C=O), 149.9 (C=O), 139.7 (C^{2'}), 139.4 (H⁶), 135.0 (C^{Ar}), 131.6 (C^{Ar}), 130.3 (C^{Ar}), 129.2 (C^{Ar}), 114.4 (C^{3'}), 110.7 (C⁵), 52.8 (C^{1'}), 19.8 (CH₃), 12.3 (CH₃-Ar).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₁₇N₂O₃ : 285.1234, found : 285.1236.

253 : 3-benzoyl-5-fluoro-*N*¹-(2'-methylallyl)uracil



Formula Weight: 288.27
Formula: C₁₅H₁₃FN₂O₃

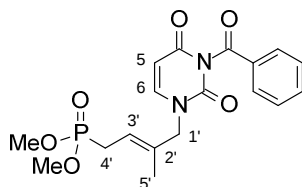
Procedure : The title compound was prepared from N³-benzoyl-5-fluorouracil **250** following the general procedure **5**. Yield : 94 %, colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.91 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.66 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.50 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.37 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H, H⁶), 5.03 (s, 1H, H^{3'}), 4.91 (s, 1H, H^{3'}), 4.24 (s, 2H, H^{1'}), 1.71 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 167.5 (C²), 156.3 (d, *J* = 27.1 Hz, C⁴), 148.5 (C=O), 139.9 (d, *J* = 239.2 Hz, C⁵), 138.8 (C^{2'}), 135.6 (Ar), 130.9 (Ar), 130.4 (Ar), 129.4 (Ar), 128.3 (d, *J* = 32.6 Hz, C⁶), 115.3 (C^{3'}), 53.4 (C^{1'}), 19.7 (CH₃).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₅H₁₄FN₂O₃ : 289.0983, found : 289.0986.

257 : 3-benzoyl-*N*¹-[(*E*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-methyl-but-2'-enyl]uracil



Formula Weight: 392.34
Formula: C₁₈H₂₁N₂O₆P

Procedure : The title compound was obtained from **251** following the general procedure **6**. Yield : 96 %, colorless oil.

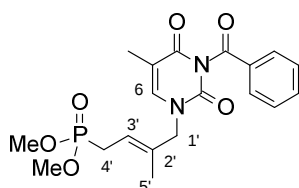
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.88 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.61 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.46 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.22 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H⁶), 5.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H⁵), 5.45 (q, *J* = 6.8 Hz, 1H, H^{3'}), 4.27 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H, H^{1'}), 3.70 (s, 3H, OMe), 3.67 (s, 3H, OMe), 2.61 (dd, *J* = 22.3, 7.8 Hz, 2H, H^{4'}), 1.64 (d, *J* = 3.9 Hz, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 168.8 (C=O), 162.2 (C=O), 149.9 (C=O), 143.3 (C⁶), 135.1 (C^{Ar}), 134.1 (d, *J* = 14.2 Hz, C^{2'}), 131.4 (C^{Ar}), 130.3 (C^{Ar}), 129.2 (C^{Ar}), 119.2 (d, *J* = 11.1 Hz, C^{3'}), 102.3 (C⁵), 54.4 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{1'}), 52.7 (OMe), 52.7 (OMe), 25.4 (d, *J* = 140.3 Hz, C^{4'}), 14.3 (d, *J* = 2.4 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 29.2.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₈H₂₂N₂O₆P : 393.1210, found : 393.1211.

258 : 3-benzoyl-*N*¹-[(*E*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-methyl-but-2'-enyl]thymine



Formula Weight: 406.37
Formula: C₁₉H₂₃N₂O₆P

Procedure : The title compound was obtained from **252** following the general procedure **6**. Yield : 90 %, colorless oil.

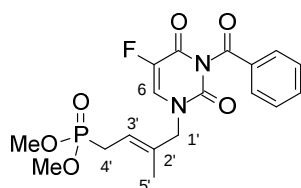
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.95 – 7.84 (m, 1H, H^{Ar}), 7.67 – 7.55 (m, 1H, H^{Ar}), 7.47 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.06 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, H⁶), 5.47 (q, *J* = 7.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.28 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H^{1'}), 3.73 (s, 3H, OMe), 3.70 (s, 3H, OMe), 2.63 (dd, *J* = 22.3, 7.8 Hz, 1H, H^{4'}), 1.91 (d, *J* = 1.0 Hz, 3H, CH₃-Ar), 1.66 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, H^{5'}).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 169.0 (C=O), 163.0 (C=O), 150.0 (C=O), 139.0 (C⁶), 135.0 (C^{Ar}), 134.5 (d, *J* = 14.2 Hz, C^{2'}), 131.6 (C^{Ar}), 130.3 (C^{Ar}), 129.1 (C^{Ar}), 118.9 (d, *J* = 11.1 Hz, C^{3'}), 110.9 (C⁵), 54.1 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{1'}), 52.74 (OMe), 52.67 (OMe), 25.5 (d, *J* = 140.3 Hz, C^{4'}), 14.3 (d, *J* = 2.4 Hz, C^{5'}), 12.4 (CH₃-Ar).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 29.3.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₉H₂₄N₂O₆P : 407.1366, found : 407.1371.

259 : 3-benzoyl-*N*¹-[(*E*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-methyl-but-2'-enyl]-5-fluorouracil



Formula Weight: 410.33
Formula: C₁₈H₂₀FN₂O₆P

Procedure : The title compound was obtained from **253** following the general procedure **6**. Yield : 98 %, colorless oil.

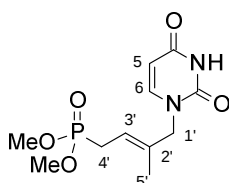
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.00 – 7.91 (m, 1H, H^{Ar}), 7.70 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.54 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.37 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H, H⁶), 5.58 (q, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^{3'}), 4.34 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, H^{1'}), 3.80 (s, 3H, OMe), 3.77 (s, 3H, OMe), 2.70 (dd, *J* = 22.4, 7.8 Hz, 1H, H^{4'}), 1.72 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H, H^{5'}).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 167.2 (C²), 156.1 (d, *J* = 27.1 Hz, C⁴), 148.6 (C=O), 140.2 (d, *J* = 240.6 Hz, C⁵), 135.4 (Ar), 133.7 (d, *J* = 14.1 Hz, C^{2'}), 131.0 (Ar), 130.5 (Ar), 129.3 (Ar), 126.9 (d, *J* = 32.8 Hz, C⁶), 120.7 (d, *J* = 11.3 Hz, C^{3'}), 54.8 (d, *J* = 2.4 Hz, C^{1'}), 52.8 (OMe), 52.7 (OMe), 25.6 (d, *J* = 140.5 Hz, C^{4'}), 14.3 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 29.0.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₈H₂₁FN₂O₆P : 411.1116, found : 411.1117.

260a : *N*¹-[(*E*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-methyl-but-2'-enyl]uracil



Formula Weight: 288.24
Formula: C₁₁H₁₇N₂O₅P

Procedure : The title compound was obtained from **257** following the general procedure **7**. Yield : 90 %, colorless oil.

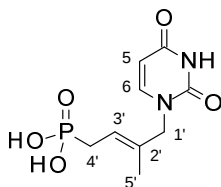
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.22 (s, 1H, NH), 7.12 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H⁶), 5.67 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H⁵), 5.42 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H, H^{3'}), 4.27 (d, *J* = 3.8 Hz, 2H, H^{1'}), 3.72 (s, 3H, OMe), 3.69 (s, 3H, OMe), 2.61 (dd, *J* = 22.3, 7.8 Hz, 2H, H^{4'}), 1.61 (d, *J* = 3.9 Hz, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 164.0 (C=O), 151.3 (C=O), 143.2 (C⁶), 134.6 (d, *J* = 14.2 Hz, C^{2'}), 118.7 (d, *J* = 11.1 Hz, C^{3'}), 102.6 (C⁵), 53.8 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{1'}), 52.8 (OMe), 52.7 (OMe), 25.4 (d, *J* = 140.5 Hz, C^{4'}), 14.2 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 29.5.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₁H₁₈N₂O₅P : 289.0948, found : 289.0950.

260b : *N*¹-[(*E*)-4'-dihydroxyphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl]uracil



Formula Weight: 260.18
Formula: C₉H₁₃N₂O₅P

Procedure : The title compound was obtained from **260a** following the general procedure **8**. Yield : quantitative, amorphous solid.

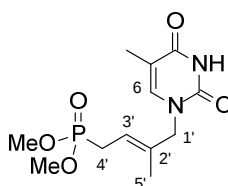
¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.57 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H⁶), 5.72 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, H⁵), 5.44 (dd, *J* = 14.3, 6.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.38 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, H^{1'}), 2.70 (dd, *J* = 22.3, 7.8 Hz, 2H, H^{4'}), 1.70 (d, *J* = 3.8 Hz, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 165.3 (C=O), 151.5 (C=O), 145.5 (C⁶), 134.7 (d, *J* = 14.3 Hz, C^{2'}), 117.6 (d, *J* = 11.0 Hz, C^{3'}), 101.1 (C⁵), 53.6 (d, *J* = 2.6 Hz, C^{1'}), 26.7 (d, *J* = 137.0 Hz, C^{4'}), 13.1 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, MeOD) δ 27.0.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₉H₁₄N₂O₅P : 261.0635, found : 261.0636.

261a : *N*¹-[(*E*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-methyl-but-2'-enyl]thymine



Formula Weight: 302.26
Formula: C₁₂H₁₉N₂O₅P

Procedure : The title compound was obtained from **258** following the general procedure **7**. Yield : 98 %, colorless oil.

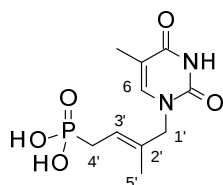
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.96 (s, 1H, NH), 6.93 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H⁶), 5.42 (q, *J* = 7.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.26 (d, *J* = 3.9 Hz, 2H, H^{1'}), 3.73 (s, 3H, OMe), 3.70 (s, 3H, OMe), 2.62 (dd, *J* = 22.3, 7.8 Hz, 2H, H^{4'}), 1.87 (d, *J* = 1.1 Hz, 3H, CH₃-Ar), 1.62 (d, *J* = 3.9 Hz, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 164.4 (C=O), 151.4 (C=O), 139.0 (C⁶), 134.9 (d, *J* = 14.2 Hz, C^{2'}), 118.4 (d, *J* = 11.1 Hz, C^{3'}), 111.0 (C⁵), 53.7 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{1'}), 52.74 (OMe), 52.67 (OMe), 25.4 (d, *J* = 140.5 Hz, C^{4'}), 14.1 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{5'}), 12.31 (CH₃-Ar).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 29.6.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₂H₂₀N₂O₅P : 303.1104, found : 303.1109.

261b : N^1 -[(*E*)-4'-dihydroxyphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl]thymine



Formula Weight: 274.21
Formula: $C_{10}H_{15}N_2O_5P$

Procedure : The title compound was obtained from **261a** following the general procedure **8**.
Yield : quantitative, amorphous solid.

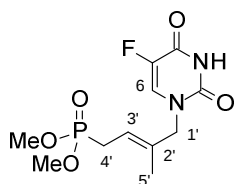
1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.35 (s, 1H, H^6), 5.45 (q, J = 6.7 Hz, 1H, $H^{3'}$), 4.33 (d, J = 4.2 Hz, 2H, $H^{1'}$), 2.66 (dd, J = 21.6, 8.4 Hz, 2H, $H^{4'}$), 1.89 (3H, $H^{5'}$), 1.69 (d, J = 3.8 Hz, 3H, CH_3 -Ar).

^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) δ 165.3 (C^4), 151.8 (C^2), 140.9 (C^6), 134.4 (d, J = 14.1 Hz, $C^{2'}$), 118.0 (d, J = 10.9 Hz, $C^{3'}$), 110.2 (C^5), 53.4 (d, J = 2.5 Hz, $C^{1'}$), 26.9 (d, J = 136.9 Hz, $C^{4'}$), 13.0 (d, J = 2.4 Hz, $C^{5'}$), 10.9 (CH_3 -Ar).

^{31}P NMR (162 MHz, MeOD) δ 25.7.

HRMS (ESI) : m/z [$M+H$] $^+$ calcd for $C_{10}H_{16}N_2O_5P$: 275.0791, found : 275.0794.

262a : N^1 -[(*E*)-4'-dimethoxyphosphoryl-2'-methyl-but-2'-enyl]-5-fluorouracil



Formula Weight: 306.23
Formula: $C_{11}H_{16}FN_2O_5P$

Procedure : The title compound was obtained from **259** following the general procedure **7**. Yield : 91 %, colorless oil.

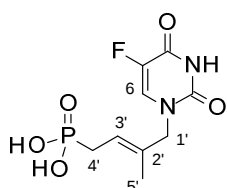
1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10.48 (s, 1H, NH), 7.25 (d, J = 5.7 Hz, 1H, H^6), 5.50 (q, J = 6.7 Hz, 1H, $H^{3'}$), 4.28 (d, J = 3.5 Hz, 2H, $H^{1'}$), 3.76 (s, 3H, OMe), 3.74 (s, 3H, OMe), 2.66 (dd, J = 22.4, 7.8 Hz, 2H, $H^{4'}$), 1.65 (d, J = 3.8 Hz, 3H, $H^{5'}$).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 157.4 (d, J = 26.1 Hz, C^4), 150.0 (C^2), 140.7 (d, J = 237.7 Hz, C^5), 134.2 (d, J = 14.3 Hz, C^2), 127.0 (d, J = 32.7 Hz, C^6), 119.8 (d, J = 11.3 Hz, $C^{3'}$), 54.2 (d, J = 2.3 Hz, $C^{1'}$), 52.8 (OMe), 52.8 (OMe), 25.5 (d, J = 140.5 Hz, $C^{4'}$), 14.1 (d, J = 2.4 Hz, $C^{5'}$).

^{31}P NMR (162 MHz, $CDCl_3$) δ 29.4.

HRMS (ESI) : m/z [$M+H$] $^+$ calcd for $C_{11}H_{17}FN_2O_5P$: 307.0854, found : 307.0857.

262b : N^1 -[(*E*)-4'-dihydroxyphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl]-5-fluorouracil



Formula Weight: 278.17
Formula: $C_9H_{12}FN_2O_5P$

Procedure : The title compound was obtained from **262a** following the general procedure **8**.
Yield : quantitative, amorphous solid.

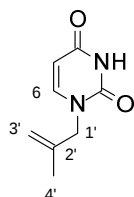
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.70 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H, H⁶), 5.50 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H, H^{3'}), 4.32 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H, H^{1'}), 2.64 (dd, *J* = 22.2, 7.8 Hz, 2H, H^{4'}), 1.69 (d, *J* = 3.6 Hz, 3H, H⁵).

¹³C NMR (101 MHz, CD₃OD) δ 158.3 (d, *J* = 25.9 Hz, C⁴), 150.3 (C²), 140.4 (d, *J* = 233.2 Hz, C⁵), 133.7 (d, *J* = 14.0 Hz, C^{2'}), 128.7 (d, *J* = 33.2 Hz, C⁶), 119.2 (d, *J* = 10.9 Hz, C^{3'}), 53.8 (C^{1'}), 27.1 (d, *J* = 136.8 Hz, C^{4'}), 12.8 (C⁵).

³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD) δ 25.4.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₉H₁₃FN₂O₅P : 279.0541, found : 279.0542.

263 : N¹-(2'-methylallyl)uracil



Formula Weight:166,18
Formula:C₈H₁₀N₂O₂

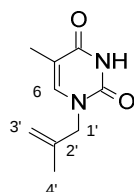
Procedure : The title compound was obtained from uracil following the general procedure 9. Yield : 60 %, white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.04 (s, 1H, NH), 7.14 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H⁶), 5.76 (dd, *J* = 7.9, 2.0 Hz, 1H, H⁵), 5.04 (s, 1H, H^{3a'}), 4.89 (s, 1H, H^{3b'}), 4.31 (s, 2H, H^{1'}), 1.77 (s, 3H, H^{4'}).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 163.5 (C⁴), 150.9 (C²), 143.7 (C⁶), 139.4 (C^{2'}), 114.5 (C^{3'}), 102.5 (C⁵), 52.8 (C^{1'}), 19.8 (C^{4'}).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₈H₁₀N₂O₂ : 167.0815, found : 167.0818.

264 : N¹-(2'-methylallyl)thymine



Formula Weight:180,20
Formula:C₉H₁₂N₂O₂

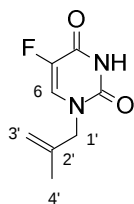
Procedure : The title compound was obtained from thymine following the general procedure 9. Yield : 52 %, white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.54 (s, 1H, NH), 6.96 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H⁶), 5.03 (s, 1H, H^{3a'}), 4.88 (s, 1H, H^{3b'}), 4.28 (s, 2H, H^{1'}), 1.95 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H, CH₃-Ar), 1.76 (s, 3H, C^{4'}).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 163.9 (C⁴), 150.8 (C²), 139.7 (C⁵), 139.5 (C⁶), 114.2 (C^{3'}), 110.9 (C^{2'}), 52.6 (C^{1'}), 19.8 (CH₃-Ar), 12.3 (C^{4'}).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₉H₁₂N₂O₂ : 181.0971, found : 181.0975.

265 : 5-fluoro-N¹-(2'-methylallyl)uracil



Formula Weight:184.17
Formula:C₈H₉FN₂O₂

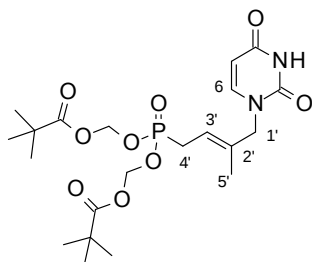
Procedure : The title compound was obtained from 5-fluorouracil following the general procedure **9**. Yield : 67 %, white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.88 (s, 1H, NH), 7.23 (d, *J* = 5.5 Hz, H⁶), 5.07 (s, 1H, H^{3'}), 4.93 (s, 1H, H^{3'}), 4.30 (s, 2H, H^{1'}), 1.76 (s, 3H, H^{4'}).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 157.3 (d, *J* = 26.2 Hz, C⁴), 149.8 (C²), 140.6 (d, *J* = 238.7 Hz, C⁵), 139.0 (C^{2'}), 127.6 (d, *J* = 32.4 Hz, C⁶), 115.3 (C^{3'}), 53.2 (C^{1'}), 19.7 (C^{4'}).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₈H₉FN₂O₂ : 185.0721, found : 185.0726.

266 : (*E*)-N¹-(4'-bis(POM)-phosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)uracil



Formula Weight:488.47
Formula:C₂₁H₃₃N₂O₉P

Procedure : The title compound was obtained from **263** following the general procedure **10**. Yield : 27 %, colorless oil.

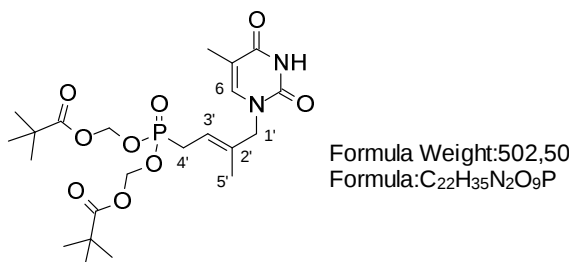
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.29 (s, 1H, NH), 7.16 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H⁶), 5.77 (dd, *J* = 7.9, 2.4 Hz, H⁵), 5.74 – 5.62 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.44 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H, H^{3'}), 4.33 (d, *J* = 4.1 Hz, 2H, H^{1'}), 2.75 (dd, *J* = 22.9, 7.7 Hz, 2H, H^{4'}), 1.68 (d, *J* = 4.1 Hz, 3H, H^{5'}), 1.26 (s, 18H, *t*Bu).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 176.9 (C=O), 162.9 (C⁴), 150.7 (C²), 143.1 (C⁶), 135.5 (d, *J* = 15.2 Hz, C^{2'}), 117.8 (d, *J* = 11.9 Hz, C^{3'}), 102.7 (C⁵), 81.6 (d, *J* = 6.5 Hz, O-CH₂-O), 54.0 (C^{1'}), 38.7, 27.1 (d, *J* = 140.4 Hz, C^{4'}), 26.9 (*t*Bu), 14.3 (C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.1.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₁H₃₃N₂O₉P : 489.1996, found : 489.1994.

267 : (*E*)-*N*¹-(4'-bis(POM)-phosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)thymine



Procedure : The title compound was obtained from **264** following the general procedure **10**.
Yield : 33 %, colorless oil.

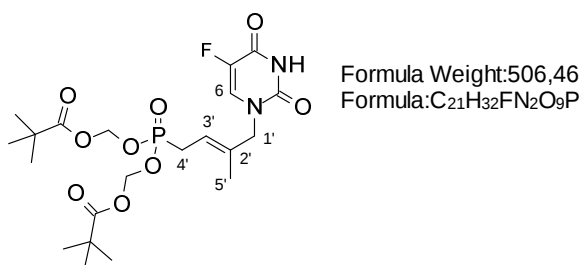
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.65 (s, 1H, NH), 6.97 (d, *J* = 1.2 Hz, H⁶), 5.83 – 5.59 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.43 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.30 (d, *J* = 4.3 Hz, 2H, H^{1'}), 2.74 (dd, *J* = 22.9, 7.7 Hz, H^{4'}), 1.94 (d, *J* = 1.0 Hz, 3H, CH₃-Ar), 1.78 – 1.67 (d, *J* = 4.1 Hz, 3H, H^{5'}), 1.25 (s, 18H, *t*Bu).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 176.8 (C=O), 163.8 (C⁴), 150.9 (C²), 139.0 (C⁶), 135.9 (d, *J* = 15.0 Hz, C^{2'}), 117.2 (d, *J* = 11.6 Hz, C^{3'}), 111.2 (C⁵), 81.6 (d, *J* = 6.5 Hz, O-CH₂-O), 53.7 (C^{1'}), 38.7, 27.1 (d, *J* = 140.6 Hz, C^{4'}), 26.9 (*t*Bu), 14.31 (d, *J* = 2.5 Hz, CH₃-Ar), 12.3 (C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.1.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₃₅N₂O₉P : 503.2153, found : 503.2150.

268 : (*E*)-*N*¹-(4'-bis(POM)-phosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)-5-fluorouracil



Procedure : The title compound was obtained from **265** following the general procedure **10**. Yield : 39 %, colorless oil.

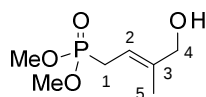
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.52 (s, 1H, NH), 7.27 (s, 1H, H⁶), 5.77-5.58 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.48 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H, H^{3'}), 4.31 (d, *J* = 4.0 Hz, 2H, H^{1'}), 2.75 (dd, *J* = 23.0, 7.7 Hz, 2H, H^{4'}), 1.68 (d, *J* = 4.1 Hz, 3H, H^{5'}), 1.24 (s, 18H, *t*Bu).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 176.9 (C=O), 157.0 (d, *J* = 26.4 Hz, C⁴), 149.7 (C³), 140.69 (d, *J* = 238.6 Hz, C⁵), 135.2 (d, *J* = 14.9 Hz, C^{2'}), 127.1 (d, *J* = 32.6 Hz, C⁶), 118.5 (d, *J* = 11.8 Hz, C^{3'}), 81.6, (d, *J* = 6.5 Hz, O-CH₂-O), 54.3 (C^{1'}), 38.7, 27.1 (d, *J* = 140.5 Hz, C^{4'}), 26.8 (*t*Bu), 14.3 (d, *J* = 2.6 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.0.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₁H₃₂FN₂O₉P : 507.1902, found : 507.1902.

271 : (E)-4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl-dimethylphosphonate



Formula Weight: 194.16
Formula: C₇H₁₅O₄P

Procedure : To a solution of dimethyl allylphosphonate (500 mg, 3.33 mmol, 1.0 equiv.) and 2-methyl-2-propen-1-ol (480 mg, 6.66 mmol, 2.0 equiv.) in dry CH₂Cl₂ (33 mL, 0.1 M) was added RuCl₂(PCy₃)IMesIndenylidene Nolan's catalyst (312 mg, 0.08 mmol, 10 mol%). The catalyst was added in four equal portions of 2.5 mol% (78 mg, 0.07 mmol) at t = 0, 2, 4 and 6 h over the course of the reaction. The solution was sonicated at 55 °C (80 kHz, 100 W) under nitrogen atmosphere during 20 h. Volatiles were evaporated and residue was purified twice by silica gel column chromatography CH₂Cl₂-MeOH (98:2) to give **1** a separable mixture of cis/trans isomers (612 mg, 79 %, 30/70).

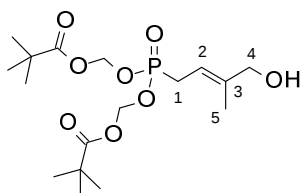
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.39 (q, *J* = 7.2 Hz, 1H, H²), 3.94 (d, *J* = 3.5 Hz, 2H, H⁴), 3.68 (s, 3H, OMe), 3.66 (s, 3H, OMe), 3.51 (s, 1H, OH), 2.55 (dd, *J* = 22.1, 7.8 Hz, 2H, H¹), 1.62 (d, *J* = 4.0 Hz, 3H, H⁵).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 140.4 (d, *J* = 14.1 Hz, C³), 112.3 (d, *J* = 11.0 Hz, C²), 67.5 (d, *J* = 2.9 Hz, C⁴), 52.7 (OMe), 52.6 (OMe), 24.9 (d, *J* = 140.2 Hz, C¹), 13.7 (d, *J* = 2.5 Hz, C⁵).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 30.9.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₇H₁₆O₄P : 195.0781, found : 195.0782.

272 : (E)-4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl-bis(POM)phosphonate



Formula Weight: 394.40
Formula: C₁₇H₃₁O₈P

Procedure : To a solution of bis(POM) allylphosphonate **150** (1 g, 2.86 mmol, 1.0 equiv.) and 2-methyl-2-propen-1-ol (0.48 mL, 5.71 mmol, 2.0 equiv.) in dry CH₂Cl₂ (15 mL, 0.5 M) was added RuCl₂(PPh₃)IMesBenzylidene Nolan's catalyst (266 mg, 0.286 mmol, 10 mol%). The catalyst was added in four equal portions of 2.5 mol% (66 mg, 0.0715 mmol) at t = 0, 2, 4 and 6 h over the course of the reaction. The solution was refluxed at 40 °C under nitrogen atmosphere during 20 h. Volatiles were evaporated and residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/PE, 7:3) to give the desired phosphonate derivative as brown oil (672 mg, 60 %).

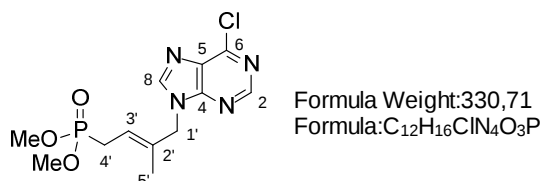
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.77-5.56 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.49 – 5.38 (m, 1H, H²), 4.03 (s, 2H, H⁴), 2.70 (dd, *J* = 22.7, 7.7 Hz, 2H, H¹), 2.17 (s, 1H, OH), 1.70 (d, *J* = 4.2 Hz, 3H, H⁵), 1.24 (s, 18H, tBu).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 176.9 (C=O), 141.2 (d, *J* = 14.8 Hz, C³), 111.8 (d, *J* = 11.7 Hz, C²), 81.6 (d, *J* = 6.5 Hz, O-CH₂-O), 67.9 (d, *J* = 3.0 Hz, C⁴), 38.7, 26.8 (tBu), 26.7 (d, *J* = 140.2 Hz, C¹), 13.9 (d, *J* = 2.6 Hz, C⁵).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 28.4.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₃₁O₈ : 395.18290, found : 395.1828.

274 : (E)-N⁹-(4'-dimethylphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)-6-chloropurine



Procedure : The title compound was obtained from 6-chloropurine following the general procedure **11**. Yield : 52 %, colorless oil.

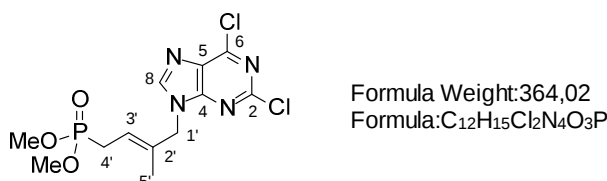
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.73 (s, 1H, H²), 8.11 (s, 1H, H⁸), 5.62 – 5.44 (m, 1H, H^{3'}), 4.84 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H, H^{1'}), 3.74 (s, 3H, OMe), 3.71 (s, 3H, OMe), 2.63 (dd, *J* = 22.4, 7.9 Hz, 2H, H^{4'}), 1.65 (d, *J* = 3.9 Hz, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 152.5 (C²), 152.4 (C⁶), 151.5 (C⁴), 145.5 (C⁸), 134.4 (d, *J* = 14.1 Hz, C^{2'}), 131.9 (C⁵), 119.9 (d, *J* = 11.1 Hz, C^{3'}), 53.53 (OMe), 53.47 (OMe), 51.9 (d, *J* = 2.7 Hz, C^{1'}), 26.5 (d, *J* = 139.3 Hz, C^{4'}), 15.4 (d, *J* = 2.4 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (161 MHz, CDCl₃) δ 28.7.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₂H₁₇ClN₄O₃P : 331.0721, found : 331.0722.

275 : (E)-N⁹-(4'-dimethylphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)-2,6-dichloropurine



Procedure : The title compound was obtained from 2,6-dichloropurine following the general procedure **11**. Yield : 51 %, colorless oil.

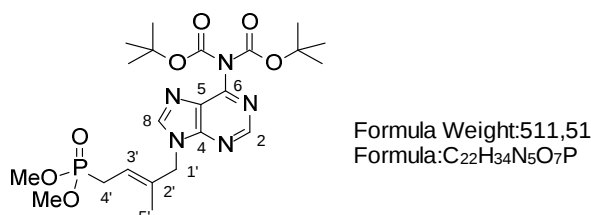
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.11 (s, 1H, H⁸), 5.52 (q, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^{3'}), 4.79 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H, H^{1'}), 3.73 (s, 3H, OMe), 3.71 (s, 3H, OMe), 2.62 (dd, *J* = 22.4, 7.9 Hz, 2H, H^{4'}), 1.64 (d, *J* = 3.9 Hz, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 153.2 (C²), 153.0 (C⁶), 151.7 (C⁴), 145.7 (C⁸), 133.5 (d, *J* = 14.2 Hz, C^{2'}), 130.6 (C⁵), 119.7 (d, *J* = 11.2 Hz, C^{3'}), 52.8 (OMe), 52.7 (OMe), 51.3 (d, *J* = 2.7 Hz, C^{1'}), 25.6 (d, *J* = 140.7 Hz, C^{4'}), 14.5 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 28.9.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₂H₁₆Cl₂N₄O₃P : 365.0331, found : 365.0336.

276 : (E)-N⁹-(4'-dimethylphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)-bisBoc-adenine



Procedure : The title compound was obtained from bis-Boc-adenine **221** following the general procedure **1**. Yield : 79 %, colorless oil.

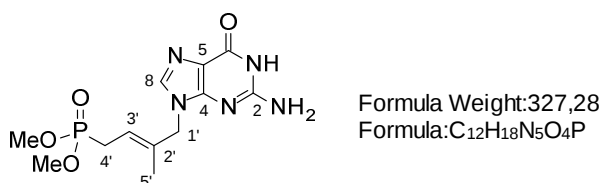
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.88 (s, 1H, H²), 8.07 (s, 1H, H⁸), 5.55 (q, *J* = 6.5 Hz, 1H, H^{3'}), 4.86 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H, H^{1'}), 3.77 (s, 3H, OMe), 3.74 (s, 3H, OMe), 2.66 (dd, *J* = 22.4, 7.8 Hz, 2H, H^{4'}), 1.67 (d, *J* = 3.7 Hz, 3H, H^{5'}), 1.47 (s, 18H, *t*Bu).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 153.51 (C=O), 152.2 (C²), 150.5 (C⁴), 150.4 (C⁶), 144.5 (C⁸), 134.3 (d, *J* = 14.2 Hz, C^{2'}), 128.7 (C⁵), 119.0 (d, *J* = 11.2 Hz, C^{3'}), 83.73 (*t*Bu), 52.74 (OMe), 52.67 (OMe), 50.9 (C^{1'}), 27.8 (*t*Bu), 25.6 (d, *J* = 140.9 Hz, C^{4'}), 14.5 (C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 28.5.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₃₅N₅O₇P : 512.2269, found : 512.2272.

277 : (*E*)-*N*⁹-(4'-dimethylphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)guanine



Procedure : The coupling product was obtained from *bis*-Boc-2-amino-6-chloropurine **222** following the general procedure **11** and purified by silica gel column chromatography (AcOEt/MeOH, 97:3). The deprotection was subsequently carried out by treatment of the crude intermediate (54 mg, 0.099 mmol) in DCM (2 mL) with TFA (76 μL, 0.99 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 h and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 95:5) to afford **277** (14 mg, 45 % in two steps) as an amorphous white solid.

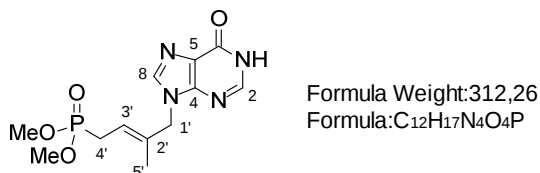
¹H NMR (250 MHz, DMSO) δ 10.77 (s, 1H, NH), 7.61 (s, 1H, H⁸), 6.61 (s, 2H, NH₂), 5.08 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H, H^{3'}), 4.52 (d, *J* = 4.4 Hz, 2H, H^{1'}), 3.62 (s, 3H, OMe), 3.58 (s, 3H, OMe), 2.66 (dd, *J* = 22.1, 7.8 Hz, 2H, H^{4'}), 1.61 (d, *J* = 3.8 Hz, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (63 MHz, DMSO) δ 158.9 (C⁶), 157.3 (C²), 154.2 (C⁴), 137.8 (C⁸), 135.6 (d, *J* = 14.3 Hz, C^{2'}), 116.6 (C⁵), 116.1 (d, *J* = 10.6 Hz, C^{3'}), 52.8 (OMe), 52.7 (OMe), 49.3 (C^{1'}), 24.8 (d, *J* = 136.9 Hz, C^{4'}), 14.9 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 26.3.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₂H₁₉N₅O₄P : 328.1169, found : 328.1175.

278 : (*E*)-*N*⁹-(4'-dimethylphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)hypoxanthine



Procedure : A solution of compound **274** (48 mg, 0.145 mmol) in a (1:1) mixture of water (1.5 mL) and formic acid (1.5 mL) was stirred for 20 h at 40 °C. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography (CH₂Cl₂/MeOH, 90:10) to afford **278** (44 mg, 98 %) as a colorless oil.

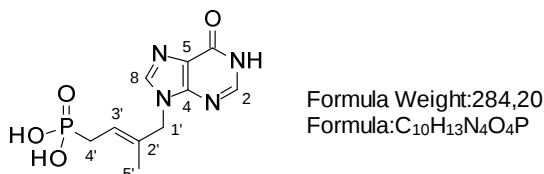
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 12.94 (s, 1H, NH), 8.20 (s, 1H, H²), 7.82 (s, 1H, H⁸), 5.51 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.76 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H, H^{1'}), 3.78 (s, 3H, OMe), 3.75 (s, 3H, OMe), 2.67 (dd, *J* = 22.4, 7.8 Hz, 2H, H^{4'}), 1.68 (d, *J* = 3.7 Hz, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 159.1 (C⁶), 149.3 (C⁴), 145.0 (C²), 140.1 (C⁸), 134.6 (d, *J* = 14.4 Hz, C^{2'}), 124.4 (C⁵), 118.4 (d, *J* = 11.2 Hz, C^{3'}), 52.8 (OMe), 52.7 (OMe), 50.9 (d, *J* = 2.7 Hz, C^{1'}), 25.6 (d, *J* = 140.7 Hz, C^{4'}), 14.5 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 29.4.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₂H₁₈N₄O₄P : 313.1060, found : 313.1064.

279 : (*E*)-*N*⁹-(4'-dihydroxyphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)hypoxanthine



Procedure : The title compound was obtained from **278** following the general procedure **8**. Yield : quantitative, amorphous white solid.

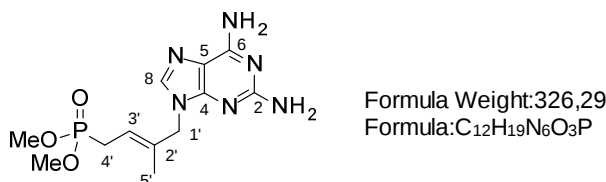
¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 9.43 (s, 1H, H⁸), 8.34 (s, 1H, H²), 5.72 (dd, *J* = 14.4, 6.9 Hz, 1H, H^{3'}), 5.04 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, H^{1'}), 2.68 (dd, *J* = 22.3, 7.9 Hz, 1H, H^{4'}), 1.78 (d, *J* = 3.4 Hz, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 153.0 (C⁶), 149.1 (C²), 147.5 (C⁴), 139.28 (C⁸), 132.1 (d, *J* = 14.1 Hz, C^{2'}), 122.1 (d, *J* = 10.9 Hz, C^{3'}), 115.8 (C⁵), 52.4 (C^{1'}), 27.3 (d, *J* = 136.0 Hz, C^{4'}), 13.3 (d, *J* = 2.4 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, MeOD) δ 24.8.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₀H₁₄N₄O₄P : 285.0747, found : 285.0749.

280 : (*E*)-*N*⁹-(4'-dimethylphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)-2,6-diaminopurine



Procedure : To a solution of **275** (81 mg, 0.222 mmol) in a 5:1 mixture of EtOH/H₂O (2.5 mL/0.5 mL) was added NaN₃ (43 mg, 0.665 mmol). The mixture was stirred during 2 h at 80 °C and evaporated under reduced pressure. The crude product was dissolved in EtOH (3mL) and SnCl₂.2H₂O (150 mg, 0.665 mmol) was added. The solution was refluxed during 2 h and concentrated in *vacuo*. The remainder was purified by silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 85:15) to afford **280** (71 mg, 98 %) as an amorphous white solid.

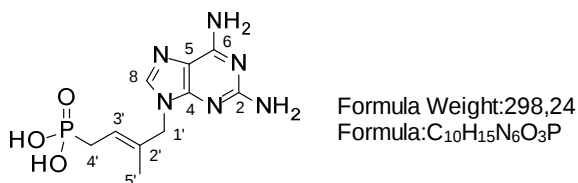
¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.87 (s, 1H, H⁸), 5.32 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.69 (d, *J* = 4.4 Hz, 2H, H^{1'}), 3.77 (s, 3H, OMe), 3.74 (s, 3H, OMe), 2.78 (dd, *J* = 22.4, 7.8 Hz, 2H, H^{4'}), 1.71 (d, *J* = 4.0 Hz, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 155.8 (C²), 152.8 (C⁶), 151.7 (C⁴), 140.3 (C⁸), 135.5 (d, *J* = 14.6 Hz, C^{2'}), 116.1 (d, *J* = 11.3 Hz, C^{3'}), 111.8 (C⁵), 52.4 (OMe), 52.3 (OMe), 49.5 (d, *J* = 2.8 Hz, C^{1'}), 24.1 (d, *J* = 139.9 Hz, C^{4'}), 13.3 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, MeOD) δ 30.6.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₂H₂₀N₆O₃P : 327.1329, found : 327.1332.

281 : (*E*)-*N*⁹-(4'-dihydroxyphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)-2,6-diaminopurine



Procedure : title compound was obtained from **208** following the general procedure **8**. Yield : quantitative, amorphous white solid.

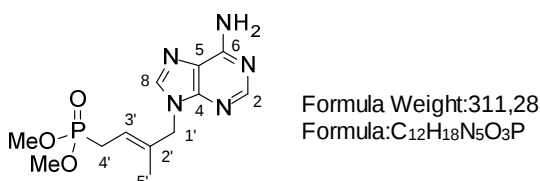
¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.43 (s, 1H, H⁸), 5.58 (q, *J* = 6.5 Hz, 1H, H^{3'}), 4.77 (d, *J* = 2.9 Hz, 2H, H^{1'}), 2.66 (dd, *J* = 22.2, 7.6 Hz, 2H, H^{4'}), 1.73 (d, *J* = 3.4 Hz, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 153.0 (C²), 149.8 (C⁶), 145.0 (C⁴), 141.3 (C⁸), 133.1 (d, *J* = 13.6 Hz, C^{2'}), 120.2 (d, *J* = 10.7 Hz, C^{3'}), 50.8 (C^{1'}), 27.1 (d, *J* = 138.1 Hz, C^{4'}), 13.2 (d, *J* = 2.0 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, MeOD) δ 25.3.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₀H₁₆N₆O₃P : 299.1016, found : 299.1019.

282 : (*E*)-*N*⁹-(4'-dimethylphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)adenine



Procedure : To a solution of **276** (180 mg, 0.352 mmol) in CH₂Cl₂ (4 mL) was added TFA (674 μL, 8.79 mmol) at room temperature. The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 h and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 95:5) to afford **282** (60 mg, 61 %) as a colorless oil.

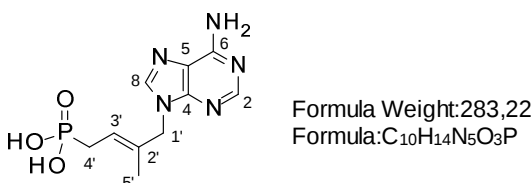
¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.22 (s, 1H, H²), 8.10 (s, 1H, H⁸), 5.40 – 5.23 (m, 1H, H^{3'}), 4.83 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H, H^{1'}), 3.74 (s, 3H, OMe), 3.72 (s, 3H, OMe), 2.74 (dd, *J* = 22.3, 7.9 Hz, 2H, H^{4'}), 1.71 (d, *J* = 4.1 Hz, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 155.9 (C⁶), 152.4 (C²), 149.4 (C⁴), 141.3 (C⁸), 135.6 (d, *J* = 14.5 Hz, C^{2'}), 118.5 (C⁵), 116.2 (d, *J* = 11.3 Hz, C^{3'}), 52.2 (OMe), 52.1 (OMe), 49.7 (d, *J* = 2.9 Hz, C^{1'}), 24.1 (d, *J* = 139.9 Hz, C^{4'}), 13.2 (d, *J* = 2.5 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, MeOD) δ 30.9.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₂H₁₉N₅O₃P : 312.1220, found : 312.1224.

283 : (*E*)-*N*⁹-(4'-dihydroxyphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)adenine



Procedure : The title compound was obtained from **282** following the general procedure **8**. Yield : quantitative, amorphous white solid.

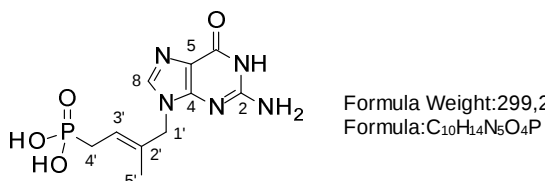
¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.42 (s, 1H, H²), 8.35 (s, 1H, H⁸), 5.58-5.52 (m, 1H, H^{2'}), 4.92 (s, 2H, H^{4'}), 2.63 (dd, *J* = 22.0, 7.4 Hz, 2H, H^{1'}), 1.71 (s, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 150.3 (C⁶), 149.1 (C⁴), 144.2 (C⁸), 143.8 (C²), 133.4 (C^{2'}), 120.0 (C^{3'}), 118.3 (C⁵), 50.7 (C^{1'}), 27.2 (d, *J* = 139.0 Hz, C^{4'}), 13.16 (C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, MeOD) δ 24.9.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₀H₁₅N₅O₃P : 284.0907, found : 284.0912.

284 : (*E*)-*N*⁹-(4'-dihydroxyphosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)guanine



Procedure : The title compound was obtained from **278** following the general procedure **8**. Yield : quantitative, amorphous white solid.

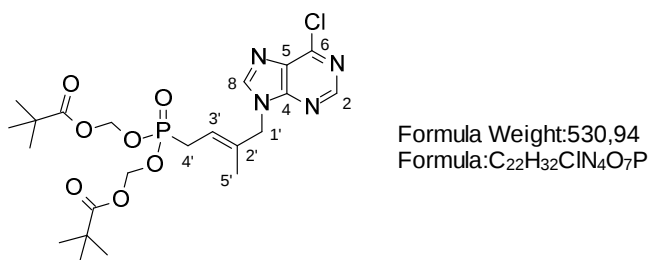
¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 9.05 (s, 1H, H⁸), 5.66 (q, *J* = 6.5 Hz, 1H, H^{3'}), 4.84 (d, *J* = 1.4 Hz, 2H, H^{1'}), 2.67 (dd, *J* = 22.2, 7.5 Hz, 2H, H^{4'}), 1.76 (s, 3H, H^{5'}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 156.0 (C⁶), 153.6 (C²), 150.4 (C⁴), 136.7 (C⁸), 132.4 (d, *J* = 13.9 Hz, C^{2'}), 121.4 (d, *J* = 10.9 Hz, C^{3'}), 107.3 (C⁵), 51.5 (C^{1'}), 27.21 (d, *J* = 134.1 Hz, C^{4'}), 13.25 (C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, MeOD) δ 25.0.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₀H₁₅N₅O₄P : 300.0856, found : 300.0863.

285 : (*E*)-*N*⁹-(4'-bis(POM)-phosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)-6-chloropurine



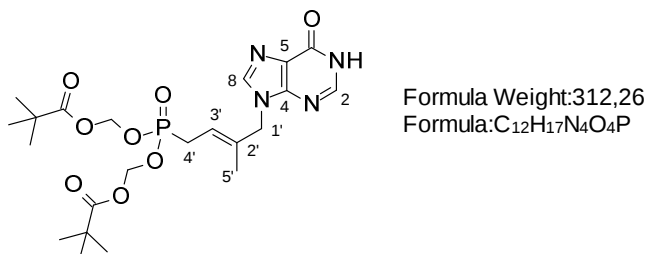
Procedure : To a solution of *bis*-POM hydroxyl synthon **272** (1 equiv.) in THF (0.1 M), was sequentially added 6-chloropurine (2.5 equiv.) and PPh₃ (2.5 equiv.). Then, DIAD (2.5 equiv.) was added dropwise at 10 °C. The mixture was stirred at room temperature for 20 h. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 99:1) to give desired coupling product (60 %) as a colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.74 (s, 1H, H⁸), 8.13 (s, 1H, H²), 5.79 – 5.57 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.50 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.84 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, H^{1'}), 2.72 (dd, *J* = 23.0, 7.8 Hz, 2H, H^{4'}), 1.66 (d, *J* = 4.2 Hz, 3H, H^{5'}), 1.21 (s, 18H, *t*Bu).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 176.8 (C=O), 152.1 (C²), 152.0 (C⁶), 151.1 (C⁴), 145.1 (C⁸), 135.1 (d, *J* = 15.0 Hz, C^{2'}), 131.5 (C⁵), 118.0 (d, *J* = 11.8 Hz, C^{3'}), 81.6 (d, *J* = 6.5 Hz, O-CH₂-O), 51.0 (d, *J* = 3.0 Hz, C^{1'}), 38.7, 27.1 (d, *J* = 140.6 Hz, C^{4'}), 26.8 (*t*Bu), 14.6 (d, *J* = 2.6 Hz, C^{5'}).

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₃₂ClN₄O₇P : 531.1770, found : 531.1770.

286 : (*E*)-*N*⁹-(4'-*bis*(POM)-phosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)hypoxanthine



Procedure : A solution of compound **285** (72 mg, 0.136 mmol) in a 1:1 mixture of water (2 mL) and formic acid (2 mL) was stirred for 20 h at 40 °C. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5) to give compound **286** (55 mg, 78 %) as a colorless oil.

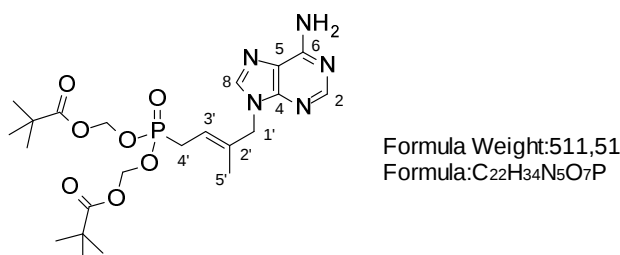
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 13.10 (s, 1H, NH), 8.25 (s, 1H, H⁸), 7.81 (s, 1H, H²), 5.75 – 5.60 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.48 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H, H^{3'}), 4.75 (d, *J* = 4.1 Hz, 2H, H^{1'}), 2.73 (dd, *J* = 22.9, 7.8 Hz, 2H, H^{4'}), 1.66 (d, *J* = 4.1 Hz, 3H, H^{5'}), 1.23 (s, 18H, *t*Bu).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 176.8 (C=O), 159.1 (C⁶), 149.3 (C⁴), 145.3 (C²), 140.0 (C⁸), 135.7 (d, *J* = 15.0 Hz, C^{2'}), 124.4 (C⁵), 117.2 (d, *J* = 11.7 Hz, C^{3'}), 81.6 (d, *J* = 6.5 Hz, O-CH₂-O), 50.8 (C^{1'}), 38.7, 27.1 (d, *J* = 140.6 Hz, C^{4'}), 26.8 (*t*Bu), 14.6 (d, *J* = 2.6 Hz, C^{5'}).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 27.2.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₃₃N₄O₈P : 513.2109, found : 513.2111.

288 : (*E*)-*N*⁹-(4'-*bis*(POM)-phosphinyl-2'-methyl-but-2'-enyl)adenine



Procedure : To a solution of *bis*-POM hydroxyl synthon **272** (1 equiv.) in 1,4-dioxane (0.1 M), were sequentially added *bis*-Boc adenine **221** (2.5 equiv.) and PPh₃ (2.5 equiv.). Then, DIAD (2.5 equiv.) was added dropwise at 10 °C. The mixture was stirred at room temperature for 20 h. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 99:1) to give desired coupling product contaminated with triphenylphosphine oxide. The crude intermediate was subsequently deprotected by treatment with a 1:1 mixture of formic acid/H₂O at 70 °C during 16 h and purified by silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 95:5) to afford **288**. Yield : 15 %, colorless oil.

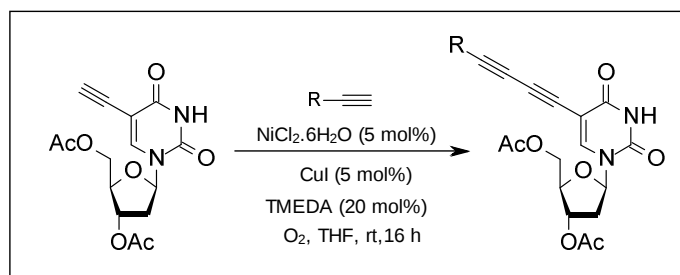
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.34 (s, 1H, H⁶), 7.83 (s, 1H, H²), 6.20 (s, 2H, NH₂), 5.83 – 5.51 (m, 4H, O-CH₂-O), 5.43 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.76 (d, *J* = 4.4 Hz, 2H, H^{1'}), 2.73 (dd, *J* = 22.9, 7.8 Hz, 2H, H^{4'}), 1.68 (d, *J* = 4.2 Hz, 3H, H^{5'}), 1.24 (s, 18H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 176.8 (C=O), 152.1 (C²), 152.0 (C⁶), 151.1 (C⁴), 145.1 (C⁸), 135.1 (d, *J* = 15.0 Hz, C^{2'}), 131.5 (C⁵), 118.0 (d, *J* = 11.8 Hz, C^{3'}), 81.6 (d, *J* = 6.5 Hz, O-CH₂-O), 51.0 (d, *J* = 3.0 Hz, C^{1'}), 38.7, 27.1 (d, *J* = 140.6 Hz, C^{4'}), 26.8 (*t*Bu), 14.6 (d, *J* = 2.6 Hz, C^{5'}).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₃₄N₅O₇P : 512.2269, found : 512.2263.

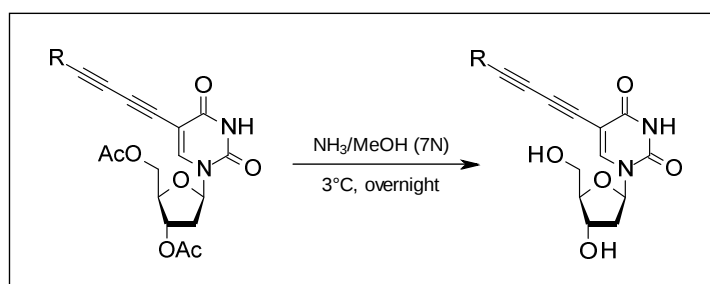
Partie A : Chapitre 2

General procedure 12 : Alkyne C-H heterocoupling

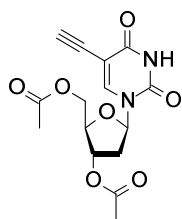


To a THF solution of CuI (5 mol%) and NiCl₂·6H₂O (5 mol%), tetramethylethylenediamine (20 mol%) was added. The solution was stirred 2 minute at room temperature. C⁵-ethynyl-nucleoside (1 eq.) and commercial alkyne (5 eq.) were added subsequently and the reaction mixture was stirred overnight at room temperature under oxygen atmosphere. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Petroleum ether) to yield the desired compound.

General procedure 13 : Deprotection



Deprotection of acetyl groups was carried out by treatment with a solution of NH₃ in methanol (7N) at 3 °C overnight. After evaporation of the solvents, the residual solid was purified on silica gel eluting with CH₂Cl₂/MeOH (98:2) to give compounds to afford desired deprotected products.

296 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-ethynyl-2'-deoxyuridine

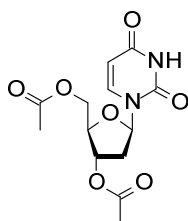
Formula Weight: 336,30
Formula: C₁₅H₁₆N₂O₇

Procedure : Iodinated nucléoside **347** (3.4 mmol) was dissolved in a mixture of dry DMF (15 mL), dry Et₃N (1.44 mL, 3 eq.) and trimethylsilylacetylene (1.46 mL, 3 eq.). CuI (195 mg, 0.2 eq.) and PdCl₂(PPh₃)₂ (240 mg, 0.1 eq.) were then added and the reaction mixture was stirred at room temperature until completion (typically 5-20 h, checked by TLC). Solvents were evaporated under reduced pressure. The oily residue was dissolved in EtOAc (200 mL) then washed with water (5 x 30 mL) and brine (40 mL). The organic layer was dried over MgSO₄ and the solvents were evaporated under reduced pressure to dark oil. A purification using a short path flash chromatography (eluent: hexanes/EtOAc 7/3 then 1/1) afforded the 3',5'-di-O-acetyl-5-trimethylsilylethynyl-2'-deoxyuridine **348**. This compound (6.7 mmol), was dissolved in dry CH₃CN (15 mL). TBAF monohydrate (1.85 g, 1.05 eq.) was added and the resulting solution was stirred at room temperature until completion (typically 30 min. to 2 h, checked by TLC). Solvents were evaporated under reduced pressure at room temperature and the oily residue was submitted to a flash column chromatography (eluent : hexanes/EtOAc 1/1 then EtOAc then MeOH/EtOAc (98/2) to afford pure 5-ethynyl nucleoside **3** as white solid in 75 % yield.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.04 (s, 1H, NH), 7.93 (s, 1H, H⁶), 6.30 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, H^{1'}), 5.25 (m, 1H, H^{3'}), 4.30-4.45 (m, 3H, H^{4'} and H^{5'}), 3.21 (s, 1H, CH alkyne), 2.55 (m, 1H, H^{2'a}), 2.25 (m, 1H, H^{2'b}), 2.07 (s, 3H, OAc), 2.05 (s, 3H, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5, 170.3, 161.1, 149.2, 142.9, 99.8, 85.7, 82.4, 74.6, 74.0, 63.9, 38.5, 21.0, 20.9.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₅H₁₇N₂O₇ : 336.3052, found : 336.3048.

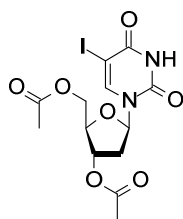
346 : 3',5'-Di-O-acetyl-2'-deoxyuridine

Formula Weight: 312,28
Formula: C₁₃H₁₆N₂O₇

Procedure : To a solution of 2'-deoxyuridine (1 eq) dry pyridine (10 mL/g) at 0°C, was added acetic anhydride is (40 eq). The mixture was stirred 5 hours at room temperature and quenched by addition of methanol (40 eq) at 0°C. Finally, solvent is evaporated under reduced pressure to afford **346** as a white solid (96%).

CAS : 13030-62-1

347 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-iodo-2'-deoxyuridine

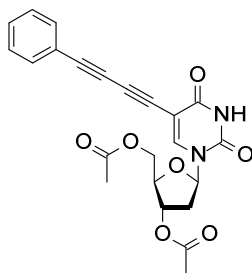


Formula Weight: 438,17
Formula: C₁₃H₁₅IN₂O₇

Procedure : A solution of acetylated 2'-deoxyuridine **346** (22 mmol) in dry CH₃CN (60 mL), CAN (7.21 g 0.6 eq.) and I₂ (3.33 g, 0.6 eq.) was refluxed until completion (typically 1 h, checked by TLC). After cooling to room temperature, solvents were evaporated under reduced pressure and the dark oily residue was dissolved in EtOAc (200 mL) and H₂O (50 mL). The biphasic mixture was cooled in an ice bath and a saturated Na₂S₂O₃ solution was smoothly added until complete decolouration. The organic layer was washed with water (2 x 50 mL) and brine (50 mL), dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The white foam was triturated with pentane (50 mL), filtrated and dried under reduced pressure to afford pure iodinated derivative **347** in 87 % yield.

CAS : 1956-30-5

350 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-(4-phenylbuta-1,3-diynyl)-2'-deoxyuridine



Formula Weight: 436,41
Formula: C₂₃H₂₀N₂O₇

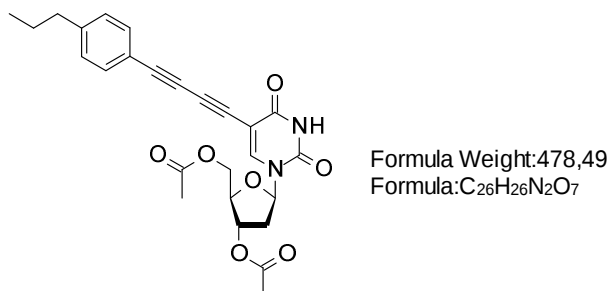
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 53 %.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8.98 (s, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H⁶), 7.30- 7.55 (m, 5H, H^{Ar}), 6.29 (t, 1H, *J* = 6.0 Hz, H^{1'}), 5.23 (m, 1H, H^{3'}), 4.30- 4.38 (m, 3H, H^{4'}, 2H^{5'}), 2.60 (m, 2H, H^{2'}), 2.12 (s, 3H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc).

¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ 170.2 (C=O), 170.1 (C=O), 160.5 (C⁴), 148.7 (C²), 143.3 (C⁶), 132.5 (2 x C^{Ar}), 129.4 (C^{Ar}), 128.4 (2C^{Ar}), 121.2 (C^{4''}), 99.8 (C⁵), 85.7 (C⁴), 82.7 (C^{1'}), 78.6 (C^{''}), 73.7 (C^{3'}), 73.3 (C^{''}), 72.0 (C^{''}), 63.6 (C^{5'}), 38.4 (C^{2'}), 20.9 (CH₃, OAc), 20.8 (CH₃, OAc).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₁N₂O₇ : 437.134327, found : 437.1343.

351 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(4-propylphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



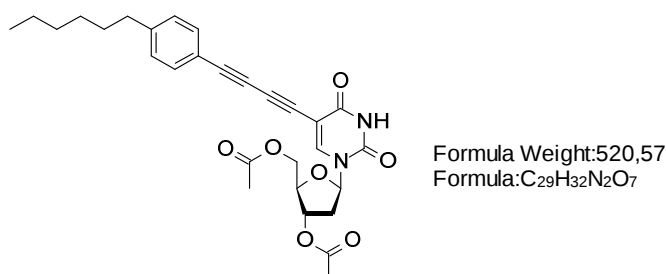
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 32 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.91 (bs, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H⁶), 7.40 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.13 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.29 (dd, *J* = 7.5, 6.0 Hz, 1H, H^{1'}), 5.24 (dt, *J* = 6.6, 2.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.40 (dd, *J* = 12.3, 3.0 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.34 (dd, *J* = 12.3, 2.9 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.30 (dd, *J* = 5.7, 2.8 Hz, 1H, H^{4'}), 2.61 – 2.56 (m, 3H, H^{2a'} and CH₂ alkyl), 2.29 – 2.19 (m, 2H, H^{2b'}), 2.21 (s, 3H, OAc), 2.12 (s, 3H, OAc), 1.61 (h, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂ alkyl), 0.92 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃ alkyl).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.3 (C=O), 160.8 (C⁴), 149.0 (C²), 144.8 (C^{Ar}), 143.4 (C⁶), 132.6 (2 x C^{Ar}), 128.8 (2 x C^{Ar}), 118.5 (C^{Ar}), 100.2 (C⁵), 85.9 (C^{1'}), 83.3 (C^{''}), 82.9 (C^{4'}), 79.0 (C^{''}), 73.9 (C^{3'}), 73.0 (C^{''}), 71.9 (C^{''}), 63.8 (C^{5'}), 38.6 (C^{2'}), 38.2 (CH₂ alkyl), 24.4 (CH₂ alkyl), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc), 13.9 (CH₃ alkyl).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₆H₂₇N₂O₇ : 479.1813, found : 479.1813.

352 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(4-hexylphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



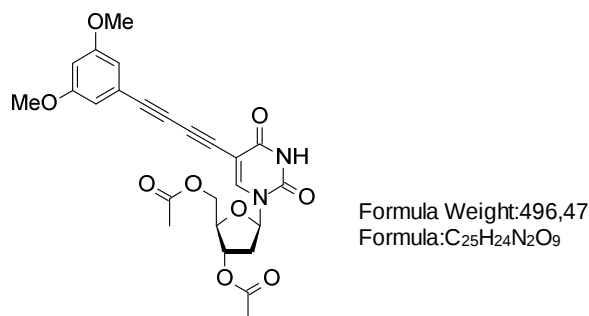
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 31 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.33 (s, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H⁶), 7.39 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.13 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.32 – 6.27 (dd, *J* = 7.3, 6.3 Hz, 1H, H^{1'}), 5.24 (dd, *J* = 6.1, 2.8 Hz, 1H, H^{3'}), 4.40 (dd, *J* = 12.2, 3.0 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.33 (dd, *J* = 12.4, 2.9 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.31 – 4.28 (m, 1H, H^{4'}), 2.64 – 2.53 (m, 3H, H^{2a'}, CH₂-Ar), 2.30 – 2.17 (m, 1H, H^{2b'}), 2.20 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.11 (s, 3H, CH₃, OAc), 1.63 – 1.53 (m, 2H, CH₂), 1.34 – 1.16 (m, 6H, 3 x CH₂), 0.87 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.3 (C=O), 161.0 (C⁴), 149.1 (C²), 145.1 (C^{Ar}), 143.4 (C⁶), 132.6 (2 x C^{Ar}), 128.7 (2 x C^{Ar}), 118.5 (C^{Ar}), 100.1 (C⁵), 85.8 (C^{1'}), 83.2 (C^{''}), 82.8 (C^{4'}), 78.9 (C^{''}), 73.9 (C^{3'}), 73.0 (C^{''}), 72.0 (C^{''}), 63.8 (C^{5'}), 38.50 (C^{2'}), 36.1 (CH₂ alkyl), 31.8 (CH₂ alkyl), 31.2 (CH₂ alkyl), 29.0 (CH₂ alkyl), 22.7 (CH₂ alkyl), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc), 14.2 (CH₃ alkyl).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₃₃N₂O₇ : 521.2282, found : 521.2276.

353 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(3,5-dimethoxyphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



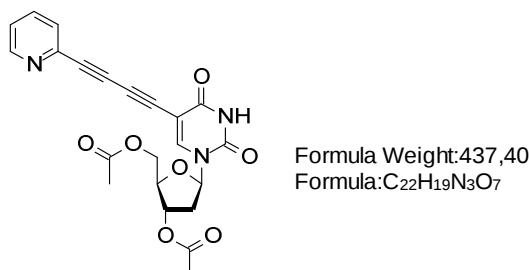
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 53 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.58 (s, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H⁶), 6.62 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.47 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.27 (dd, *J* = 7.4, 6.0 Hz, 1H, H^{1'}), 5.23 (dt, *J* = 6.5, 2.4 Hz, 1H, H^{3'}), 4.39 (dd, *J* = 12.2, 3.2 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.33 (dd, *J* = 12.3, 3.0 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.29 (dd, *J* = 5.7, 2.8 Hz, 1H, H^{4'}), 3.76 (s, *J* = 2.9 Hz, 6H, 2 x CH₃-O), 2.57 (ddd, *J* = 14.3, 5.8, 2.5 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.28 – 2.20 (m, 1H, H^{2b'}), 2.19 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.10 (s, 3H, CH₃, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.4 (C=O), 161.2 (C⁴), 160.6 (2 x C^{Ar}-O), 149.1 (C²), 143.7 (C⁶), 122.6 (C^{Ar}), 110.3 (2 x C^{Ar}), 103.2 (C^{Ar}), 99.8 (C⁵), 85.92 (C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 82.7 (C^{''}), 78.6 (C^{''}), 73.9 (C^{3'}), 73.1 (C^{''}), 72.5 (C^{''}), 63.8 (C^{5'}), 55.6 (2 x CH₃-O), 38.5 (C^{2'}), 20.9 (2 x CH₃, OAc).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₅N₂O₉ : 497.1555, found : 497.1551.

354 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(pyridin-2-yl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



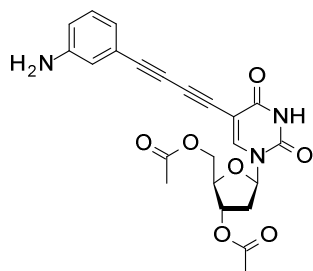
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 39 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.67 (s, 1H, NH), 8.57 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H, H^{Ar}), 8.01 (s, 1H, H⁶), 7.66 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.64 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.26 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.28 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, H^{1'}), 5.25 – 5.20 (m, 1H, H^{3'}), 4.39 (dd, *J* = 12.1, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.34 – 4.29 (m, 2H, H^{5b'}, H^{4'}), 4.31 – 4.27 (m, 1H, H^{2'}), 2.25 (dt, 14.2, 7.1 Hz, 1H, H^{2'}), 2.18 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.09 (s, 3H, CH₃, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.4 (C=O), 170.3 (C=O), 161.0 (C⁴), 150.4 (C^{Ar}), 149.1 (C²), 144.3 (C⁶), 141.9 (C^{Ar}), 136.3 (C^{Ar}), 132.0 (C^{Ar}), 123.8 (C^{Ar}), 99.4 (C⁵), 86.0 (C^{1'}), 82.9 (C^{4'}), 81.3 (C^{''}), 78.1 (C^{''}), 73.9 (C^{3'}), 73.6 (C^{''}), 73.3 (C^{''}), 63.8 (C^{5'}), 38.5 (C^{2'}), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₂₀N₃O₇ : 438.129576, found : 438.129432. *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₂H₁₉N₃NaO₇ : 460.111521, found : 460.110786.

355 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(3-amino-phenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



Formula Weight: 451.43
Formula: C₂₃H₂₁N₃O₇

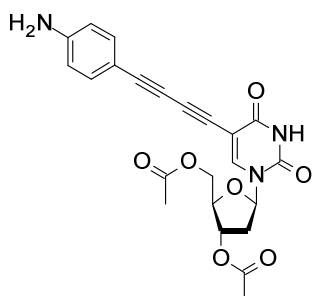
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 45 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.98 (s, 1H, H⁶), 7.08 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.87 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.78 (s, 1H, H^{Ar}), 6.68 (dd, *J* = 8.0 and 1.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.28 (dd, *J* = 7.2, 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 5.24 (dt, *J* = 6.5, 2.4 Hz, 1H, H^{3'}), 4.39 (dd, *J* = 12.3, 3.1 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.33 (dd, *J* = 12.3, 2.9 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.29 (dd, *J* = 5.7, 2.8 Hz, 1H, H^{4'}), 2.57 (ddd, *J* = 14.2, 5.7 and 2.4 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.30 – 2.14 (m, 1H, H^{2b'}), 2.19 (s, 3H, CH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.4 (C=O), 161.2 (C⁴), 149.1 (C²), 146.5 (C^{Ar}-NH₂), 143.6 (C⁶), 129.5 (C^{Ar}), 123.0 (C^{Ar}), 121.9 (C^{Ar}), 118.5 (C^{Ar}), 116.7 (C^{Ar}), 100.0 (C⁵), 85.9 (C^{1'}), 83.3 (C^{''}), 82.9 (C^{4'}), 78.8 (C^{''}), 73.9 (C^{3'}), 72.8 (C^{''}), 72.1 (C^{''}), 63.8 (C^{5'}), 38.5 (C^{2'}), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₂N₃O₇ : 452.1452, found : 452.1451.

356 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(4-aminophenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



Formula Weight: 451.43
Formula: C₂₃H₂₁N₃O₇

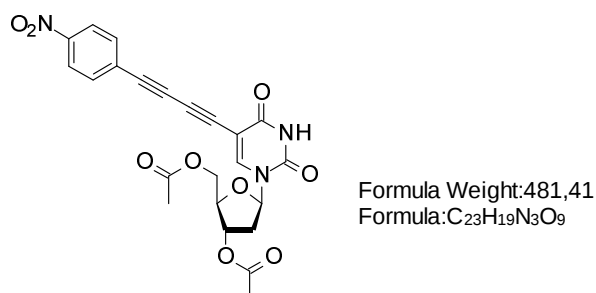
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 36 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.95 (s, 1H, H⁶), 7.29 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.58 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.29 (dd, *J* = 7.2, 6.2 Hz, 1H, H^{1'}), 5.26 – 5.22 (m, 1H, H^{3'}), 4.40 (dd, *J* = 12.3, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.33 (dd, *J* = 15.4, 3.0 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.30 (m, 1H, H^{4'}), 3.95 (bs, 2H, NH₂), 2.56 (ddd, *J* = 14.2, 5.7, 2.3 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.28 – 2.15 (m, 1H, H^{2b'}), 2.21 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.11 (s, 3H, CH₃, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.4 (C=O), 152.2 (C^{Ar}), 148.9 (C⁴), 148.0 (C²), 143.0 (C⁶), 134.3 (2 x C^{Ar}), 114.7 (2 x C^{Ar}), 110.2 (C^{Ar}), 100.1 (C⁵), 85.8 (C^{1'}), 84.2 (C^{''}), 82.8 (C^{4'}), 79.5 (C^{''}), 74.0 (C^{3'}), 71.7 (C^{''}), 71.4 (C^{''}), 63.9 (C^{5'}), 38.5 (C^{2'}), 21.0 (2 x CH₃, OAc).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₂N₃O₇ : 452.145226, found : 452.145251. *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₃H₂₁N₃NaO₇ : 474.127171, found : 474.127009.

357 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(4-nitrophenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



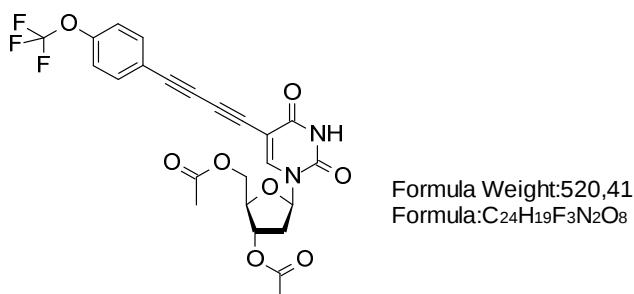
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 50 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.61 (s, 1H, NH), 8.19 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 8.02 (s, 1H, H⁶), 7.63 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.26 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H, H^{1'}), 5.26 – 5.20 (m, 1H, H^{3'}), 4.40 (dd, *J* = 12.2, 3.2 Hz, 1H, H^{5'}), 4.35 (dd, *J* = 12.5, 3.5 Hz, 1H, H^{5'}), 4.32 – 4.25 (m, 1H, H^{4'}), 2.59 (ddd, *J* = 8.0, 6.9, 3.5 Hz, 1H, H^{2'}), 2.25 (m, 1H, H^{2'}), 2.18 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.11 (s, 3H, CH₃, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.29 (C=O), 161.0 (C⁴), 149.0 (C²), 147.7 (C^{Ar}), 144.3 (C⁶), 133.4 (2 x C^{Ar}), 128.3 (C^{Ar}), 123.8 (2 x C^{Ar}), 99.2 (C⁵), 86.1 (C^{1'}), 82.9 (C^{4'}), 80.3 (C^{''}), 78.3 (C^{''}), 77.8 (C^{''}), 75.4 (C^{''}), 73.8 (C^{3'}), 63.8 (C^{5'}), 38.6 (C^{2'}), 20.9 (2 x CH₃, OAc).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₀N₃O₉ : 482.1194, found : 482.1189.

358 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(4-trifluoromethoxyphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



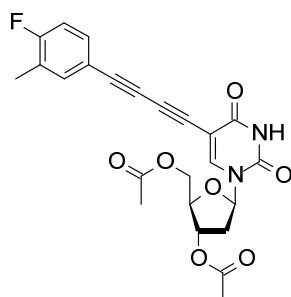
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 58 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.68 (s, 1H, NH), 8.00 (s, 1H, H⁶), 7.51 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.16 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.27 (dd, *J* = 7.3, 6.1 Hz, 1H, H^{1'}), 5.24 (dt, *J* = 2.5 and 5.8 Hz, 1H, H^{3'}), 4.36 (ddd, *J* = 22.8, 12.3 and 3.1 Hz, 1H, H^{5'}), 4.33 – 4.27 (m, *J* = 5.8 and 2.9 Hz, 1H, H^{5'}), 2.58 (ddd, *J* = 14.3, 5.8 and 2.5 Hz, 1H, H^{2'}), 2.25 (dt, *J* = 14.3 and 7.0 Hz, 1H, H^{2'}), 2.18 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.10 (s, 3H, CH₃, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.3 (C=O), 161.2 (C⁴), 149.8 (C^{Ar}), 149.1 (C²), 143.9 (C⁶), 134.3 (2 x C^{Ar}), 121.7 (C^{Ar}), 121.0 (2 x C^{Ar}), 120.1 (OCF₃), 99.6 (C⁵), 86.0 (C^{1'}), 82.9 (C^{4'}), 81.1 (C^{''}), 78.3 (C^{''}), 74.3 (C^{''}), 73.9 (C^{3'}), 73.1 (C^{''}), 63.8 (C^{5'}), 38.5 (C^{2'}), 20.9 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₀F₃N₂O₈ : 521.116627, found : 521.116137.

359 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(4-fluoro-3-methylphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



Formula Weight: 468.43
Formula: C₂₄H₂₁FN₂O₇

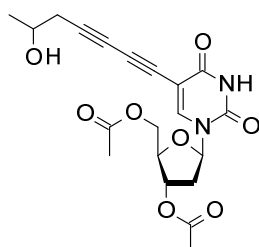
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 56 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.64 (s, 1H, NH), 7.92 (s, 1H, H⁶), 7.25 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.24 – 7.20 (m, 1H, H^{Ar}), 6.88 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.22 (dd, *J* = 7.2, 6.2 Hz, 1H, H^{1'}), 5.18 (dt, *J* = 6.6, 2.5 Hz, 1H, H^{3'}), 4.33 (dd, *J* = 12.2, 3.2 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.27 (dd, *J* = 12.3, 3.1 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.23 (dd, *J* = 5.7, 2.9 Hz, 1H, H^{4'}), 2.51 (ddd, *J* = 14.3, 5.8, 2.5 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.25 – 2.15 (m, 1H, H^{2b'}), 2.17 (d, *J* = 1.6 Hz, 3H, CH₃-Ar), 2.13 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.04 (s, 3H, CH₃, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.4 (C=O), 162.0 (C^{Ar}-F), 161.2 (C⁴), 149.2 (C²), 143.6 (C⁶), 135.8 (C^{Ar}), 132.2 (C^{Ar}), 125.8 (C^{Ar}), 125.6 (C^{Ar}), 115.5 (C^{Ar}), 99.8 (C⁵), 85.9 (C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 82.0 (C^{3'}), 78.6 (C^{2'}), 73.9 (C^{3'}), 72.9 (C^{2'}), 72.3 (C^{2'}), 63.8 (C^{5'}), 38.4 (C^{2'}), 20.9 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc), 14.4 (CH₃-Ar).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₂FN₂O₇ : 469.1406, found : 469.1402.

360 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-(6-hydroxyhepta-1,3-diynyl)-2'-deoxyuridine



Formula Weight: 418.40
Formula: C₂₀H₂₂N₂O₈

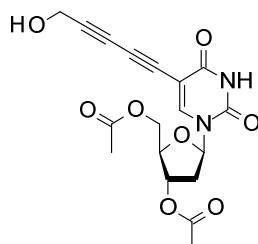
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 30 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.45 (bs, 1H, NH), 7.93 (s, 1H, H⁶), 6.26 (dd, *J* = 7.4, 6.1 Hz, 1H, H^{1'}), 5.23 (dt, *J* = 6.6, 2.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.38 (dd, *J* = 12.3, 3.3 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.32 (dd, *J* = 12.3, 3.0 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.28 (dd, *J* = 5.9, 3.0 Hz, 1H, H^{4'}), 4.00 (h, *J* = 5.9 Hz 1H, CH alkyl), 2.55 (ddd, *J* = 14.3, 6.0, 2.5 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.50 (dd, *J* = 5.7, 3.5 Hz, 2H, CH₂ alkyl), 2.25 (dt, *J* = 14.3, 7.1 Hz, 1H, H^{2b'}), 2.17 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.10 (s, 3H, CH₃, OAc), 1.28 – 1.23 (m, 3H, CH₃ alkyl).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.4 (C=O), 161.3 (C⁴), 149.1 (C²), 143.7 (C⁶), 99.8 (C⁵), 85.9 (C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 82.6 (C^{3'}), 78.8 (C^{2'}), 74.0 (C^{3'}), 66.8 (C^{2'}), 66.3 (C-OH), 66.2 (C^{2'}), 63.8 (C^{5'}), 38.4 (C^{2'}), 30.2 (CH₂ alkyl), 22.6 (CH₃ alkyl), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₀H₂₃N₂O₈ : 419.1449, found : 419.1448.

361 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-[5-hydroxypenta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



Formula Weight: 390,34
Formula: C₁₈H₁₈N₂O₈

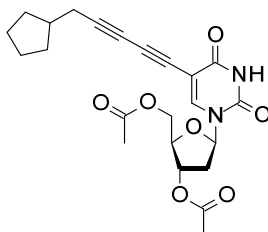
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 55 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.82 (s, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H⁶), 6.25 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H, H^{1'}), 5.26 – 5.22 (m, 1H, H^{3'}), 4.36 (m, 4H, H^{5a'}, H^{5b'}, CH₂-O), 4.29 (m, 1H, H^{4'}), 3.30 (bs, 1H, OH), 2.57 (dd, *J* = 14.3, 3.8 Hz, 1H, H^{2'}), 2.31 (m, 1H, H^{2'}), 2.16 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.10 (s, 3H, CH₃, OAc).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.7 (C=O), 170.6 (C=O), 161.6 (C⁴), 149.3 (C²), 144.5 (C⁶), 99.3 (C⁵), 86.0 (C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 82.7 (C^{''}), 77.9 (C^{''}), 74.0 (C^{3'}), 69.6 (C^{''}), 69.4 (C^{''}), 63.9 (C^{5'}), 51.3 (CH₂-OH), 38.3 (C^{2'}), 21.0 (2 x CH₃, OAc).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₈H₁₉N₂O₈ : 391.1136, found : 391.1135.

362 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-[5-cyclopentylpenta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



Formula Weight: 442,46
Formula: C₂₃H₂₆N₂O₇

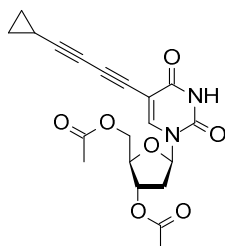
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 20 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.97 (bs, 1H, NH), 7.92 (s, 1H, H⁶), 6.28 (dd, *J* = 7.4, 6.1 Hz, 1H, H^{1'}), 5.23 (dt, 1H, *J* = 6.0, 2.6 Hz, H^{3'}), 4.39 (dd, *J* = 12.3, 3.0 Hz, 1H, H^{5'}), 4.32 (dd, *J* = 12.3, 2.9 Hz, 1H, H^{5'}), 4.29 (dd, *J* = 5.7, 2.9 Hz, 1H, H^{4'}), 2.54 (ddd, *J* = 14.3, 5.9, 2.6 Hz, 1H, H^{2'}), 2.33 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH₂ alkyl), 2.26 – 2.15 (m, 1H, H^{2'}), 2.18 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.11 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.13 – 2.02 (m, 1H, CH alkyl), 1.84 – 1.74 (m, 2H, CH₂ alkyl), 1.68 – 1.57 (m, 2H, CH₂ alkyl), 1.57 – 1.49 (m, 2H, CH₂ alkyl), 1.27 – 1.22 (m, 2H, CH₂ alkyl).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O, OAc), 170.3 (C=O, OAc), 161.1 (C⁴), 149.0 (C²), 143.3 (C⁶), 100.3 (C⁵), 85.9 (C^{''}), 85.7 (C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 79.4 (C^{''}), 73.9 (C^{3'}), 65.2 (C^{''}), 64.8 (C^{''}), 63.9 (C^{5'}), 38.8 (CH alkyl), 38.5 (C^{2'}), 32.2 (2 x CH₂ alkyl), 25.4 (CH₂ alkyl), 25.3 (2 x CH₂ alkyl), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₇N₂O₇ : 443.1813, found : 443.1811.

363 : 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(cyclopropyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



Formula Weight: 400.38
Formula: C₂₀H₂₀N₂O₇

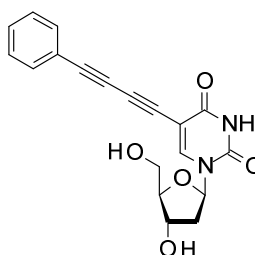
Procedure : The title compound was obtained from **296** following the general procedure **12**. Yield : 54 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.03 (s, 1H, NH), 7.90 (s, 1H, H⁶), 6.27 (dd, *J* = 7.6, 5.9 Hz, 1H, H^{1'}), 5.22 (dt, *J* = 6.6, 2.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.38 (dd, *J* = 12.2, 3.0 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.32 (dd, *J* = 12.3, 3.0 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.30 (dd, *J* = 5.6, 2.8 Hz, 1H, H^{4'}), 2.54 (ddd, *J* = 14.3, 5.8, 2.6 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.25 – 2.18 (m, 1H, H^{2b'}), 2.17 (s, 3H, CH₃), 2.11 (s, 3H, CH₃), 1.36 (m, 1H, CH alkyl), 0.95 – 0.76 (m, 4H, 2 x CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.3 (C=O), 161.1 (C⁴), 149.0 (C²), 143.2 (C⁶), 100.3 (C⁵), 89.4 (C^{''}), 85.7 (C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 79.6 (C^{''}), 74.0 (C^{3'}), 64.8 (C^{''}), 63.9 (C^{5'}), 60.1 (C^{''}), 38.5 (C^{2'}), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc), 9.3 (CH₂ alkyl), 0.4 (CH alkyl).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₀H₂₁N₂O₇ : 401.1343, found : 401.1340.

364 : 5-(4-phenylbuta-1,3-diynyl)-2'-deoxyuridine



Formula Weight: 352.34
Formula: C₁₉H₁₆N₂O₅

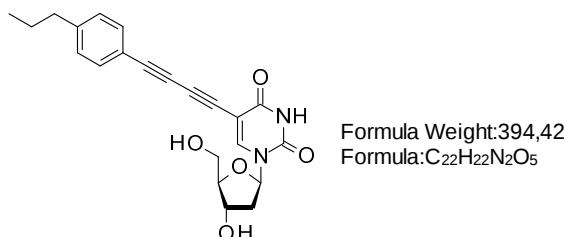
Procedure : The title compound was obtained from **350** following the general procedure **13**. Yield : 68 %.

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.53 (s, 1H, H⁶), 7.53 – 7.46 (m, 2H, H^{Ar}), 7.44 – 7.32 (m, 3H, H^{Ar}), 6.24 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, *J* = 6.0, 3.7 Hz, 1H, H^{3'}), 3.96 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.85 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.75 (dd, *J* = 12.0, 3.2 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.34 (ddd, *J* = 12.0, 6.4, 3.2 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.30 – 2.21 (m, 1H, H^{2b'}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.1 (C⁴), 151.0 (C²), 147.4 (C⁶), 133.4 (2 x C^{Ar}), 130.6 (C^{Ar}), 129.7 (2 x C^{Ar}), 122.8 (C^{Ar}), 99.1 (C⁵), 89.3 (C^{1'}), 87.3 (C^{4'}), 82.5 (C^{''}), 78.0 (C^{''}), 74.5 (C^{''}), 74.4 (C^{''}), 71.8 (C^{3'}), 62.4 (C^{5'}), 41.9 (C^{2'}).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+Li]⁺ calcd for C₁₉H₁₆LiN₂O₅ : 359.1214, found : 359.1219.

365 : 5-[4-(4-propylphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



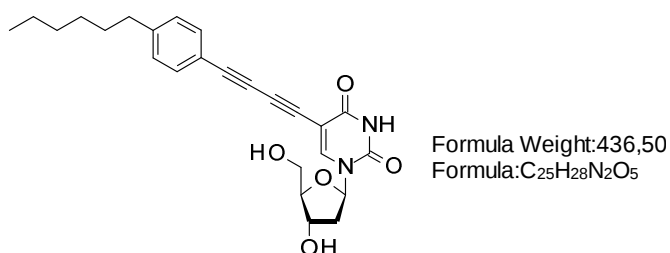
Procedure : The title compound was obtained from **351** following the general procedure **13**. Yield : 66 %.

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.52 (s, 1H, H⁶), 7.40 (d, J = 8.2 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.19 (d, J = 8.2 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.24 (t, J = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, J = 6.0, 3.6 Hz, 1H, H^{3'}), 3.95 (q, J = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.84 (dd, J = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.75 (dd, J = 12.0, 3.3 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.61 (t, J = 7.4 Hz, 2H, CH₂ alkyl), 2.34 (ddd, J = 13.6, 6.2, 3.9 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.29 – 2.20 (m, 1H, H^{2b'}), 1.64 (h, J = 7.6 Hz, 2H, CH₂ alkyl), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 3H, CH₃ alkyl).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.3 (C⁴), 151.1 (C²), 147.4 (C⁶), 146.1 (2 x C^{Ar}), 133.5 (2 x C^{Ar}), 130.0 (C^{Ar}), 120.1 (C^{Ar}), 99.4 (C⁵), 89.4 (C^{4'}), 87.5 (C^{1'}), 83.2 (C^{''}), 78.4 (C^{''}), 74.3 (C^{''}), 74.1 (C^{''}), 72.0 (C^{3'}), 62.6 (C^{5'}), 42.1 (C^{2'}), 39.1 (CH₂ alkyl), 25.6 (CH₂ alkyl), 14.1 (CH₃ alkyl).

HRMS (ESI) : m/z [M+Na]⁺ calcd for C₂₂H₂₂N₂O₅Na : 417.1426, found : 417.1430.

366 : 5-[4-(4-hexylphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



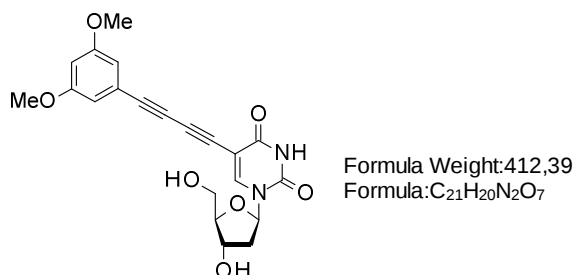
Procedure : The title compound was obtained from **352** following the general procedure **13**. Yield : 71 %.

¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ 8.52 (s, 1H, H⁶), 7.40 (d, 2H, J = 8.2 Hz, H^{Ar}), 7.19 (d, 2H, J = 8.2 Hz, H^{Ar}), 6.24 (t, 1H, J = 6.4 Hz, H^{1'}), 4.41 (dt, 1H, J = 6.2 and 3.7 Hz, H^{3'}), 3.95 (q, 1H, J = 3.2 Hz, H^{4'}), 3.84 (dd, 1H, J = 12.0 and 2.9 Hz, H^{5a'}), 3.75 (dd, 1H, J = 12.0, 3.3 Hz, H^{5b'}), 2.63 (t, 2H, J = 7.5 Hz, CH₂-Ar), 2.34 (ddd, 1H, J = 13.6, 6.1 and 3.9 Hz, H^{2a'}), 2.25 (m, 1H, H^{2b'}), 1.64-1.57 (m, 2H, CH₂ alkyl), 1.31 (m, 8H, 4 x CH₂ alkyl), 0.89 (t, 3H, J = 6.8 Hz, CH₃ alkyl).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.2 (C⁴), 151.0 (C²), 147.2 (C⁶), 146.2 (C^{Ar}), 133.4 (2 x C^{Ar}), 129.8 (2 x C^{Ar}), 119.9 (C^{Ar}), 99.3 (C⁵), 89.2 (C^{4'}), 87.3 (C^{1'}), 82.9 (C^{''}), 78.2 (C^{''}), 74.1 (C^{''}), 73.9 (C^{''}), 71.9 (C^{3'}), 62.4 (C^{5'}), 41.9 (C^{2'}), 36.9 (CH₂ alkyl), 32.8 (CH₂ alkyl), 32.4 (CH₂ alkyl), 30.0 (CH₂ alkyl), 23.6 (CH₂ alkyl), 14.4 (CH₃ alkyl).

HRMS (ESI) : m/z [M+Na]⁺ calcd for C₂₅H₂₈N₂O₅Na : 459.1896, found : 459.1907.

367 : 5-[4-(3,5-dimethoxyphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



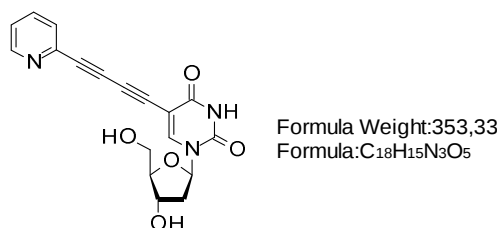
Procedure : The title compound was obtained from **353** following the general procedure **13**. Yield : 73 %.

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.52 (s, 1H, H⁶), 6.64 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.54 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.23 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, *J* = 6.0, 3.7 Hz, 1H, H^{3'}), 3.96 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.85 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.77 (s, 6H, 2 x CH₃-O), 3.75 (dd, *J* = 12.0, 3.4 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.34 (ddd, *J* = 13.6, 6.1, 3.9 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.30 – 2.20 (m, 1H, H^{2b'}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.2 (C⁴), 162.3 (2 x C^{Ar}-O), 151.0 (C²), 147.4 (C⁶), 124.0 (C^{Ar}), 111.1 (2 x C^{Ar}), 103.7 (C^{Ar}), 99.1 (C^{5'}), 89.2 (C^{1'}), 87.4 (C^{4'}), 82.6 (C^{''}), 78.0 (C^{''}), 74.5 (C^{''}), 73.9 (C^{''}), 71.8 (C^{3'}), 62.4 (C^{5'}), 56.0 (2 x CH₃-O), 41.9 (C^{2'}).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₁H₂₀N₂O₇Na : 435.1168, found : 435.1185.

368 : 5-[4-(pyridin-2-yl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



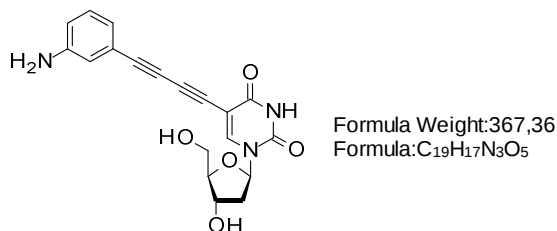
Procedure : The title compound was obtained from **354** following the general procedure **13**. Yield : 73 %.

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.60 (s, 1H, H⁶), 8.57 – 8.51 (m, 1H, H^{Ar}), 7.86 (td, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.63 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.45 (ddd, *J* = 7.7, 5.0, 1.0 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.23 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.42 (dt, *J* = 6.0, 3.7 Hz, 1H, H^{3'}), 3.96 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.85 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.75 (dd, *J* = 12.0, 3.3 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.35 (ddd, *J* = 13.6, 6.1, 4.0 Hz, 1H, H^{2'}), 2.30 – 2.21 (m, 1H, H^{2'}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.1 (C⁴), 151.3 (C²), 151.0 (C^{Ar}), 148.2 (C⁶), 143.0 (C^{Ar}), 138.6 (C^{Ar}), 129.7 (C^{Ar}), 125.5 (C^{Ar}), 104.1, 98.5 (C⁵), 89.3 (C^{1'}), 87.5 (C^{4'}), 80.7 (C^{''}), 77.2 (C^{''}), 76.3 (C^{''}), 74.8 (C^{''}), 71.8 (C^{3'}), 62.4 (C^{5'}), 42.0 (C^{2'}).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₈H₁₆N₃O₅: 354.1090, found : 354.1087.

369 : 5-[4-(3-amino-phenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



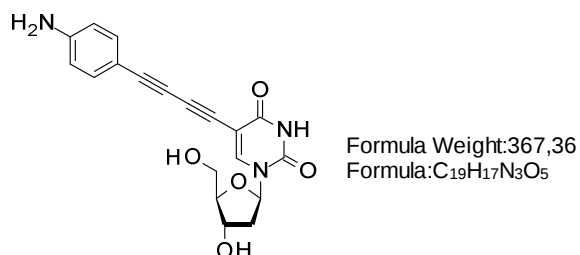
Procedure : The title compound was obtained from **355** following the general procedure **13**. Yield : 65 %.

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.51 (s, 1H, H⁶), 7.07 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.81 (s, 1H, H^{Ar}), 6.79 (dd, *J* = 7.6, 0.9 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.76 – 6.72 (m, 1H, H^{Ar}), 6.23 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, *J* = 6.0, 3.6 Hz, 1H, H^{3'}), 3.95 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.84 (dd, *J* = 12.0, 3.8 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.75 (dd, *J* = 12.0, 3.3 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.34 (ddd, *J* = 13.5, 6.1, 3.9 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.29 – 2.21 (m, 1H, H^{2b'}).

¹³C RMN (101 MHz, MeOD) δ : 164.2 (C⁴), 151.0 (C²), 149.3 (C^{Ar}, C-NH₂), 147.2 (C⁶), 130.3 (C^{Ar}), 123.0 (C^{Ar}), 122.8 (C^{Ar}), 119.3 (C^{Ar}), 117.7 (C^{Ar}), 99.3 (C⁵), 89.2 (C^{4'}), 87.3 (C^{1'}), 83.5 (C^{''}), 78.3 (C^{''}), 73.9 (C^{''}), 73.3 (C^{''}), 71.8 (C^{3'}), 62.4 (C^{5'}), 41.9 (C^{2'}).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₉H₁₈N₃O₅ : 368.1246, found : 368.1232.

370 : 5-[4-(4-aminophenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



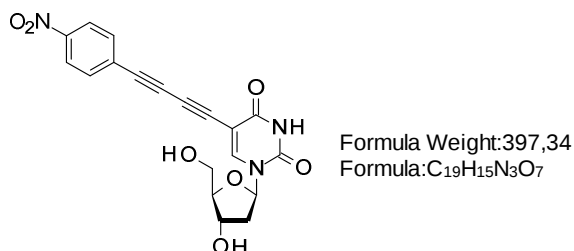
Procedure : The title compound was obtained from **356** following the general procedure **13**. Yield : 72 %.

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.45 (s, 1H, H⁶), 7.21 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.61 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.24 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, *J* = 6.0, 3.6 Hz, 1H, H^{3'}), 3.95 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.84 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.75 (dd, *J* = 12.0, 3.4 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.33 (ddd, *J* = 13.5, 6.1, 3.9 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.29 – 2.20 (m, 1H, H^{2b'}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.4 (C⁴), 151.3 (C²), 151.2 (C^{Ar}), 146.7 (C⁶), 135.0 (2 x C^{Ar}), 115.5 (2 x C^{Ar}), 109.9 (C^{Ar}), 100.0 (C⁵), 89.3 (C^{4'}), 87.4 (C^{1'}), 84.7 (C^{''}), 79.2 (C^{''}), 73.2 (C^{''}), 72.34 (C^{''}), 72.1 (C^{3'}), 62.6 (C^{5'}), 42.0 (C^{2'}).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₁₉H₁₇N₃O₅Na : 390.1066, found : 390.1077.

371 : 5-[4-(4-nitrophenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



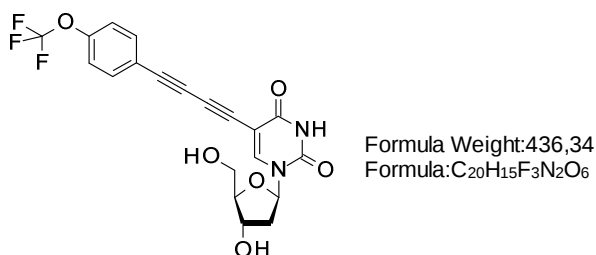
Procedure : The title compound was obtained from **357** following the general procedure **13**. Yield : 54 %.

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.60 (s, 1H, H⁶), 8.25 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.73 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.23 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, *J* = 6.0, 3.8 Hz, 1H, H^{3'}), 3.96 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.85 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5'a}), 3.75 (dd, *J* = 12.2, 3.4 Hz, 1H, H^{5'b}), 2.36 (ddd, *J* = 13.6, 6.2, 4.0 Hz, 1H, H^{2'a}), 2.31 – 2.21 (m, 1H, H^{2'b}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.2 (C⁴), 151.2 (C²), 149.4 (C^{Ar}), 148.4 (C⁶), 134.8 (2 x C^{Ar}), 129.9 (C^{Ar}), 125.1 (2 x C^{Ar}), 98.7 (C⁵), 89.5 (C^{4'}), 87.6 (C^{1'}), 86.4 (C^{''}), 80.5 (C^{''}), 79.1 (C^{''}), 77.5 (C^{''}), 72.2 (C^{3'}), 62.5 (C^{5'}), 42.2 (C^{2'}).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₁₉H₁₅N₃O₇Na : 420.0808, found : 420.0820.

372 : 5-[4-(4-trifluoromethoxyphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



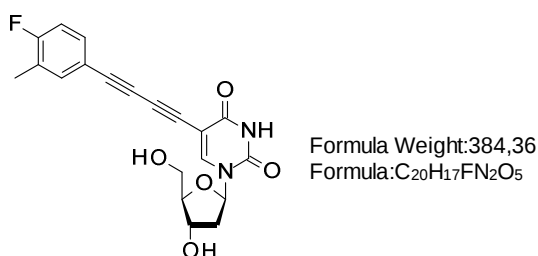
Procedure : The title compound was obtained from **358** following the general procedure **13**. Yield : 71 %.

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.55 (s, 1H, H⁶), 7.61 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.30 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.23 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, *J* = 6.0, 3.8 Hz, 1H, H^{3'}), 3.96 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.85 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5'a}), 3.75 (dd, *J* = 12.0, 3.3 Hz, 1H, H^{5'b}), 2.35 (ddd, *J* = 13.6, 6.1, 3.9 Hz, 1H, H^{2'a}), 2.30 – 2.21 (m, 1H, H^{2'b}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.1 (C⁴), 151.17 (C^{Ar}-O), 150.9 (C²), 147.7 (C⁶), 135.3 (2 x C^{Ar}), 122.5 (2 x C^{Ar}), 122.2 (OCF₃, C^{Ar}), 98.9 (C⁵), 89.3 (C^{1'}), 87.4 (C^{4'}), 80.9 (C^{''}), 77.7 (C^{''}), 75.4 (C^{''}), 75.2 (C^{''}), 71.8 (C^{3'}), 62.4 (C^{5'}), 42.0 (C^{2'}).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₀H₁₅N₂O₆F₃Na : 459.0780, found : 459.0775.

373 : 5-[4-(4-fluoro-3-methylphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



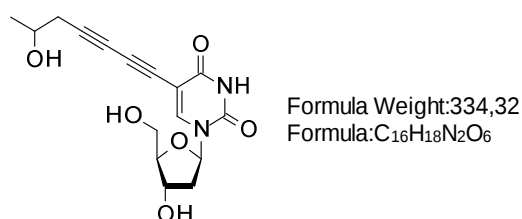
Procedure : The title compound was obtained from **359** following the general procedure **13**. Yield : 62 %.

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.52 (s, 1H, H⁶), 7.40 (d, J = 7.3 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.37 – 7.31 (m, 1H, H^{Ar}), 7.08 – 7.00 (m, 1H, H^{Ar}), 6.23 (t, J = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, J = 6.0, 3.7 Hz, 1H, H^{3'}), 3.95 (q, J = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.84 (dd, J = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.75 (dd, J = 12.0, 3.4 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.34 (ddd, J = 13.6, 6.1, 3.9 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.29 – 2.21 (m, 1H, H^{2b'}), 2.25 (s, 3H, Ar-CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.1 (C⁴), 151.0 (C²), 147.4 (C⁶), 136.7 (C^{Ar}), 133.2 (C^{Ar}), 127.0 (C^{Ar}), 126.8 (C^{Ar}), 118.8 (C^{Ar}), 116.6 (C^{Ar}), 99.1 (C^{5'}), 89.3 (C^{1'}), 87.3 (C^{4'}), 81.78 (C^{''}), 78.02 (C^{''}), 74.33 (C^{''}), 73.9 (C^{''}), 71.8 (C^{3'}), 62.4 (C^{5'}), 41.9 (C^{2'}), 22.0 (CH₃).

HRMS (ESI) : m/z [M+Na]⁺ calcd for C₂₀H₁₇N₂O₅FNa : 407.1019, found : 407.1028.

374 : 5-(6-hydroxyhepta-1,3-diynyl)-2'-deoxyuridine



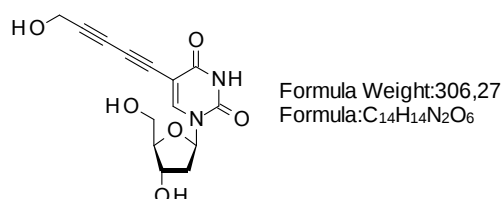
Procedure : The title compound was obtained from **360** following the general procedure **13**. Yield : 65 %.

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.43 (s, 1H, H⁶), 6.22 (t, J = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.40 (dt, J = 6.0, 3.4 Hz, 1H, H^{3'}), 3.94 (q, J = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.82 (dd, J = 12.0, 3.0 Hz, 1H, H^{5'}), 3.73 (dd, J = 12.0, 3.4 Hz, 1H, H^{5'}), 2.49 (dd, J = 8.1, 5.9 Hz, 2H, CH₂ alkyl), 2.32 (ddd, J = 13.6, 6.1, 3.9 Hz, 1H, H^{2'}), 2.28 – 2.18 (m, 1H, H^{2'}), 1.98 (bs, 1H, CH alkyl), 1.25 (d, J = 6.2 Hz, 3H, CH₃ alkyl).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.3 (C⁴), 151.0 (C²), 147.1 (C⁶), 99.4 (C⁵), 89.2 (C^{4'}), 87.2 (C^{1'}), 82.7 (C^{''}), 78.7 (C^{''}), 71.9 (C^{3'}), 67.7 (C^{''}), 67.3 (C^{''}), 67.1 (CH alkyl), 62.4 (C^{5'}), 41.8 (C^{2'}), 30.3 (CH₂ alkyl), 22.6 (CH₃ alkyl).

HRMS (ESI) : m/z [M+Na]⁺ calcd for C₁₆H₁₈N₂O₆Na : 357.1063, found : 357.1058.

375 : 5-[5-hydroxypenta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



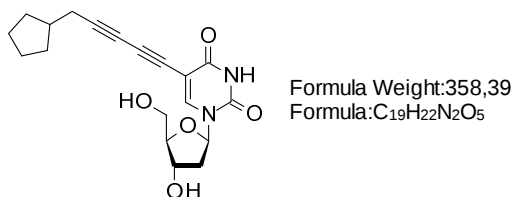
Procedure : The title compound was obtained from **361** following the general procedure **13**. Yield : 52 %.

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.48 (s, 1H, H⁶), 6.22 (t, J = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.40 (dt, J = 6.0, 3.7 Hz, 1H, H^{3'}), 4.29 (s, 2H, CH₂-O), 3.94 (q, J = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.83 (dd, J = 12.0, 3.0 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.74 (dd, J = 12.0, 3.4 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.33 (ddd, J = 13.6, 6.2, 3.9 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.28 – 2.19 (m, 1H, H^{2b'}).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.2 (C⁴), 151.0 (C²), 147.5 (C⁶), 99.0 (C^{5'}), 89.2 (C^{1'}), 87.3 (C^{4'}), 83.0 (C^{''}), 77.8 (C^{''}), 71.8 (C^{3'}), 70.8 (C^{''}), 69.7 (C^{''}), 62.4 (C^{5'}), 51.1 (CH₂), 41.9 (C^{2'}).

HRMS (ESI) : m/z [M+Na]⁺ calcd for C₁₄H₁₄N₂O₆Na : 329.0750, found : 329.0739.

376 : 5-[5-cyclopentylpenta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



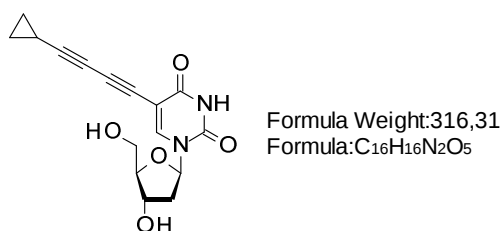
Procedure : The title compound was obtained from **362** following the general procedure **13**. Yield : 62 %.

¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.42 (s, 1H, H⁶), 6.22 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, H^{1'}), 4.40 (dt, *J* = 6.0 3.6 Hz, 1H, H^{3'}), 3.94 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.83 (dd, *J* = 12.0, 3.0 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.73 (dd, *J* = 12.0, 3.4 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.36 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₂ alkyl), 2.34 – 2.28 (m, 1H, H^{2a'}), 2.27 – 2.18 (m, 1H, H^{2b'}), 2.13 – 2.02 (m, 1H, CH alkyl), 1.85 – 1.78 (m, 2H, CH₂ alkyl), 1.71 – 1.53 (m, 4H, 2 x CH₂ alkyl), 1.34 – 1.26 (m, 2H, CH₂ alkyl).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.4 (C⁴), 151.0 (C²), 146.9 (C⁶), 99.5 (C⁵), 89.2 (C^{4'}), 87.2 (C^{1'}), 85.4 (C^{''}), 78.9 (C^{''}), 71.9 (C^{3'}), 67.2 (C^{''}), 66.0 (C^{''}), 62.4 (C^{5'}), 41.8 (C^{2'}), 40.1 (CH alkyl), 33.0 (2 x CH₂ alkyl), 26.2 (2 x CH₂ alkyl), 25.8 (CH₂ alkyl).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₁₉H₂₂N₂O₅Na : 381.1426, found : 381.1412.

377 : 5-[4-(cyclopropyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine



Procedure : The title compound was obtained from **363** following the general procedure **13**. Yield : 43 %.

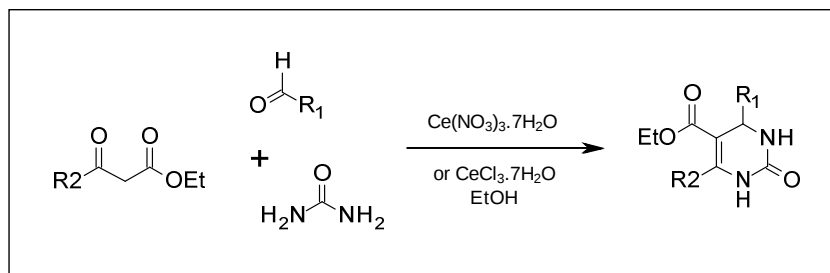
¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.41 (s, 1H, H⁶), 6.22 (t, 1H, *J* = 6.4 Hz, H^{1'}), 4.30 (dt, 1H, 6.1, 3.7 Hz, H^{3'}), 3.94 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.82 (dd, *J* = 12.0 Hz, 3.0, 1H, H^{5a'}), 3.73 (dd, *J* = 12.0 and 3.4 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.32 (ddd, *J* = 13.6, 6.4, 3.8 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.27 – 2.18 (m, 1H, H^{2b'}), 0.93 – 0.84 (m, 3H, CH and CH₂ alkyl), 0.77 – 0.71 (m, 2H, CH₂ alkyl).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.4 (C⁴), 151.0 (C²), 147.0 (C⁶), 99.5 (C⁵), 89.2 (C^{4'}), 89.0 (C^{''}), 87.2 (C^{1'}), 79.1 (C^{''}), 71.9 (C^{3'}), 66.6 (C^{''}), 62.4 (C^{5'}), 61.06 (C^{3''}), 41.84 (C^{2'}), 9.43 (CH₂ and CH, alkyl), 0.75 (CH₂, alkyl).

HRMS (ESI) : *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₁₆H₁₆N₂O₅Na : 339.0957, found : 339.0941.

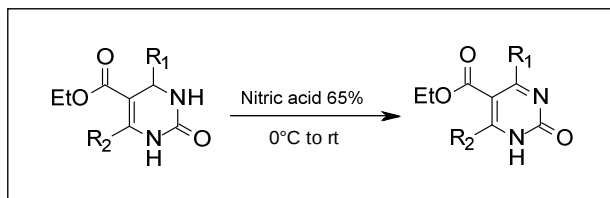
PARTIE B

General procedure 14 : Synthesis of 1,3-dihydropyrimidinones via Biginelli reaction



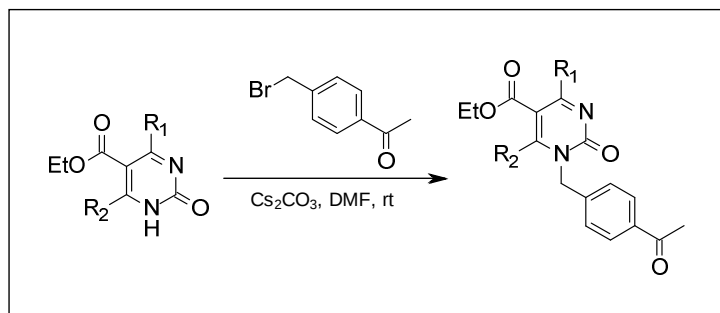
A solution of 1,3-dicarbonyl derivative (1 mmol), aldehyde (1 mmol) and urea (1.5 mmol) in EtOH (20 mL) was heated at reflux (80 °C) during 24 h in the presence of CeCl₃·7H₂O (25 mol%). The mixture was cooled down to room temperature, poured into crushed ice and stirred/triturated until precipitation was observed. The solid was filtered and washed with ice-cold water and recrystallized from hot ethanol to afford the desired 1,3-dihydropyrimidinone derivative.

General procedure 15 : Aromatization of 1,3-dihydropyrimidinone



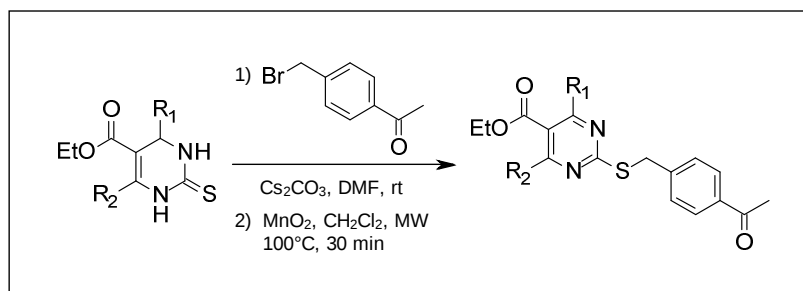
To a solution of 65 % nitric acid (5 mL) **in an open vessel** was added portion-wise 1,3-dihydropyrimidinone derivative (1 mmol) at 0 °C. After stirring 5 minutes at 0 °C, the solution was left to reach room temperature and stirred for an additional 30 minutes. The mixture was poured into crushed ice and neutralized (pH 7-8) with K₂CO₃ and extracted with CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Combined organic layers were washed with water (20 mL), brine (20 mL), dried over MgSO₄ and concentrated in *vacuo*. The resulting solid was recrystallized from hot ethanol to afford the desired aromatized 1,3-dihydropyrimidinone derivative.

General procedure 16 : Alkylation



To a solution of aromatized dihydropyrimidinone (1 mmol) in DMF (2 mL) was added benzyl bromide derivative **1** (1 mmol) and Cs_2CO_3 (1.5 mmol). The mixture was stirred at room temperature during 24 h and evaporated under reduced pressure. The residue was purified over silica gel column chromatography with Petroleum ether/EtOAc to afford the desired alkylated derivative as a colorless oil.

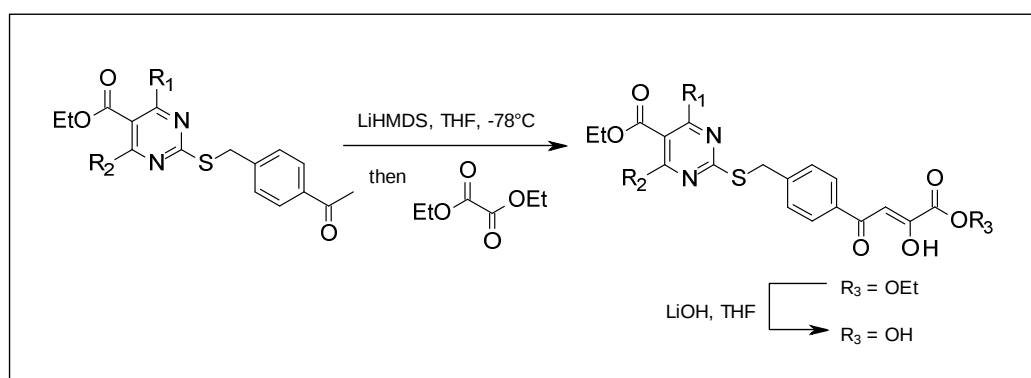
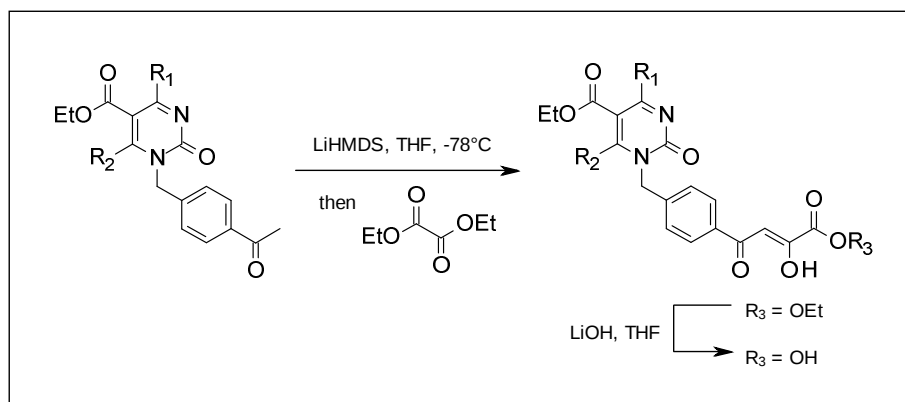
General procedure 17 : S-alkylation then aromatization (série 2-thio)



Alkylation : A 2-5 mL microwave vial is charged with a DMF solution (0.5 M) of **X** (1 mmol), **OS252** (1.2 mmol) and K_2CO_3 (2 mmol). The mixture was irradiated at 60 °C during 1 h. Volatiles were evaporated and the residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Petroleum ether, 2:8) to afford the alkylated derivative as a mixture of isomers.

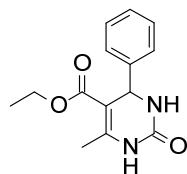
Aromatization : In a 10-20 mL microwave vial, the crude alkylated product was dissolved in DCM (0.05 M) and MnO_2 (10 equiv.) was added. The mixture was irradiated at 100 °C during 30 min, filtrated through a pad of Celite© and concentrated under reduced pressure. The remainder was purified by a short silica gel column (EtOAc/Petroleum ether, 1:9) to afford the desired aromatized derivative.

General procedure 18 : diketoacid



A solution of alkylated derivative (1 equiv.) in dry THF (0.1 M) under positive pressure of nitrogen was treated with LiHMDS (1.5 equiv.) at -78°C . After stirring 1 h at -78°C , diethyloxalate (1.1 equiv.) was added dropwise and the mixture was left to reach room temperature. Stirring was continued for 16 h and the solution was concentrated under reduced pressure. The residue was taken with 1M HCl and extracted with CH_2Cl_2 . Combined organic layers were washed with water, brine, dried over MgSO_4 and evaporated in *vacuo*. The remainder was dissolved in THF (0.1 M) and 1M LiOH was added. The mixture was stirred 1 h at room temperature, acidified with 1M HCl and extracted with DCM. Combined organic layers were washed with water, brine, dried over MgSO_4 and evaporated in *vacuo*. The residue was purified over short reverse phase silica gel column with $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ to afford the desired diketoacid derivative.

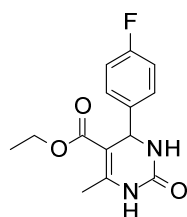
420 : Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-phenyl-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 260,29
Formula: C₁₄H₁₆N₂O₃

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 98 %, white solid.
CAS : 5395-36-8.

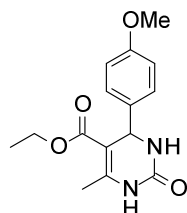
421 : Ethyl 4-(4-fluorophenyl)-6-methyl-2-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 278,28
Formula: C₁₄H₁₅FN₂O₃

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 92 %, white solid.
CAS : 5937-24-6.

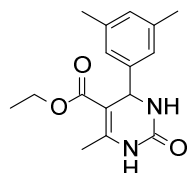
422 : Ethyl 4-(4-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 290,31
Formula: C₁₅H₁₈N₂O₄

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 87 %, white solid.
CAS : 161374-07-8.

423 : Ethyl 4-(3,5-dimethylphenyl)-6-methyl-2-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



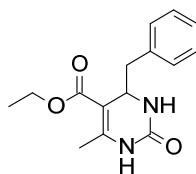
Formula Weight: 288,34
Formula: C₁₆H₂₀N₂O₃

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 65 %, white solid.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.12 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.84 (s, 2H), 5.08 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H), 4.09 – 3.82 (m, 2H), 2.24 (s, 9H), 1.12 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 165.8, 152.6, 148.5, 145.3, 137.7, 129.1, 124.5, 99.8, 59.6, 54.4, 21.5, 18.3, 14.5.

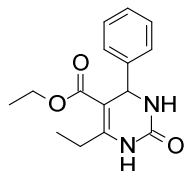
424 : Ethyl 4-benzyl-6-methyl-2-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight:274,32
Formula:C₁₅H₁₈N₂O₃

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 40 %, white solid.
CAS : 378186-60-8.

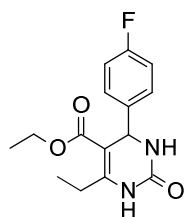
425 : Ethyl 6-ethyl-2-oxo-4-phenyl-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight:274,32
Formula:C₁₅H₁₈N₂O₃

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 76 %, white solid.
CAS : 205999-91-3.

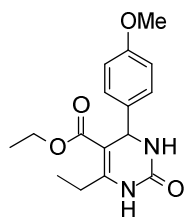
426 : Ethyl 6-ethyl-4-(4-fluorophenyl)-2-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight:292,30
Formula:C₁₅H₁₇FN₂O₃

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 75 %, white solid.
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.31 (s, 1H), 7.38 – 7.17 (m, 2H), 6.99 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.16 (s, 1H), 5.39 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 4.20 – 3.96 (m, 2H), 2.73 (ddd, *J* = 30.7, 13.2, 7.2 Hz, 2H), 1.22 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.17 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 165.2, 162.3 (d, *J* = 246.5 Hz), 153.9, 151.8, 139.7 (d, *J* = 3.2 Hz), 128.3 (d, *J* = 8.2 Hz), 115.5 (d, *J* = 21.5 Hz), 100.5, 60.1, 55.0, 25.3, 14.1, 12.5.
HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₅H₁₈FN₂O₃ : 293.1296, found : 293.1298.

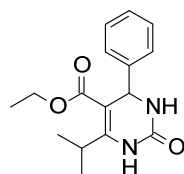
427 : Ethyl 6-ethyl-4-(4-methoxyphenyl)-2-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight:304,34
Formula:C₁₆H₂₀N₂O₄

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 66 %, white solid.
CAS : 205999-93-5.

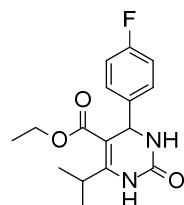
428 : Ethyl 6-isopropyl-2-oxo-4-phenyl-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight:288,34
Formula:C₁₆H₂₀N₂O₃

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 50 %, white solid.
CAS : 868755-03-7.

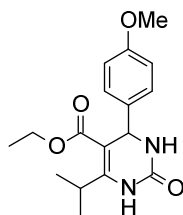
429 : Ethyl 4-(4-fluorophenyl)-6-isopropyl-2-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight:306,33
Formula:C₁₆H₁₉FN₂O₃

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 38 %, white solid.
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.38 (s, 1H), 7.34 – 7.20 (m, 2H), 6.99 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.12 (s, 1H), 5.37 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 4.28 – 4.13 (m, 1H), 4.06 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.21 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.18 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.15 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 165.3, 163.5, 161.1, 154.4, 153.1, 139.7, 139.7, 128.3, 128.2, 115.7, 115.4, 60.1, 55.0, 27.5, 19.7, 19.5, 14.0.
HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₂₀N₂O₃ : 307.1452, found : 307.1452.

430 : Ethyl 6-isopropyl-4-(4-methoxyphenyl)-2-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight:318,37
Formula:C₁₇H₂₂N₂O₄

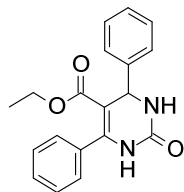
Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 33 %, white solid.

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.79 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.13 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.87 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.08 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 4.11 (dt, *J* = 14.0, 7.0 Hz, 1H), 4.03 – 3.89 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 1.13 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.11 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.07 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 165.8, 158.9, 156.5, 153.0, 137.3, 127.8, 114.2, 98.9, 59.7, 55.5, 53.7, 27.4, 19.6, 19.4, 14.4.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₂₃N₂O₄ : 349.1547, found : 349.1548.

431 : Ethyl 2-oxo-4,6-diphenyl-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate

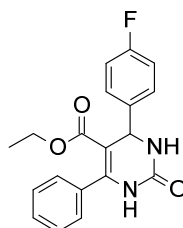


Formula Weight:322,36
Formula:C₁₉H₁₈N₂O₃

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 48 %, white solid.

CAS : 34906-28-0.

432 : Ethyl 4-(4-fluorophenyl)-2-oxo-6-phenyl-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate

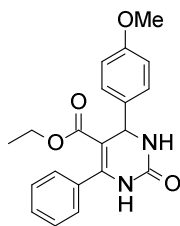


Formula Weight:340,35
Formula:C₁₉H₁₇FN₂O₃

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 76 %, white solid.

CAS : 397882-37-0.

433 : Ethyl 4-(4-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate

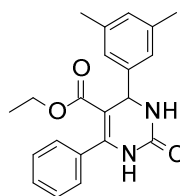


Formula Weight: 352,38
Formula: C₂₀H₂₀N₂O₄

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 87 %, white solid.

CAS : 380655-10-7

434 : Ethyl 4-(3,5-dimethylphenyl)-2-oxo-6-phenyl-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 350,41
Formula: C₂₁H₂₂N₂O₃

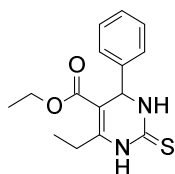
Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 65 %, white solid.

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.21 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.40-7.30 (m, 5H), 6.97-6.91 (m, 3H), 5.16 (s, 1H), 3.70 (q, *J* = 6.6 Hz, 2H), 0.72 (t, *J* = 6.3 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 165.5, 152.5, 149.1, 144.9, 137.8, 135.6, 129.3, 128.8, 128.2, 124.5, 100.9, 59.5, 54.6, 21.5, 13.8.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₁H₂₃N₂O₃ : 351.1703, found : 351.1703.

435 : Ethyl 6-ethyl-4-phenyl-2-thioxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate

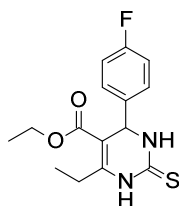


Formula Weight: 290,38
Formula: C₁₅H₁₈N₂O₂S

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 77 %, white solid.

CAS : 134074-29-6.

436 : Ethyl 6-ethyl-4-(4-fluorophenyl)-2-thioxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 308.37
Formula: $C_{15}H_{17}FN_2O_2S$

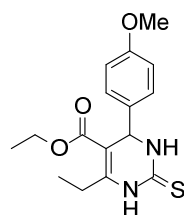
Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 94 %, white solid.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.35 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.27 (dd, J = 8.5, 5.0 Hz, 2H), 7.01 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 5.39 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 4.18 – 4.05 (m, 2H), 2.77 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.24 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 1.18 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 174.5, 164.8, 162.5 (d, J = 247.4 Hz), 148.3, 138.4 (d, J = 3.2 Hz), 128.6 (d, J = 8.3 Hz), 115.8 (d, J = 21.6 Hz), 102.0, 60.5, 55.3, 24.9, 14.0, 12.5.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{15}H_{18}FN_2O_2S$: 309.1067, found : 309.1071.

437 : Ethyl 6-ethyl-4-(4-methoxyphenyl)-2-thioxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 320.41
Formula: $C_{16}H_{20}N_2O_3S$

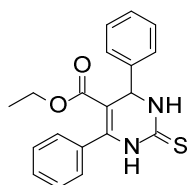
Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 77 %, white solid.

1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 10.29 (s, 1H), 9.58 (s, 1H), 7.13 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.91 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 5.11 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 4.02 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.82 – 2.61 (m, 2H), 1.11 (t, J = 7.1 Hz, 6H).

^{13}C NMR (101 MHz, $DMSO-d_6$) δ 174.8, 165.2, 159.2, 150.7, 136.14, 128.0, 114.4, 100.6, 60.0, 55.5, 53.8, 23.9, 14.4, 13.5.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{16}H_{21}N_2O_3S$: 321.1267, found : 321.1268.

438 : Ethyl 4,6-diphenyl-2-thioxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate

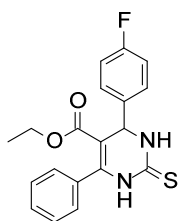


Formula Weight: 338.42
Formula: $C_{19}H_{18}N_2O_2S$

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 90 %, white solid.

CAS : 154866-93-0.

439 : Ethyl 4-(4-fluorophenyl)-6-phenyl-2-thioxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 356,41
Formula: C₁₉H₁₇FN₂O₂S

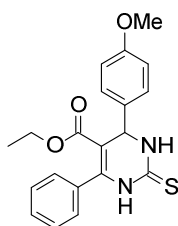
Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 89 %, white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.75 (s, 1H), 7.53 – 7.31 (m, 8H), 7.09 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.55 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H), 3.97 – 3.77 (m, 2H), 0.84 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 174.8, 164.7, 162.7 (d, *J* = 247.7 Hz), 143.7, 138.1 (d, *J* = 3.2 Hz), 133.9, 130.0, 128.6 (d, *J* = 8.4 Hz), 128.5, 128.0, 116.0 (d, *J* = 21.7 Hz), 103.7, 60.5, 55.9, 13.4.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₉H₁₈FN₂O₂S : 357.1067, found : 357.1068.

440 : Ethyl 4-(4-methoxyphenyl)-6-phenyl-2-thioxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate

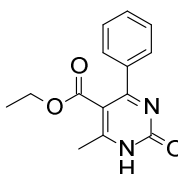


Formula Weight: 368,45
Formula: C₂₀H₂₀N₂O₃S

Procedure : The title compound was obtained following the general procedure **14**. Yield : 77 %, white solid.

CAS : 134074-40-1.

444 : Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-phenyl-1H-pyrimidine-5-carboxylate

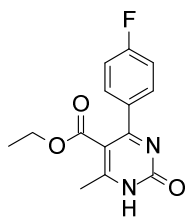


Formula Weight: 258,27
Formula: C₁₄H₁₄N₂O₃

Procedure : The title compound was obtained from **420** following the general procedure **15**. Yield : 84 %, white solid.

CAS : 69207-36-9.

445 : Ethyl 4-(4-fluorophenyl)-6-methyl-2-oxo-1H-pyrimidine-5-carboxylate



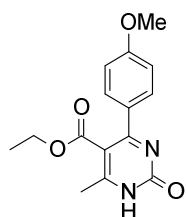
Formula Weight:276,26

Formula:C₁₄H₁₃FN₂O₃

Procedure : The title compound was obtained from **421** following the general procedure **15**. Yield : 59 %, white solid.

CAS : 1091909-58-8.

446 : Ethyl 4-(4-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-3,4-dihydro-1H-pyrimidine-5-carboxylate



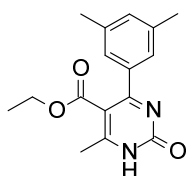
Formula Weight:288,30

Formula:C₁₅H₁₆N₂O₄

Procedure : The title compound was obtained from **422** following the general procedure **15**. Yield : 76 %, white solid.

CAS : 913696-92-1.

447 : Ethyl 4-(3,5-dimethylphenyl)-6-methyl-2-oxo-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight:286,32

Formula:C₁₆H₁₈N₂O₃

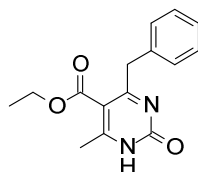
Procedure : The title compound was obtained from **423** following the general procedure **15**. Yield : 81 %, white solid.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 13.69 (s, 1H), 7.24 (d, *J* = 10.6 Hz, 2H), 7.10 (s, 1H), 4.08 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.62 (s, *J* = 7.2 Hz, 3H), 2.32 (s, 6H), 0.98 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 166.3, 158.4, 137.9, 132.5, 125.9, 111.5, 61.6, 21.2, 13.5.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₁₉N₂O₃ : 287.1390, found : 287.1393.

448 : Ethyl 4-benzyl-6-methyl-2-oxo-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 272.30
Formula: $C_{15}H_{16}N_2O_3$

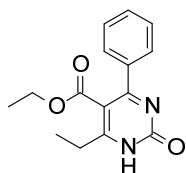
Procedure : The title compound was obtained from **424** following the general procedure **15**. Yield : 92 %, yellow oil.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 13.54 (s, 1H), 7.31 – 7.15 (m, 5H), 4.22 (s, 2H), 4.20 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.49 (s, 3H), 1.25 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 165.3, 158.2, 129.1, 128.6, 127.0, 111.7, 61.7, 14.0.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{15}H_{17}N_2O_3$: 273.1234, found : 273.1235.

449 : Ethyl 6-ethyl-2-oxo-4-phenyl-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 272.30
Formula: $C_{15}H_{16}N_2O_3$

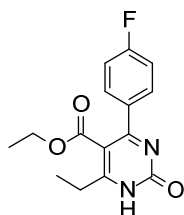
Procedure : The title compound was obtained from **425** following the general procedure **15**. Yield : 86 %, yellow solid.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 13.68 (s, 1H, NH), 7.62 – 7.56 (m, 2H), 7.51 – 7.38 (m, 3H), 4.04 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.88 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 1.38 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 0.93 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 166.2, 158.6, 130.8, 128.39, 128.0, 111.0, 61.7, 13.4.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{15}H_{17}N_2O_3$: 273.1234, found : 273.1237.

450 : Ethyl 6-ethyl-4-(4-fluorophenyl)-2-oxo-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 290.29
Formula: $C_{15}H_{15}FN_2O_3$

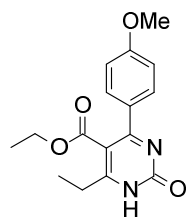
Procedure : The title compound was obtained from **426** following the general procedure **15**. Yield : 62 %, yellow solid.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 13.72 (s, 1H), 7.85 – 7.49 (m, 2H), 7.13 (t, J = 8.3 Hz, 2H), 4.10 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 2.89 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 1.40 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 1.03 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 166.1, 164.4 (d, J = 251.9 Hz), 158.5, 130.3 (d, J = 8.8 Hz), 115.6 (d, J = 22.2 Hz), 110.9, 61.8, 13.6.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{15}H_{16}FN_2O_3$: 291.1139, found : 291.1144.

451 : Ethyl 6-ethyl-4-(4-methoxyphenyl)-2-oxo-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight:302,32
Formula:C₁₆H₁₈N₂O₄

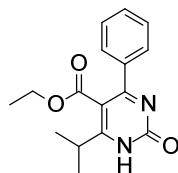
Procedure : The title compound was obtained from **427** following the general procedure **15**. Yield : 81 %, yellow solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 13.58 (s, 1H), 7.62 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.95 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 4.13 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.86 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.38 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 1.06 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 166.7, 162.0, 158.6, 130.1, 113.8, 61.7, 55.4, 13.7.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₁₉N₂O₄ : 303.1339, found : 303.1341.

452 : Ethyl 6-isopropyl-2-oxo-4-phenyl-1H-pyrimidine-5-carboxylate

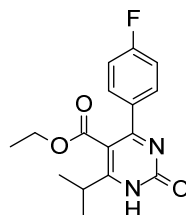


Formula Weight:286,32
Formula:C₁₆H₁₈N₂O₃

Procedure : The title compound was obtained from **428** following the general procedure **15**. Yield : 88 %, white solid.

CAS : 868755-10-6.

453 : Ethyl 4-(4-fluorophenyl)-6-isopropyl-2-oxo-1H-pyrimidine-5-carboxylate

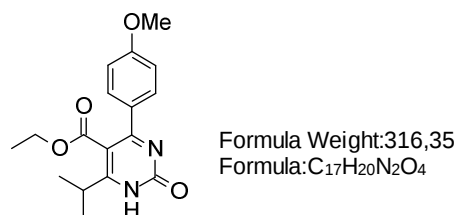


Formula Weight:304,32
Formula:C₁₆H₁₇FN₂O₃

Procedure : The title compound was obtained from **429** following the general procedure **15**. Yield : 74 %, white solid.

CAS : 1313372-06-3.

454 : Ethyl 6-isopropyl-4-(4-methoxyphenyl)-2-oxo-1H-pyrimidine-5-carboxylate



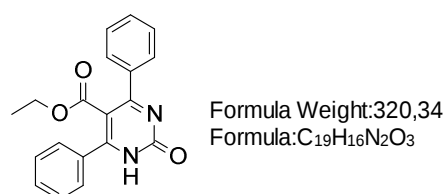
Procedure : The title compound was obtained from **430** following the general procedure **15**. Yield : 82 %, white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 12.79 (s, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.96 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 4.12 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.32 – 3.12 (m, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.40 (s, *J* = 6.6 Hz, 3H), 1.05 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 167.0, 161.9, 158.3, 129.9, 114.0, 61.8, 55.4, 20.7, 13.7.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₇H₂₁N₂O₄ : 317.1496, found : 317.1501.

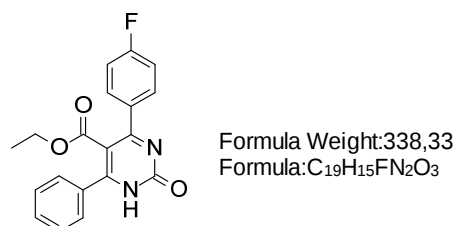
455 : Ethyl 2-oxo-4,6-diphenyl-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Procedure : The title compound was obtained from **431** following the general procedure **15**. Yield : 59 %, white solid.

CAS : 34906-29-1.

456 : Ethyl 4-(4-fluorophenyl)-2-oxo-6-phenyl-1H-pyrimidine-5-carboxylate



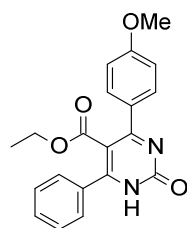
Procedure : The title compound was obtained from **432** following the general procedure **15**. Yield : 71 %, white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 13.17 (s, 1H), 7.71 – 7.58 (m, 4H), 7.57 – 7.43 (m, 3H), 7.15 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.93 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 166.2, 164.5 (d, *J* = 252.3 Hz), 157.8, 131.3, 130.5 (d, *J* = 8.9 Hz), 128.8, 128.0, 115.9 (d, *J* = 22.0 Hz), 111.9, 61.9, 13.4.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₉H₁₆FN₂O₃ : 339.1139, found : 339.1142.

457 : Ethyl 4-(4-methoxyphenyl)-2-oxo-6-phenyl-1H-pyrimidine-5-carboxylate

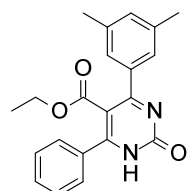


Formula Weight:350,37
Formula:C₂₀H₁₈N₂O₄

Procedure : The title compound was obtained from **433** following the general procedure **15**. Yield : 74 %, white solid.

CAS : 913696-98-7.

458 : Ethyl 4-(3,5-dimethylphenyl)-2-oxo-6-phenyl-1H-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight:348,40
Formula:C₂₁H₂₀N₂O₃

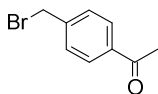
Procedure : The title compound was obtained from **434** following the general procedure **15**. Yield : 85 %, white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 12.91 (s, 1H), 7.66 – 7.58 (m, 2H), 7.56 – 7.42 (m, 3H), 7.22 (s, 2H), 7.13 (s, 1H), 3.94 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.35 (s, 6H), 0.90 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 166.4, 157.7, 138.3, 132.8, 131.0, 128.6, 128.0, 125.7, 111.9, 61.7, 21.3, 13.4.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₁H₂₁N₂O₃ : 349.1547, found : 349.1548.

460 : 1-[4-(Bromomethyl)phenyl]ethanone

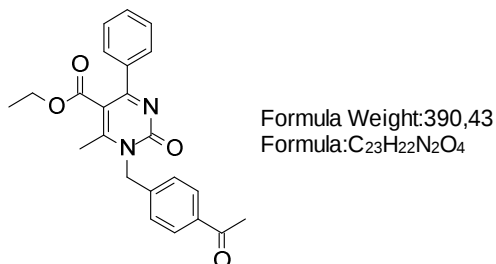


Formula Weight:213,07
Formula:C₉H₉BrO

Procedure : To a solution of 4-Methylacetophenone (10.0 mL, 74.5 mmol) in acetonitrile (80 mL) under argon were added NBS (14.6 g, 82.0 mmol) and AIBN (1.23 g, 7.49 mmol). The reaction mixture was stirred for 1.5 h at 90 °C. The solvent was removed in vacuo, the residue taken up in toluene (100 mL) and the solution filtrated. After removal of the solvent, purification by silica gel column chromatography (Petroleum ether/EtOAc 10:1) yielded **460** as a white solid (15.1 g, 95 %).

CAS : 51229-51-7.

461 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-6-methyl-2-oxo-4-phenyl-pyrimidine-5-carboxylate



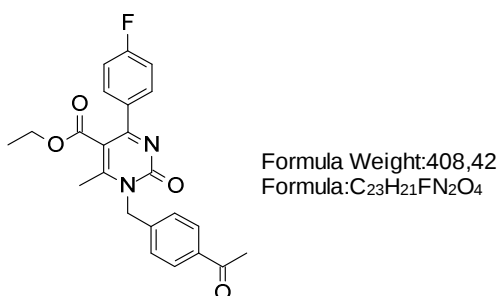
Procedure : The title compound was obtained from **444** following the general procedure **16**. Yield : 84 %, colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.97 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.65 – 7.53 (m, 4H), 7.52 – 7.40 (m, 3H), 5.58 (s, 2H), 4.16 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.59 (s, 3H), 1.04 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.8, 168.9, 168.1, 166.5, 163.6, 141.8, 137.6, 136.7, 130.8, 128.5, 128.4, 128.2, 127.9, 120.4, 68.5, 61.7, 26.6, 22.8, 13.6.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₃N₂O₄ : 391.1652, found : 391.1653.

462 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-4-(4-fluorophenyl)-6-methyl-2-oxo-pyrimidine-5-carboxylate



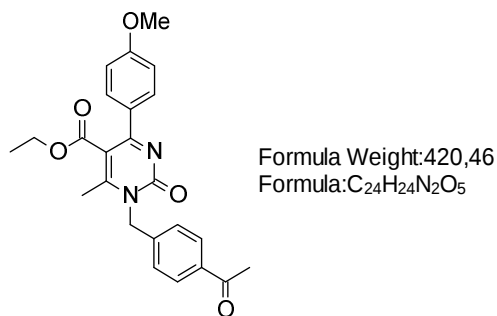
Procedure : The title compound was obtained from **445** following the general procedure **16**. Yield : 35 %, yellow oil.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 7.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.67 – 7.53 (m, 4H), 7.12 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H), 5.56 (s, 2H), 4.17 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.60 (s, 3H), 2.57 (s, 3H), 1.09 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.7, 169.0, 168.0, 165.2, 164.02 (d, *J* = 250.9 Hz), 163.6, 141.7, 136.7, 133.7, 130.4 (d, *J* = 8.6 Hz), 128.5, 127.8, 120.2, 115.6 (d, *J* = 21.8 Hz), 68.5, 61.8, 26.6, 22.8, 13.7.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₂FN₂O₄ : 409.1558, found : 409.1560.

463 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-4-(4-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-pyrimidine-5-carboxylate



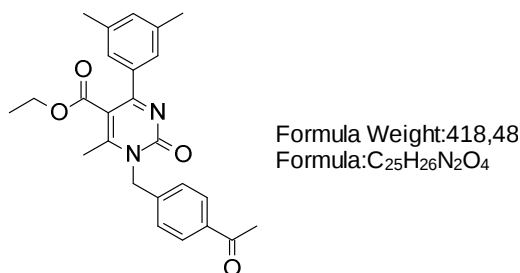
Procedure : The title compound was obtained from **446** following the general procedure **16**. Yield : 38 %, colorless oil.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 7.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 4H), 7.72 – 7.54 (m, 8H), 6.97 (d, *J* = 8.9 Hz, 4H), 5.59 (s, 4H), 4.24 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 3.88 (s, 6H), 2.63 (s, 1H), 2.58 (s, *J* = 13.6 Hz, 6H), 1.16 (t, *J* = 7.2 Hz, 7H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.8, 168.5, 165.6, 163.6, 161.5, 141.9, 136.6, 130.0, 129.8, 128.5, 127.8, 119.81, 113.9, 68.4, 61.7, 55.4, 26.6, 22.7, 13.8.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₅N₂O₅ : 421.1758, found : 421.1759.

464 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-4-(3,5-dimethylphenyl)-6-methyl-2-oxo-pyrimidine-5-carboxylate



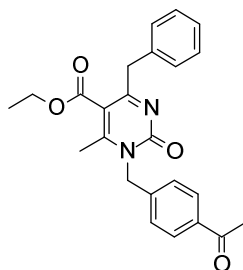
Procedure : The title compound was obtained from **447** following the general procedure **16**. Yield : 32 %, colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.96 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.59 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.26 – 7.17 (m, 2H), 7.09 (s, 1H), 5.56 (s, *J* = 108.9 Hz, 2H), 4.17 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.78 – 2.31 (m, 3H), 2.31 – 1.89 (m, 3H), 1.69 (s, 6H), 1.09 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.7, 168.6, 168.2, 166.8, 163.6, 141.9, 138.0, 137.4, 136.6, 131.9, 128.4, 127.9, 126.0, 120.3, 68.5, 61.64, 26.6, 22.7, 21.3, 13.6.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₇N₂O₄ : 419.1965, found : 419.1967.

465 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-4-benzyl-6-methyl-2-oxo-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight:404,46
Formula:C₂₄H₂₄N₂O₄

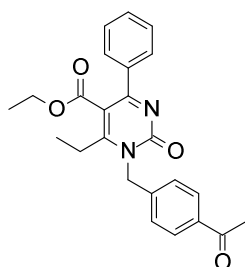
Procedure : The title compound was obtained from **448** following the general procedure **16**. Yield : 33 %, colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.92 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.50 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.32 – 7.12 (m, 5H), 5.48 (s, 2H), 4.30 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.14 (s, 2H), 2.60 (s, 3H), 2.49 (s, 3H), 1.30 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.7, 169.4, 168.7, 167.3, 163.5, 141.7, 137.3, 136.6, 129.2, 128.4, 128.4, 127.9, 126.7, 120.8, 68.3, 61.7, 41.8, 26.6, 23.2, 14.0.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₅N₂O₄ : 405.1809, found : 405.1808.

466 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-6-ethyl-2-oxo-4-phenyl-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight:404,46
Formula:C₂₄H₂₄N₂O₄

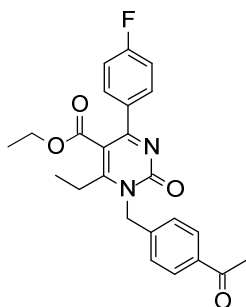
Procedure : The title compound was obtained from **449** following the general procedure **16**. Yield : 46 %, colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.95 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.62 – 7.56 (m, 4H), 7.49 – 7.39 (m, 3H), 5.58 (s, 2H), 4.14 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.85 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.60 (s, 3H), 1.31 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.03 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.7, 173.2, 168.2, 166.5, 163.9, 141.9, 137.7, 136.7, 130.1, 128.5, 128.4, 128.24, 127.9, 120.0, 68.5, 61.7, 29.0, 26.6, 13.6, 12.7.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₅N₂O₄ : 405.1809, found : 405.1809.

467 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-6-ethyl-4-(4-fluorophenyl)-2-oxo-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 422.45
Formula: $C_{24}H_{23}FN_2O_4$

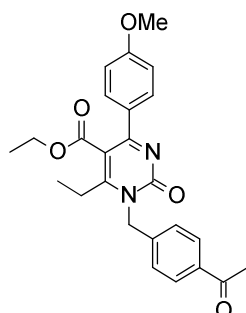
Procedure : The title compound was obtained from **450** following the general procedure **16**. Yield : 43 %, colorless oil.

1H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.97 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.72 – 7.55 (m, 4H), 7.14 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 5.59 (s, 2H), 4.19 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.85 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 1.33 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 1.11 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 197.7, 173.3, 168.1, 164 (d, J = 250.1 Hz), 163.9 (s), 141.8, 136.7, 133.8 (d, J = 3.2 Hz), 130.4 (d, J = 8.7 Hz), 128.5, 127.9, 119.9, 115.5 (d, J = 21.9 Hz), 68.5, 61.8, 29.0, 26.6, 13.7, 12.7.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{24}H_{24}FN_2O_4$: 423.1715, found : 423.1714.

468 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-6-ethyl-4-(4-methoxyphenyl)-2-oxo-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 434.48
Formula: $C_{25}H_{26}N_2O_5$

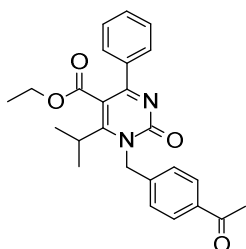
Procedure : The title compound was obtained from **451** following the general procedure **16**. Yield : 49 %, colorless oil.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.97 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.61 (t, J = 7.8 Hz, 4H), 6.95 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 5.58 (s, 2H), 4.21 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.83 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 1.31 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 1.14 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 197.7, 172.9, 168.6, 165.6, 163.8, 161.4, 142.0, 136.6, 130.0, 129.9, 128.4, 127.9, 119.5, 113.9, 68.4, 61.7, 55.4, 29.0, 26.6, 13.8, 12.7.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{25}H_{27}N_2O_5$: 435.1914, found : 435.1918.

469 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-6-isopropyl-2-oxo-4-phenyl-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 418.48
Formula: C₂₅H₂₆N₂O₄

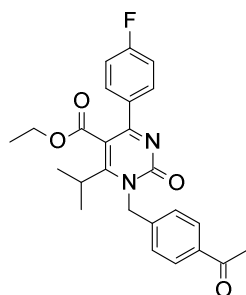
Procedure : The title compound was obtained from **452** following the general procedure **16**. Yield : 53 %, colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.97 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.70 – 7.56 (m, 4H), 7.54 – 7.38 (m, 3H), 5.59 (s, 2H), 4.15 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.22 (hept, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.31 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.04 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.7, 176.4, 168.3, 166.5, 164.1, 142.0, 137.7, 136.6, 130.1, 128.4, 128.4, 128.2, 128.0, 119.8, 68.4, 61.7, 33.1, 26.6, 21.6, 13.6.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₇N₂O₄ : 419.1965, found : 419.1967.

470 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-4-(4-fluorophenyl)-6-isopropyl-2-oxo-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 436.48
Formula: C₂₅H₂₅FN₂O₄

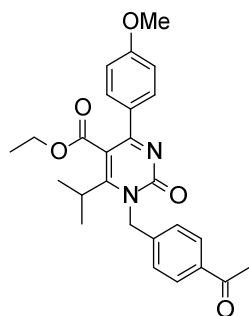
Procedure : The title compound was obtained from **453** following the general procedure **16**. Yield : 56 %, colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.97 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.68 – 7.56 (m, 4H), 7.13 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.58 (s, 2H), 4.18 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.20 (hept, *J* = 6.7 Hz, 1H), 2.61 (s, 3H), 1.31 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.10 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.7, 176.5, 168.2, 165.3, 164.1, 164.0 (d, *J* = 250.8 Hz), 141.9, 136.7, 133.8 (d, *J* = 3.3 Hz), 130.4 (d, *J* = 8.6 Hz), 128.4, 128.0, 119.6, 115.5 (d, *J* = 21.8 Hz), 68.5, 61.8, 33.2, 26.6, 21.6, 13.7.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₆FN₂O₄ : 437.1871, found : 437.1874.

471 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-6-isopropyl-4-(4-methoxyphenyl)-2-oxo-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 448.51
Formula: C₂₆H₂₈N₂O₅

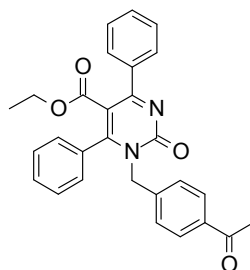
Procedure : The title compound was obtained from **454** following the general procedure **16**. Yield : 54 %, colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.96 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.62 (t, *J* = 8.3 Hz, 4H), 6.95 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 5.58 (s, 2H), 4.21 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.18 (hept, *J* = 6.7 Hz, 1H), 2.61 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.29 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H), 1.14 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.8, 176.1, 168.7, 165.7, 164.0, 161.34, 142.2, 136.6, 130.0, 129.9, 128.4, 128.0, 119.2, 113.8, 68.4, 61.7, 55.4, 33.1, 26.6, 21.6, 13.8.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₆H₂₉N₂O₅ : 449.2071, found : 449.2075.

472 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-2-oxo-4,6-diphenyl-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 452.50
Formula: C₂₈H₂₄N₂O₄

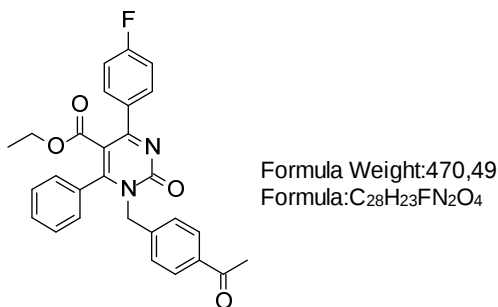
Procedure : The title compound was obtained from **455** following the general procedure **16**. Yield : 39 %, colorless oil.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 7.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.81 – 7.55 (m, 6H), 7.53 – 7.37 (m, 6H), 5.62 (s, 2H), 4.06 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.61 (s, *J* = 4.3 Hz, 3H), 0.95 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.7, 168.1, 167.4, 163.8, 141.8, 137.3, 136.7, 130.2, 128.5, 128.5, 128.3, 127.9, 120.3, 68.7, 61.8, 26.7, 13.4.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₈H₂₅N₂O₄ : 453.1809, found : 453.1811.

473 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-4-(4-fluorophenyl)-2-oxo-6-phenyl-pyrimidine-5-carboxylate



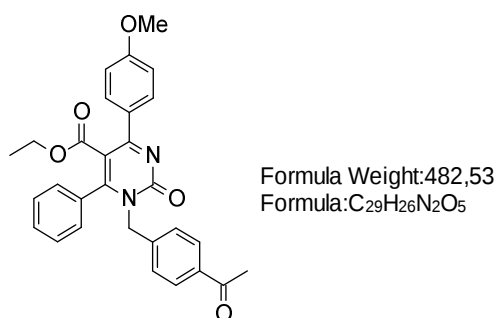
Procedure : The title compound was obtained from **456** following the general procedure **16**. Yield : 43 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.74 – 7.58 (m, 6H), 7.55 – 7.42 (m, 3H), 7.16 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H), 5.63 (s, 2H), 4.06 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.62 (s, 3H), 0.97 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.7, 168.1, 167.5, 166.2, 164.0 (d, *J* = 251.0 Hz), 163.8, 141.7, 137.2, 136.7, 133.4 (d, *J* = 3.3 Hz), 130.5 (d, *J* = 8.7 Hz), 130.3, 128.5, 128.5, 128.3, 127.9, 120.1, 115.6 (d, *J* = 21.9 Hz), 68.7, 61.9, 26.7, 13.5.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₈H₂₄FN₂O₄ : 471.1715, found : 471.1715.

474 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-4-(4-methoxyphenyl)-2-oxo-6-phenyl-pyrimidine-5-carboxylate



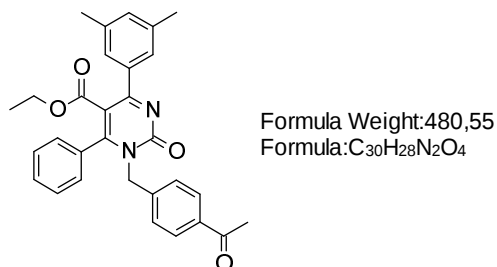
Procedure : The title compound was obtained from **457** following the general procedure **16**. Yield : 44 %, colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.99 – 7.94 (m, 2H), 7.75 – 7.56 (m, 6H), 7.54 – 7.38 (m, 3H), 6.99 – 6.93 (m, 2H), 5.62 (s, 2H), 4.06 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.61 (s, 3H), 0.98 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.8, 168.5, 167.3, 166.6, 163.7, 161.5, 141.9, 137.5, 136.7, 130.1, 130.8, 129.6, 128.5, 128.4, 128.2, 127.9, 119.8, 113.9, 68.6, 61.8, 55.4, 26.67, 13.5.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₂₇N₂O₅ : 483.1914, found : 483.1916.

475 : Ethyl 1-[(4-acetylphenyl)methyl]-4-(3,5-dimethylphenyl)-2-oxo-6-phenyl-pyrimidine-5-carboxylate



Procedure : The title compound was obtained from **458** following the general procedure **16**. Yield : 36 %, colorless oil.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.98 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.70 – 7.58 (m, 4H), 7.54 – 7.41 (m, 3H), 7.26 (s, J = 4.5 Hz, 2H), 7.12 (s, 1H), 5.63 (s, 2H), 4.06 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.62 (s, 3H), 2.36 (s, 6H), 1.00 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 197.7, 168.2, 167.7, 167.1, 163.8, 141.9, 138.0, 137.4, 137.2, 136.7, 131.9, 130.1, 128.5, 128.4, 128.3, 127.9, 126.1, 120.3, 68.6, 61.7, 26.6, 21.3, 13.5.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{30}H_{29}N_2O_4$: 481.2122, found : 481.2123.

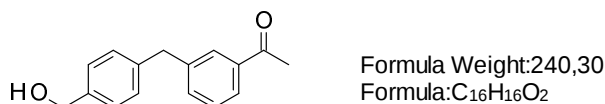
477 : 4-Bromomethylbenzyl alcohol



Procedure : To a solution of methyl 4-bromomethylbenzoate (3.09 g, 13 mmol) in dry CH_2Cl_2 (80 mL) cooled to $-78^\circ C$ with stirring under nitrogen was added dropwise a solution of DIBAL-H (47 mL, 1.0 M solution in THF). Stirring was continued for 1.5 h at $-78^\circ C$, and the reaction mixture was then allowed to warm to $0^\circ C$ and quenched with H_2O . The organic layer was separated and the aqueous was extracted with CH_2Cl_2 . The combined organic extracts were dried over $MgSO_4$ and evaporated to yield quantitatively the desired alcohol **477** as a white solid.

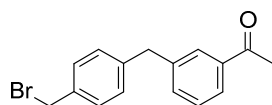
CAS : 71831-21-5.

479 : 1-(3-(4-(Hydroxymethyl)benzyl)phenyl)ethanone



Procedure : To a solution of alcohol **477** (2.01 g, 10 mmol) in toluene (30 mL) were added boronic acid **478** (2.46 g, 15 mmol), K_3PO_4 (20 mmol), PPh_3 (104 mg, 0.4 mmol) and $Pd(OAc)_2$ (45 mg, 0.2 mmol). The resulting yellow suspension was stirred at room temperature for 2 days under Ar. The reaction mixture was then taken up in 100 mL of ether and washed with 1 N NaOH and brine. The organic was dried over $MgSO_4$ and concentrated under reduced pressure. The resultant residue was subjected to flash chromatography (silica gel, Petroleum ether/EtOAc, 7:3) to afford the title compound **479** (1.8 g, 77 %) as a light yellow solid.

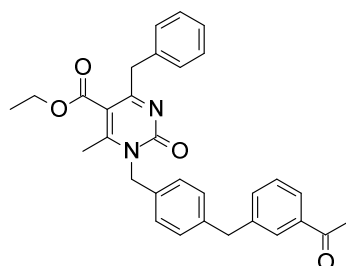
CAS : 1237521-77-5.

480 : 1-(3-(4-(Bromomethyl)benzyl)phenyl)ethanone

Formula Weight: 303.19
Formula: C₁₆H₁₅BrO

To a solution of alcohol **40** (450 mg, 1.87 mmol) and PPh₃ (786 mg, 1.87 mmol) in THF (12 mL) was added NBS (0.534 g, 1.87 mmol) in one portion at 0 °C. The resulting yellow solution was stirred at 0 °C for 1 h. The reaction was then quenched by adding 20 mL of H₂O and was extracted with CH₂Cl₂ (20 mL x 3). The combined organic extracts were dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The resultant residue was subjected to flash chromatography (Petroleum ether/EtOAc, 95:5 to 90:10) to afford the title compound **480** (559 mg, 98 %) as a pale yellow oil.

CAS : 1237521-89-9.

481 : Ethyl 1-[[4-[(3-acetylphenyl)methyl]phenyl]methyl]-4-benzyl-6-methyl-2-oxo-pyrimidine-5-carboxylate

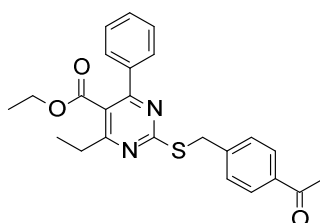
Formula Weight: 494.58
Formula: C₃₁H₃₀N₂O₄

Procedure : The title compound was obtained from **449** and **480** following the general procedure **16**. Yield : 40 %, colorless oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.86 – 7.76 (m, 2H), 7.45 – 7.34 (m, 4H), 7.30 – 7.20 (m, 5H), 7.17 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 5.42 (s, 2H), 4.31 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.16 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 4.05 (s, 2H), 2.59 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 1.31 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 198.2, 169.4, 168.6, 167.5, 163.8, 141.6, 140.3, 137.4, 137.4, 134.4, 133.7, 129.2, 128.9, 128.9, 128.8, 128.6, 128.4, 126.6, 126.4, 120.6, 68.9, 61.6, 41.9, 41.5, 26.7, 23.3, 14.1.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₃₁H₃₁N₂O₄ : 495.2278, found : 495.2280.

483 : Ethyl 2-[(4-acetylphenyl)methylsulfanyl]-4-ethyl-6-phenyl-pyrimidine-5-carboxylate

Formula Weight: 420.52
Formula: C₂₄H₂₄N₂O₃S

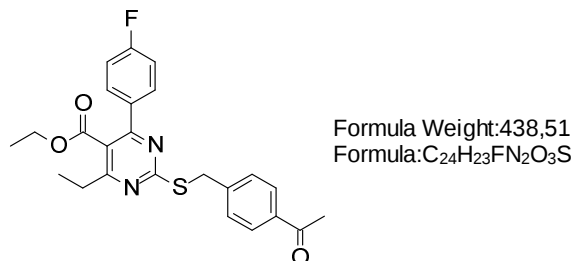
Procedure : The title compound was obtained from **435** following the general procedure **17**. Yield : 48 % in two steps, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.91 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.64 – 7.53 (m, 4H), 7.52 – 7.40 (m, 3H), 4.51 (s, 2H), 4.16 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.85 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.60 (s, 3H), 1.33 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.05 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.7, 171.1, 170.0, 167.9, 163.9, 143.7, 137.6, 136.0, 130.1, 129.2, 128.49, 128.46, 128.3, 121.2, 61.8, 34.9, 29.0, 26.6, 13.6, 12.8.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₅N₂O₃S : 421.1580, found : 421.1582.

484 : Ethyl 2-[(4-acetylphenyl)methylsulfanyl]-4-ethyl-6-(4-fluorophenyl)pyrimidine-5-carboxylate



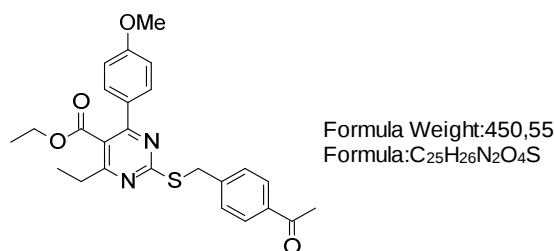
Procedure : The title compound was obtained from **437** following the general procedure **17**. Yield : 43 % in two steps, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.91 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.63 – 7.59 (m, 2H), 7.56 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.20 – 7.08 (m, 2H), 4.50 (s, 2H), 4.19 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.84 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.32 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.11 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.6, 171.2, 170.1, 167.9, 164.0 (d, *J* = 251.0 Hz), 162.6, 143.6, 136.0, 133.6 (d, *J* = 3.3 Hz), 130.4 (d, *J* = 8.6 Hz), 129.2, 128.5, 121.0, 115.6 (d, *J* = 21.8 Hz), 61.9, 34.9, 29.0, 26.6, 13.7, 12.8.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₄FN₂O₃S : 439.1486, found : 439.1486.

485 : Ethyl 2-[(4-acetylphenyl)methylsulfanyl]-4-ethyl-6-(4-methoxyphenyl)pyrimidine-5-carboxylate



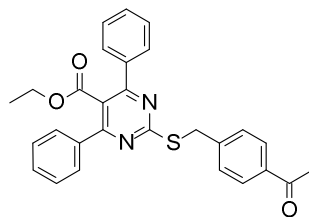
Procedure : The title compound was obtained from **437** following the general procedure **17**. Yield : 49 % in two steps, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.91 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.61 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.57 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.96 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.22 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 2.82 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.60 (s, 3H), 1.31 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.15 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.7, 170.8, 169.8, 168.4, 163.0, 161.4, 143.8, 136.0, 130.0, 129.8, 129.2, 128.5, 120.7, 113.9, 61.8, 55.4, 34.9, 29.0, 26.6, 13.8, 12.9.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₇N₂O₄S : 451.1686, found : 451.1687.

486 : Ethyl 2-[(4-acetylphenyl)methylsulfanyl]-4,6-diphenyl-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 468.57
Formula: C₂₈H₂₄N₂O₃S

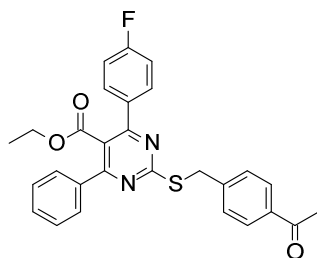
Procedure : The title compound was obtained from **438** following the general procedure **17**. Yield : 35 % in two steps, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.90 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.72 – 7.61 (m, 4H), 7.56 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.52 – 7.39 (m, 6H), 4.52 (s, 2H), 4.06 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.58 (s, 3H), 0.95 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.6, 171.3, 167.9, 164.6, 143.5, 137.2, 136.0, 130.2, 129.3, 128.5, 128.4, 121.4, 61.9, 35.1, 26.6, 13.5.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₈H₂₅N₂O₃S : 469.1580, found : 469.1581.

487 : Ethyl 2-[(4-acetylphenyl)methylsulfanyl]-4-(4-fluorophenyl)-6-phenyl-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 486.56
Formula: C₂₈H₂₃FN₂O₃S

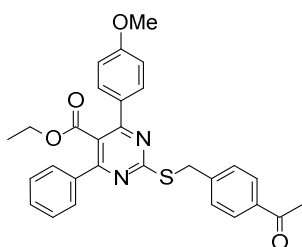
Procedure : The title compound was obtained from **439** following the general procedure **17**. Yield : 49 % in two steps, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.91 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.70 – 7.61 (m, 4H), 7.56 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.53 – 7.44 (m, 3H), 7.16 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 4.52 (s, 2H), 4.06 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.60 (s, 3H), 0.97 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.6, 171.3, 167.8, 164.8, 164.03 (d, *J* = 251.1 Hz), 163.4, 143.4, 137.1, 136.1, 133.26 (d, *J* = 3.3 Hz), 130.58 (d, *J* = 8.7 Hz), 130.3, 129.3, 128.5, 128.5, 128.3, 121.2, 115.65 (d, *J* = 21.9 Hz), 62.0, 35.1, 26.6, 13.5.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₈H₂₄FN₂O₃S : 487.1486, found : 487.1486.

488 : Ethyl 2-[(4-acetylphenyl)methylsulfanyl]-4-(4-methoxyphenyl)-6-phenyl-pyrimidine-5-carboxylate



Formula Weight: 498.59
Formula: C₂₉H₂₆N₂O₄S

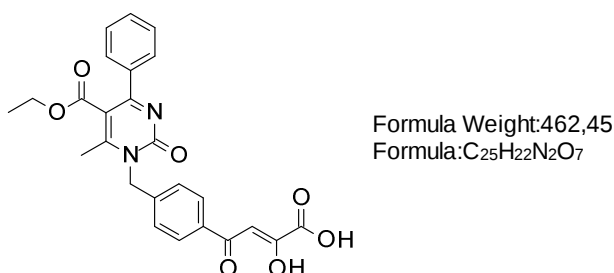
Procedure : The title compound was obtained from **440** following the general procedure **17**. Yield : 39 % in two steps, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.91 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.69 – 7.60 (m, 4H), 7.56 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.53 – 7.43 (m, 3H), 6.98 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 4.53 (s, 2H), 4.08 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 2.61 (s, 3H), 0.99 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 197.7, 171.0, 168.2, 164.6, 163.8, 161.4, 143.6, 137.4, 136.0, 130.1, 130.0, 129.4, 129.3, 128.5, 128.4, 128.3, 120.8, 114.0, 61.9, 55.4, 35.1, 26.6, 13.5.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₂₇N₂O₄S : 499.1686, found : 499.1687.

497 : 4-[4-[(5-ethoxycarbonyl-6-methyl-2-oxo-4-phenyl-pyrimidin-1-yl)methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



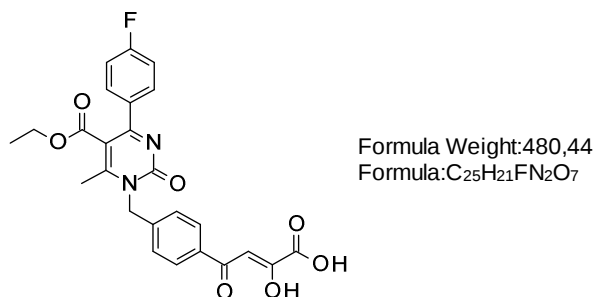
Procedure : The title compound was obtained from **461** following the general procedure **18**. Yield : 51 %, white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.67 – 7.60 (m, 2H), 7.52 – 7.39 (m, 1H), 7.15 (s, *J* = 9.8 Hz, 1H), 5.61 (s, 1H), 4.17 (q, *J* = 7.1 Hz, 1H), 2.62 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H), 1.05 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 186.8, 169.0, 168.0, 166.6, 163.5, 161.9, 143.0, 137.5, 132.8, 130.3, 128.5, 128.2, 128.2, 128.0, 120.5, 95.5, 68.4, 61.8, 22.7, 13.6.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₃N₂O₇ : 463.1499, found : 463.1492.

498 : 4-[4-[[5-ethoxycarbonyl-4-(4-fluorophenyl)-6-methyl-2-oxo-pyrimidin-1-yl)methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



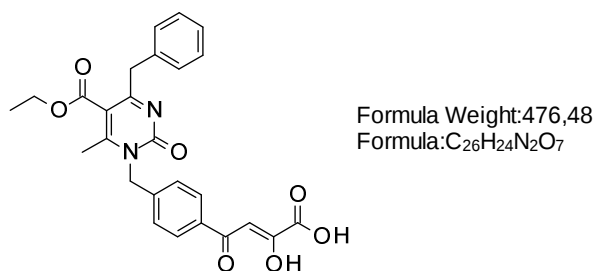
Procedure : The title compound was obtained from **462** following the general procedure **18**. Yield : 57 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.02 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.74 – 7.56 (m, 4H), 7.15 (t, *J* = 8.6 Hz, 1H), 5.60 (s, 2H), 4.20 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.60 (s, 2H), 1.11 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 186.8, 174.4, 169.1, 168.3, 167.9, 165.3, 163.4, 161.9, 161.6, 143.0, 132.8, 130.41 (d, *J* = 8.7 Hz), 128.1, 128.05, 120.4, 115.64 (d, *J* = 21.8 Hz), 95.5, 68.4, 61.9, 22.7, 13.7.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₂N₂O₇ : 481.1405, found : 481.1406.

501 : 4-[4-[(4-benzyl-5-ethoxycarbonyl-6-methyl-2-oxo-pyrimidin-1-yl)methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



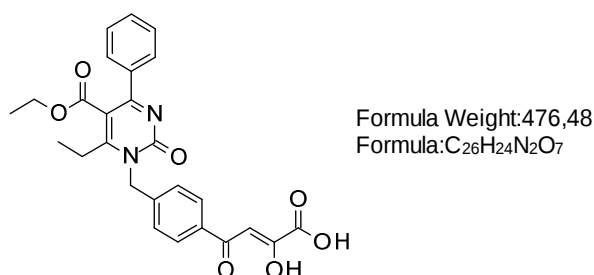
Procedure : The title compound was obtained from **465** following the general procedure **18**. Yield : 66 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.96 (d, *J* = 8.3 Hz, 5H), 7.55 (d, *J* = 8.2 Hz, 5H), 7.31 – 7.16 (m, 16H), 7.13 (s, 2H), 5.50 (s, 5H), 4.31 (q, *J* = 7.1 Hz, 5H), 4.16 (s, 5H), 2.52 (s, 7H), 1.31 (t, *J* = 7.1 Hz, 8H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 187.5, 169.6, 168.8, 167.2, 163.3, 162.5, 142.8, 137.1, 133.1, 129.2, 128.4, 128.2, 128.0, 126.7, 121.0, 99.9, 96.0, 68.3, 61.8, 41.8, 23.0, 14.0.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₂₆H₂₅N₂O₇ : 477.1656, found : 477.1657.

502 : 4-[4-[(5-ethoxycarbonyl-6-ethyl-2-oxo-4-phenyl-pyrimidin-1-yl)methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



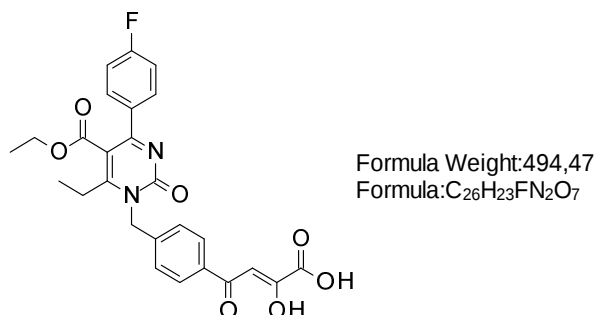
Procedure : The title compound was obtained from **466** following the general procedure **18**. Yield : 98 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.00 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.71 – 7.57 (m, 4H), 7.12 (s, 1H), 6.97 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 5.60 (s, 2H), 4.22 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.85 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.33 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.14 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 187.4, 173.7, 173.0, 168.4, 165.8, 163.6, 162.3, 161.5, 143.1, 133.1, 130.0, 129.7, 128.2, 128.0, 119.6, 113.9, 95.9, 68.3, 61.8, 55.4, 53.4, 28.9, 13.8, 12.8.

HRMS (ESI) : m/z [M+H]⁺ calcd for C₂₆H₂₅N₂O₇ : 477.1656, found : 477.1656.

503 : 4-[4-[[5-ethoxycarbonyl-6-ethyl-4-(4-fluorophenyl)-2-oxo-pyrimidin-1-yl]methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



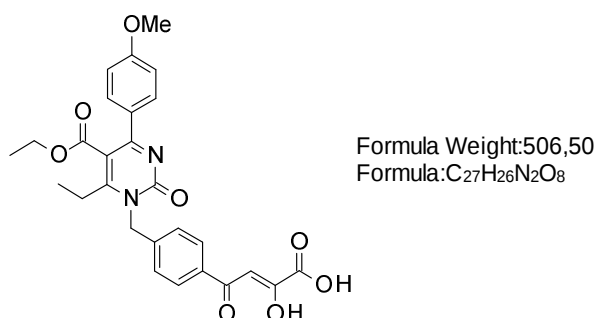
Procedure : The title compound was obtained from **467** following the general procedure **18**. Yield : 91 %, yellow oil.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.02 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.73 – 7.57 (m, 4H), 7.23 – 7.07 (m, 3H), 5.61 (s, 2H), 4.21 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.88 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.35 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 1.12 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, Chloroform- d) δ 187.5, 173.4, 168.0, 165.4, 164.1 (d, J = 251.3 Hz), 163.7, 162.4, 142.9, 133.5 (d, J = 3.2 Hz), 133.2, 130.4 (d, J = 8.7 Hz), 128.2, 128.1, 120.1, 115.6 (d, J = 21.9 Hz), 96.0, 68.5, 61.9, 29.0, 13.7, 12.8.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{26}H_{24}FN_2O_7$: 495.1562, found : 495.1562.

504 : 4-[4-[[5-ethoxycarbonyl-6-ethyl-4-(4-methoxyphenyl)-2-oxo-pyrimidin-1-yl]methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



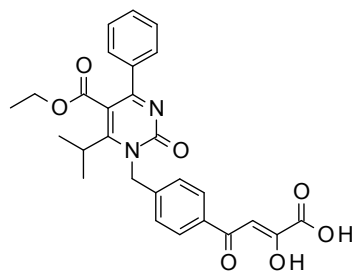
Procedure : The title compound was obtained from **468** following the general procedure **18**. Yield : 93 %, yellow oil.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.00 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.72 – 7.56 (m, 4H), 7.12 (s, 1H), 6.97 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 5.60 (s, 2H), 4.22 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.85 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.33 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 1.14 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 187.4, 173.7, 173.0, 168.4, 165.8, 163.6, 162.3, 161.5, 143.1, 133.1, 130.0, 129.7, 128.2, 128.0, 119.6, 113.9, 95.9, 68.3, 61.8, 55.4, 53.4, 28.9, 13.8, 12.9.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{27}H_{27}N_2O_8$: 507.1762, found : 507.1762.

505 : 4-[4-[(5-ethoxycarbonyl-6-isopropyl-2-oxo-4-phenyl-pyrimidin-1-yl)methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



Formula Weight: 490.50
Formula: C₂₇H₂₆N₂O₇

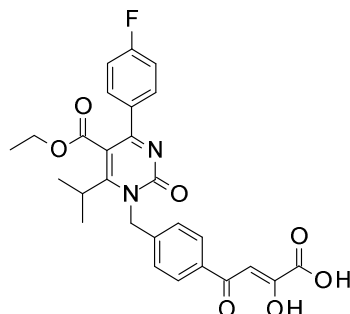
Procedure : The title compound was obtained from **469** following the general procedure **18**. Yield : 93 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.71 – 7.59 (m, 4H), 7.52 – 7.41 (m, 3H), 7.13 (s, 1H), 5.60 (s, 2H), 4.16 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.30 – 3.17 (m, 1H), 1.32 (s, 1H), 1.30 (s, *J* = 6.7 Hz, 3H), 1.05 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 187.1, 176.6, 168.2, 166.6, 164.0, 162.0, 143.3, 137.6, 132.9, 130.2, 128.5, 128.4, 128.2, 128.0, 119.9, 95.7, 68.4, 61.8, 33.2, 21.6, 13.6.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₇H₂₇N₂O₇ : 491.1813, found : 491.1814.

506 : 4-[4-[[5-ethoxycarbonyl-4-(4-fluorophenyl)-6-isopropyl-2-oxo-pyrimidin-1-yl)methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



Formula Weight: 508.50
Formula: C₂₇H₂₅FN₂O₇

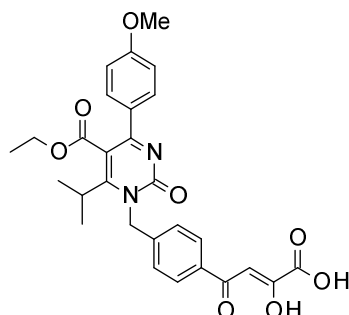
Procedure : The title compound was obtained from **470** following the general procedure **18**. Yield : 92 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.00 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.71 – 7.59 (m, 4H), 7.15 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.10 (s, 1H), 5.60 (s, 2H), 4.20 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.22 (hept, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.33 (s, 3H), 1.31 (s, 3H), 1.11 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 188.1, 176.7, 172.4, 168.1, 165.4, 164.0 (d, *J* = 251.1 Hz), 163.9, 163.0, 142.9, 133.5 (d, *J* = 3.3 Hz), 133.4, 130.4 (d, *J* = 8.7 Hz), 128.3, 128.1, 119.8, 115.6 (d, *J* = 21.8 Hz), 96.6, 68.5, 62.0, 33.3, 21.6, 13.7.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₆FN₂O₄ : 437.1871, found : 437.1870.

507 : 4-[4-[[5-ethoxycarbonyl-6-isopropyl-4-(4-methoxyphenyl)-2-oxo-pyrimidin-1-yl]methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



Formula Weight:520,53
Formula:C₂₈H₂₈N₂O₈

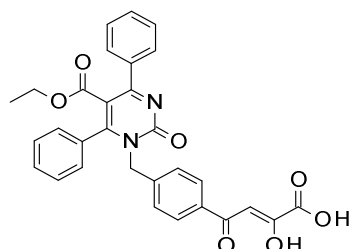
Procedure : The title compound was obtained from **471** following the general procedure **18**. Yield : 96 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.00 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.72 – 7.57 (m, 4H), 7.11 (s, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 5.59 (s, 2H), 4.22 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.19 (hept, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.31 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.14 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 187.1, 176.2, 174.0, 168.6, 165.8, 163.9, 162.1, 161.4, 143.3, 132.9, 130.0, 129.8, 128.4, 128.0, 119.4, 113.9, 95.6, 68.3, 61.8, 55.4, 33.2, 21.6, 13.8.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₈H₂₉N₂O₈ : 521.1918, found : 521.1916.

508 : 4-[4-[[5-ethoxycarbonyl-2-oxo-4,6-diphenyl-pyrimidin-1-yl]methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



Formula Weight:524,52
Formula:C₃₀H₂₄N₂O₇

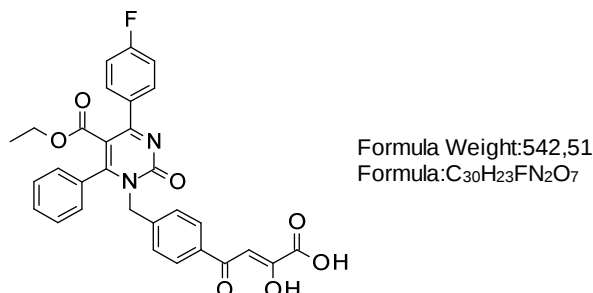
Procedure : The title compound was obtained from **472** following the general procedure **18**. Yield : 92 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.02 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.67 (dd, *J* = 7.7, 1.1 Hz, 6H), 7.60 – 7.40 (m, 6H), 7.15 (s, 1H), 5.66 (s, 2H), 4.05 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 0.95 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 186.7, 168.0, 167.4, 163.7, 161.8, 143.1, 137.2, 132.8, 130.3, 128.5, 128.3, 128.1, 120.4, 95.4, 68.5, 61.9, 13.4.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₃₀H₂₅N₂O₇ : 525.1656, found : 525.1657.

509 : 4-[4-[[5-ethoxycarbonyl-4-(4-fluorophenyl)-2-oxo-6-phenyl-pyrimidin-1-yl]methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



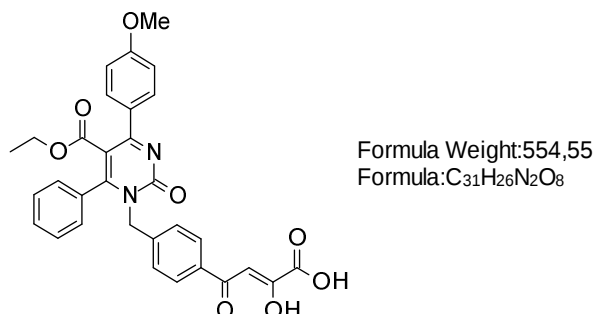
Procedure : The title compound was obtained from **473** following the general procedure **18**. Yield : 94 %, yellow oil.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.02 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.76 – 7.60 (m, 6H), 7.58 – 7.40 (m, 3H), 7.16 (t, J = 8.6 Hz, 3H), 5.65 (s, 2H), 4.06 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 0.97 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 168.0, 167.6, 165.0 (d, J = 259.0 Hz), 143.0, 137.1, 130.6, 130.5, 130.4, 128.5, 128.3, 128.1, 120.3, 115.6 (d, J = 21.9 Hz), 95.5, 68.6, 62.0, 13.5.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{30}H_{24}FN_2O_7$: 543.1562, found : 543.1560.

510 : 4-[4-[[5-ethoxycarbonyl-4-(4-methoxyphenyl)-2-oxo-6-phenyl-pyrimidin-1-yl]methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



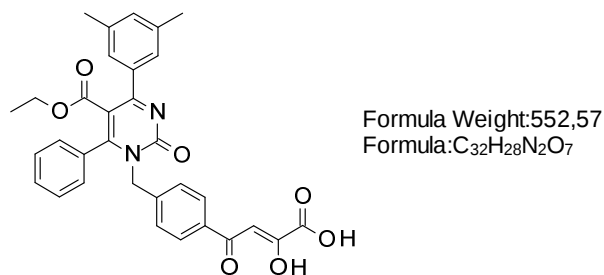
Procedure : The title compound was obtained from **474** following the general procedure **18**. Yield : 95 %, yellow oil.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.01 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.76 – 7.61 (m, 6H), 7.57 – 7.37 (m, 3H), 7.14 (s, 1H), 7.06 – 6.90 (m, 2H), 5.65 (s, 2H), 4.08 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 0.99 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 197.3, 187.0, 168.4, 167.4, 166.6, 163.6, 162.1, 161.5, 143.2, 137.3, 132.9, 130.2, 130.1, 129.4, 128.4, 128.2, 128.1, 119.9, 114.0, 95.6, 68.5, 61.9, 55.4, 13.5.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{31}H_{27}N_2O_8$: 555.1762, found : 555.1760.

511 : 4-[4-[[4-(3,5-dimethylphenyl)-5-ethoxycarbonyl-2-oxo-6-phenyl-pyrimidin-1-yl]methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



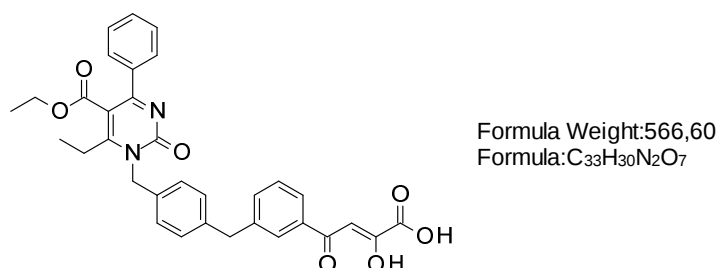
Procedure : The title compound was obtained from **475** following the general procedure **18**. Yield : 89 %, yellow oil.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.02 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.77 – 7.57 (m, 4H), 7.56 – 7.39 (m, 3H), 7.26 (s, 2H), 7.14 (d, J = 10.5 Hz, 2H), 5.65 (s, 2H), 4.06 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.37 (s, 6H), 1.00 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 168.1, 167.8, 167.2, 163.6, 143.2, 138.10, 137.3, 137.0, 132.0, 130.2, 128.5, 128.3, 128.1, 126.1, 120.4, 95.5, 77.2, 68.5, 61.79, 21.3, 13.5.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{32}H_{29}N_2O_7$: 553.1969, found : 553.1969.

512 : (Z)-4-[3-[[4-[(5-ethoxycarbonyl-6-ethyl-2-oxo-4-phenyl-pyrimidin-1-yl)methyl]phenyl]methyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



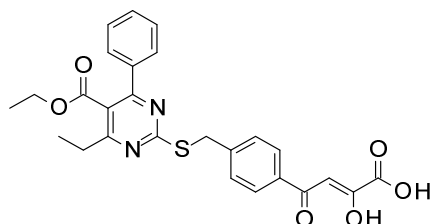
Procedure : The title compound was obtained from **481** following the general procedure **18**. Yield : 96 %, yellow oil.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.85 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.70 – 7.61 (m, 3H), 7.53 – 7.40 (m, 7H), 7.23 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.02 (s, 1H), 5.50 (s, 2H), 4.18 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 4.09 (s, 2H), 2.92 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.35 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 1.07 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 189.2, 173.3, 171.5, 168.2, 166.7, 163.9, 162.7, 142.2, 139.9, 137.6, 134.5, 134.3, 130.2, 129.3, 129.3, 129.1, 128.5, 128.3, 125.7, 119.9, 97.0, 69.5, 61.8, 41.1, 28.9, 13.6, 13.1.

HRMS (ESI) : m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{33}H_{31}N_2O_7$: 567.2126, found : 567.2126.

513 : (Z)-4-[4-[(5-ethoxycarbonyl-4-ethyl-6-phenyl-pyrimidin-2-yl)sulfanylmethyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



Formula Weight:492,54
Formula:C₂₆H₂₄N₂O₆S

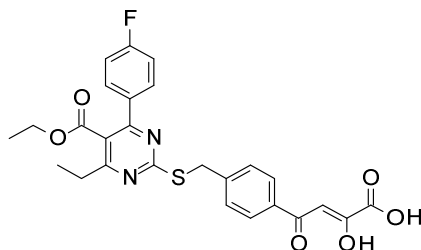
Procedure : The title compound was obtained from **483** following the general procedure **18**. Yield : 96 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.05 – 7.88 (m, 2H), 7.67 – 7.55 (m, 4H), 7.55 – 7.39 (m, 3H), 7.14 (s, 1H), 4.52 (s, 2H), 4.16 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.86 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.32 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.05 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 187.9, 172.9, 170.9, 170.2, 167.9, 164.01, 163.1, 145.1, 137.5, 132.5, 130.2, 129.7, 128.5, 128.3, 128.1, 121.3, 96.3, 61.9, 35.0, 29.0, 13.6, 12.9.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₆H₂₅N₂O₆S : 493.1428, found : 493.1428.

514 : (Z)-4-[4-[[5-ethoxycarbonyl-4-ethyl-6-(4-fluorophenyl)pyrimidin-2-yl]sulfanylmethyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



Formula Weight:510,53
Formula:C₂₆H₂₃FN₂O₆S

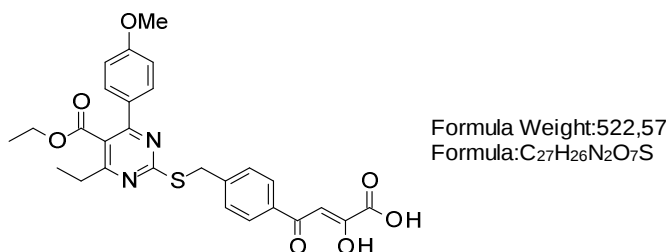
Procedure : The title compound was obtained from **484** following the general procedure **18**. Yield : 94 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.95 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.66 – 7.56 (m, 4H), 7.17 – 7.12 (m, 3H), 4.51 (s, *J* = 14.7 Hz, 2H), 4.20 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.85 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.32 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.11 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 187.8, 171.0, 170.2, 167.8, 164.1 (d, *J* = 229.8 Hz), 162.8, 162.7, 145.0, 133.5 (d, *J* = 3.2 Hz), 132.5, 130.4 (d, *J* = 8.7 Hz), 129.6, 128.1, 121.1, 115.6 (d, *J* = 21.9 Hz), 96.2, 62.0, 35.0, 29.0, 13.7, 12.8.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₆H₂₄FN₂O₆S : 511.1334, found : 511.1335.

515 : (Z)-4-[4-[[5-ethoxycarbonyl-4-ethyl-6-(4-methoxyphenyl)pyrimidin-2-yl]sulfanylmethyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



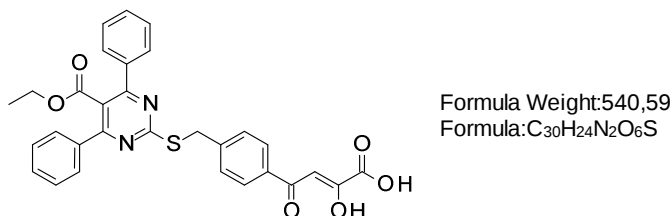
Procedure : The title compound was obtained from **485** following the general procedure **18**. Yield : 89 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.91 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H), 7.60 - 7.58 (m, 4H), 7.13 (s, 1H), 6.95 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 4.50 (s, 2H), 4.22 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.81 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.30 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.14 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.6, 169.8, 168.3, 163.1, 161.42, 130.0, 129.7, 129.6, 128.0, 120.7, 113.9, 61.8, 55.4, 34.9, 28.9, 13.8, 12.9.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₂₇H₂₇N₂O₇S : 523.1533, found : 523.1533.

516 : (Z)-4-[4-[(5-ethoxycarbonyl-4,6-diphenyl-pyrimidin-2-yl)sulfanylmethyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



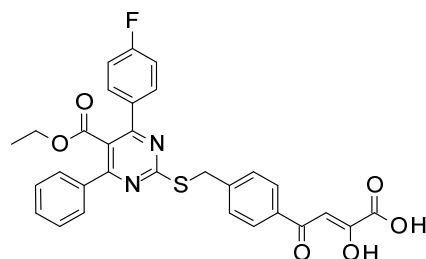
Procedure : The title compound was obtained from **486** following the general procedure **18**. Yield : 98 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.94 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.75 – 7.57 (m, 6H), 7.57 – 7.40 (m, 6H), 7.15 (s, 1H), 4.54 (s, 2H), 4.05 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 0.94 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 187.2, 171.0, 167.8, 164.7, 162.3, 145.1, 137.1, 132.2, 130.3, 129.8, 128.5, 128.3, 128.0, 121.4, 95.6, 61.9, 35.1, 13.4.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₃₀H₂₅N₂O₆S : 541.1428, found : 541.1425.

517 : (Z)-4-[4-[[5-ethoxycarbonyl-4-(4-fluorophenyl)-6-phenyl-pyrimidin-2-yl]sulfanylmethyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



Formula Weight: 558.58
Formula: C₃₀H₂₃FN₂O₆S

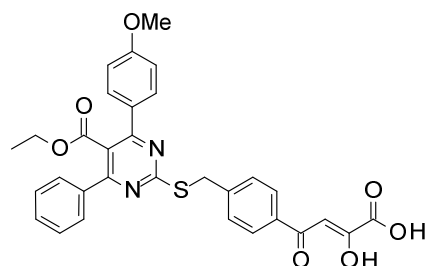
Procedure : The title compound was obtained from **487** following the general procedure **18**. Yield : 92 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.94 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.71 – 7.57 (m, 6H), 7.55 – 7.43 (m, 3H), 7.17 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.14 (s, 1H), 4.53 (s, 2H), 4.06 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 0.97 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 187.8, 172.8, 171.1, 167.8, 164.84, 164.06 (d, *J* = 251.2 Hz), 163.5, 163.0, 144.9, 137.0, 133.14 (d, *J* = 3.3 Hz), 132.5, 130.6 (d, *J* = 8.7 Hz), 130.35, 129.7, 128.5, 128.3, 128.1, 121.2, 115.7 (d, *J* = 21.9 Hz), 96.3, 62.1, 35.1, 13.5.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₃₀H₂₄FN₂O₆S : found : 559.1328.

518 : (Z)-4-[4-[[5-ethoxycarbonyl-4-(4-methoxyphenyl)-6-phenyl-pyrimidin-2-yl]sulfanylmethyl]phenyl]-2-hydroxy-4-oxo-but-2-enoic acid



Formula Weight: 570.61
Formula: C₃₁H₂₆N₂O₇S

Procedure : The title compound was obtained from **488** following the general procedure **18**. Yield : 90 %, yellow oil.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.92 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.70 – 7.54 (m, 6H), 7.53 – 7.42 (m, 3H), 7.12 (s, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 4.52 (s, 2H), 4.08 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 0.98 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 188.2, 172.4, 170.8, 168.2, 164.7, 163.9, 163.3, 161.5, 145.0, 137.2, 132.6, 130.2, 129.7, 129.3, 128.5, 128.3, 128.1, 120.9, 114.0, 96.6, 62.0, 55.4, 35.1, 13.5.

HRMS (ESI) : *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₃₁H₂₇N₂O₇S : 571.1533, found : 571.1530.

Références bibliographiques

1. Neumann, G.; Noda, T.; Kawaoka, Y. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature* **2009**, *459*, 931-939.
2. Weiss, R. A. HIV and AIDS in relation to other pandemics. *EMBO Rep.* **2003**, *4*, 10-14.
3. De Clercq, E. Antivirals and antiviral strategies. *Nat. Rev. Micro.* **2004**, *2*, 704-720.
4. (a) Prusoff, W. H. Synthesis and biological activities of iododeoxyuridine, an analog of thymidine. *Biochim. Biophys. Acta* **1959**, *32*, 295-296. (b) Prusoff, W. H. Studies on the Mechanism of Action of 5-Iododeoxyuridine, and Analog of Thymidine. *Cancer Res.* **1960**, *20*, 92-95.
5. Lindahl, K.; Stahle, L.; Bruchfeld, A. High-dose ribavirin in combination with standard dose peginterferon for treatment of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* **2005**, *41*, 275-279.
6. Townsend, L. B. *Chemistry of Nucleosides and Nucleotides*; Plenum Press: New York, **1994**, 421-535.
7. Darnall K.R.; Townsend L.B.; Robins R.K. The structure of showdomycin, a novel carbon-linked nucleoside antibiotic related to uridine. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **1967**, *57*, 548-553.
8. Cimino, F.; Russo, T.; Colonna, A.; Salvatore, F. Pseudouridine: A Biochemical Marker for Cancer. In *Genetic and Phenotypic Markers of Tumors*, Aaronson, S.; Frati, L.; Verna, R., Eds. Springer US: **1985**; 27-39.
9. Uehara, Y. I.; Fisher, J. M.; Rabinowicz, M. Showdomycin and its reactive moiety, maleimide: A comparison in selective toxicity and mechanism of action *in vitro*. *Biochem. Pharmacol.* **1980**, *29*, 2199-2204.
10. Watanabe, K. A.; Reichman, U.; Hirota, K.; Lopez, C.; Fox, J. J. Nucleosides. 110. Synthesis and antiherpes virus activity of some 2'-fluoro-2'-deoxy-arabinofuranosyl pyrimidine nucleosides. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 21-24.
11. De Clercq, E. Antiviral activity spectrum and target of action of different classes of nucleoside analogs. *Nucleos. Nucleot.* **1994**, *13*, 1271-1295.
12. Sofia, M. J.; Bao, D.; Chang, W.; Du, J.; Nagarathnam, D.; Rachakonda, S.; Reddy, P. G.; Ross, B. S.; Wang, P.; Zhang, H.-R.; Bansal, S.; Espiritu, C.; Keilman, M.; Lam, A. M.; Steuer, H. M. M.; Niu, C.; Otto, M. J.; Furman, P. A. Discovery of a β -d-2'-Deoxy-2'- α -fluoro-2'- β -C-methyluridine Nucleotide Prodrug (PSI-7977) for the Treatment of Hepatitis C Virus. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7202-7218.
13. Shimada, N.; Hasegawa, N.; Harada, T.; Tomisawa, T.; Fujii, A.; Takita, T. Oxetanocin, a novel nucleoside from bacteria. *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1623-1625.
14. De Clercq, E. Antiviral and antimetabolic activities of neplanocins. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **1985**, *28*, 84-89.
15. Herdewijn, P.; De Clercq, E. The cyclohexene ring as bioisostere of a furanose ring: synthesis and antiviral activity of cyclohexenyl nucleosides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1591-1597.
16. Coates, J. A. V.; Cammack, N.; Jenkinson, H. J.; Mutton, I. M.; Pearson, B. A.; Storer, R.; Cameron, J. M.; Penn, C. R. The separated enantiomers of 2'-deoxy-3'-thiacytidine (BCH 189) both inhibit human immunodeficiency virus replication *in vitro*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 202-205.
17. Schinazi, R. F.; Chu, C. K.; Peck, A.; McMillan, A.; Mathis, R.; Cannon, D.; Jeong, L. S.; Beach, J. W.; Choi, W. B.; Yeola, S. Activities of the four optical isomers of 2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine (BCH-189) against human immunodeficiency virus type 1 in human lymphocytes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 672-676.
18. Wang, P.; Hong, J. H.; Cooperwood, J. S.; Chu, C. K. Recent advances in L-nucleosides: chemistry and biology. *Antiviral Res.* **1998**, *40*, 19-44.
19. Chang, C.-N.; Doong, S.-L.; Zhou, J.H.; Beach, J.W.; Jeong, L.S.; Chu, C.K.; Tsai, C.H.; Cheng, Y.C.; Liotta, D.; Schinazi, R. Deoxycytidine deaminase-resistant stereoisomer is the active form of (+/-)-2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine in the inhibition of hepatitis B virus replication. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 13938-13942.
20. Wengel, J.; Lau, J.; Pederson, E. B.; Nielson, C. M. Synthesis of L-3'-azido-3'-deoxythymidine (L-AZT) and its stereoisomers. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 3591-3594.
21. (a) Brigden D.; Fiddian P.; Rosling A. E.; Ravenscroft T. Acyclovir - A review of the preclinical and early clinical data of a new antiherpes drug. *Antiviral Res.* **1981**, *1*, 203-212. (b) Fiddian A. P.; Brigden D.; Yeo J. M.; Hickmott E. A. Acyclovir: an update of the clinical applications of this antiherpes agent. *Antiviral Res.* **1984**, *4*, 99-117.
22. Sekiyama, T.; Hatsuya, S.; Tanaka, Y.; Uchiyama, M.; Ono, N.; Iwayama, S.; Oikawa, M.; Suzuki, K.; Okunishi, M.; Tsuji, T. Synthesis and antiviral activity of novel acyclic nucleosides: discovery of cyclopropyl nucleoside with potent inhibitory activity against herpesviruses. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1284-1298. (b) Spector, S. A.; Busch, D. P.; Pollansbee, S.; Squires, K.; Lalezari, J. P.; Jacobson, M. A.; Connor, J. D.; Jung, D.; Shadman, A.; Mastre, B.; Buhles, W.; Drew, W. L. Pharmacokinetics, safety, and antiviral profiles of oral ganciclovir in persons infected with human immunodeficiency virus: a phase II study. *J. Infect. Dis.* **1995**, *777*, 1431-1437.
23. De Clercq, E.; Holý, A.; Rosenberg, I.; Sakuma, T.; Balzarini, J.; Maudgal, P. C. A novel selective broad-spectrum anti- DNA virus agent. *Nature* **1986**, *323*, 464-467.
24. (a) De Clercq, E. The acyclic nucleoside phosphonates from inception to clinical use: historical perspective. *Antiviral Res.* **2007**, *75*, 1-13. (b) De Clercq, E.; Holy, A. Acyclic nucleoside phosphonates: a key class of antiviral drugs. *Nature* **2005**, *4*, 928-940.
25. (a) De Clercq, E. Clinical potential of the acyclic nucleoside phosphonates cidofovir, adefovir, and tenofovir in treatment of DNA virus and retrovirus infections. *Clin. Microbiol. Rev.* **2003**, *16*, 569-596. (b) De Clercq, E.; Holý, A.; Rosenberg, I. Efficacy of phosphonylmethoxyalkyl derivatives of adenine in experimental herpes simplex virus and vaccinia virus infections *in vivo*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1989**, *33*, 185-191.
26. De Clercq, E. Acyclic nucleoside phosphonates: Past, present and future bridging chemistry to HIV, HBV, HCV, HPV, adeno-, herpes-, and poxvirus infections: the phosphonate bridge. *Biochem. Pharmacol.* **2007**, *73*, 911-922.
27. Holý, A.; Rosenberg, I. Stereospecific syntheses of 9-(S)-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl)adenine (HPMPA). *Nucleic Acids Symp Ser.* **1987**, *18*, 33-36.
28. (a) Reyman, D.; Naesens, L.; Balzarini, J.; Holý, A.; Dvořáková, H.; De Clercq, E. Antiviral activity of selected acyclic nucleoside analogues against human herpesvirus 6. *Antiviral Res.* **1995**, *28*, 343-357. (b) Naesens, L.; De Clercq, E. Antiviral activity of diverse classes of broadacting agents and natural compounds in HHV-6-infected lymphoblasts. *J. Clin. Virol.* **2006**, *69*-75.
29. DeClercq, E. Vaccinia virus inhibitors as a paradigm for the chemotherapy of poxvirus infections. *Clin. Microbiol. Rev.* **2001**, *14*, 382-397.
30. De Clercq, E.; Neyts, J. Therapeutic potential of nucleoside/nucleotide analogues against poxvirus infections. *Rev. Med. Virol.* **2004**, *14*, 289-300.
31. Dal Pozzo, F.; Andrei, G.; Holy, A.; Van Den Oord, J.; Scagliarini, A.; De Clercq, E.; Snoeck, R. Activity of acyclic nucleoside phosphonates against orf virus in human and ovine cell monolayers and organotypic ovine raft cultures. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 4843-4852.
32. De Clercq, E.; Sakuma, T.; Baba, M.; Pauwels, R.; Balzarini, J.; Rosenberg, I.; Holý, A. Antiviral activity of phosphonylmethoxyalkyl derivatives of purine and pyrimidines. *Antiviral Res.* **1987**, *8*, 261-272.
33. Krečmerová, M.; Holý, A.; Pískala, A.; Masojídková, M.; Andrei, G.; Naesens, L.; Neyts, J.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Snoeck, R. Antiviral activity of triazine analogues of 1-(S)-[3-hydroxy-2-(phosphonomethoxy)propyl]cytosine (cidofovir) and related compounds. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 1069-1077.
34. Holý, A. Phosphonomethoxyalkyl analogs of nucleotides. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, *9*, 2567-2692.

35. Naesens, L.; Balzarini, J.; Rosenberg, I.; Hol'ý, A.; De Clercq, E. 9- (2-Phosphonylmethoxyethyl)-2,6-diaminopurine (PMEDAP): a novel agent with anti-human immunodeficiency virus activity in vitro and potent anti-Moloney murine sarcoma virus activity in vivo. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **1989**, *8*, 1043–1047.
36. Naesens, L.; Neyts, J.; Balzarini, J.; Hol'ý, A.; Rosenberg, I.; De Clercq, E. Efficacy of oral 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)-2,6-diamino-purine (PMEDAP) in the treatment of retrovirus and cytomegalovirus infections in mice. *J. Med. Virol.* **1993**, *39*, 167–172.
37. Hol'ý, A.; Dvořáková, H.; Jindřich; Masojdková, M.; Buděšínský, M.; Balzarini, J.; Andrei, G.; De Clercq, E. Acyclic Nucleotide Analogs Derived from 8-Azapurines: Synthesis and Antiviral Activity. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4073–4088.
38. Balzarini, J.; Holy, A.; Jindrich, J.; Naesens, L.; Snoeck, R.; Schols, D.; De Clercq, E. Differential antiherpervirus and antiretrovirus effects of the (S) and (R) enantiomers of acyclic nucleoside phosphonates: potent and selective *in vitro* and *in vivo* antiretrovirus activities of (R)-9-[2-phosphonomethoxypropyl]-2,6-diaminopurine. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, *37*, 332–338.
39. Ying, C.; De Clercq, E.; Neyts, J. Lamivudine, adefovir and tenofovir exhibit long-lasting anti-hepatitis B virus activity in cell culture. *J. Viral Hepat.* **2000**, *7*, 79–83. (b) Ying, C.; De Clercq, E.; Nicholson, W.; Furman, P.; Neyts, J. Inhibition of the replication of the DNA polymerase M550V mutation variant of human hepatitis B virus by adefovir, tenofovir, L-FMAU, DAPD, penciclovir and lobucavir. *J. Viral Hepatitis* **2000**, *7*, 161–165.
40. Hol'ý, A.; Antiviral acyclic nucleoside phosphonates structure activity studies. *Antiviral Res.* **2006**, *71*, 248–253.
41. Potmesil, P.; Krecmerova, M.; Kmonickova, E.; Holy, A.; Zidek Z. Nucleotide analogues with immunobiological properties: 9-[2-Hydroxy-3-(phosphonomethoxy)propyl]-adenine (HPMPA), -2,6-diaminopurine (HPMPDAP), and their N6-substituted derivatives. *Eur. J. Pharm.* **2006**, *540*, 191–199.
42. Dvorakova, H.; Masojdkova, M.; Holy, A.; Balzarini, J.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E. Synthesis of 2'-aminomethyl derivatives of N-(2-(phosphonomethoxy)ethyl) nucleotide analogues as potential antiviral agents. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3263–3268.
43. (a) Balzarini, J.; Holy, A.; Jindrich, J.; Dvorakova, H.; Hao, Z.; Snoeck, R.; Herdewijn, P.; Johns, D. G. 9-[(2RS)-3-fluoro-2-phosphonylmethoxypropyl] derivatives of purines: a class of highly selective antiretroviral agents *in vitro* and *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1991**, *88*, 4961–4965. (b) Hartmann, K.; Kuffer, M.; Balzarini, J.; Naesens, L.; Goldberg, M.; Erfle, V.; Goebel, F.D.; Jindrich, J.; Holy, A.; Bischofberger, N.; Kraft, W. Efficacy of the acyclic nucleoside phosphonates (S)-9-(3-fluoro-2-phosphonylmethoxypropyl)adenine (FPMPA) and 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)-adenine (PMEA) against feline immunodeficiency virus. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* **1998**, *17*, 120–128.
44. Hol'ý, A.; Votruba, I.; Masojdková, A.G.; Snoeck, R.; Neasens, L.; De Clercq, E.; Balzarini, J. 6-[2-(phosphonomethoxy)alkoxy]pyrimidines with antiviral activity. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1918–1929.
45. (a) Balzarini, J.; Pannecouque, C.; De Clercq, E.; Aquaro, S.; Perno, C.-F.; Egberink, H.; Holy, A. Antiretrovirus activity of a novel class of acyclic pyrimidine nucleoside phosphonates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 2185–2193. (b) De Clercq, E.; Andrei, G.; Balzarini, J.; Leyssen, P.; Naesens, L.; Neyts, J.; Pannecouque, C.; Snoeck, R.; Ying, C.; Hockova, D.; Holy, A. Antiviral potential of a new generation of acyclic nucleoside phosphonates, the 6-[2-(phosphonomethoxy)alkoxy]-2,4-diaminopyrimidines. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* **2005**, *24*, 331–341.
46. (a) Hockova, D.; Holy, A.; Masojdkova, M.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Balzarini, J. 5-Substituted-2,4-diamino-6-[2-(phosphonomethoxy)ethoxy]pyrimidines-Acyclic nucleoside phosphonate analogues with antiviral activity. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5064–5073. (b) Hockova, D.; Holy, A.; Masojdkova, M.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Balzarini, J. Synthesis and antiviral activity of 2,4-diamino-5-cyano-6-[2-(phosphonomethoxy)ethoxy]pyrimidine and related compounds. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3197–3202.
47. Topalis, D.; Kumamoto, H.; Alexandre, J. A. C.; Dugué, L.; Pochet, S.; Berteina-Raboin, S.; Agrofoglio, L. A.; Deville-Bonne, D. Looking for New Pyrimidine Acyclic Nucleotide Analogues Designed for Phosphorylation by Human Ump-Cmp Kinase. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* **2007**, *26*, 1369–1373.
48. (a) Reusser, P. Herpes virus resistance to antiviral drugs: a review of the mechanisms, clinical importance and therapeutic options. *J. Hosp. Inf.* **1996**, *33*, 235–248. (b) Earnshaw, D. L.; Bacon, T. H.; Darlison, S. J.; Edmonds, K.; Perkins, R. M.; Vere Hodge, R. A. Mode of antiviral action of penciclovir in MRC-5 cells infected with herpes simplex virus type 1 (HSV-1), HSV-2, and varicella-zoster virus. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 2747–2757.
49. De Clercq, E. Strategies in the design of antiviral drugs. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2002**, *1*, 13–25.
50. Wolfe, M. S.; Borchardt, R. T., S-Adenosyl-L-homocysteine hydrolase as a target for antiviral chemotherapy. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1521–1530.
51. (a) Chiang, P. K.; Richards, H. H.; Cantoni, G. L. S-Adenosyl-L-homocysteine hydrolase: Analogues of S-adenosyl-L-homocysteine as potential inhibitors. *Mol. Pharmacol.* **1977**, *13*, 939–947. (b) Montgomery, J. A.; Clayton, S. J.; Thomas, H. J.; Shannon, W. M.; Arnett, G.; Bodner, A. J.; Kion, I. K.; Cantoni, G. L.; Chiang, P. K. Carbocyclic analog of 3-deazaadenosine: a novel antiviral agent using S-adenosylhomocysteine hydrolase as a pharmacological target. *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 626–629.
52. De Clercq, E. John Montgomery's Legacy: Carbocyclic Adenosine Analogues as S-Hydrolase Inhibitors with Broad-Spectrum Antiviral Activity. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* **2005**, *24*, 1395–1415.
53. Shu, Q.; Nair, V. Inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) as a target in drug discovery. *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 219–232.
54. (a) Franchetti, P.; Cappellacci, L.; Grifantini, M. IMP dehydrogenase as a target of antitumor and antiviral chemotherapy. *Farmaco* **1996**, *51*, 457–469. (b) Nair, V.; Ussery, M. A. New hypoxanthine nucleosides with RNA antiviral activity. *Antiviral Res.* **1992**, *19*, 173–178. (c) Ratcliffe, A. J. Inosine 5'-monophosphate dehydrogenase inhibitors for the treatment of autoimmune diseases. *Curr. Opin. Drug. Discov. Dev.* **2006**, *9*, 595–605.
55. Crotty, S.; Maag, D.; Arnold, J. J.; Zhong, W.; Lau, J. Y. N.; Hong, Z.; Andino, R.; Cameron, C. E. The broad-spectrum antiviral ribonucleoside ribavirin is an RNA virus mutagen. *Nat. Med.* **2000**, *6*, 1375–1379.
56. Crotty, S.; Cameron, C. E.; Andino, R. RNA virus error catastrophe: Direct molecular test by using ribavirin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, *98*, 6895–6900.
57. Marquez, V. E.; Lim, M. I.; Treanor, S. P.; Plowman, J.; Priest, A.; Markovac, A.; Khan, M. S.; Kaskar, B.; Driscoll, J. S. Cyclopentenylcytosine. A carbocyclic nucleoside with antitumor and antiviral properties. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1687–1694.
58. De Clercq, E.; Murase, J.; Marquez, V. E. Broad spectrum antiviral and cytotoxic activity of cyclopentenylcytosine, a carbocyclic nucleoside targeted at CTP synthase. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, *41*, 1821–1829.
59. (a) Wagner, C. R.; Iyer, V. V.; McIntee, E. J. Pronucleotides: Toward the *in vivo* delivery of antiviral and anticancer nucleotides. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 417–451. (b) Drontle, D. P.; Wagner, C. R. Designing a Pronucleotide Stratagem: Lessons from Amino Acid Phosphoramidates of Anticancer and Antiviral Pyrimidines. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 409–419.
60. Serafinowska, H. T.; Ashton, R. J.; Bailey, S.; Harnden, M. R.; Jackson, S. M.; Sutton, D. Synthesis and *in vivo* evaluation of prodrugs of 9-[2-phosphonomethoxy]ethoxy]adenine. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1372–1379.
61. Ballatore, C.; McGuigan, C.; De Clercq, E.; Balzarini, J. Synthesis and evaluation of novel amidate prodrugs of PMEA and PMPA. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1053–1056.
62. Starrett, J. E., Jr.; Tortolani, D. R.; Russell, J.; Hitchcock, M. J.; Whiterock, V.; Martin, J. C.; Mansuri, M. M. Synthesis, oral bioavailability determination, and *in vitro* evaluation of prodrugs of the antiviral agent 9-[2-(phosphonomethoxy)ethyl]adenine (PMEA). *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1857–1864.

63. Arimilli, M. N.; Kim, C. U.; Dougherty, J.; Mulato, A.; Oliyai, R.; Shaw, J. P.; Cundy, K. C.; Bischofberger, N. Synthesis, *in vitro* biological evaluation and oral bioavailability of 9-[2-(phosphonomethoxy)propyl]adenine (PMPA) prodrugs. *Antiviral Chem. Chemother.* **1997**, *8*, 557–564.
64. Jones, B. C. N. M.; McGuigan, C.; O'Connor, T. J.; Jeffries, D. J.; Kinchington, D. Synthesis and anti-HIV activity of some novel phosphorodiamidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT). *Antiviral Chem.* **1991**, *2*, 35–39.
65. Erion, M. D.; Reddy, K. R.; Boyer, S. H.; Matelich, M. C.; Gomez-Galeno, J.; Lemus, R. H.; Ugarkar, B. G.; Colby, T. J.; Schanzer, J.; Van Poelje, P. D. Design, synthesis, and characterization of a series of cytochrome P450 3A-activated prodrugs (HepDirect prodrugs) useful for targeting phosph(on)ate-based drugs to the liver. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5154–5163.
66. Perigaud, C.; Gosselin, G.; Lefebvre, I.; Girardet, J. L.; Benzaria, S.; Barber, I.; Imbach, J. L. Rational design for cytosolic delivery of nucleoside monophosphates: "SATE" and "DTE" as enzyme-labile transient phosphate protecting groups. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 2521–2526.
67. (a) Meier, C. *cycloSal* phosphates as chemical trojan horses for intracellular nucleotide and glycosylmonophosphate delivery – chemistry meets biology. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1081–1102. (b) Meier, C.; Görbig, U.; Müller, C.; Balzarini, J. *cycloSal*-PMEA and *cycloAmb*-PMEA: potentially new phosphonate prodrugs based on the *cycloSal*-pronucleotide approach. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 8079–8086.
68. Hostetler, K. Y.; Stuhmiller, L. M.; Lenting, H. B. M.; Van den Bosch, H.; Richman, D. D. Synthesis and antiretroviral activity of phospholipid analogs of azidothymidine and other antiviral nucleosides. *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 6112–6117.
69. (a) Hecker, S. J.; Erion, M. D. Prodrugs of phosphates and phosphonates. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2328–2345. (b) Schultz, C. Prodrugs of biologically active phosphate esters. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 885–898.
70. Cahard, D.; McGuigan, C.; Balzarini, J. Aryloxy phosphoramidate triesters as prodrugs. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 371–381.
71. (a) McGuigan, C.; Devine, K. G.; O'Connor, T. J.; Kinchington, D. Synthesis and anti-HIV activity of some haloalkyl phosphoramidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT): potent activity of the trichloroethyl methoxyalaninyl compound. *Antiviral Res.* **1991**, *15*, 255–263. (b) McGuigan, C.; Pathirana, R. N.; Balzarini, J.; De Clercq, E. Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1048–1052.
72. McGuigan, C.; Cahard, D.; Sheeka, H. M.; De Clercq, E.; Balzarini, J. Aryl phosphoramidate derivatives of d4T have improved anti-HIV efficacy in tissue culture and may act by an entirely new mechanism of reverse transcriptase inhibition. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1748–1753.
73. Pegram, M.; Ku, N.; Shepard, M.; Speid, L.; Lenz, H.-J. Enzyme catalyzed therapeutic activation (ECTA) NB1011 (thymectacin) selectively targets thymidylate synthase (TS)-overexpressing tumor cells: preclinical and phase I clinical results. *Eur. J. Cancer* **2002**, *38*, 34.
74. Lee, W. A.; He, G. X.; Eisenberg, E.; Cihlar, T.; Swaminathan, S.; Mulato, A.; Cundy, K. C. Selective intracellular activation of a novel prodrug of the human immunodeficiency virus reverse transcriptase inhibitor tenofovir leads to preferential distribution and accumulation in lymphatic tissue. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 1898–1906.
75. (a) Naesens, L.; Balzarini, J.; Bischofberger, N.; De Clercq, E. Antiretroviral activity and pharmacokinetics in mice of oral bis(pivaloyloxymethyl)-9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine, the bis(pivaloyloxymethyl) ester prodrug of 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 22–28. (b) De Clercq, E. Clinical potential of the acyclic nucleoside phosphonates cidofovir, adefovir, and tenofovir in treatment of DNA virus and retrovirus infections. *Clin. Microbiol. Rev.* **2003**, *16*, 569–596.
76. (a) Hadziyannis, S. J.; Tassopoulos, N. C.; Heathcote, E. J.; Chang, T.-T.; Kitis, G.; Rizzetto, M.; Marcellin, P.; Lim, S. G.; Goodman, Z.; Wulfsohn, M. S.; Xiong, S.; Fry, J.; Brosgart, C. L. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B antigen–negative chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 800–807. (b) Marcellin, P.; Chang, T.-T.; Lim, S. G.; Tong, M. J.; Sievert, W.; Shiffman, M. L.; Jeffers, L.; Goodman, Z.; Wulfsohn, M. S.; Xiong, S.; Fry, J.; Brosgart, C. L. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B antigen–positive chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 808–816.
77. (a) Starrett, J. E.; Tortolani, D. R.; Russell, J.; Hitchcock, M. J.; Whiterock, V.; Martin, J. C.; Mansuri, M. M. Synthesis, oral bioavailability determination, and *in vitro* evaluation of prodrugs of the antiviral agent 9-[2-(phosphonomethoxy)ethyl]adenine (PMEA). *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1857–1864. (b) Srinival, R. V.; Robbins, B. L.; Connelly, M. C.; Gong, Y.-F.; Bischofberger, N.; Fridland, A. Metabolism and *in vitro* antiretroviral activities of bis(pivaloyloxymethyl) prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, *37*, 2247–2250.
78. Liederer, B. M.; Borchardt, R. T. Enzymes involved in the bioconversion of ester-based prodrugs. *J. Pharm. Sci.* **2006**, *95*, 1177–1195.
79. Erion, M. D.; Bullough, D. A.; Lin, C. C.; Hong, Z. HepDirect prodrugs for targeting nucleotide-based antiviral drugs to the liver. *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2006**, *7*, 109–117.
80. Peyrottes, S.; Egron, D.; Lefebvre, I.; Gosselin, G.; Imbach, J.-L.; Perigaud, C. SATE Pronucleotide Approaches: An Overview. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 395–408.
81. Benzaria, S.; Pelicano, H.; Johnson, R.; Maury, G.; Imbach, J.-L.; Aubertin, A.-M.; Obert, G.; Gosselin, G. Synthesis, *in vitro* antiviral evaluation, and stability studies of bis(S-acyl-2-thioethyl) ester derivatives of 9-[2-(phosphonomethoxy)ethyl]adenine (PMEA) as potential PMEA prodrugs with improved oral bioavailability. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4958–4965.
82. (a) Hostetler, K. Y. Alkoxyalkyl prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates enhance oral antiviral activity and reduce toxicity: Current state of the art. *Antiviral Res.* **2009**, *82*, 84–98. (b) Ciesla, S. L.; Trahan, J.; Wan, W. B. Esterification of cidofovir with alkoxyalkanols increases oral bioavailability and diminishes drug accumulation in kidney. *Antiviral Res.* **2003**, *59*, 163–171.
83. Bidanset, D. J.; Beadle, J. R.; Wan, W. B.; Hostetler, K. Y.; Kern, E. R. Oral Activity of Ether Lipid Ester Prodrugs of Cidofovir against Experimental Human Cytomegalovirus Infection. *J. Inf. Dis.* **2004**, *190*, 499–503.
84. Aldern, K. A.; Ciesla, S. L.; Winegarden, K. L.; Hostetler, K. Y. Increased antiviral activity of 1-O-hexadecyloxypropyl-[2-¹⁴C]cidofovir in MRC-5 human lung fibroblasts is explained by unique cellular uptake and metabolism. *Mol. Pharmacol.* **2003**, *63*, 678–681.
85. Van den Bosch, H., Phospholipases. In: Hawthorne, J.N., Ansell, G.B. (Eds.), "Phospholipids," New Comprehensive Biochemistry, vol. 4. Elsevier Biomedical, Amsterdam, **1982**, 313–357.
86. Hocková, D.; Keough, D. T.; Janeba, Z.; Wang, T.-H.; de Jersey, J.; Guddat, L. W. Synthesis of Novel N-Branched Acyclic Nucleoside Phosphonates As Potent and Selective Inhibitors of Human, *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* 6-Oxopurine Phosphoribosyltransferases. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 6209–6223.
87. Halazy, S.; Ehrhard, A.; Danzin, C. Difluorophosphonoalkylguanines as a new class of multisubstrate analogue inhibitors of purine nucleoside phosphorylase. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 315–317.
88. Diab, S. A.; De Schutter, C.; Muzard, M.; Plantier-Royon, R.; Pfund, E.; Lequeux, T. Fluorophosphonylated Nucleoside Derivatives as New Series of Thymidine Phosphorylase Multisubstrate Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 2758–2768.
89. Harnden, M. R.; Parkin, A.; Parratt, M. J.; Perkins, R. M. Novel acyclonucleotides: synthesis and antiviral activity of alkenylphosphonic acid derivatives of purines and a pyrimidine. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1343–1355.
90. (a) Arbuzov, B.A. Michaelis-Arbuzov- und perkow-reaktionen. *Pure Appl. Chem.* **1964**, *9*, 307–335. (b) Bhattacharya, A.K.; Thyagarajan, G. Michaelis-Arbuzov rearrangement. *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 415–430.
91. Pergament, I.; Srebnik, M. Hydroboration of Unsaturated Phosphonic Esters: Synthesis of Boronophosphonates and Trisubstituted Vinylphosphonates. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 217–219.

92. Zhao, C.-Q.; Han, L. B.; Tanaka, M. Palladium-catalyzed hydrophosphorylation of allenes leading to regio- and stereoselective formation of allylphosphonates. *Organometallics* **2000**, *19*, 4196-4198.
93. (a) Groaning, M. D.; Rowe, J.; Spilling, C. D. New homochiral cyclic diol ligands for titanium alkoxide catalyzed phosphorylation of aldehydes. *Tet. Lett.* **1998**, *39*, 5485-5488. (b) Rowe, B.J.; Spilling, C. D. The synthesis of 1-hydroxy phosphonates of high enantiomeric excess using sequential asymmetric reactions: titanium alkoxide-catalyzed P-C bond formation and kinetic resolution. *Tet. Asymm.* **2001**, *12*, 1701-1708.
94. Gelman, D.; Jiang, L.; Buchwald, S. L. Copper-catalyzed C-P bond construction via direct coupling of secondary phosphines and phosphites with aryl and vinyl halides. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2315-2318.
95. Kalek, M.; Ziadi, A.; Stawinski, J. Microwave-assisted palladium-catalyzed cross-coupling of aryl and vinyl halides with H-phosphonate diesters. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4637-4640.
96. Zhao, C.-Q.; Han, L.B.; Goto, M.; Tanaka, M. Rhodium-catalyzed hydrophosphorylation of terminal alkynes leading to highly selective formation of (E)-alkenylphosphonates: complete reversal of regioselectivity to the palladium-catalyzed counterpart. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 1929-1932.
97. Lazrek, H. B.; Rochdi, A.; Khaider, H.; Barascut, J. L.; Imbach, J. L.; Balzarini, J.; Witvrouw, M.; Pannecouque, C.; De Clercq, E. Synthesis of (Z) and (E) α -alkenyl phosphonic acid derivatives of purines and pyrimidines. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3807-3816.
98. Rochdi, A.; Taourirte, M.; Lazrek, H.; Barascut, J.; Imbach, J. Synthesis of New Bis-Alkylated Phosphono Alkenyl Acyclonucleosides : (Z) and (E)-Diethyl-2-(3-alkyl pyrimidin-1-yl)ethylen-1-yl Phosphonate. *Molecules* **2000**, *5*, 1139-1145.
99. Megati, S.; Phadtare, S.; Zemlicka, J. Unsaturated phosphonates as acyclic nucleotide analogs. Anomalous Michaelis-Arbuzov and Michaelis-Becker reactions with multiple bond systems. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2320-2327.
100. Kabbaj, Y.; Lazrek, H. B.; Barascut, J. L.; Imbach, J. L. Synthesis and biological activity of some unsaturated 6-azauracil acyclonucleosides. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* **2005**, *24*, 161-172.
101. Choo, H.; Beadle, J. R.; Chong, Y.; Trahan, J.; Hostetler, K. Y. Synthesis of the 5-phosphono-pent-2-en-1-yl nucleosides: A new class of antiviral acyclic nucleoside phosphonates. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 1771-1779.
102. (a) Topalis, D.; Pradère, U.; Roy, V.; Caillat, C.; Azzouzi, A.; Broggi, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Lin, J.; Eriksson, S.; Alexandre, J. A. C.; El-Amri, C.; Deville-Bonne, D.; Meyer, P.; Balzarini, J.; Agrofoglio, L. A. Novel Antiviral C5-Substituted Pyrimidine Acyclic Nucleoside Phosphonates Selected as Human Thymidylate Kinase Substrates. *J. Med. Chem.* **2010**, *54*, 222-232.
103. Pradère, U.; Roy, V.; Montagu, A.; Sari, O.; Hamada, M.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Agrofoglio, L. A. Synthesis and antiviral evaluation of bis(POM) prodrugs of (E)-[4'-phosphono-but-2'-en-1'-yl]purine nucleosides. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *57*, 126-133.
104. Hamada, M.; Roy, V.; McBrayer, T. R.; Whitaker, T.; Urbina-Blanco, C.; Nolan, S. P.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Schinazi, R. F.; Agrofoglio, L. A. Synthesis and broad spectrum antiviral evaluation of bis(POM) prodrugs of novel acyclic nucleosides. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *67*, 398-408.
105. (a) Fürstner, A. Olefin metathesis and beyond. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 3013-3043. (b) Grubbs, R. H. Olefin metathesis. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7117-7140. (c) Hoveyda, A. H.; Zhugralin, A. R. The remarkable metal-catalysed olefin metathesis reaction. *Nature* **2007**, *450*, 243-251.
106. (a) Deiters, A.; Martin, S. F. Synthesis of oxygen- and nitrogen-containing heterocycles by ring-closing metathesis. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2199-2238. (b) Van Otterlo, W. A. L.; De Koning, C. B. Metathesis in the synthesis of aromatic compounds. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 3743-3782. (c) Connon, S. J.; Blechert, S. Recent developments in olefin cross-metathesis. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2003**, *42*, 1900-1923. (d) Diver, S. T.; Giessert, A. J. Enyne metathesis (enyne bond reorganization). *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1317-1382.
107. (a) Ivin, K. J.; Mol, J. C. *Olefin Metathesis and Metathesis Polymerization*; Academic Press: San Diego, CA, **1997**. (b) Frenzel, U.; Nuyken, O. Ruthenium-based metathesis initiators: Development and use in ring-opening metathesis polymerization. *J. Polym. Sci. Part A : Polym. Chem.* **2002**, *40*, 2895-2916.
108. (a) Fürstner, A. Olefin Metathesis and Beyond. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3012-3043. (b) Trnka, T. M.; Grubbs, R. H. The Development of $L_2X_2Ru=CHR$ Olefin Metathesis Catalysts: An Organometallic Success Story. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 18-29. (c) Yu, X.; Sun, D. Macrocyclic Drugs and Synthetic Methodologies toward Macrocycles. *Molecules* **2013**, *18*, 6230-6268.
109. (a) Amblard, F.; Nolan, S. P.; Agrofoglio, L. A. Metathesis strategy in nucleoside chemistry. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7067-7080. (b) Agrofoglio, L.A.; Nolan, S. P. Olefin metathesis route to antiviral nucleosides. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *5*, 1541-1558.
110. Hérisson, J.-L.; Chauvin, Y. Catalyse de transformation des oléfines par les complexes du tungstène. II. Télomérisation des oléfines cycliques en présence d'oléfinacycliques. *Makromol. Chem.* **1971**, *141*, 161-176.
111. (a) Nguyen, S. T.; Johnson, L. K.; Grubbs, R. H.; Ziller, J. W. Ring-opening metathesis polymerization (ROMP) of norbornene by a group VIII carbene complex in protic media. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3974-3975. (b) Fu, G. C.; Nguyen, S. T.; Grubbs, R. H. Catalytic ring-closing metathesis of functionalized dienes by a ruthenium carbene complex. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9856-9857. (c) Schwab, P.; France, M. B.; Ziller, J. W.; Grubbs, R. H. A series of well-defined metathesis catalysts-synthesis of $[RuCl_2(=CHR')(PR_3)_2]$ and its reactions. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2039-2041.
112. Grubbs, R. H. *Handbook of Metathesis*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **2003**.
113. (a) Vougioukalakis, G. C.; Grubbs, R. H. Ruthenium-Based Heterocyclic Carbene-Coordinated Olefin Metathesis Catalysts. *Chem. Rev.* **2009**, *110*, 1746-1787. (b) Samojłowicz, C.; Bieniek, M.; Grela, K. Ruthenium-Based Olefin Metathesis Catalysts Bearing N-Heterocyclic Carbene Ligands. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 3708-3742.
114. (a) Scholl, M.; Ding, S.; Lee, C. W.; Grubbs, R. H. Synthesis and activity of a new generation of ruthenium-based olefin metathesis catalysts coordinated with 1,3-dimesityl-4,5-dihydroimidazol-2-ylidene ligands. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 953-956. (b) Scholl, M.; Trnka, T. M.; Morgan, J. P.; Grubbs, R. H. Increased ring closing metathesis activity of ruthenium-based olefin metathesis catalysts coordinated with imidazolin-2-ylidene ligands. *Tet. Lett.* **1999**, *40*, 2247-2250.
115. Huang, J.; Stevens, E. D.; Nolan, S.P.; Petersen, J. L. Olefin metathesis-active ruthenium complexes bearing a nucleophilic carbene ligand. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2674-2678.
116. Garber, S. B.; Kingsbury, J. S.; Gray, B. L.; Hoveyda, A. H. Efficient and recyclable monomeric and dendritic Ru-based metathesis catalysts. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8168-8179.
117. Boeda, F.; Clavier, H.; Nolan, S. P. Ruthenium-indenylidene complexes: powerful tools for metathesis transformations. *Chem. Commun.* **2008**, 2726-2740.
118. (a) Keitz, B. K.; Endo, K.; Herbert, M. B.; Grubbs, R. H. Z-Selective Homodimerization of Terminal Olefins with a Ruthenium Metathesis Catalyst. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 9686-9688. (b) Keitz, B. K.; Fedorov, A.; Grubbs, R. H. Cis-Selective Ring-Opening Metathesis Polymerization with Ruthenium Catalysts. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 2040-2043.
119. Schrock, R. R. Recent advances in olefin metathesis by molybdenum and tungsten imido alkylidene complexes. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2004**, *213*, 21-30.
120. Sanford, M. S.; Love, J. A.; Grubbs, R. H. Mechanism and Activity of Ruthenium Olefin Metathesis Catalysts. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6543-6554.

121. Schuster, M.; Blechert, S. Olefin Metathesis in Organic Chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2036-2056.
122. Chatterjee, A. K.; Choi, T.-L.; Sanders, D. P.; Grubbs, R. H. A General Model for Selectivity in Olefin Cross Metathesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11360-11370.
123. (a) Morimoto, Y.; Mikami, A.; Kuwabe, S.; Shirahama, H. A synthesis of C1–C22 fragment of the immunosuppressant FK 506. Stereoselective construction of (E)-trisubstituted double bond (C19–C20) via ester-enolate claisen rearrangement. *Tet. Lett.* **1991**, *32*, 2909-2912. (b) Johnson, W. S.; Buchanan, R. A.; Bartlett, W. R.; Tham, F. S.; Kullnig, R. K. Cation-stabilizing auxiliaries in polyene cyclizations. 6. The fluorine atom as a cation-stabilizing auxiliary in biomimetic polyene cyclizations. 3. Use to effect regiospecific control. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 504-515. (c) Trost, B. M.; Hembre, E. J. Pd Catalyzed kinetic resolution of conduritol B. Asymmetric synthesis of (+)-cyclophellitol. *Tet. Lett.* **1999**, *40*, 219-222.
124. (a) Garner, P.; Ramakanth, S. The stereoselective synthesis of acyclic and exocyclic trisubstituted olefins via a hydroxyl-directed Wittig reaction. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2629-2631. (b) Bartoli, G.; Marcantoni, E.; Sambri, L.; Tamburini, M. Cerium(III) Chloride Promoted Nucleophilic Addition of Organolithium Reagents to α -Alkyl- β -Ketophosphine Oxides: A New Protocol for the Synthesis of Stereochemically Defined Trisubstituted Olefins. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2046-2048. (c) Katritzky, A. R.; Feng, D.; Lang, H. Stereoselective Syntheses of β , γ -Unsaturated Esters and γ -Lactones: 1-(Benzotriazol-1-yl)-3-(diphenylphosphoryl)-1-ethoxy-1-propene, a Protected $\text{CCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ Synthone Equivalent. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4131-4136. (d) Burke, S. D.; Hong, J.; Lennox, J. R.; Mongin, A. P. Synthetic Studies of Antitumor Macrolide Rhizoxin: Stereoselective Syntheses of the C(1)–C(9) and C(12)–C(26) Subunits. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6952-6967. (e) Breit, B.; Zahn, S. K., Domino Hydroformylation-Wittig Reactions *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 969-971.
125. (a) Kocienski, P. Recent Sulphone-Based Olefination Reactions. *Phosphorus Sulfur Relat. Elem.* **1985**, *24*, 97-127. (b) Johnson, W. S.; Plummer, M. S.; Reddy, S. P.; Bartlett, W. R. Cation-stabilizing auxiliaries in polyene cyclizations. 7. The fluorine atom as a cation-stabilizing auxiliary in biomimetic polyene cyclizations. 4. Total synthesis of dl-beta-amyrin. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 515-521. (c) Marko, I. E.; Murphy, F.; Dolan, S. Efficient preparation of trisubstituted alkenes using the Julia-Lythgoe olefination of ketones. On the key-role of Sml_2 in the reductive elimination step. *Tet. Lett.* **1996**, *37*, 2089-2092. (d) Hanessian, S.; Cantin, L. D.; Andreotti, D. Total Synthesis and Absolute Configuration of (–)-Anthopallone. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4893-4900.
126. (a) Barrett, A. G. M.; Hill, J. M.; Wallace, E. M.; Flygare, J. A. Recent Studies on the Peterson Olefination Reaction. *Synlett* **1991**, 764-770. (b) Barrett, A. G. M.; Flygare, J. A. Triply convergent, stereospecific alkene formation via Peterson olefination. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 638-642.
127. Chatterjee, A. K.; Grubbs, R. H. Synthesis of Trisubstituted Alkenes via Olefin Cross-Metathesis. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1751-1753.
128. Stewart, I. C.; Douglas, C. J.; Grubbs, R. H. Increased Efficiency in Cross-Metathesis Reactions of Sterically Hindered Olefins. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 441-444.
129. Hisano, T.; Onodera, K.; Toyabe, Y.; Mase, N.; Yoda, H.; Takabe, K. Highly regioselective lipase-catalyzed acetylation and hydrolysis of acyclic α,α' -alkenediols and their diacetates. *Tet. Lett.* **2005**, *46*, 6293-6295.
130. Miura, T.; Umetsu, S.; Kanamori, D.; Tsuyama, N.; Jyo, Y.; Kawashima, Y.; Koyata, N.; Murakami, Y.; Imai, N. Convenient synthesis of Z-monoacetates of 2-alkylidene-1,3-propanediols. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 9305-9308.
131. Shintani, R.; Moriya, K.; Hayashi, T. Guiding the nitrogen nucleophile to the middle: palladium-catalyzed decarboxylative cyclopropanation of 2-alkylidenetrimesitylene carbonates with isocyanates. *Chem. Comm.* **2011**, *47*, 3057-3059.
132. Chung, K.; Banik, S. M.; De Crisci, A. G.; Pearson, D. M.; Blake, T. R.; Olsson, J. V.; Ingram, A. J.; Zare, R. N.; Waymouth, R. M. Chemoselective Pd-Catalyzed Oxidation of Polyols: Synthetic Scope and Mechanistic Studies. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 7593-7602.
133. Novoa, A.; Pellegrini-Moïse, N.; Bourg, S.; Thoret, S.; Dubois, J.; Aubert, G.; Cresteil, T.; Chapleur, Y. Design, synthesis and antiproliferative activities of biaryl olefins based on polyhydroxylated and carbohydrate scaffolds. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 3570-3580.
134. Magnusson, C. D.; Haraldsson, G. G. Chemoenzymatic synthesis of symmetrically structured triacylglycerols possessing short-chain fatty acids. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 2728-2731.
135. De Nooy, A. E.; Besemer, A. C.; Van Bekkum, H. On the Use of Stable Organic Nitroxyl Radicals for the Oxidation of Primary and Secondary Alcohols. *Synthesis* **1996**, 1153-1176.
136. Shibuya, M.; Tomizawa, M.; Suzuki, I.; Iwabuchi, Y. 2-Azaadamantane N-Oxyl (AZADO) and 1-Me-AZADO: Highly Efficient Organocatalysts for Oxidation of Alcohols. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8412-8413.
137. Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S.; Palmisano, G., Oxidation of Alcohols with o-Iodoxybenzoic Acid in DMSO: A New Insight into an Old Hypervalent Iodine Reagent. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7272-7276.
138. Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S. A User-Friendly Entry to 2-Iodoxybenzoic Acid (IBX). *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4537-4538.
139. brevet : Preparation of macrolide bicyclic 9a-azalide erythromycin derivatives as antibacterial agents, US2006069048 A1.
140. Friedrich, M.; Savchenko, A. I.; Wächter, A.; de Meijere, A. Easy Access to Derivatives of 2-(Hydroxymethyl)propane-1,2,3-triol (Isoerythritol) with up to Four Separately Addressable Functionalities. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, *11*, 2138-2143.
141. (a) Hughes, R. C.; Dvorak, C. A.; Meyers, A. I. An Asymmetric Approach to Spirocyclic Systems: A Formal Synthesis of Zizaene. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5545-5551. (b) Skaanderup, P. R.; Jensen, T., Synthesis of the Macrocyclic Core of (–)-Pladienolide B. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2821-2824.
142. Coquerel, Y.; Rodriguez, J. Microwave-Assisted Olefin Metathesis. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *7*, 1125-1132.
143. Fuwa, H.; Noto, K.; Sasaki, M. Stereoselective Synthesis of Substituted Tetrahydropyrans via Domino Olefin Cross-Metathesis/Intramolecular Oxa-Conjugate Cyclization. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1636-1639.
144. Roy, V.; Pradère, U.; Agrofoglio, L. A. Microwave-assisted syntheses of nucleosides and their precursors. *Future Med. Chem.* **2010**, *2*, 177-192.
145. (a) Gulajski, L.; Sledz, P.; Lupa, A.; Grela, K. Olefin metathesis in water using acoustic emulsification. *Green Chem.* **2008**, *10*, 271-274. (b) Tomasek, J.; Schatz, J. Olefin metathesis in aqueous media. *Green Chem.* **2013**, *15*, 2317-2338. (c) Burtscher, D.; Grela, K. Aqueous Olefin Metathesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 442-454.
146. (a) Piermattei, A.; Karthikeyan, S.; Sijbesma, R. P. Activating catalysts with mechanical force. *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 133-137. (b) Jakobs, R. T. M.; Sijbesma, R. P. Mechanical Activation of a Latent Olefin Metathesis Catalyst and Persistence of its Active Species in ROMP. *Organometallics* **2012**, *31*, 2476-2481.
147. Timothy, J.; Peters, M. and D. Practical Sonochemistry Power Ultrasound Uses and Applications. Horwood Publishers, Chichester, **2002**.
148. <http://www.soltec.it/d1/en/principles-ultrasonic-cleaning>.
149. Dragutan, I.; Dragutan, V.; Filip, P.; Demonceau, A. Activation of Cycloolefin Metathesis by Ultrasonic Irradiation. *Green metathesis chemistry* **2009**, Springer.
150. Sari, O.; Hamada, M.; Roy, V.; Nolan, S. P.; Agrofoglio, L. A. The Preparation of Trisubstituted Alkenyl Nucleoside Phosphonates under Ultrasound-Assisted Olefin Cross-Metathesis. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4390-4393.
151. Pietraszuk, C.; Marciniak, B.; Fischer, H. Cross-Metathesis of Vinylsilanes with Styrene Catalyzed by Ruthenium–Carbene Complexes. *Organometallics* **2000**, *19*, 913-917.
152. Leroy, E.; Bensch, N.; Reymond, J.-L. A low background high-Throughput screening (HTS) fluorescence assay for lipases and esterases using acyloxymethylethers of umbelliferone. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2105-2108.

153. Anderson, E. M.; Larsson, K. M.; Kirk, O. One Biocatalyst—Many Applications: The Use of *Candida Antarctica* B-Lipase in Organic Synthesis. *Biocatal. Biotransform.* **1998**, *16*, 181-204.
154. Frieden, M.; Giraud, M.; B. Reese, C.; Song, Q. Synthesis of 1-[cis-3-(hydroxymethyl)cyclobutyl]-uracil, -thymine and -cytosine. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 2827-2832.
155. Porcheddu, A.; Giacomelli, G.; Piredda, I.; Carta, M.; Nieddu, G. A Practical and Efficient Approach to PNA Monomers Compatible with Fmoc-Mediated Solid-Phase Synthesis Protocols. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *34*, 5786-5797.
156. Dey, S.; Garner, P. Synthesis of tert-Butoxycarbonyl (Boc)-Protected Purines. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7697-7699.
157. Mitsunobu, O. The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products. *Synthesis* **1981**, 1-28.
158. Quelques exemples : (a) Du, J.; Wang, G. Synthesis of Unsaturated Carboacyclic Nucleoside Analogues via Mitsunobu Reactions. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* **2000**, *19*, 867-879. (b) Tang, Y.; Muthyala, R.; Vince, R. Synthesis and biological evaluation of carboacyclic nucleosides with (Z) and (E)-9-[4,4-bis(hydroxymethyl)]-2-butenyl side chain. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 5866-5875. (c) Yin, X.-q.; Li, W.-k.; Schneller, S. W. An efficient Mitsunobu coupling to adenine-derived carbocyclic nucleosides. *Tet. Lett.* **2006**, *47*, 9187-9189. (d) Lu, W.; Sengupta, S.; Petersen, J. L.; Akhmedov, N. G.; Shi, X. Mitsunobu Coupling of Nucleobases and Alcohols: An Efficient, Practical Synthesis for Novel Nonsugar Carbon Nucleosides. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5012-5015. (e) Fletcher, S.; Shahani, V. M.; Gunning, P. T. Facile and efficient access to 2,6,9-tri-substituted purines through sequential N9, N2 Mitsunobu reactions. *Tet. Lett.* **2009**, *50*, 4258-4261.
159. Guo, H.-M.; Wu, Y.-Y.; Niu, H.-Y.; Wang, D.-C.; Qu, G.-R. Synthesis of Acyclic Nucleosides with a Chiral Amino Side Chain by the Mitsunobu Coupling Reaction. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 3863-3866.
160. (a) Mitchell, M.; Qiao, L.; Wong, C.-H., Chemical-Enzymatic Synthesis of Iminocyclitol Phosphonic Acids. *Adv. Synth. Cat.* **2001**, *343*, 596-599. (b) Birck, M. R.; Clinch, K.; Gainsford, G. J.; Schramm, V. L.; Tyler, P. C. Syntheses of 5-Chlorouracils/Thymine with 1-[Phosphono(Methyl/Difluoromethyl)]-1,2-Unsaturated-Moiety-Substituted Methyl Groups at N(1) and Human Thymidine Phosphorylase Inhibitory Activity. *Helv. Chim. Acta* **2009**, *92*, 823-838.
161. Hocková, D.; Holý, A.; Masojdková, M.; Keough, D. T.; Jersey, J. d.; Guddat, L. W. Synthesis of branched 9-[2-(2-phosphonoethoxy)ethyl]purines as a new class of acyclic nucleoside phosphonates which inhibit *Plasmodium falciparum* hypoxanthine-guanine-xanthine phosphoribosyl-transferase. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6218-6232.
162. Travaux réalisés par le Dr. Aurélien MONTAGU (Thèse).
163. Kamal, A.; Shaik, A. A.; Azeza, S.; Malik, M. S.; Sandbhor, M. Chemoenzymatic synthesis of (5S)- and (5R)-hydroxymethyl-3,5-dimethyl-4-(methoxymethoxy)-5H-thiophen-2-one: a precursor of thiolactomycin and determination of its absolute configuration. *Tet. Asymm.* **2006**, *17*, 2890-2895.
164. brevet : Phosphonates synthons for the synthesis of phosphonates derivatives showing better bioavailability, WO 2010146127 A1.
165. Travaux réalisés par le Dr. Ugo PRADERE (Thèse).
166. Allaudeen, H. S.; Kosarich, J. W.; Bertino, J. R.; De Clercq, E. Mechanism of selective inhibition of herpesvirus replication by BVDU. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1981**, *78*, 2698-2702.
167. De Clercq, E. Discovery and development of BVDU (brivudin) as a therapeutic for the treatment of herpes zoster. *Biochem. Pharmacol.* **2004**, *68*, 2301-2315.
168. Cheng, Y. C.; Dutschman, G.; De Clercq, E.; Jones, A. S.; Rahim, S. G.; Verhelst, G.; Walker, R. T. Differential affinities of 5-(2-Halogeno vinyl)-2'-deoxyuridines for deoxythymidine kinases of various origins. *Molec. Pharmacol.* **1981**, *20*, 230-233.
169. Carmine, A. A.; Brogden, R. N.; Heel, R. C.; Speight, T. M.; Avery, G. S. Trifluridine: A Review of its Antiviral Activity and Therapeutic Use in the Topical Treatment of Viral Eye Infections. *Drugs* **1982**, *23*, 329-353.
170. De Clercq, E.; Bernaerts, R.; Merta, A.; Rosenwirth, B. Mechanism of action of 5-(2-chloroethyl)-2'-deoxyuridine, a selective inhibitor of herpes simplex virus replication. *Molec. Pharmacol.* **1990**, *37*, 658-664.
171. (a) Kemeny, N.; Huang, Y.; Cohen, A. M.; Shi, W.; Conti, J. A.; Brennan, M. F.; Bertino, J. R.; Turnbull, A. D.; Sullivan, D.; Stockman, J.; Blumgart, L. H.; Fong, Y. Hepatic arterial infusion of chemotherapy after resection of hepatic metastases from colorectal cancer. *New Engl. J. Med.* **1999**, *341*, 2039-2048. (b) Grem, J. L. 5-Fluorouracil: Forty-plus and still ticking. A review of its preclinical and clinical development. *Invest. New Drugs* **2000**, *18*, 299-313.
172. De Clercq, E.; Descamps, J.; Balzarini, J.; Giziewicz, J.; Barr, P. J.; Robins, M. J., Nucleic acid related compounds. 40. Synthesis and biological activities of 5-alkynyluracil nucleosides. *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 661-666.
173. De Clercq, E., Descamps, J.; Verhelst, G.; Walker, R.T.; Jones, A. S.; Torrence, P. F.; Shugar, D. Comparative efficacy of antiherpes drugs against different strains of herpes simplex virus. *J. Infect. Dis.* **1980**, *141*, 563-574.
174. Robins, M. J.; Barr, P. J. Nucleic-Acid related-compounds. 31. Smooth and efficient palladium copper catalyzed coupling of terminal alkynes with 5-iodouracil nucleosides. *Tet. Lett.* **1981**, *22*, 421-424.
175. (a) Kumar, R.; Knaus, E. E.; Wiebe, L. I. Synthesis and biological evaluation of 5-(1-alkoxy-2'-haloethyl)-2'-deoxyuridines and related uracil analogs. *J. Het. Chem.* **1991**, *28*, 1917-1925. (b) Kumar, R.; Wiebe, L. I.; Knaus, E. E. Synthesis of 5-(1-azidovinyl) and 5-[2-(1-aziriny)] analogs of 2'-deoxyuridine. *Canad. J. Chem.* **1996**, *74*, 1609-1615.
176. McGuigan, C.; Yarnold, C. J.; Jones, G.; Velázquez, S.; Barucki, H.; Brancale, A.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Balzarini, J. Potent and selective inhibition of varicella-zoster virus (VZV) by nucleoside analogues with an unusual bicyclic base. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4479-4484.
177. McGuigan, C.; Barucki, H.; Carangio, A.; Blewett, S.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Balzarini, J. Highly potent and selective inhibition of varicella-zoster virus (VZV) by bicyclic furo pyrimidine nucleosides bearing an aryl side-chain. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4993-4997.
178. Lee, Y.-S.; Park, S. M.; Kim, B. H. Synthesis of 5-isoxazol-5-yl-2'-deoxyuridine exhibiting antiviral activity against HSV and several RNA viruses. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 1126-1128.
179. Lee, Y.-S.; Park, S. M.; Kim, H. M.; Park, S.-K.; Lee, K.; Lee, C. W.; Kim, B. H. C⁵-Modified nucleosides exhibiting anticancer activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4688-4691.
180. Escuret, V.; Aucagne, V.; Joubert, N.; Durantel, D.; Rapp, K. L.; Schinazi, R. F.; Zoulim, F.; Agrofoglio, L. A. Synthesis of 5-haloethynyl- and 5-(1,2-dihalo)vinyluracil nucleosides: Antiviral activity and cellular toxicity. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6015-6024.
181. Joubert, N.; Amblard, F.; Rapp, K. L.; Schinazi, R. F.; Agrofoglio, L. A. Synthesis and anti-HIV activity of 5-haloethynyl and 5-(1,2-dihalo)vinyl analogues of AZT and FLT. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 4444-4452.
182. Montagu, A.; Roy, V.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Agrofoglio, L. A. Synthesis of new C5-(1-substituted-1,2,3-triazol-4 or 5-yl)-2'-deoxyuridines and their antiviral evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 778-786.
183. Zhang, Li.; Chen, X.; Xue, P.; Sun, H. H. Y.; Williams, I.D.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V.; Jia, G. Ruthenium-catalyzed cycloaddition of alkynes and organic azides. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998-15999.
184. Glaser, C. Beiträge zur Kenntniss des Acetylnylbenzols. *Ber. Deut. Chem. Ges* **1869**, *2*, 422-424.

185. Bohlmann, F.; Schönowsky, H.; Inhoffen, E.; Grau, G. Polyacetylenverbindungen, LII. Über den Mechanismus der oxydativen Dimerisierung von Acetylenverbindungen. *Chem. Ber.* **1964**, *97*, 794-800.
186. Eglinton, G.; Galbraith, A. R. 182. Macrocyclic acetylenic compounds. Part I. Cyclotetradeca-1,3-diyne and related compounds. *J. Chem. Soc.* **1959**, 889-896.
187. Krebs, A. in "Chemistry of Acetylenes", H. G. Viehe, Ed., Marcel Dekker, New York **1969**, 987-1062.
188. Sondheimer, F. Recent advances in the chemistry of large-ring conjugated systems. *Pure Appl. Chem.* **1963**, *7*, 363-388.
189. Hay, A. S. Oxidative Coupling of Acetylenes. II. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 3320-3321.
190. (a) Chodkiewicz, W. *Ann. Chim. (Paris)* **1957**, *1*, 819-869. (b) Cadiot, P.; Chodkiewicz, W. in "Chemistry of Acetylenes", H. G. Viehe, Ed., Marcel Dekker, New York **1969**, 597.
191. Rossi, R.; Carpita, A.; Bigelli, C. A palladium-promoted route to 3-alkyl-4-(1-alkynyl)-hexa-1,5-dien-3-ynes and/or 1,3-diynes. *Tet. Lett.* **1985**, *26*, 523-526.
192. Cho, D. H.; Lee, J. H.; Kim, B. H. An Improved Synthesis of 1,4-Bis(3,4-dimethyl-5-formyl-2-pyrryl)butadiyne and 1,2-Bis(3,4-dimethyl-5-formyl-2-pyrryl)ethyne. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8048-8050.
193. Kurita, T.; Abe, M.; Maegawa, T.; Monguchi, Y.; Sajiki, H. Ligand- and Base-Free Synthesis of 1,3-Diynes Catalyzed by Low Loading of Heterogeneous Pd/C and Cu. *Synlett* **2007**, 2521-2524.
194. Liu, Q.; Burton, D. J. A facile synthesis of diynes. *Tet. Lett.* **1997**, *38*, 4371-4374.
195. Wityak, J.; Chan, J. B. Synthesis of 1,3-Diynes Using Palladium-Copper Catalysis. *Synth. Comm.* **1991**, *21*, 977-979.
196. Yin, W.; He, C.; Chen, M.; Zhang, H.; Lei, A. Nickel-Catalyzed Oxidative Coupling Reactions of Two Different Terminal Alkynes Using O₂ as the Oxidant at Room Temperature: Facile Syntheses of Unsymmetric 1,3-Diynes. *Org. Lett.* **2008**, *11*, 709-712.
197. (a) Lanci, M. P.; Brinkley, D. W.; Stone, K. L.; Smirnov, V. V.; Roth, J. P. Structures of Transition States in Metal-Mediated O₂-Activation Reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7273-7276. (b) Kieber-Emmons, M. T.; Riordan, C. G. Dioxygen Activation at Monovalent Nickel. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 618-625.
198. Smith, E. H.; Whittall, J. Coupling of Alkynyllithiums to 1,3-Diynes by Reaction with Dichlorobis(triphenylphosphine)nickel(II) in the Presence of Triphenylphosphine and Guanidine or Amidine Bases. *Organometallics* **1994**, *13*, 5169-5172.
199. Balaraman, K.; Kesavan, V. Efficient Copper(II) Acetate Catalyzed Homo- and Heterocoupling of Terminal Alkynes at Ambient Conditions. *Synthesis* **2010**, 3461-3466.
200. Minakawa, N.; Ono, Y.; Matsuda, A. A Versatile Modification of On-Column Oligodeoxynucleotides Using a Copper-Catalyzed Oxidative Acetylenic Coupling Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11545-11552.
201. Xiao, Q.; Ranasinghe, R. T.; Tang, A. M. P.; Brown, T. Naphthalenyl- and anthracenyl-ethynyl dT analogues as base discriminating fluorescent nucleosides and intramolecular energy transfer donors in oligonucleotide probes. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 3483-3490.
202. Jessel, S.; Hense, E.; Meier, C. Cyclopentane-nucleobase coupling in the synthesis of carbocyclic L-nucleosides: is a S_N2 reaction an alternative to the Mistunobu reaction. *Nucleos. Nucleot. Nucleic Acids* **2007**, *26*, 1181-1184.
203. Rai, D.; Johar, M.; Srivastav, N. C.; Manning, T.; Agrawal, B.; Kunitomo, D. Y.; Kumar, R. Inhibition of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, and *Mycobacterium avium* by novel dideoxy nucleosides. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4766-4774.
204. Kumar, V.; Yap, J.; Muroyama, A.; Malhotra, S. V. Highly efficient method for C-5 halogenation of pyrimidine based nucleosides in ionic liquids. *Synthesis* **2009**, *23*, 3957-3962.
205. Choi, M. H.; Lee, C. K.; Kim, H. D. Design and synthesis of 3'-fluoropenciclovir analogues as antiviral agents. *Arch. Pharm. Res.* **2010**, *33*, 197-202.
206. (a) Asakura, J.; Robins, M. Cerium (IV) catalyzed iodination at C⁵ of uracil nucleosides. *Tet. Lett.* **1988**, *29*, 2855-2858. (b) Asakura, J.; Robins, M. J. Cerium(IV)-mediated halogenations at C-5 of uracil derivatives. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4928-4933.
207. Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. A convenient synthesis of acetylenes: catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes and bromopyridines. *Tet. Lett.* **1975**, *16*, 4467-4470.
208. Robins, M. J.; Vinayak, R. S.; Wood, S. G. Solvent, not palladium oxidation state, is the primary determinant for successful coupling of terminal alkynes with iodo-nucleosides. *Tet. Lett.* **1990**, *31*, 3731-3734.
209. Robins, M. J.; Barr, P. J. Nucleic acid related compounds. 39. Efficient conversion of 5-iodo to 5-alkynyl and derived 5-substituted uracil bases and nucleosides. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 1854-1862.
210. Aucagne, V.; Amblard, F.; Agrofoglio, L. A. Highly efficient AgNO₃-Catalysed Preparation of substituted furanopyrimidine nucleosides. *Synlett* **2004**, 2406-2408.
211. Sari, O.; Roy, V.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Agrofoglio, L. A. Synthesis and antiviral evaluation of C5-substituted-(1,3-diyne)-2'-deoxyuridines. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *53*, 220-228.
212. Hammer, S. M.; Eron, J. J.; Reiss, P.; Schooley, R. T.; Thompson, M. A.; Walmsley, S.; Cahn, P.; Fischl, M. A.; Gatell, J. M.; Hirsch, M. S.; Jacobsen, D. M.; Montaner, J. S.; Richman, D. D.; Yeni, P. G.; Volberding, P. A. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society USA panel. *JAMA* **2008**, *300*, 555-570.
213. Pommier, Y.; Johnson, A. A.; Marchand, C. Integrase inhibitors to treat HIV/AIDS. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 236-248.
214. De Clercq, E. New approaches towards anti-HIV chemotherapy. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1297-1313.
215. (a) Asante-Appiah, E.; Skalka, A. M. HIV-1 integrase: structural organization, conformational changes, and catalysis. *Adv. Virus Res.* **1999**, *52*, 351-369. (b) Esposito, D.; Craigie, R. HIV integrase structure and function. *Adv. Virus Res.* **1999**, *52*, 319-333. (c) Dyda, F.; Hickman, A. B.; Jenkins, T. M.; Engelman, A.; Craigie, R.; Davies, D. R. Crystal structure of the catalytic domain of HIV-1 integrase: similarity to other polynucleotidyl transferases. *Science* **1994**, *266*, 1981-1986.
216. Brin, E.; Yi, J.; Skalka, A.M.; Leis, J. Modeling the late steps in HIV-1 retroviral integrase-catalyzed DNA integration. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 39287-39295.
217. Shibagaki, Y.; Holmes, M.L.; Appa, R.S.; Chow, S. A. Characterization of feline immunodeficiency virus integrase and analysis of functional domains. *Virology* **1997**, *230*, 1-10.
218. (a) Drelich, M.; Wilhelm, R.; Mous, J. Activities and substrate specificity of the evolutionarily conserved central domain of retroviral integrase. *Virology* **1992**, *188*, 459-468. (b) Engelman, A.; Craigie, R. Identification of conserved amino acid residues critical for human immunodeficiency virus type 1 integrase function *in vitro*. *J. Virol.* **1992**, *66*, 6361-6369.
219. (a) Ellison, V.; Brown, P.O. A stable complex between integrase and viral DNA ends mediates human immunodeficiency virus integration *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 7316-7320. (b) Vink, C.; Lutzke, R. A.; Plasterk, R. H. Formation of a stable complex between the human immunodeficiency virus integrase protein and viral DNA. *Nucl. Acids Res.* **1994**, *22*, 4103-4110. (c) Hazuda, D. J.; Felock, P. J.; Hastings, J. C.; Pramanik, B.; Wolfe, A. L. Differential divalent cation requirements uncouple the assembly and catalytic reactions of human immunodeficiency virus type 1 integrase. *J. Virol.* **1997**, *71*, 7005-7011.

220. (a) Kohn, K. W.; Leteurtre, F.; Pommier, Y. Inhibitors of human immunodeficiency virus integrase. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 2399–2403. (b) Cushman, M. & Sherman, P. Inhibition of HIV-1 integration protein by aurintricarboxylic acid monomers, monomer analogs, and polymer fractions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, *185*, 85–90. (c) Carreau, S.; Mouscadet, J.-F.; Goulaouic, H.; Subra, F.; Auclair, C. Inhibitory effect of the polyanionic drug suramin on the in vitro HIV DNA integration reaction. *Arch. Biochem. Biophys.* **1993**, *305*, 606–610.
221. (a) Summa, V.; Petrocchi, A.; Bonelli, F.; Crescenzi, B.; Donghi, M.; Ferrara, M.; Fiore, F.; Gardelli, C.; Paz, O.G.; Hazuda, D.J.; Jones, P.; Kinzel, O.; Laufer, R.; Monteagudo, E.; Muraglia, E.; Nizi, E.; Orvieto, F.; Pace, P. Pescatore, G.; Scarpelli, R.; Stillmock, K.; Witmer, M.V.; Rowley, M. Discovery of raltegravir, a potent, selective orally bioavailable HIV-integrase inhibitor for the treatment of HIV-AIDS infection. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5843–5855. (b) Markowitz, M.; Nguyen, B.-Y.; Gotuzzo, E.; Mendo, F.; Ratanasuwana, W.; Kovacs, C.; Prada, G.; Morales-Ramirez, J. O.; Crumpacker, C. S.; Isaacs, R. D.; Gilde, L. R.; Wan, H.; Miller, M. D.; Wenning, L. A.; Teppler, H. Rapid and durable antiretroviral effect of the HIV-1 integrase inhibitor raltegravir as part of combination therapy in treatment-naïve patients with HIV-1 infection: results of a 48-weeks controlled study. *J. Acq. Immun. Def. Synd.* **2007**, *46*, 125–133. (c) Cabrera, C. Raltegravir, an HIV-1 integrase inhibitor for HIV infection. *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2008**, *9*, 885–898.
222. Hicks, C.; Gulick, R. M. Raltegravir: The First HIV Type 1 Integrase Inhibitor. *Clin. Infect. Dis.* **2009**, *48*, 931–939.
223. Hazuda, D. J.; Anthony, N. J.; Gomez, R. P.; Jolly, S. M.; Wai, J. S.; Zhuang, L.; Fisher, T. E.; Embrey, M.; Guare, J. P.; Egbertson, M. S.; Vacca, J. P.; Huff, J. R.; Felock, P. J.; Witmer, M. V.; Stillmock, K. A.; Danovich, R.; Grobler, J.; Miller, M. D.; Espeseth, A. S.; Jin, L.; Chen, I.-W.; Lin, J. H.; Kassahun, K.; Ellis, J.D.; Wong, B.K.; Xu, W.; Pearson, P. G.; Schleif, W. A.; Cortese, R.; Emini, E.; Summa, V.; Holloway, M. K.; Young, S. D. A naphthyridine carboxamide provides evidence for discordant resistance between mechanistically identical inhibitors of HIV-1 integrase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 11233–11238.
224. Serrao, E.; Odde, S.; Ramkumar, K.; Neamati, N. Raltegravir, elvitegravir, and metoogravir: the birth of "me-too" HIV-1 integrase inhibitors. *Retrovirology* **2009**, *6*, 1–14.
225. (a) Sato, M.; Motomura, T.; Aramaki, H.; Matsuda, T.; Yamashita, M.; Ito, Y.; Kawakami, H.; Matsuzaki, Y.; Watanabe, W.; Yamataka, K.; Ikeda, S.; Kodama, E.; Matsuoka, M.; Shinkai, H. Novel HIV-1 integrase inhibitors derived from quinolone antibiotics. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1506–1508. (b) Sorbera, L. A.; Serradell, N. GS-9137: anti-HIV agent HIV integrase inhibitor. *Drugs Future* **2006**, *31*, 310–313.
226. (a) Vandekerckhove, L. GSK-1349572, a novel integrase inhibitor for the treatment of HIV infection. *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2010**, *11*, 203–212. (b) Min, S.; Song, I.; Borland, J.; Chen, S.; Lou, Y.; Fujiwara, T.; Piscitelli, S. C. Pharmacokinetics and safety of S/GSK1349572, a next generation HIV integrase inhibitor, in healthy volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *54*, 254–258. (c) Johns, B. A.; Kawasuji, T.; Weatherhead, J. G.; Taishi, T.; Temelkoff, D. P.; Yoshida, H.; Akiyama, T.; Taoda, Y.; Murai, H.; Kiyama, R.; Fuji, M.; Tanimoto, N.; Jeffrey, J.; Foster, S. A.; Yoshinaga, T.; Seki, T.; Kobayashi, M.; Sato, A.; Johnson, M. N.; Garvey, E. P.; Fujiwara, T. Carbamoyl Pyridone HIV-1 Integrase Inhibitors 3. A Diastereomeric Approach to Chiral Nonracemic Tricyclic Ring Systems and the Discovery of Dolutegravir (S/GSK1349572) and (S/GSK1265744). *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 5901–5916.
227. (a) Sichtig, N.; Sierra, S.; Kaiser, R.; Däumer, M.; Reuter, S.; Schuler, E.; Altmann, A.; Fatkenheuer, G.; Dittmer, U.; Pfister, H.; Esser, S. Evolution of raltegravir resistance during therapy. *J. Antimicrob. Chemother.* **2009**, *64*, 25–32. (b) Goethals, O.; Clayton, R.; Van Ginderen, M.; Vereycken, I.; Wagemans, E.; Geluykens, P.; Dockx, K.; Strijbos, R.; Smits, V.; Vos, A.; Meersseman, G.; Jochmans, D.; Vermeire, K.; Schols, D.; Hallenberger, S.; Hertogs, K. Resistance mutations in human immunodeficiency virus type 1 integrase selected with elvitegravir confer reduced susceptibility to a wide range of integrase inhibitors. *J. Virol.* **2008**, *82*, 10366–10374. (c) Metifiot, M.; Marchand, C.; Maddali, K.; Pommier, Y. Resistance to integrase inhibitors. *Viruses* **2010**, *2*, 1347–1366. (d) Metifiot, M.; Maddali, K.; Naumova, A.; Zhang, X.; Marchand, C.; Pommier, Y. Biochemical and Pharmacological Analyses of HIV-1 Integrase Flexible Loop Mutants Resistant to Raltegravir. *Biochemistry* **2010**, *49*, 3715–3722. (e) Da Silva, D.; Van Wesenbeeck, L.; Breilh, D.; Reigadas, S.; Anies, G.; Van Baelen, K.; Morlat, P.; Neau, D.; Dupon, M.; Wittkop, L.; Fleury, H.; Masquelier, B. HIV-1 resistance patterns to integrase inhibitors in antiretroviral-experienced patients with virological failure on raltegravir containing regimens. *J. Antimicrob. Chemother.* **2010**, *65*, 1262–1269.
228. Hazuda, D. J. *et al.* Integrase Inhibitors and cellular immunity suppress retroviral replication in rhesus macaques. *Science* **2004**, *305*, 528–532.
229. (a) Hazuda, D. J.; Felock, P.; Witmer, M.; Wolfe, A.; Stillmock, K.; Grobler, J. A.; Espeseth, A.; Gabryelski, L.; Schleif, W.; Blau, C.; Miller, M. D. Inhibitors of strand transfer that prevent integration and inhibit HIV-1 replication in cells. *Science* **2000**, *287*, 646–650. (b) Espeseth, A. S.; Felock, P.; Wolfe, A.; Witmer, M.; Grobler, J.; Anthony, N.; Egbertson, M.; Melamed, J. Y.; Young, S.; Hamill, T.; Cole, J. L.; Hazuda, D. J. HIV-1 integrase inhibitors that compete with the target DNA substrate define a unique strand transfer conformation for integrase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 11244–11249.
230. Grobler, J. A. *et al.* Diketo acid inhibitor mechanism and HIV-1 integrase: implications for metal binding in the active site of phosphotransferase enzymes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 6661–6666.
231. Wai, J. S.; Egbertson, M. S.; Payne, L. S.; Fisher, T. E.; Embrey, M. W.; Tran, L. O.; Melamed, J. Y.; Langford, H.M.; Guare, J. P. Jr.; Zhuang, L.; Grey, V. E.; Vacca, J. P.; Holloway, M. K.; Naylor-Olsen, A. M.; Hazuda, D. J.; Felock, P. J.; Wolfe, A. L.; Stillmock, K. A.; Schleif, W. A.; Gabryelski, L. J.; Young, S. D. 4-Aryl-2,4-dioxobutanoic acid inhibitors of HIV-1 integrase and viral replication in cells. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4923–4926.
232. Goldgur, Y. *et al.* Structure of the HIV-1 integrase catalytic domain complexed with an inhibitor: A platform for antiviral drug design. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 13040–13043.
233. Pais, G. C. *et al.* Structure activity of 3-aryl-1,3-diketocontaining compounds as HIV-1 integrase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3184–3194.
234. (a) Engelman, A.; Bushman, F. D.; Craigie, R. Identification of discrete functional domains of HIV-1 integrase and their organization within an active multimeric complex. *EMBO J.* **1993**, *12*, 3269–3275. (b) Marchand, C. *et al.* Structural determinants for HIV-1 integrase inhibition by β -diketo acids. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 12596–12603.
235. Billich, A. S-1360 (Shionogi-GlaxoSmithKline). *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2003**, *4*, 206–209.
236. Rosemond, M. J. C.; St. John-Williams, L.; Yamaguchi, T.; Fujishita, T.; Walsh, J. S. Enzymology of a carbonyl reduction clearance pathway for the HIV integrase inhibitor, S-1360: role of human liver cytosolic aldo-keto reductases. *Chem. Biol. Interact.* **2004**, *147*, 129–139.
237. Nair, V.; Chi, G.; Ptak, R.; Neamati, N. HIV integrase inhibitors with nucleobase scaffolds: discovery of a highly potent anti- HIV Agent. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 445–447.
238. Sechi, M.; Bacchi, A.; Carcelli, M.; Compari, C.; Duce, E.; Fisicaro, E.; Rogolino, D.; Gates, P.; Derudas, M.; Al-Mawsawi, L. Q.; Neamati, N. From ligand to complexes: inhibition of human immunodeficiency virus type 1 integrase by -diketo acid metal complexes. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 4248–4260.
239. Pais, G. C. G.; Zhang, X.; Marchand, C.; Neamati, N.; Cowansage, K.; Svarovskaia, E. S.; Pathak, V.K.; Tang, Y.; Nicklaus, M.; Pommier, Y.; Burke, T. R. Structure activity of 3-aryl-1,3-diketocontaining compounds as HIV-1 integrase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3184–3194.
240. brevet : Diketo acids with nucleobase scaffolds : anti-HIV replication inhibitors targeted at HIV integrase in combination therapy, WO2007106450.
241. Wang, Z.; Bennett, E.M.; Wilson, D.J.; Salomon, C.; Vince, R. Rationally designed dual inhibitors of HIV reverse transcriptase and integrase. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 3416–3419.

242. (a) Bacchi, A.; Biemmi, M.; Carcelli, M.; Carta, F.; Compari, C.; Fisicaro, E.; Rogolino, D.; Sechi, M.; Sippel, M.; Sottriffer, C. A.; Sanchez, T. W.; Neamati, N., From Ligand to Complexes. Part 2. Remarks on Human Immunodeficiency Virus type 1 Integrase Inhibition by β -Diketo Acid Metal Complexes. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 7253-7264. (b) Dayam, R.; Sanchez, T.; Neamati, N. Diketo Acid Pharmacophore. 2. Discovery of Structurally Diverse Inhibitors of HIV-1 Integrase. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 8009-8015. (d) Dayam, R.; Sanchez, T.; Clement, O.; Shoemaker, R.; Sei, S.; Neamati, N. β -Diketo Acid Pharmacophore Hypothesis. 1. Discovery of a Novel Class of HIV-1 Integrase Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 111-120.
243. (a) Biginelli, P. Ueber Aldehyduramide des Acetessigäthers. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1891**, *24*, 1317-1319. (b) Biginelli, P. Ueber Aldehyduramide des Acetessigäthers. II. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1891**, *24*, 2962-2967. (c) Biginelli, P. *Gazz. Chim. Ital.* **1889**, *19*, 212.
244. (a) Hantzsch, A. Condensationsprodukte aus Aldehydammoniak und ketonartigen Verbindungen. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1881**, *14*, 1637-1638. (b) Hantzsch, A. Ueber die Synthese pyridinartiger Verbindungen aus Acetessigäther und Aldehydammoniak. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1882**, *215*, 1-82.
245. Kappe, C. O. A Reexamination of the Mechanism of the Biginelli Dihydropyrimidine Synthesis. Support for an N-Acyliminium Ion Intermediate. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7201-7204.
246. Sandhu, J. and S. Past, present and future of the Biginelli reaction: a critical perspective. *Rev. Acc.* **2012**, *1*, 66-133.
247. Cochran, J. C.; Gatial, J. E.; Kapoor, T. M.; Gilbert, S. P. Monastrol Inhibition of the Mitotic Kinesin Eg5. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 12658-12667.
248. Chiang, A. N.; Valderramos, J.-C.; Balachandran, R.; Chovatiya, R. J.; Mead, B. P.; Schneider, C.; Bell, S. L.; Klein, M. G.; Hury, D. M.; Chen, X. S.; Day, B. W.; Fidock, D. A.; Wipf, P.; Brodsky, J. L. Select pyrimidinones inhibit the propagation of the malarial parasite, *Plasmodium falciparum*. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1527-1533.
249. Zhu, X.; Zhao, G.; Zhou, X.; Xu, X.; Xia, G.; Zheng, Z.; Wang, L.; Yang, X.; Li, S. 2,4-Diaryl-4,6,7,8-tetrahydroquinazolin-5(1H)-one derivatives as anti-HBV agents targeting at capsid assembly. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 299.
250. Tremblay, M.; Bethell, R. C.; Cordingley, M. G.; DeRoy, P.; Duan, J.; Duplessis, M.; Edwards, P. J.; Faucher, A.-M.; Halmos, T.; James, C. A.; Kuhn, C.; Lacoste, J.-É.; Lamorte, L.; LaPlante, S. R.; Malenfant, É.; Minville, J.; Morency, L.; Morin, S.; Rajotte, D.; Salois, P.; Simoneau, B.; Tremblay, S.; Sturino, C. F., Identification of benzofurano[3,2-d]pyrimidin-2-ones, a new series of HIV-1 nucleotide-competing reverse transcriptase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 2775-2780.
251. Koch, U.; Attenni, B.; Malancona, S.; Colarusso, S.; Conte, I.; Di Filippo, M.; Harper, S.; Pacini, B.; Giomini, C.; Thomas, S.; Incitti, I.; Tomei, L.; De Francesco, R.; Altamura, S.; Matassa, V. G.; Narjes, F. 2-(2-Thienyl)-5,6-dihydroxy-4-carboxypyrimidines as Inhibitors of the Hepatitis C Virus NS5B Polymerase: Discovery, SAR, Modeling, and Mutagenesis. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1693-1705.
252. Pace, P.; Di Francesco, M. E.; Gardelli, C.; Harper, S.; Muraglia, E.; Nizi, E.; Orvieto, F.; Petrocchi, A.; Poma, M.; Rowley, M.; Scarpelli, R.; Laufer, R.; Gonzalez Paz, O.; Monteagudo, E.; Bonelli, F.; Hazuda, D.; Stillmock, K. A.; Summa, V. Dihydroxypyrimidine-4-carboxamides as Novel Potent and Selective HIV Integrase Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2225-2239.
253. Světlík, J.; Kettmann, V. The chameleon-like behaviour of 3-amino-1,2,4-triazole in the Biginelli reaction: unexpected formation of a novel spiroheterocyclic system. *Tet. Lett.* **2011**, *52*, 1062-1066.
254. Hassani, Z.; Islami, M. R.; Kalantari, M. An efficient one-pot synthesis of octahydroquinazolinone derivatives using catalytic amount of H_2SO_4 in water. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 4479-4482.
255. Fu, N.-Y.; Yuan, Y.-F.; Cao, Z.; Wang, S.-W.; Wang, J.-T.; Peppe, C. Indium(III) bromide-catalyzed preparation of dihydropyrimidinones: improved protocol conditions for the Biginelli reaction. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 4801-4807.
256. Matache, M.; Dobrota, C.; Bogdan, N. D.; Dumitru, I.; Ruta, L. L.; Paraschivescu, C. C.; Farcasanu, I. C.; Baci, I.; Funeriu, D. P. Synthesis of fused dihydro-pyrimido[4,3-d]coumarins using Biginelli multicomponent reaction as key step. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 5949-5957.
257. Chen, X.; Peng, Y. Chloroferrate(III) Ionic Liquid: Efficient and Recyclable Catalyst for Solvent-free Synthesis of 3,4-Dihydropyrimidin-2(1H)-ones. *Catal. Lett.* **2008**, *122*, 310-313.
258. Ramu, E.; Kotra, V.; Bansal, N.; Varala, R.; Adapa, S. R. Green approach for the efficient synthesis of Biginelli compounds promoted by citric acid under solvent-free conditions *Ras. J. Chem.* **2008**, *1*, 188.
259. Gore, S.; Baskaran, S.; Koenig, B. Efficient synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2-ones in low melting tartaric acid-urea mixtures. *Green Chem.* **2011**, *13*, 1009-1013.
260. Adib, M.; Ghanbary, K.; Mostofi, M.; Ganjali, M. Efficient $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ -Catalyzed Solvent-Free Synthesis of 3,4-Dihydropyrimidin-2(1H)-ones. *Molecules* **2006**, *11*, 649-654.
261. Han, B.; Han, R.-F.; Ren, Y.-W.; Duan, X.-Y.; Xu, Y.-C.; Zhang, W. Efficient aerobic oxidative dehydrogenation of dihydropyrimidinones and dihydropyrimidines. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 5615-5620.
262. Bose, D. S.; Fatima, L.; Mereyala, H. B. Green Chemistry Approaches to the Synthesis of 5-Alkoxy-carbonyl-4-aryl-3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones by a Three-Component Coupling of One-Pot Condensation Reaction: Comparison of Ethanol, Water, and Solvent-free Conditions. *J. Org. Chem.* **2002**, *68*, 587-590.
263. Vanden Eynde, J. J.; Audiart, N.; Canonne, V.; Michel, S.; Van Haverbeke, Y.; Kappe, C. O. Synthesis and Aromatization of Dihydropyrimidines Structurally Related to Calcium Channel Modulators of the Nifedipine-Type. *Heterocycles* **1997**, *45*, 1967-1978.
264. Rizzo, R. C.; Tirado-Rives, J.; Jorgensen, W. L. Estimation of Binding Affinities for HEPT and Nevirapine Analogues with HIV-1 Reverse Transcriptase via Monte Carlo Simulations. *J. Med. Chem.* **2000**, *44*, 145-154.
265. Mashraqui, S. H.; Karnik, M. A. Bismuth Nitrate Pentahydrate: A Convenient Reagent for the Oxidation of Hantzsch 1,4-Dihydropyridines. *Synthesis* **1998**, 713-714.
266. Snyder, C. A.; Thorn, M. A.; Klijanowicz, J. E.; Southwick, P. L. Preparation of compounds in the new dipyrrolo[3,4-b:3',4'-e]-pyridine series from 1-benzylidene-2,3-dioxopyrrolidines. A variation of the hantzsch synthesis. *J. Het. Chem.* **1982**, *19*, 603-607.
267. S. Varma, R.; Kumar, D. Solid state oxidation of 1,4-dihydropyridines to pyridines using phenyliodine(III) bis(trifluoroacetate) or elemental sulfur. *J. Chem. Soc., Perkin Tran.* **1999**, 1755-1758.
268. Lu, J.; Bai, Y.; Wang, Z.; Yang, B.; Li, W. Ferric chloride hexahydrate: a convenient reagent for the oxidation of hantzsch 1,4-dihydropyridines. *Synth. Comm.* **2001**, *31*, 2625-2630.
269. Puchala, A.; Belaj, F.; Kappe, C. O.; Bergman, J. On the reaction of 3,4-dihydropyrimidinones with nitric acid. Preparation and x-ray structure analysis of a stable nitrolic acid. *J. Het. Chem.* **2001**, *38*, 1345-1352.
270. Yamamoto, K.; Chen, Y. G.; Buono, F. G. Oxidative Dehydrogenation of Dihydropyrimidinones and Dihydropyrimidines. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4673-4676.
271. Shanmugam, P.; Perumal, P. T. Regioselective dehydrogenation of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones mediated by ceric ammonium nitrate. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 9726-9734.
272. Shanmugam, P.; Perumal, P. T. An unusual oxidation-dealkylation of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones mediated by $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O/K_2S_2O_8$ in aqueous acetonitrile. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 666-672.
273. Memarian, H.; Farhadi, A. Light-induced dehydrogenation of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones. *Monatshefte für Chemie* **2009**, *140*, 1217-1220.

274. Pieck, J. C.; Kuch, D.; Grolle, F.; Linne, U.; Haas, C.; Carell, T. PNA-Based Reagents for the Direct and Site-Specific Synthesis of Thymine Dimer Lesions in Genomic DNA. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1404-1405.
275. Bridger, G. J.; Skerlj, R. T.; Hernandez-Abad, P. E.; Bogucki, D. E.; Wang, Z.; Zhou, Y.; Nan, S.; Boehringer, E. M.; Wilson, T.; Crawford, J.; Metz, M.; Hatse, S.; Princen, K.; De Clercq, E.; Schols, D. Synthesis and Structure–Activity Relationships of Azamacrocyclic C-X-C Chemokine Receptor 4 Antagonists: Analogues Containing a Single Azamacrocyclic Ring are Potent Inhibitors of T-Cell Tropic (X4) HIV-1 Replication. *J. Med. Chem.* **2009**, *53*, 1250-1260.
276. Matloobi, M.; Kappe, C. O. Microwave-Assisted Solution- and Solid-Phase Synthesis of 2-Amino-4-arylpyrimidine Derivatives. *J. Comb. Chem.* **2007**, *9*, 275-284.
277. (a) Jin, M.-Z.; Yang, L.; Wu, L.-M.; Liu, Y.-C.; Liu, Z.-L. Novel photoinduced aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines. *Chem. Comm.* **1998**, 2451-2452. (b) Zhu, X.-Q.; Zhao, B.-J.; Cheng, J.-P. Mechanisms of the Oxidations of NAD(P)H Model Hantzsch 1,4-Dihydropyridines by Nitric Oxide and Its Donor N-Methyl-N-nitrosotoluene-p-sulfonamide. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8158-8163. (c) Anniyappan, M.; Muralidharan, D.; Perumal, P. T. A novel application of the oxidizing properties of urea nitrate and peroxydisulfate-cobalt(II): aromatization of NAD(P)H model Hantzsch 1,4-dihydropyridines. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5069-5073. (d) Han, B.; Liu, Q.; Liu, Z.; Mu, R.; Zhang, W.; Liu, Z.-L.; Yu, W. A Metal-Free Catalytic Aerobic Aromatization of Hantzsch 1,4-Dihydro-pyridines by N-Hydroxyphthalimide. *Synlett* **2005**, 2333-2334.
278. (a) Nair, V.; Uchil, V.; Neamati, N. β -Diketo acids with purine nucleobase scaffolds: Novel, selective inhibitors of the strand transfer step of HIV integrase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1920-1923. (b) Jiang, J.-A.; Huang, W.-B.; Zhai, J.-J.; Liu, H.-W.; Cai, Q.; Xu, L.-X.; Wang, W.; Ji, Y.-F. 'One-pot' synthesis of 4-substituted 1,5-diaryl-1H-pyrazole-3-carboxylates via lithium tert-butoxide-mediated sterically hindered Claisen condensation and Knorr reaction. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 627-635.
279. Zhao, X. Z.; Semenova, E. A.; Liao, C.; Nicklaus, M.; Pommier, Y.; Burke Jr, T. R. Biotinylated biphenyl ketone-containing 2,4-dioxobutanoic acids designed as HIV-1 integrase photoaffinity ligands. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 7816-7825. (b) Hwang, S. H.; Wagner, K. M.; Morisseau, C.; Liu, J.-Y.; Dong, H.; Weckler, A. T.; Hammock, B. D. Synthesis and Structure–Activity Relationship Studies of Urea-Containing Pyrazoles as Dual Inhibitors of Cyclooxygenase-2 and Soluble Epoxide Hydrolase. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 3037-3050.
280. Hare, S.; Vos, A. M.; Clayton, R. F.; Thuring, J. W.; Cummings, M. D.; Cherepanov, P. Molecular mechanisms of retroviral integrase inhibition and the evolution of viral resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, 1-6.
281. Barreca, M. L.; Iraci, N.; De Luca, L.; Chimirri, A. Induced-Fit Docking Approach Provides Insight into the Binding Mode and Mechanism of Action of HIV-1 Integrase Inhibitors. *ChemMedChem* **2009**, *4*, 1446-1456.
282. Seo, B. I.; Uchil, V. R.; Okello, M.; Mishra, S.; Ma, X.-H.; Nishonov, M.; Shu, Q.; Chi, G.; Nair, V. Discovery of a Potent HIV Integrase Inhibitor That Leads to a Prodrug with Significant anti-HIV Activity. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 877-881.

ARTICLES ET COMMUNICATIONS DE L'AUTEUR

Publications :

Sari, O.; Hamada, M.; Roy, V.; Nolan, S. P.; Agrofoglio, L. A., The Preparation of Trisubstituted Alkenyl Nucleoside Phosphonates under Ultrasound-Assisted Olefin Cross-Metathesis. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4390-4393.

Pradère, U.; Roy, V.; Montagu, A.; Sari, O.; Hamada, M.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Agrofoglio, L. A., Synthesis and antiviral evaluation of bis(POM) prodrugs of (E)-[4'-phosphono-but-2'-en-1'-yl]purine nucleosides. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *57*, 126-133.

Sari, O.; Roy, V.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Agrofoglio, L. A., Synthesis and antiviral evaluation of C⁵-substituted-(1,3-diyne)-2'-deoxyuridines. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *53*, 220-228.

Chapitre d'ouvrage :

Sari, O.; Roy, V.; Agrofoglio, L. A. Nucleosides Modified at the Base Moiety (Chapter 2). "Chemical Synthesis of Nucleoside Analogues", Pedro Merino (Wiley, ISBN: 978-1-1180-0751-8) \ March **2013**. p 49-102.

Communications :

- Orales :

Ozkan Sari, Manabu Hamada, Vincent Roy, Luigi A. Agrofoglio. Efficient chemoenzymatic synthesis of new acyclic nucleoside phosphonates as potential antiviral agents. 245th ACS National Meeting, New Orleans, LA, USA, **2013**.

Ozkan Sari, Vincent Roy, Luigi A. Agrofoglio. Synthesis of dihydropyrimidines bearing a β -diketoacid moiety targeting HIV integrase inhibition. SyCOCAL VIII, Orléans, France, **2012**.

- Posters

Ozkan Sari, Manabu Hamada, Steven P. Nolan, Vincent Roy, Luigi A. Agrofoglio. Synthesis of new ANPs through an efficient chemo-enzymatic and ultrasonic-assisted route. 2nd International symposium on green chemistry, renewable carbon and eco-efficient processes, La Rochelle, France, **2013**.

Ozkan Sari, Mathieu Metifiot, Christophe Marchand, Vincent Roy, Yves Pommier, Luigi A. Agrofoglio. Synthesis of β -diketoacid dihydropyrimidine derivatives targeting HIV integrase. 245th ACS National Meeting, New Orleans, LA, USA, **2013**.

Luigi A Agrofoglio, Zhili Zhang, Ozkan Sari, Vincent Roy. Synthesis of FlavinMonoNucleotide analogues targeting non-covalent interactions with PEBP/RKIP protein. 243th ACS National Meeting, San Diego, CA, USA, **2012**.

Luigi A. Agrofoglio, Ugo Pradère, Vincent Roy, Manabu Hamada, Ozkan Sari. Convergent synthesis of phosphonate analogues bearing a biolabile moiety. 243th ACS National Meeting, San Diego, CA, USA, **2012**.

Manabu Hamada, Ozkan Sari, Ugo Pradère, Aurélien Montagu, Vincent Roy, Luigi A. Agrofoglio. Expeditious and convergent synthesis of new unsaturated acyclonucleoside phosphonate analogues bearing a biolabile moiety. 14th Tetrahedron Symposium, Amsterdam, Netherland, **2012**.

Vincent Roy, Ugo Pradère, Aurélien Montagu, Manabu Hamada, Ozkan Sari, Steven P. Nolan, Luigi A. Agrofoglio. An expeditious and efficient synthesis of new unsaturated acyclonucleoside phosphonate prodrugs through olefin cross metathesis. 17th European Symposium on Organic Chemistry, ESOC17, Crete, Greece, **2011**.

Ozkan Sari, Vincent Roy, Luigi A. Agrofoglio. Synthesis of C⁵-substituted-(1,3-diyne)-2'-deoxyuridines by nickel-mediated alkyne C-H heterocoupling reaction. XXII French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry, Rouen, France, **2011**.

Aurélien Montagu, Ozkan Sari, Vincent Roy, Luigi A. Agrofoglio. Synthesis of C⁵-substituted nucleosides through nickel-catalyzed cross coupling reactions or regioselective [3+2] cycloadditions. Symposium on nucleic acid chemistry, Nova Gorika, Slovenia, **2010**.

The Preparation of Trisubstituted Alkenyl Nucleoside Phosphonates under Ultrasound-Assisted Olefin Cross-Metathesis

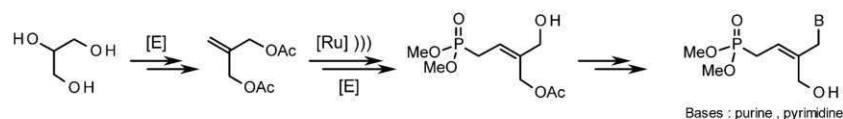
Ozkan Sari,[†] Manabu Hamada,[†] Vincent Roy,[†] Steven P. Nolan,[‡] and Luigi A. Agrofoglio^{*,†}

Université d'Orléans, CNRS, I.C.O.A., UMR 7311, Orléans, France, and EaStCHEM School of Chemistry, University of St. Andrews, St. Andrews, KY16 9ST, U.K.

luigi.agrofoglio@univ-orleans.fr

Received July 9, 2013

ABSTRACT



Intermolecular ultrasound-assisted olefin cross-metathesis is reported. This approach allows an easy access to challenging trisubstituted alkenyl nucleoside phosphonates. Regioselective chemoenzymatic deacetylation and Mitsunobu coupling are also described.

Acyclic nucleoside phosphonates (ANPs), pioneered by Holý and De Clercq, represent an important class of antivirals.¹ Among these, (*S*)-1-(3-hydroxy-2-phosphonomethoxypropyl)cytosine (HPMPC, Cidofovir), 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine (PMEA, Adefovir), and (*R*)-9-(2-phosphonomethoxypropyl)-adenine (PMPA, Tenofovir) are approved for the treatment of human cytomegalovirus, hepatitis B, and HIV infections, respectively. As a result, the synthesis and biological evaluation of a large panel of ANPs, including derivatives with unsaturated side chains,² have been systematically investigated.³

Recently, we have reported a new family of ANP-bearing (*E*)-4-phosphono-but-2'-en-1'-yl side chain⁴ in which the oxygen heteroatom has been replaced by a *trans*

double bond. We have shown that this modification allows mimicry of the three-dimensional geometry provided by the backbone of ANP.⁵ Herein we report on the extension of this methodology to trisubstituted alkenyl acyclic nucleoside derivatives (Figure 1).

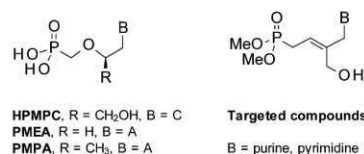


Figure 1. Structure of some ANPs and targeted compounds.

The preparation of stereodefined trisubstituted alkenes is exceedingly important in view of the biological activity of these molecules. Numerous synthetic approaches have been devised to access such architectural motifs, generally through a Wittig olefination⁶ or from boration,⁷

(5) Topalis, D.; Pradere, U.; Roy, V.; Caillat, C.; Azzouzi, A.; Broggi, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Lin, J.; Eriksson, S.; Alexandre, J. A. C.; El-Amri, C.; Deville-Bonne, D.; Meyer, P.; Balzarini, J.; Agrofoglio, L. A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 222.

[†] Université d'Orléans.

[‡] University of St. Andrews.

(1) (a) De Clercq, E.; Holý, A. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 928. (b) De Clercq, E. *Antiviral Res.* **2007**, *75*, 1.

(2) (a) Choo, H.; Beadle, J. R.; Kern, E. R.; Prichard, M. N.; Keith, K. A.; Hartline, C. B.; Trahan, J.; Aldern, K. A.; Korba, B. E.; Hostetler, K. Y. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 2611. (b) Harden, M. R.; Parkin, A.; Parratt, M. J.; Perkins, R. M. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1343.

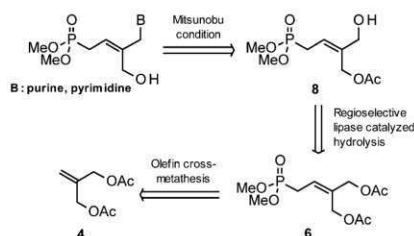
(3) Krečmerová, M. In *Herpesviridae – A look into this unique family of Viruses*; Magel, G. D., Ed.; InTech: Rijeka, 2012; pp 245–270.

(4) Kumamoto, H.; Topalis, D.; Broggi, J.; Pradere, U.; Roy, V.; Berteina-Raboin, S.; Nolan, S. P.; Deville-bonne, D.; Andrei, G.; Snoeck, R.; Garin, D.; Crance, J.-M.; Agrofoglio, L. A. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3517.

bromoboration,⁸ iodination⁹ of alkynes or haloalkynes, and olefin cross-metathesis (CM).¹⁰ However, the formation of a trisubstituted hindered alkene system through simple CM exhibits low yields possibly due to steric congestion, the olefin, or catalyst's poor reactivity requiring a moderately high catalyst loading and elevated reaction temperatures. To address some of these issues, we now report on the effect of ultrasound-assisted olefin CM for the preparation of challenging trisubstituted alkenyl nucleoside phosphonates.

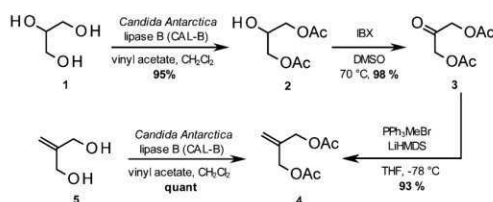
Our retrosynthetic approach is depicted in Scheme 1. The target compounds could be obtained from the (*Z*)-monoacetyl derivative **8** under Mitsunobu conditions with either a purine or pyrimidine moiety. Compound **8** could be prepared by regioselective lipase-catalyzed hydrolysis of diacetyl derivative **6** obtained through a cross-metathesis reaction between olefin **4** and dimethyl allylphosphonate.

Scheme 1. Retrosynthetic Scheme to New ANPs Derivatives



Compound **4** was prepared by a new chemoenzymatic route starting from glycerol **1** or 2-methylene-1,3-propanediol **5**, which represents an attractive alternative to previously reported approaches¹¹ (Scheme 2). The regioselective lipase-catalyzed acetylation of inexpensive glycerol **1** gave the diacetate **2** in 95% isolated yield.¹²

Scheme 2. Synthesis of Olefin **4**



(6) (a) Burke, S. D.; Hong, J.; Lennox, J. R.; Mongin, A. P. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6952. (b) Breit, B.; Zhan, S. K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 969.

(7) Brown, H. C.; Bhat, N. G. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 6009.

(8) (a) Wang, C.; Tobrman, T.; Xu, Z.; Negishi, E.-I. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4092. (b) Negishi, E.-I.; Tobrman, T.; Rao, H.; Xu, S.; Lee, C.-T. *Isr. J. Chem.* **2010**, *50*, 696.

(9) Chen, Z.; Jiang, H.; Li, Y.; Qi, C. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 8049.

(10) Chatterjee, A. K.; Sanders, D. P.; Grubbs, R. H. *Org. Lett.* **2002**, *11*, 1939.

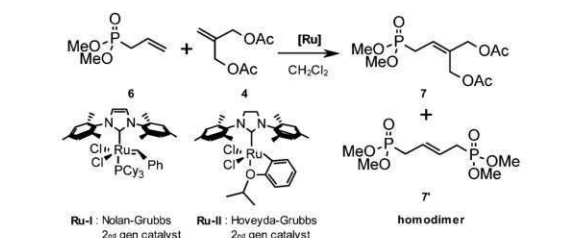
(11) Shintani, R.; Moriya, K.; Hayashi, T. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 3057.

(12) Magnusson, C. D.; Haraldsson, G. G. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 2728.

Compound **2** was then subjected to an oxidation reaction under several conditions, in the presence of 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl (TEMPO),¹³ 2-azaadamantane-*N*-oxyl (AZADO),¹⁴ and 2-iodoxybenzoic acid (IBX).¹⁵ The use of IBX offered the best result, affording ketone **3** in almost quantitative yield. Olefin **4** was synthesized from ketone **3** with PPh_3MeBr under Wittig conditions in an excellent 93% yield.

Based on the general model for selectivity in olefin cross-metathesis proposed by Grubbs et al.,¹⁶ we investigated the selective CM between dimethyl allylphosphonate (**6**) (Type I) with less reactive 1,1-disubstituted olefin **4** (Type III). Considering that type III olefins are unable to homodimerize, we decided to carry out this reaction with a stoichiometric excess (2 equiv) of 1,1-disubstituted olefin **4**, as the use of a larger excess does not improve the conversion.

Table 1. Optimized Conditions for RCM^a



entry	catalyst (mol %)	solvent	time (h)	7 (%) ^e
1 ^b	1 × 5%-[Ru]-I	CH ₂ Cl ₂	24	9
2 ^b	1 × 5%-[Ru]-II	CH ₂ Cl ₂	24	16
3 ^b	3 × 5%-[Ru]-I	CH ₂ Cl ₂	24	23
4 ^b	3 × 5%-[Ru]-I	DCE	24	32
5 ^c	1 × 10%-[Ru]-I	CH ₂ Cl ₂	4	38
6 ^c	1 × 10%-[Ru]-II	CH ₂ Cl ₂	4	70
7 ^d	3 × 5%-[Ru]-I	CH ₂ Cl ₂	20	92
8 ^d	3 × 3%-[Ru]-I	CH ₂ Cl ₂	20	90
9 ^d	3 × 2%-[Ru]-I	CH ₂ Cl ₂	20	86
10 ^d	3 × 2%-[Ru]-II	CH ₂ Cl ₂	20	93(89) ^f
11 ^d	1 × 5%-[Ru]-I	CH ₂ Cl ₂	20	49
12 ^d	3 × 1%-[Ru]-I	CH ₂ Cl ₂	20	76

^a All reactions were performed with 1.0 equiv of dimethyl allylphosphonate and 2.0 equiv of olefin **4** in solvent (0.1 M). ^b Reactions performed under classical thermal conditions at 40 °C. ^c Reactions performed under microwave irradiation at 100 °C. ^d Reactions performed under ultrasound at 55 °C. ^e Conversion determined by ¹H NMR. ^f Isolated yield.

The reaction was performed at 40 °C in degassed CH₂Cl₂ under classical heating in the presence of 5 mol % of "second generation" catalysts [Ru]-I¹⁷ (Nolan–Grubbs)

(13) De Nooy, A. E.; Besemer, A. C.; Van Bekkum, H. *Synthesis* **1996**, 1153.

(14) Shibuya, M.; Tomizawa, M.; Suzuki, I.; Iwabuchi, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8412.

(15) Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S.; Palmisano, G. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7272.

(16) Chatterjee, A. K.; Choi, T. L.; Sanders, D. P.; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11360.

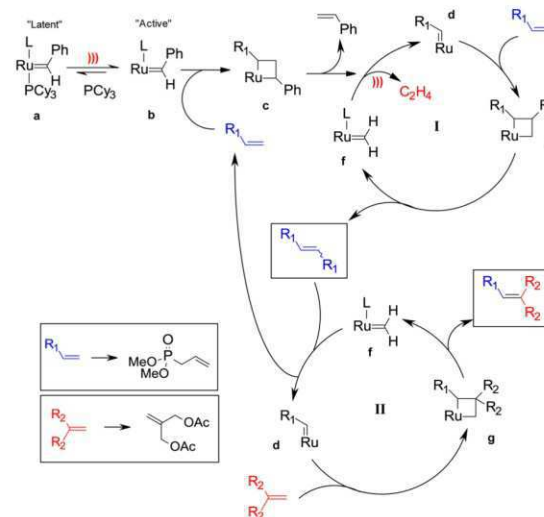
(17) Huang, J.; Stevens, E. D.; Petersen, J. L.; Nolan, S. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2674.

and [Ru]-II¹⁸ (Hoveyda–Grubbs) (Table 1, entries 1 and 2). The reaction was monitored by TLC and ¹H NMR and showed the rapid formation and accumulation of homodimer 7' which does not undergo a secondary metathesis reaction with Type III olefin 4 to give the expected cross-coupling product. After 24 h, both catalysts showed their limitations for CM with only 4% of conversion and a high amount of homodimer 7' detected by ¹H NMR and TLC. Unfortunately, no improvement was observed when using a catalyst loading as high as 15 mol % (added in three equal portions, entries 3 and 4).

We then turned our attention to microwave irradiation¹⁹ (entries 5 and 6), which has resulted in many cases in a short reaction time, a low loading of catalyst, and a higher yield compared with classical thermal conditions.²⁰ In our hands, CM under microwave irradiation at 100 °C in DCE with 10 mol % [Ru]-II gave 70% (entry 6) conversion after 4 h while [Ru]-I gave a modest 38% yield (entry 5). Noteworthy, under these conditions, larger amounts of impurities were formed, probably due to the more significant thermal decomposition of the ruthenium complex that leads to tedious purification.

Ultrasound applications have been recently reported for latent [Ru] metathesis catalyst activation containing N-heterocyclic carbene ligands (NHC) in ROMP.²¹ Thus, we investigated the effects of ultrasound irradiation in CM and we found that its use had a positive influence on the conversion. In fact, sonication at 55 °C of the reaction mixture with 15 mol % [Ru]-I (added in three equal portions) permitted reaching a 92% conversion (entry 7). The catalyst loading was then gradually decreased from 15 mol % [Ru]-I to 3 mol % [Ru]-I to determine the optimal loading. Surprisingly, no significant decrease was observed in the conversion until 6 mol % [Ru]-I with 86% (entry 9). When the more reactive catalyst [Ru]-II was used at this loading, a 93% conversion was obtained (entry 10). Even under ultrasonication, the sequential catalyst addition was critical. In fact, when the reaction was carried out following one addition of 5 mol % [Ru]-I, only 49% of product was detected (entry 11). Finally, it should be noted that the conversion was stopped if sonication was suspended. We therefore hypothesized the following (Scheme 3): (1) The mechanical force brought by ultrasonication could potentially enhance the ligand dissociation of the latent precatalyst (a) to generate the active species (b); (2) the “degassing effect” of ultrasounds permits efficient expulsion of the ethylene gas generated during the reaction avoiding the regeneration of the terminal olefin (cycle I). In many cases, removal of ethylene was found to be essential for achieving high conversions;²² (3) the sonication permits the less reactive homodimer to react

Scheme 3. Proposed Catalytic System for Ultrasound Olefin CM^a



^a Ligand dissociation (from a to b); formation of homodimer (cycle I); formation of desired heterodimer (cycle II).

toward the formation of the desired product (cycle II). Thus, the use of ultrasonication offers a very effective protocol leading to trisubstituted olefins *via* CM using either [Ru]-I and [Ru]-II catalysts.

Diacetate 6 was then subjected to the lipase catalyzed hydrolysis of the targeted *trans* acetyl group (Table 2).

Table 2. Lipase-Catalyzed Hydrolysis of Diacetate 7^a

entry	lipase ^b	time (h)	8 (%) ^c	9 (%) ^c	10 (%) ^c
1 ^c	PPL	24	21	41	traces
2 ^c	Amano PS	48	32	33	traces
3 ^c	CAL-B	16	83	0	11

^a Reactions were performed with diacetate 7 in 0.1 M phosphate buffer pH 7.0 and appropriate lipase (100% w/w). ^b Porcine Pancreas lipase (PPL), *Burkholderia cepacia* lipase (Amano PS), *Candida antarctica* lipase B (CAL-B). ^c Isolated yield.

Takabe,²³ Imai,²⁴ and Deska²⁵ have already reported several examples of desymmetrization of prochiral diols

(18) Garber, S. B.; Kingsbury, J. S.; Gray, B. L.; Hoveyda, A. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8168.

(19) Fuwa, H.; Noto, K.; Sasaki, M. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1636.

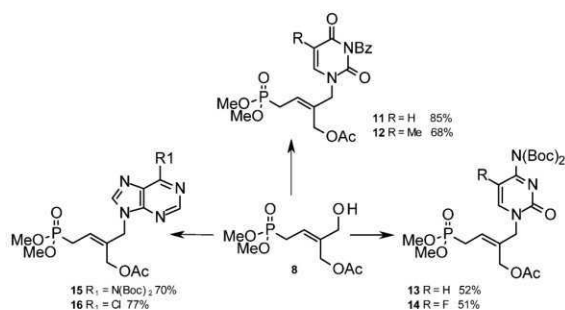
(20) Coquerel, Y.; Rodriguez, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *7*, 1125.

(21) (a) Jakobs, R. T. M.; Sijbesma, R. P. *Organometallics* **2012**, *31*, 2476. (b) Piermattell, A.; Karthikeyan, S.; Sijbesma, R. P. *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 133–137.

(22) Pietraszuk, C.; Marciniec, B.; Fischer, H. *Organometallics* **2000**, *19*, 913–917.

(23) Hisano, T.; Onodera, K.; Toyabe, Y.; Mase, N.; Yoda, H.; Takabe, K. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 6293.

(24) Miura, T.; Umetsu, S.; Kanamori, D.; Tsuyama, N.; Jyo, Y.; Kawashima, Y.; Koyata, N.; Murakami, Y.; Imai, N. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 9305.

Scheme 4. Mitsunobu Conditions^a

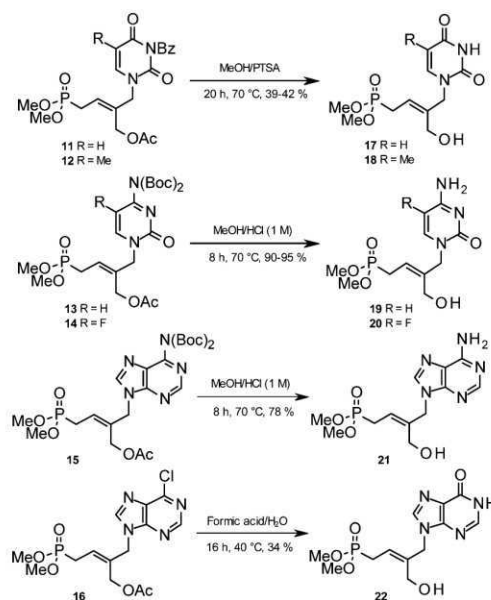
^a Reactions were performed using nucleobase, monoacetate **8** (1.5 equiv), PPh_3 (1.5 equiv), DIAD (1.5 equiv) in THF (0.05 M) at 70 °C during 20 h under N_2 .

using porcine pancreas lipase (PPL) with excellent selectivity. Unfortunately, in our case, poor selectivity and slow conversion were observed using either PPL or *Burkholderiacepacia* lipase (Amano Lipase PS, Sigma-Aldrich). In fact, PPL gave a mixture of isomers **8** (major) and **9** (minor) (Table 2, entry 1). Using Amano PS gave the desired regioisomer **8** in approximately equal proportion with *E*-isomer **9** (entry 2). Dideprotected byproduct **10** was detected only as traces using both PPL and Amano PS. However, when *Candida antarctica* lipase B (CAL-B) was used, the hydrolysis took place rapidly with excellent selectivity toward the *trans* acetyl group giving monoacetate **8** in 83% yield in only 16 h (entry 3) and no trace of *E*-isomer was detected. In addition, the high reactivity of this lipase led also to 11% of diol **10**. The structures of both isomer **8** and **9** were clearly determined by NOESY experiments.

Compound **8** was then reacted under Mitsunobu conditions with several previously *N*(Bz) or *N*(Boc) protected pyrimidine and purine bases in the presence of PPh_3 and DIAD in THF at 70 °C to afford the coupling product **11–16** with satisfactory yields (Scheme 4).²⁶ The *N*⁹-alkylation for purine derivatives **15** and **16** has been confirmed by HMBC experiments.

The reaction of **11** or **12** with NH_3/MeOH or $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{MeOH}$ did not provide the expected acyl deprotection but a diene derivative resulting from the 1,4-elimination of the α -phosphorus acidic proton and Ac group. We thus turned our attention to enzymatic hydrolysis. However, neither CAL-B nor PPL gave satisfactory results at neutral pH. Finally, compounds **11** and **12** were deprotected using *para*-toluene sulfonic acid (*p*TSA) in refluxing MeOH to afford **17** and **18**, respectively. Although the allylic acetate is rapidly cleaved, the modest yield is due to the stability of

Scheme 5. Deprotection under Acidic Conditions



the benzoyl group under acidic conditions (Scheme 5). *N*(Boc)-protected derivatives were more easily deprotected using methanolic 1 M HCl affording **19–21** in good yields. The 6-chloropurine derivative **16** was converted to hypoxanthine **22** using aqueous formic acid. Methylphosphonates were then converted to phosphonic acids by treatment with bromotrimethylsilane in the presence of 2,6-lutidine to avoid bromination of the free methylhydroxy group (not described).²⁷

In conclusion, this is the first preparation of trisubstituted alkenyl nucleoside phosphonates using an ultrasound-assisted olefin cross-metathesis, regioselective chemoenzymatic deacetylation, and Mitsunobu coupling sequence. The antiviral evaluation of the phosphonic acid form of these new ANPs will be reported in due course.

Acknowledgment. O.S. is grateful to the French Ministère de l'Enseignement Supérieur MNERST for a Ph.D. scholarship. S.P.N. thanks the ERC (Advanced Investigator award-FUNCAT) for support. S.P.N. is a Royal Society Wolfson Research Merit Award holder.

Supporting Information Available. Experimental procedures, supplementary data, compound characterization, and NMR charts. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

(25) Sapu, C. M.; Bäckvall, J.-E.; Deska, J. *Angew. Chem., Int Ed.* **2011**, *50*, 9731.

(26) Pradère, U.; Roy, V.; Montagu, A.; Sari, O.; Hamada, M.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Agrofoglio, L. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *57*, 126.

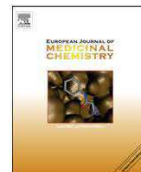
(27) Hocková, D.; Holý, A.; Masojdová, M.; Keough, D. T.; Jersey, J. D.; Guddat, L. W. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6218.

The authors declare no competing financial interest.



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

European Journal of Medicinal Chemistry

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ejmech>

Original article

Synthesis and antiviral evaluation of C5-substituted-(1,3-diyne)-2'-deoxyuridines

Ozkan Sari^a, Vincent Roy^a, Jan Balzarini^b, Robert Snoeck^b, Graciela Andrei^b, Luigi A. Agrofoglio^{a,*}^a Institut de Chimie Organique et Analytique, UMR 7311 CNRS, Université d'Orléans, UFR Science-rue de chartres, 45067 Orléans, France^b Rega Institute for Medical Research, KU Leuven, 3000 Leuven, Belgium

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 December 2011

Received in revised form

19 March 2012

Accepted 3 April 2012

Available online 21 April 2012

Keywords:

Diyne scaffold

Nucleoside

Nickel-copper catalyzed C–H activation

Anti-VZV activity

ABSTRACT

Starting from acetylated 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (**3**), 14 hitherto unknown C5-substituted-(1,3-diyne)-2'-deoxyuridines (with cyclopropyl, hydroxymethyl, methylcyclopentane, *p*-(substituted)phenyl and disubstituted-phenyl substituents) have been synthesized via a nickel-copper catalyzed C–H activation between two terminal alkynes, in yields ranging from 19% to 67%. Their antiviral activities were measured against a large number of DNA and RNA viruses including herpes simplex virus type 1 and type 2, varicella-zoster virus, human cytomegalovirus and vaccinia virus. The 5-[4-(4-trifluoromethoxyphenyl)buta-1,3-dienyl]-2'-deoxyuridine (**26**) is the most potent inhibitor of this series against VZV with an EC₅₀ of ~1 μM and a CC₅₀ of 55 μM. Their cytostatic activities were determined against murine leukemia cells, human T-lymphocyte cells and cervix carcinoma cells. Compounds were also evaluated on a wide panel of RNA viruses, including influenza virus A (H1N1 and H3N2) and B in MDCK cell cultures, parainfluenza-3 virus, reovirus-1, Sindbis virus and Punta Toro virus in Vero cell cultures and vesicular stomatitis, coxsackie B4 and respiratory syncytial virus in HeLa cell cultures and against human immunodeficiency virus type 1 and 2 in CEM cell cultures, with no specific antiviral effect. This class of compounds could be of further interest for lead optimization as anti-infectious (i.e. herpetic) agents.

© 2012 Published by Elsevier Masson SAS.

1. Introduction

C5-substituted pyrimidine nucleosides, especially those in the 2'-deoxyuridine series, form a class of unique compounds because of the important role they play as components of nucleotide-derived tools for molecular genetics [1] but also as antiviral and anticancer agents [2]. For example (Fig. 1), several groups have focused on the introduction of a fluorescent probe at C5 of 2'-deoxyuridine [3,4] meanwhile others have developed C5-substituents that influence duplex annealing [5,6]; finally, a great deal of effort has been expended to develop C5-substituted analogues that can be incorporated into DNA by DNA polymerases; for instance, the 5-(2-substituted vinyl)-2'-deoxyuridines (e.g., BVDU, Brivudin®) have emerged as potent and selective inhibitors of herpes viruses (in

particular HSV-1 and VZV) [7]. Bicyclic furano pyrimidine nucleosides, pioneered by McGuigan et al. [8] have been found to be highly potent and selective inhibitors of varicella-zoster virus (VZV) especially with the presence of a long alkyl or aryl chain at the 6-position of the furano ring. Those compounds exhibited high lipophilicity values with a better membrane permeation. Sawai et al. [9] have described 2'-deoxyuridines containing C5-substituents linked through a C5-carbonylmethylene, C5-alkynyl or C5-alkenyl groups. More recently, Rai et al. [10] reported novel C5-alkynylpyrimidine nucleosides as potent inhibitors of mycobacteria, whereas similar analogues were found to be potent inhibitors of human breast cancer cell proliferation [11]. It appears from those data that the C5 position of the pyrimidine nucleosides can accept even large groups without interfering with DNA duplex formation or incorporation into DNA, even if there is no well-defined ideal combination of the substituent on the nucleoside and the enzyme. On a chemical point of view, most approaches to C5-substituted pyrimidine nucleosides are based on variations of the organo-palladium-mediated Heck, Sonogashira, Stille or Suzuki reactions between the 5-halopyrimidine moiety to alkenyl, alkynyl, carbonyl and aryl moieties [12].

As mentioned above, whereas C5-alkynylpyrimidine nucleosides are known compounds, less efforts have been done for the development of C5-substituted-1,3-dienyl-2'-deoxyuridines. However, 1,4-disubstituted 1,3-butadiynes are found in biological molecules

Abbreviations: VZV-zoster virus, varicella; VV, vaccinia virus; HSV, herpes simplex virus; VSV, vesicular stomatitis virus; DNA, deoxyribonucleic acid; RNA, ribonucleic acid; EC₅₀, compound concentration affording 50% inhibition of the viral cytopathicity; CC₅₀, compound concentration affording 50% inhibition of cytotoxicity; MDCK, Madin-Darby canine kidney; MW, microwave; TMEDA, tetramethylethylenediamine; DMF, dimethylformamide; TBAF, tetrabutylammonium fluoride; THF, tetrahydrofuran; DMSO, dimethylsulfoxide; EDG, electron donating group; EWG, electron withdrawing group.

* Corresponding author. Tel.: +33 2 3849 4582.

E-mail address: luigi.agrofoglio@univ-orleans.fr (L.A. Agrofoglio).

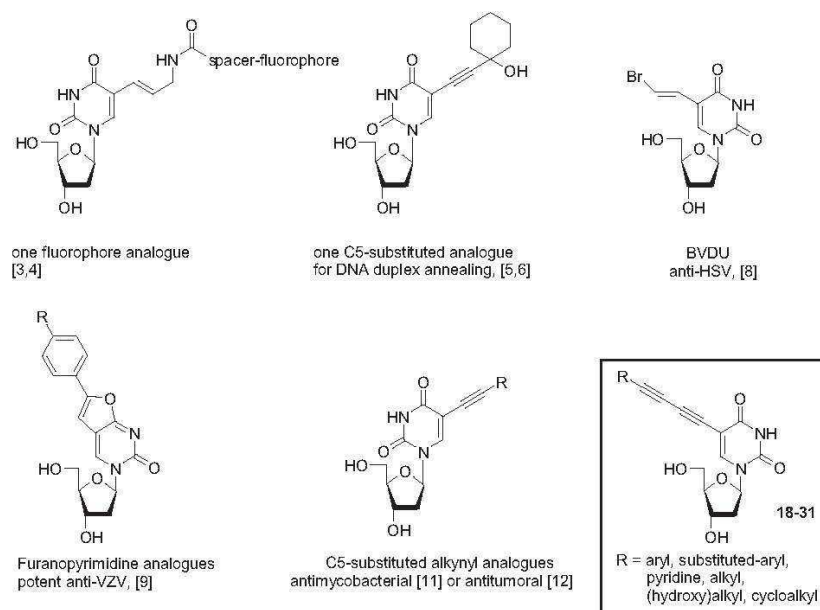


Fig. 1. Some C5-substituted pyrimidine nucleosides and target compounds (18–31).

and serve as intermediates in the synthesis of heterocycles of pharmaceutical interest [13]. To the best of our knowledge only, two teams, Minakawa et al. [14] and Brown et al. [15] have reported C5-substituted 1,3-diyne nucleoside derivatives such as the C5-(4-anthracenylbuta-1,3-diynyl)-2'-deoxyuridine, but these nucleosides were obviously meant to be incorporated into oligonucleotides for their fluorescence properties and none of the C5-(1,3-diyne) nucleosides have been evaluated for their antiviral properties. Taken together, all the mentioned studies [3–11] indicate generally the requirement of a nonpolar moiety at C5 position of a pyrimidine ring or at C6 of a furano moiety. To probe this requirement in these new C5-substituted-1,3-diynyl-2'-deoxyuridines (18–31), we chose to incorporate at C5 a series of substituted (alkyl, amino, nitro, ...) phenyl groups and we report herein on the synthesis and characterization of these novel analogues targeting virus replication for inhibitory activity.

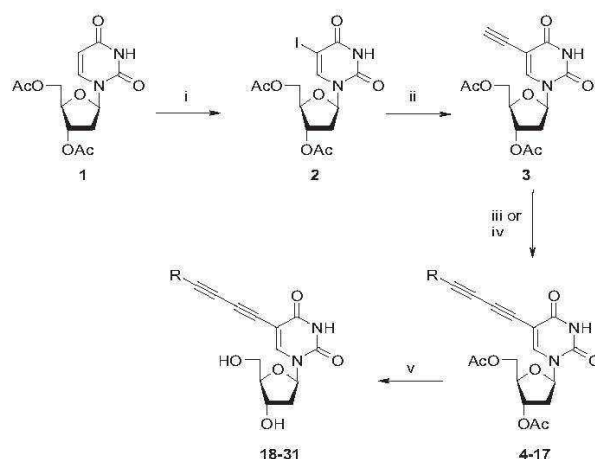
2. Results and discussion

2.1. Chemistry

Glaser [16] has pioneered the synthesis of 1,3-diynes through a Cu(I)-catalyzed oxidative homocoupling of terminal alkynes; since then, several systems have been developed such as the Hay coupling [17] based on Cu(I)-TMEDA, the Eglinton reaction [18] which uses a stoichiometric amount of Cu(II)-salt, or recently the Sonogashira–Glaser homocoupling sequence reported by Merkul et al. [19]. Other catalytic systems rely on combined Pd(0) or Pd(II) with Cu(I) [20,21]. Nevertheless, those reactions are often limited to the formation of symmetrical diynes. This limitation can be overcome by the widely used Cadiot–Chodkiewicz [22] reaction which is actually the Cu-catalyzed coupling of a haloalkyne and a terminal alkyne. Thus, based on the development of various catalytic systems, we elaborated the synthesis of a small library of C5-substituted-1,3-diynyl-2'-deoxyuridine by metal catalyzed alkyne C–H activation on the C5-ethynyl intermediate **1** with various alkynes (Scheme 1).

Thus, the 3',5'-diacetylated-2'-deoxyuridine (**1**) was first converted to the key intermediate C5-ethynyl analogue (**3**) following a pathway already established previously by our team [23]. The iodination of **1** in the presence of ammonium cerium nitrate in acetonitrile afforded **2** in 87% yield. The resulting pure acetylated 5-iodouracil **2** was reacted, under Sonogashira conditions, with trimethylsilylacetylene (TMS) in the presence of Et₃N, CuI and PdCl₂(PPh₃)₂ in anhydrous DMF at room temperature to afford after desilylation the desired 5-ethynyluracil nucleoside **3** in 75% overall yield.

In a first attempt (Method A), we decided to adapt the Pd/C and CuI homocoupling reaction, developed by Sajiki et al. [24], which catalyzed the oxidative dimerization of terminal alkynes and



Scheme 1. Reagents and conditions: i) I₂/CAN, CH₃CN, reflux, 87%; ii) (a) trimethylsilylacetylene, CuI, PdCl₂(PPh₃)₂, DMF, Et₃N; (b) TBAF, CH₃CN, 75% in two steps; iii) Method (A): alkynes, Pd/C (2.5 mol%), CuI (15 mol%), DMF, O₂, rt; iv) Method (B): alkynes, NiCl₂·6H₂O, CuI (5 mol%), TMEDA (20 mol%), O₂, THF, rt; v) MeOH, NH₃, 16 h, 3 °C.

reported as green concept. We tried to adjust and improve the conditions to the cross-coupling reaction of phenylacetylene and C5-ethynyl nucleoside **3** taken as a model; After optimization (Table 1) of the phenylacetylene concentration (entry 2), solvent (entry 3), temperature (entry 4) reaction time (entry 5) and microwave activation (Biotage AB initiator EXP EU) (entry 6) the reaction was carried out in the presence of Pd/C (2.5 mol%) and CuI (15 mol%) in DMF under oxygen atmosphere and at rt (entry 1).

This procedure was successfully applied to other alkynes; however, it failed or was less efficient with cyclo-alkynes and aryls or alkynes bearing an amino or hydroxyl moiety; therefore, we decided to realize the cross-coupling reaction, using the efficient catalytic system for the heterocoupling of two terminal alkynes in the presence of a nickel-copper co-catalyst recently reported by Yin et al. [25]. The optimized conditions involving NiCl₂·6H₂O (5 mol%), CuI (5 mol%) and TMEDA (20 mol%) in THF under oxygen atmosphere have been selected to prepare a library of C5-substituted 1,3-diyne-2'-deoxyuridines. The cross-coupling reaction between the key intermediate **3** with different commercially available EDG- (or EWG-) substituted aromatic and non-aromatic alkynes (Table 2) gave in moderate to good yields (20–58%) fourteen nucleoside analogues (**4–17**). It is noteworthy that under these conditions the reaction occurred readily at room temperature after 16 h gave better results and easier purification reaction mixture than optimized palladium-mediated coupling reaction. As expected, the efficiency of the coupling process depends directly on the alkyne proton acidity. In fact, best yields were observed with EWD-substituted aromatic alkynes (entries 8 and 9, Table 2) meanwhile with *ortho*- (and *para*) EDG-substituted aromatic alkynes (entries 2, 3, 7, Table 2), yields are decreased. Otherwise, low yields were observed in case of aliphatic-substituted alkynes (entries 11 and 13, Table 2) probably due to the poor reactivity of the alkynes, except for the entry 14 which gave surprisingly higher yield.

The deacetylation of **4–17** in methanolic ammonia solution afforded the desired final compounds **18–31**, respectively, which were evaluated for their antiviral activities.

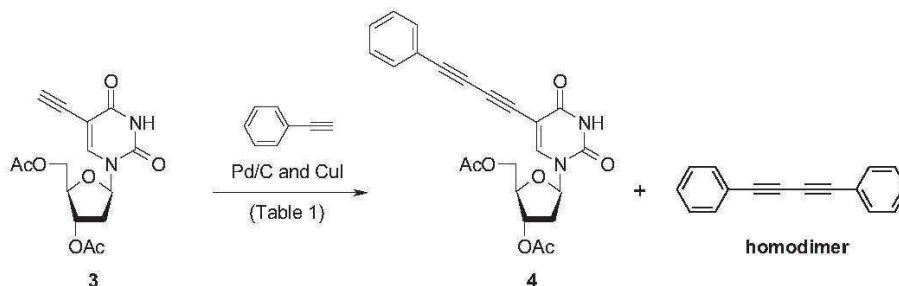
2.2. Antiviral activity

Compounds **18–31** were evaluated against a wide variety of viruses, to determine their antiviral activity, as the effective

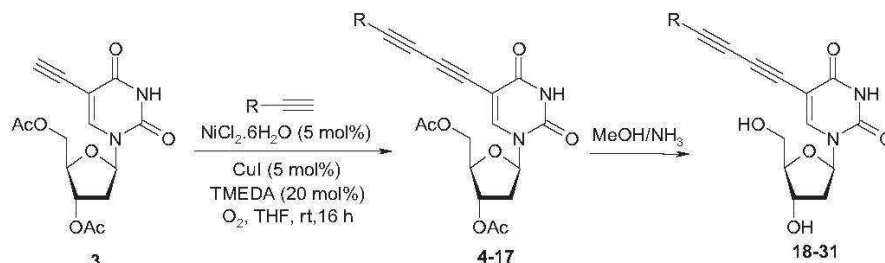
concentration required to reduce virus-induced cytopathicity by 50% (EC₅₀). Data for varicella-zoster virus (VZV TK⁺ and TK⁻), human cytomegalovirus (AD-169 and Davis strains) in HEL cell cultures are summarized in Table 3.

Among synthesized compounds, several of them showed significant antiviral activities against several DNA viruses. Especially, with an EC₅₀ of 2.8–3.7 μM for compound **19**, 0.9–1.08 μM for **26** and 2.1–6.2 μM for **29** against TK-positive (OKA) VZV strains, these compounds were found similar or slightly more active than acyclovir which was chosen as reference. This series of compounds were found less active than brivudin against TK⁺ YS and OKA strains, but compounds **19** and **20** are more efficient than the references against the TK deficient (07/1) VZV strain, with EC₅₀ values of 14 μM and 9.5 μM, respectively. For those data, it seems that two groups differ by their effect, a tentative of SAR could be: (1) For the group of nucleosides bearing aryl skeleton, a hydrophobic tails (alkyl chain **19** (log *P* = 2.36) and **20** (log *P* = 3.70) or –OCF₃ **26** (log *P* = 2.39)) appeared to be important for antiviral activity to compare with the not active aryl (**18**) (log *P* = 0.96), aminophenyl (**23**, **24** (log *P* = 0.13)) or nitro analogue (**25**) (log *P* = 0.9); (2) Unlike the first group, the substitution of the aryl by alkyl group shows that the hydrophilic properties of the nucleoside for possible high H-bonding (**29**) (log *P* = –1.45) is suitable in this system than cycloalkyl substituents (**30** (log *P* = 1.43), **31**). These results suppose that these two groups possess their own molecular interactions in biological systems. The cytotoxic evaluation of the most active compounds showed that they did not affect cell morphology (MCC generally ≥100 μM) and the CC₅₀ values for reduction of cell growth were usually ≥50 μM. However and surprisingly, linear compounds **19** and **20** which were substituted by a *p*-alkylphenyl group did not exhibit good anti-VZV replication in contrast to the nM activities of their bicyclic furano pyrimidine nucleoside derivatives [9]. We also evaluated the antiviral effect of compounds **18–31** against a wide panel of other viral strains including vaccinia virus (VV) and herpes simplex virus-1(KOS) (HSV-1), HSV-1(TK⁻), HSV-2(G) in HEL cell cultures, influenza virus A (H1N1 and H3N2) and B in MDCK cell cultures, parainfluenza-3 virus, reovirus-1, Sindbis virus and Punta Toro virus in Vero cell cultures and Vesicular stomatitis virus (VSV), Coxsackie B4 and respiratory syncytial virus in HeLa cell cultures, and HIV-1(III_B) or HIV-2(ROD) in CEM cell cultures (data not

Table 1
Optimization of the Pd/C and CuI heterocoupling of nucleoside **3** with phenylacetylene.



Entry	Reaction time	Conditions	Yields for (4)
1	3 days	Pd/C, CuI, DMF, O ₂ , rt, phenylacetylene (4 eq.)	48% + (3) + homodimer
2	4 days	Pd/C, CuI, DMF, O ₂ , rt, phenylacetylene (8 eq.)	50% + (3) + homodimer
3	6 days	Pd/C, CuI, DMSO, O ₂ , rt, phenylacetylene (4 eq.)	43% + (3) + homodimer
4	1 h 30	Pd/C, CuI, DMF, O ₂ , 100 °C, phenylacetylene (4 eq.)	42% + (3) + homodimer + degradation
5	5 h	Pd/C, CuI, DMF, O ₂ , 100 °C, phenylacetylene (4 eq.)	Degradation
6	2 h	Pd/C, CuI, DMF, O ₂ , 100 °C, MW, phenylacetylene (4 eq.)	48% + (3) + homodimer

Table 2Results for nickel-catalyzed hetero-coupling reaction of **3** with various alkynes.

Entry	R–	Cross-coupling		Deacetylated compounds
		Product number	Isolated yield (%)	
1	C_6H_5-	4	53	18
2	$p-(C_3H_7)-C_6H_4-$	5	32	19
3	$p-(C_6H_{13})-C_6H_4-$	6	31	20
4	$m-(MeO)_2-C_6H_3-$	7	53	21
5	2-Pyridine–	8	39	22
6	$m-(NH_2)C_6H_4-$	9	45	23
7	$p-(NH_2)C_6H_4-$	10	36	24
8	$p-(NO_2)C_6H_4-$	11	50	25
9	$p-(OCF_3)C_6H_4-$	12	58	26
10	$m-(CH_3)-p-(F)-C_6H_3-$	13	56	27
11	$CH_3-CH(OH)-CH_2-$	14	30	28
12	$HOCH_2-$	15	55	29
13	Cyclopentane– CH_2-	16	20	30
14	Cyclopropyl–	17	54	31

Table 3Antiviral and cytotoxic activity of compounds **18–31** against, varicella-zoster virus (VZV TK⁺ and TK[−]), human cytomegalovirus (AD-169 strain and Davis strain) in HEL cells.

Compound	EC ₅₀ ^a (μM)			EC ₅₀ ^a (μM)		MCC ^b (μM)	CC ₅₀ ^c (μM)
	VZV (YS)	VZV (OKA)	TK VZV (07/1)	CMV (AD-169)	CMV (Davis)		
18	>20	>20	>20	>20	>20	100	100
19	2.77	3.7 ± 1.8	14 ± 0.3	>20	>20	100	52 ± 9.1
20	6.44	8.8 ± 0.1	9.5 ± 0.2	>20	>20	100	35 ± 6.1
21	38.07	39 ± 1.0	>100	>100	>100	>100	>100
22	2.06	5.1 ± 1.5	20	49	>4	>20	1.5 ± 1.0
23	—	>100	>100	>100	>100	>100	>100
24	—	>100	>100	>100	>100	>100	>100
25	—	>20	>20	>20	>20	100	89
26	1.08	0.9 ± 0.2	>4	>20	>20	100	55 ± 1.1
27	9.13	14 ± 3.7	>20	>20	>20	100	45 ± 11
28	12.71	20 ± 5.3	>100	>100	>100	>100	9.5 ± 6.6
29	6.24	2.1 ± 0.8	>100	>100	>100	>100	>100
30	33.74	42 ± 5.7	>100	>100	>100	>100	89 ± 15
31	—	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Acyclovir	2.18	2.5 ± 0.3	92 ± 70	—	—	>300	470 ± 490
Ganciclovir	—	—	—	7.5 ± 2.3	7.1 ± 0	>350	130 ± 86
Brivudin	0.0075	0.0087	74	—	—	>150	>100
Cidofovir	—	—	—	1.0 ± 0.4	1.1 ± 0	>350	64 ± 16

^a Effective concentration required to reduce virus-induced cytopathicity by 50%.^b Minimum cytotoxic concentration that causes a microscopically detectable alteration of cell morphology.^c Cytostatic concentration required to reduce cell growth by 50%.

shown). Only compound **26** exhibits moderate activity with EC₅₀ values against HSV-1: 14.5 μM; HSV-2: 10 μM; HSV-1 (TK[−]): 14.5 μM; and VV: 20 μM.

3. Conclusions

Fourteen novel C5-(4-substituted-1,3-diyne) 2'-deoxyuridines were successfully synthesized through a nickel-copper catalyst. They have been evaluated against several DNA viruses. Some cellular activity was sometimes observed, which most likely

implies that the compounds are able to penetrate into cells. Several of the synthesized compounds showed activities against DNA viruses in the nanomolar range, especially compound 5-[4-(4-trifluoromethoxyphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (**26**) which is the most potent inhibitor of this series against VZV with an EC₅₀ of ~1 μM and a CC₅₀ of 55 μM. This class of compounds could be of further interest for lead optimization as anti-infectious agents. It will be also of interest to investigate the properties of their monophosphorylated derivatives against thymidylate synthase and their triphosphorylated derivatives against the viral and cellular

DNA polymerases to reveal the mechanism of biological (i.e. antiviral) action.

4. Experimental section

4.1. Chemistry

Commercially available chemicals were of reagent grade and used as received. The reactions were monitored by thin layer chromatography (TLC) analysis using silica gel plates (Kieselgel 60F₂₅₄, E. Merck). Column chromatography was performed on Silica Gel 60 M (0.040–0.063 mm, E. Merck). The ¹H and ¹³C NMR spectra were recorded on a Varian Inova_{Unity} 400 spectrometer (400 MHz) in (d₄) methanol, CDCl₃, shift values in parts per million relative to SiMe₄ as internal reference. High Resolution Mass spectra were performed by the Mass Spectrometry Centre of Blaise Pascal University (Program Masslynx 4.0) (Aubière, France) and by the "Fédération de Recherche" ICOA/CBM (FR2708) platform (Orléans, France). Marvin, weighted, was used for calculate prediction of log P, Marvin 5.3.4, 2010.

4.1.1. 3',5'-Di-O-acetyl-5-iodo-2'-deoxyuridine (**2**)

A solution of acetylated 2'-deoxyuridine (**1**) (22 mmol) in dry CH₃CN (60 mL), CAN (7.21 g, 0.6 eq.) and I₂ (3.33 g, 0.6 eq.) was refluxed until completion (typically 1 h, checked by TLC). After cooling to room temperature, solvents were evaporated under reduced pressure and the dark oily residue was dissolved in AcOEt (200 mL) and H₂O (50 mL). The biphasic mixture was cooled in an ice bath and a saturated Na₂S₂O₃ solution was smoothly added until complete decolouration. The organic layer was washed with water (2 × 50 mL) and brine (50 mL), dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The white foam was triturated with pentane (50 mL), filtrated and dried under reduced pressure to afford pure iodinated **2** in 87% yield. The physico-chemical data of **2** are in accordance to those previously published [24].

4.1.2. 3',5'-Di-O-acetyl-5-ethynyl-2'-deoxyuridine (**3**)

Iodinated nucleoside **2** (3.4 mmol) was dissolved in a mixture of dry DMF (15 mL), dry Et₃N (1.44 mL, 3 eq.) and trimethylsilylacetyle (1.46 mL, 3 eq.). CuI (195 mg, 0.2 eq.) and PdCl₂(PPh₃)₂ (240 mg, 0.1 eq.) were then added and the reaction mixture was stirred at room temperature until completion (typically 5–20 h, checked by TLC). Solvents were evaporated under reduced pressure. The oily residue was dissolved in AcOEt (200 mL) then washed with water (5 × 30 mL) and brine (40 mL). The organic layer was dried over MgSO₄ and the solvents were evaporated under reduced pressure to dark oil. A purification using a short path flash chromatography (eluent: hexanes/AcOEt 7/3 then 1/1) afforded the 3',5'-di-O-acetyl-5-trimethylsilyl-ethynyl-2'-deoxyuridine. This compound (6.7 mmol), was dissolved in dry CH₃CN (15 mL). TBAF monohydrate (1.85 g, 1.05 eq.) was added and the resulting solution was stirred at room temperature until completion (typically 30 min to 2 h, checked by TLC). Solvents were evaporated under reduced pressure at room temperature and the oily residue was submitted to a flash column chromatography (eluent : hexanes/AcOEt 1/1 then AcOEt then MeOH/AcOEt 98/2) to afford pure 5-ethynyl nucleoside **3** as white solid in 75% yield. mp = 183 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.04 (s, 1H, NH), 7.93 (s, 1H, H⁶), 6.30 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, H^{1'}), 5.25 (m, 1H, H^{3'}), 4.30–4.45 (m, 3H, H^{4'} and H^{5'}), 3.21 (s, 1H, CH alkynyl), 2.55 (m, 1H, H^{2'a}), 2.25 (m, 1H, H^{2'b}), 2.07 (s, 3H, OAc), 2.05 (s, 3H, OAc); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5, 170.3, 161.1, 149.2, 142.9, 99.8, 85.7, 82.4, 74.6, 74.0, 63.9, 38.5, 21.0, 20.9. HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₁₅H₁₇N₂O₇: 336.3052, found: 336.3048. The physico-chemical data of **3** are in accordance to those previously published [24].

4.1.3. General procedure to compounds **4**–**17**

To a THF solution of CuI (5 mol%) and NiCl₂·6H₂O (5 mol%), tetramethylethylenediamine (20 mol%) was added. The solution was stirred 2 min at room temperature. C⁵-Ethynyl-nucleoside (1 eq.) and commercial alkyne (5 eq.) were added subsequently and the reaction mixture was stirred overnight at room temperature under oxygen atmosphere. After evaporation of all volatiles, the residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/Petroleum ether) to yield the desired compound.

4.1.3.1. 3',5'-Di-O-acetyl-5-(4-phenylbuta-1,3-diynyl)-2'-deoxyuridine (4**)**. Yield 53%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.98 (s, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H⁶), 7.30–7.55 (m, 5H, H^{Ar}), 6.29 (t, 1H, *J* = 6.0 Hz, H^{1'}), 5.23 (m, 1H, H^{3'}), 4.30–4.38 (m, 3H, H^{4'}, 2H^{5'}), 2.60 (m, 2H, H^{2'}), 2.12 (s, 3H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.2 (C=O), 170.1 (C=O), 160.5 (C⁴), 148.7 (C²), 143.3 (C⁶), 132.5 (2 × C^{Ar}), 129.4 (C^{Ar}), 128.4 (2C^{Ar}), 121.2 (C^{4'}), 99.8 (C⁵), 85.7 (C⁴), 82.7 (C¹), 78.6 (C^{1'}), 73.7 (C^{3'}), 73.3 (C^{1'}), 72.0 (C^{1'}), 63.6 (C^{5'}), 38.4 (C^{2'}), 20.9 (CH₃, OAc), 20.8 (CH₃, OAc). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₃H₂₁N₂O₇: 437.134327, found: 437.134298. HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calcd for C₂₃H₂₀N₂NaO₇: 459.1163, found: 459.1160.

4.1.3.2. 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(4-propylphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (5**)**. Yield 32%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.91 (bs, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H⁶), 7.40 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.13 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.29 (dd, *J* = 7.5, 6.0 Hz, 1H, H^{1'}), 5.24 (dt, *J* = 6.6, 2.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.40 (dd, *J* = 12.3, 3.0 Hz, 1H, H^{5'a}), 4.34 (dd, *J* = 12.3, 2.9 Hz, 1H, H^{5'b}), 4.30 (dd, *J* = 5.7, 2.8 Hz, 1H, H^{4'}), 2.61–2.56 (m, 3H, H^{2'a} and CH₂ alkyl), 2.29–2.19 (m, 2H, H^{2'b}), 2.21 (s, 3H, OAc), 2.12 (s, 3H, OAc), 1.61 (h, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂ alkyl), 0.92 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃ alkyl). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.3 (C=O), 160.8 (C⁴), 149.0 (C²), 144.8 (C^{Ar}), 143.4 (C⁶), 132.6 (2 × C^{Ar}), 128.8 (2 × C^{Ar}), 118.5 (C^{Ar}), 100.2 (C⁵), 85.9 (C¹), 83.3 (C^{1'}), 82.9 (C^{4'}), 79.0 (C^{1'}), 73.9 (C^{3'}), 73.0 (C^{1'}), 71.9 (C^{1'}), 63.8 (C^{5'}), 38.6 (C^{2'}), 38.2 (CH₂ alkyl), 24.4 (CH₂ alkyl), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc), 13.9 (CH₃ alkyl). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₆H₂₇N₂O₇: 479.1813, found: 479.1813.

4.1.3.3. 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(4-hexylphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (6**)**. Yield 31%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.33 (s, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H⁶), 7.39 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.13 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.32–6.27 (dd, *J* = 7.3, 6.3 Hz, 1H, H^{1'}), 5.24 (dd, *J* = 6.1, 2.8 Hz, 1H, H^{3'}), 4.40 (dd, *J* = 12.2, 3.0 Hz, 1H, H^{5'a}), 4.33 (dd, *J* = 12.4, 2.9 Hz, 1H, H^{5'b}), 4.31–4.28 (m, 1H, H^{4'}), 2.64–2.53 (m, 3H, H^{2'a}, CH₂-Ar), 2.30–2.17 (m, 1H, H^{2'b}), 2.20 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.11 (s, 3H, CH₃, OAc), 1.63–1.53 (m, 2H, CH₂), 1.34–1.16 (m, 6H, 3 × sCH₂), 0.87 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.3 (C=O), 161.0 (C⁴), 149.1 (C²), 145.1 (C^{Ar}), 143.4 (C⁶), 132.6 (2 × C^{Ar}), 128.7 (2 × C^{Ar}), 118.5 (C^{Ar}), 100.1 (C⁵), 85.8 (C¹), 83.2 (C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 78.9 (C^{1'}), 73.9 (C^{3'}), 73.0 (C^{1'}), 72.0 (C^{1'}), 63.8 (C^{5'}), 38.50 (C^{2'}), 36.1 (CH₂ alkyl), 31.8 (CH₂ alkyl), 31.2 (CH₂ alkyl), 29.0 (CH₂ alkyl), 22.7 (CH₂ alkyl), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc), 14.2 (CH₃ alkyl). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₉H₃₃N₂O₇: 521.2282, found: 521.2276.

4.1.3.4. 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(3,5-dimethoxyphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (7**)**. Yield 53%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.58 (s, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H⁶), 6.62 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.47 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.27 (dd, *J* = 7.4, 6.0 Hz, 1H, H^{1'}), 5.23 (dt, *J* = 6.5, 2.4 Hz, 1H, H^{3'}), 4.39 (dd, *J* = 12.2, 3.2 Hz, 1H, H^{5'a}), 4.33 (dd, *J* = 12.3, 3.0 Hz, 1H, H^{5'b}), 4.29 (dd, *J* = 5.7, 2.8 Hz, 1H, H^{4'}), 3.76 (s, *J* = 2.9 Hz, 6H, 2 × CH₃-O), 2.57 (ddd, *J* = 14.3, 5.8, 2.5 Hz, 1H, H^{2'a}), 2.28–2.20 (m, 1H, H^{2'b}), 2.19 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.10 (s, 3H, CH₃, OAc). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.4 (C=O), 161.2 (C⁴), 160.6 (2 × C^{Ar}-O), 149.1 (C²), 143.7 (C⁶), 122.6 (C^{Ar}), 110.3 (2 × C^{Ar}), 103.2 (C^{Ar}),

99.8 (C⁵), 85.92 (C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 82.7 (C^{3'}), 73.9 (C^{3'}), 73.1 (C^{3'}), 72.5 (C^{3'}), 63.8 (C^{5'}), 55.6 (2× CH₃-O), 38.5 (C^{2'}), 20.9 (2× CH₃, OAc). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₅H₂₅N₂O₉: 497.1554, found: 497.1551.

4.1.3.5. 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(pyridin-2-yl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (8). Yield 39%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.67 (s, 1H, NH), 8.57 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H, H^{Ar}), 8.01 (s, 1H, H⁶), 7.66 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.64 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.26 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.28 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, H^{1'}), 5.25–5.20 (m, 1H, H^{3'}), 4.39 (dd, *J* = 12.1, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.34–4.29 (m, 2H, H^{5b'}, H^{4'}), 4.31–4.27 (m, 1H, H^{2'}), 2.25 (dt, 14.2, 7.1 Hz, 1H, H^{2'}), 2.18 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.09 (s, 3H, CH₃, OAc). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.4 (C=O), 170.3 (C=O), 161.0 (C⁴), 150.4 (C^{Ar}), 149.1 (C²), 144.3 (C⁶), 141.9 (C^{Ar}), 136.3 (C^{Ar}), 132.0 (C^{Ar}), 123.8 (C^{Ar}), 99.4 (C⁵), 86.0 (C^{1'}), 82.9 (C^{4'}), 81.3 (C^{3'}), 78.1 (C^{3'}), 73.9 (C^{3'}), 73.6 (C^{3'}), 73.3 (C^{3'}), 63.8 (C^{5'}), 38.5 (C^{2'}), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₂H₂₀N₃O₇: 438.1295, found: 438.1294.

4.1.3.6. 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(3-amino-phenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (9). Yield 45%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.98 (s, 1H, H⁶), 7.08 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.87 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.78 (s, 1H, H^{Ar}), 6.68 (dd, *J* = 8.0 and 1.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.28 (dd, *J* = 7.2, 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 5.24 (dt, *J* = 6.5, 2.4 Hz, 1H, H^{3'}), 4.39 (dd, *J* = 12.3, 3.1 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.33 (dd, *J* = 12.3, 2.9 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.29 (dd, *J* = 5.7, 2.8 Hz, 1H, H^{4'}), 2.57 (ddd, *J* = 14.2, 5.7 and 2.4 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.30–2.14 (m, 1H, H^{2b'}), 2.19 (s, 3H, CH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.4 (C=O), 161.2 (C⁴), 149.1 (C²), 146.5 (C^{Ar}-NH₂), 143.6 (C⁶), 129.5 (C^{Ar}), 123.0 (C^{Ar}), 121.9 (C^{Ar}), 118.5 (C^{Ar}), 116.7 (C^{Ar}), 100.0 (C⁵), 85.9 (C^{1'}), 83.3 (C^{3'}), 82.9 (C^{4'}), 78.8 (C^{3'}), 73.9 (C^{3'}), 72.8 (C^{3'}), 72.1 (C^{3'}), 63.8 (C^{5'}), 38.5 (C^{2'}), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₃H₂₂N₃O₇: 452.1452, found: 452.1450.

4.1.3.7. 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(4-aminophenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (10). Yield 36%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.95 (s, 1H, H⁶), 7.29 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.58 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.29 (dd, *J* = 7.2, 6.2 Hz, 1H, H^{1'}), 5.26–5.22 (m, 1H, H^{3'}), 4.40 (dd, *J* = 12.3, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.33 (dd, *J* = 15.4, 3.0 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.30 (m, 1H, H^{4'}), 3.95 (bs, 2H, NH₂), 2.56 (ddd, *J* = 14.2, 5.7, 2.3 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.28–2.15 (m, 1H, H^{2b'}), 2.21 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.11 (s, 3H, CH₃, OAc). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.4 (C=O), 152.2 (C^{Ar}), 148.9 (C⁴), 148.0 (C²), 143.0 (C⁶), 134.3 (2× C^{Ar}), 114.7 (2× C^{Ar}), 110.2 (C^{Ar}), 100.1 (C⁵), 85.8 (C^{1'}), 84.2 (C^{3'}), 82.8 (C^{4'}), 79.5 (C^{3'}), 74.0 (C^{3'}), 71.7 (C^{3'}), 71.4 (C^{3'}), 63.9 (C^{5'}), 38.5 (C^{2'}), 21.0 (2× CH₃, OAc). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₃H₂₂N₃O₇: 452.1452, found: 452.1452.

4.1.3.8. 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(4-nitrophenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (11). Yield 50%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.61 (s, 1H, NH), 8.19 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 8.02 (s, 1H, H⁶), 7.63 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.26 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H, H^{1'}), 5.26–5.20 (m, 1H, H^{3'}), 4.40 (dd, *J* = 12.2, 3.2 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.35 (dd, *J* = 12.5, 3.5 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.32–4.25 (m, 1H, H^{4'}), 2.59 (ddd, *J* = 8.0, 6.9, 3.5 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.25 (m, 1H, H^{2b'}), 2.18 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.11 (s, 3H, CH₃, OAc). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.29 (C=O), 161.0 (C⁴), 149.0 (C²), 147.7 (C^{Ar}), 144.3 (C⁶), 133.4 (2× C^{Ar}), 128.3 (C^{Ar}), 123.8 (2× C^{Ar}), 99.2 (C⁵), 86.1 (C^{1'}), 82.9 (C^{4'}), 80.3 (C^{3'}), 78.3 (C^{3'}), 77.8 (C^{3'}), 75.4 (C^{3'}), 73.8 (C^{3'}), 63.8 (C^{5'}), 38.6 (C^{2'}), 20.9 (2× CH₃, OAc). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₃H₂₀N₃O₉: 482.1194, found: 482.1188.

4.1.3.9. 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(4-trifluoromethoxyphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (12). Yield 58%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.68 (s, 1H, NH), 8.00 (s, 1H, H⁶), 7.51 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.16 (d,

J = 8.2 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.27 (dd, *J* = 7.3, 6.1 Hz, 1H, H^{1'}), 5.24 (dt, *J* = 2.5 and 5.8 Hz, 1H, H^{3'}), 4.36 (ddd, *J* = 22.8, 12.3 and 3.1 Hz, 1H, H^{5'}), 4.33–4.27 (m, *J* = 5.8 and 2.9 Hz, 1H, H^{5'}), 2.58 (ddd, *J* = 14.3, 5.8 and 2.5 Hz, 1H, H^{2'}), 2.25 (dt, *J* = 14.3 and 7.0 Hz, 1H, H^{2'}), 2.18 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.10 (s, 3H, CH₃, OAc). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.3 (C=O), 161.2 (C⁴), 149.8 (C^{Ar}), 149.1 (C²), 143.9 (C⁶), 134.3 (2× C^{Ar}), 121.7 (C^{Ar}), 121.0 (2× C^{Ar}), 120.1 (OCF₃), 99.6 (C⁵), 86.0 (C^{1'}), 82.9 (C^{4'}), 81.1 (C^{3'}), 78.3 (C^{3'}), 74.3 (C^{3'}), 73.9 (C^{3'}), 73.1 (C^{3'}), 63.8 (C^{5'}), 38.5 (C^{2'}), 20.9 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₄H₂₀F₃N₂O₈: 521.1166, found: 521.1161.

4.1.3.10. 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(4-fluoro-3-methylphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (13). Yield 56%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.64 (s, 1H, NH), 7.92 (s, 1H, H⁶), 7.25 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.24–7.20 (m, 1H, H^{Ar}), 6.88 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.22 (dd, *J* = 7.2, 6.2 Hz, 1H, H^{1'}), 5.18 (dt, *J* = 6.6, 2.5 Hz, 1H, H^{3'}), 4.33 (dd, *J* = 12.2, 3.2 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.27 (dd, *J* = 12.3, 3.1 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.23 (dd, *J* = 5.7, 2.9 Hz, 1H, H^{4'}), 2.51 (ddd, *J* = 14.3, 5.8, 2.5 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.25–2.15 (m, 1H, H^{2b'}), 2.17 (d, *J* = 1.6 Hz, 3H, CH₃-Ar), 2.13 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.04 (s, 3H, CH₃, OAc). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.4 (C=O), 162.0 (C^{Ar}-F), 161.2 (C⁴), 149.2 (C²), 143.6 (C⁶), 135.8 (C^{Ar}), 132.2 (C^{Ar}), 125.8 (C^{Ar}), 125.6 (C^{Ar}), 115.5 (C^{Ar}), 99.8 (C⁵), 85.9 (C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 82.0 (C^{3'}), 78.6 (C^{3'}), 73.9 (C^{3'}), 72.9 (C^{3'}), 72.3 (C^{3'}), 63.8 (C^{5'}), 38.4 (C^{2'}), 20.9 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc), 14.4 (CH₃-Ar). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₄H₂₂FN₂O₇: 469.1405, found: 469.1401.

4.1.3.11. 3',5'-Di-O-acetyl-5-(6-hydroxyhepta-1,3-diynyl)-2'-deoxyuridine (14). Yield 30%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.45 (bs, 1H, NH), 7.93 (s, 1H, H⁶), 6.26 (dd, *J* = 7.4, 6.1 Hz, 1H, H^{1'}), 5.23 (dt, *J* = 6.6, 2.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.38 (dd, *J* = 12.3, 3.3 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.32 (dd, *J* = 12.3, 3.0 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.28 (dd, *J* = 5.9, 3.0 Hz, 1H, H^{4'}), 4.00 (h, *J* = 5.9 Hz, 1H, CH alkyl), 2.55 (ddd, *J* = 14.3, 6.0, 2.5 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.50 (dd, *J* = 5.7, 3.5 Hz, 2H, CH₂ alkyl), 2.25 (dt, *J* = 14.3, 7.1 Hz, 1H, H^{2b'}), 2.17 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.10 (s, 3H, CH₃, OAc), 1.28–1.23 (m, 3H, CH₃ alkyl). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.4 (C=O), 161.3 (C⁴), 149.1 (C²), 143.7 (C⁶), 99.8 (C⁵), 85.9 (C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 82.6 (C^{3'}), 78.8 (C^{3'}), 74.0 (C^{3'}), 66.8 (C^{3'}), 66.3 (C-OH), 66.2 (C^{3'}), 63.8 (C^{5'}), 38.4 (C^{2'}), 30.2 (CH₂ alkyl), 22.6 (CH₃ alkyl), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₀H₂₃N₂O₈: 419.1448, found: 419.14485.

4.1.3.12. 3',5'-Di-O-acetyl-5-[5-hydroxypenta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (15). Yield 55%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.82 (s, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, H⁶), 6.25 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H, H^{1'}), 5.26–5.22 (m, 1H, H^{3'}), 4.36 (m, 4H, H^{5a'}, H^{5b'}, CH₂-O), 4.29 (m, 1H, H^{4'}), 3.30 (bs, 1H, OH), 2.57 (dd, *J* = 14.3, 3.8 Hz, 1H, H^{2'}), 2.31 (m, 1H, H^{2'}), 2.16 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.10 (s, 3H, CH₃, OAc). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.7 (C=O), 170.6 (C=O), 161.6 (C⁴), 149.3 (C²), 144.5 (C⁶), 99.3 (C⁵), 86.0 (C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 82.7 (C^{3'}), 77.9 (C^{3'}), 74.0 (C^{3'}), 69.6 (C^{3'}), 69.4 (C^{3'}), 63.9 (C^{5'}), 51.3 (CH₂-OH), 38.3 (C^{2'}), 21.0 (2× CH₃, OAc). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₁₈H₁₉N₂O₈: 391.1135, found: 391.1135.

4.1.3.13. 3',5'-Di-O-acetyl-5-[5-cyclopentylpenta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (16). Yield 20%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.97 (bs, 1H, NH), 7.92 (s, 1H, H⁶), 6.28 (dd, *J* = 7.4, 6.1 Hz, 1H, H^{1'}), 5.23 (dt, 1H, *J* = 6.0, 2.6 Hz, H^{3'}), 4.39 (dd, *J* = 12.3, 3.0 Hz, 1H, H^{5'}), 4.32 (dd, *J* = 12.3, 2.9 Hz, 1H, H^{5'}), 4.29 (dd, *J* = 5.7, 2.9 Hz, 1H, H^{4'}), 2.54 (ddd, *J* = 14.3, 5.9, 2.6 Hz, 1H, H^{2'}), 2.33 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH₂ alkyl), 2.26–2.15 (m, 1H, H^{2'}), 2.18 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.11 (s, 3H, CH₃, OAc), 2.13–2.02 (m, 1H, CH alkyl), 1.84–1.74 (m, 2H, CH₂ alkyl), 1.68–1.57 (m, 2H, CH₂ alkyl), 1.57–1.49 (m, 2H, CH₂ alkyl), 1.27–1.22 (m, 2H, CH₂ alkyl). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O, OAc), 170.3 (C=O, OAc), 161.1 (C⁴), 149.0 (C²), 143.3 (C⁶), 100.3 (C⁵), 85.9 (C^{3'}), 85.7

(C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 79.4 (C^{''}), 73.9 (C^{3'}), 65.2 (C^{''}), 64.8 (C^{''}), 63.9 (C^{5'}), 38.8 (CH alkyl), 38.5 (C^{2'}), 32.2 (2× CH₂ alkyl), 25.4 (CH₂ alkyl), 25.3 (2× CH₂ alkyl), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₃H₂₇N₂O₇: 443.1812, found: 443.1810.

4.1.3.14. 3',5'-Di-O-acetyl-5-[4-(cyclopropyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (17). Yield 54%, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.03 (s, 1H, NH), 7.90 (s, 1H, H⁶), 6.27 (dd, *J* = 7.6, 5.9 Hz, 1H, H^{1'}), 5.22 (dt, *J* = 6.6, 2.6 Hz, 1H, H^{3'}), 4.38 (dd, *J* = 12.2, 3.0 Hz, 1H, H^{5a'}), 4.32 (dd, *J* = 12.3, 3.0 Hz, 1H, H^{5b'}), 4.30 (dd, *J* = 5.6, 2.8 Hz, 1H, H^{4'}), 2.54 (ddd, *J* = 14.3, 5.8, 2.6 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.25–2.18 (m, 1H, H^{2b'}), 2.17 (s, 3H, CH₃), 2.11 (s, 3H, CH₃), 1.36 (m, 1H, CH alkyl), 0.95–0.76 (m, 4H, 2× CH₂). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.5 (C=O), 170.3 (C=O), 161.1 (C⁴), 149.0 (C²), 143.2 (C⁶), 100.3 (C⁵), 89.4 (C^{''}), 85.7 (C^{1'}), 82.8 (C^{4'}), 79.6 (C^{''}), 74.0 (C^{3'}), 64.8 (C^{''}), 63.9 (C^{5'}), 60.1 (C^{''}), 38.5 (C^{2'}), 21.0 (CH₃, OAc), 20.9 (CH₃, OAc), 9.3 (CH₂ alkyl), 0.4 (CH alkyl). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₀H₂₁N₂O₇: 401.1343, found: 401.1339.

4.1.4. General procedure to 18–31

Compounds **4–17** were respectively dissolved in a solution of NH₃ in methanol (7 N). The mixture was stirred at 3 °C overnight. After evaporation of the solvents, the residual solid was purified on silica gel eluting with CH₂Cl₂/MeOH (98:2) to give compounds **18–31**, respectively.

4.1.4.1. 5-[4-Phenylbuta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (18). Yield 68%, ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.53 (s, 1H, H⁶), 7.53–7.46 (m, 2H, H^{Ar}), 7.44–7.32 (m, 3H, H^{Ar}), 6.24 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, *J* = 6.0, 3.7 Hz, 1H, H^{3'}), 3.96 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.85 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.75 (dd, *J* = 12.0, 3.2 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.34 (ddd, *J* = 12.0, 6.4, 3.2 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.30–2.21 (m, 1H, H^{2b'}). ¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.1 (C⁴), 151.0 (C²), 147.4 (C⁶), 133.4 (2× C^{Ar}), 130.6 (C^{Ar}), 129.7 (2× C^{Ar}), 122.8 (C^{Ar}), 99.1 (C⁵), 89.3 (C^{1'}), 87.3 (C^{4'}), 82.5 (C^{''}), 78.0 (C^{''}), 74.5 (C^{''}), 74.4 (C^{3'}), 62.4 (C^{5'}), 41.9 (C^{2'}). HRMS (ESI): *m/z* [M + Li]⁺ calcd for C₁₉H₁₆LiN₂O₅: 359.12142, found: 359.12190.

4.1.4.2. 5-[4-(4-Propylphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (19). Yield 66%, ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.52 (s, 1H, H⁶), 7.40 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.19 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.24 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, *J* = 6.0, 3.6 Hz, 1H, H^{3'}), 3.95 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.84 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.75 (dd, *J* = 12.0, 3.3 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.61 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂ alkyl), 2.34 (ddd, *J* = 13.6, 6.2, 3.9 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.29–2.20 (m, 1H, H^{2b'}), 1.64 (h, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂ alkyl), 0.93 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₃ alkyl). ¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.3 (C⁴), 151.1 (C²), 147.4 (C⁶), 146.1 (2× C^{Ar}), 133.5 (2× C^{Ar}), 130.0 (C^{Ar}), 120.1 (C^{Ar}), 99.4 (C⁵), 89.4 (C^{4'}), 87.5 (C^{1'}), 83.2 (C^{''}), 78.4 (C^{''}), 74.3 (C^{''}), 74.1 (C^{''}), 72.0 (C^{3'}), 62.6 (C^{5'}), 42.1 (C^{2'}), 39.1 (CH₂ alkyl), 25.6 (CH₂ alkyl), 14.1 (CH₃ alkyl). HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calcd for C₂₂H₂₂N₂O₅Na: 417.1426, found: 417.1430.

4.1.4.3. 5-[4-(4-Hexylphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (20). Yield 71%, ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.52 (s, 1H, H⁶), 7.40 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz, H^{Ar}), 7.19 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz, H^{Ar}), 6.24 (t, 1H, *J* = 6.4 Hz, H^{1'}), 4.41 (dt, 1H, *J* = 6.2 and 3.7 Hz, H^{3'}), 3.95 (q, 1H, *J* = 3.2 Hz, H^{4'}), 3.84 (dd, 1H, *J* = 12.0 and 2.9 Hz, H^{5a'}), 3.75 (dd, 1H, *J* = 12.0, 3.3 Hz, H^{5b'}), 2.63 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, CH₂–Ar), 2.34 (ddd, 1H, *J* = 13.6, 6.1 and 3.9 Hz, H^{2a'}), 2.25 (m, 1H, H^{2b'}), 1.64–1.57 (m, 2H, CH₂ alkyl), 1.31 (m, 8H, 4× CH₂ alkyl), 0.89 (t, 3H, *J* = 6.8 Hz, CH₃ alkyl). ¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.2 (C⁴), 151.0 (C²), 147.2 (C⁶), 146.2 (C^{Ar}), 133.4 (2× C^{Ar}), 129.8 (2× C^{Ar}), 119.9 (C^{Ar}), 99.3 (C⁵), 89.2 (C^{4'}), 87.3 (C^{1'}), 82.9 (C^{''}), 78.2 (C^{''}), 74.1 (C^{''}), 73.9 (C^{''}), 71.9 (C^{3'}), 62.4 (C^{5'}), 41.9 (C^{2'}), 36.9 (CH₂ alkyl), 32.8 (CH₂ alkyl), 32.4 (CH₂ alkyl), 30.0 (CH₂ alkyl), 23.6 (CH₂ alkyl), 14.4 (CH₃ alkyl). HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calcd for C₂₅H₂₈N₂O₅Na: 459.1896, found: 459.1907.

4.1.4.4. 5-[4-(3,5-Dimethoxyphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (21). Yield 73%, ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.52 (s, 1H, H⁶), 6.64 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.54 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.23 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, *J* = 6.0, 3.7 Hz, 1H, H^{3'}), 3.96 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.85 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.77 (s, 6H, 2× CH₃–O), 3.75 (dd, *J* = 12.0, 3.4 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.34 (ddd, *J* = 13.6, 6.1, 3.9 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.30–2.20 (m, 1H, H^{2b'}). ¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.2 (C⁴), 162.3 (2× C^{Ar}–O), 151.0 (C²), 147.4 (C⁶), 124.0 (C^{Ar}), 111.1 (2× C^{Ar}), 103.7 (C^{Ar}), 99.1 (C⁵), 89.2 (C^{1'}), 87.4 (C^{4'}), 82.6 (C^{''}), 78.0 (C^{''}), 74.5 (C^{''}), 73.9 (C^{''}), 71.8 (C^{3'}), 62.4 (C^{5'}), 56.0 (2× CH₃–O), 41.9 (C^{2'}). HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calcd for C₂₁H₂₀N₂O₇Na: 435.1168, found: 435.1185.

4.1.4.5. 5-[4-(Pyridin-2-yl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (22). Yield 73%, ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.60 (s, 1H, H⁶), 8.57–8.51 (m, 1H, H^{Ar}), 7.86 (td, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.63 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H^{Ar}), 7.45 (ddd, *J* = 7.7, 5.0, 1.0 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.23 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.42 (dt, *J* = 6.0, 3.7 Hz, 1H, H^{3'}), 3.96 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.85 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.75 (dd, *J* = 12.0, 3.3 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.35 (ddd, *J* = 13.6, 6.1, 4.0 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.30–2.21 (m, 1H, H^{2b'}). ¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.1 (C⁴), 151.3 (C²), 151.0 (C^{Ar}), 148.2 (C⁶), 143.0 (C^{Ar}), 138.6 (C^{Ar}), 129.7 (C^{Ar}), 125.5 (C^{Ar}), 104.1, 98.5 (C⁵), 89.3 (C^{1'}), 87.5 (C^{4'}), 80.7 (C^{''}), 77.2 (C^{''}), 76.3 (C^{''}), 74.8 (C^{''}), 71.8 (C^{3'}), 62.4 (C^{5'}), 42.0 (C^{2'}). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₁₈H₁₆N₃O₅: 354.1090, found: 354.1087.

4.1.4.6. 5-[4-(3-Amino-phenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (23). Yield 65%, ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.51 (s, 1H, H⁶), 7.07 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.81 (s, 1H, H^{Ar}), 6.79 (dd, *J* = 7.6, 0.9 Hz, 1H, H^{Ar}), 6.76–6.72 (m, 1H, H^{Ar}), 6.23 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, *J* = 6.0, 3.6 Hz, 1H, H^{3'}), 3.95 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.84 (dd, *J* = 12.0, 3.8 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.75 (dd, *J* = 12.0, 3.3 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.34 (ddd, *J* = 13.5, 6.1, 3.9 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.29–2.21 (m, 1H, H^{2b'}). ¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ: 164.2 (C⁴), 151.0 (C²), 149.3 (C^{Ar}, C–NH₂), 147.2 (C⁶), 130.3 (C^{Ar}), 123.0 (C^{Ar}), 122.8 (C^{Ar}), 119.3 (C^{Ar}), 117.7 (C^{Ar}), 99.3 (C⁵), 89.2 (C^{4'}), 87.3 (C^{1'}), 83.5 (C^{''}), 78.3 (C^{''}), 73.9 (C^{''}), 73.3 (C^{''}), 71.8 (C^{3'}), 62.4 (C^{5'}), 41.9 (C^{2'}). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₁₉H₁₈N₃O₅: 368.1246, found: 368.1232.

4.1.4.7. 5-[4-(4-Aminophenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (24). Yield 72%, ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.45 (s, 1H, H⁶), 7.21 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.61 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.24 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, *J* = 6.0, 3.6 Hz, 1H, H^{3'}), 3.95 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.84 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.75 (dd, *J* = 12.0, 3.4 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.33 (ddd, *J* = 13.5, 6.1, 3.9 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.29–2.20 (m, 1H, H^{2b'}). ¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.4 (C⁴), 151.3 (C²), 151.2 (C^{Ar}), 146.7 (C⁶), 135.0 (2× C^{Ar}), 115.5 (2× C^{Ar}), 109.9 (C^{Ar}), 100.0 (C⁵), 89.3 (C^{4'}), 87.4 (C^{1'}), 84.7 (C^{''}), 79.2 (C^{''}), 73.2 (C^{''}), 72.34 (C^{''}), 72.1 (C^{3'}), 62.6 (C^{5'}), 42.0 (C^{2'}). HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calcd for C₁₉H₁₇N₃O₅Na: 390.1066, found: 390.1077.

4.1.4.8. 5-[4-(4-Nitrophenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (25). Yield 54%, ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.60 (s, 1H, H⁶), 8.25 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H^{Ar}), 7.73 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H^{Ar}), 6.23 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, H^{1'}), 4.41 (dt, *J* = 6.0, 3.8 Hz, 1H, H^{3'}), 3.96 (q, *J* = 3.2 Hz, 1H, H^{4'}), 3.85 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H, H^{5a'}), 3.75 (dd, *J* = 12.2, 3.4 Hz, 1H, H^{5b'}), 2.36 (ddd, *J* = 13.6, 6.2, 4.0 Hz, 1H, H^{2a'}), 2.31–2.21 (m, 1H, H^{2b'}). ¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.2 (C⁴), 151.2 (C²), 149.4 (C^{Ar}), 148.4 (C⁶), 134.8 (2× C^{Ar}), 129.9 (C^{Ar}), 125.1 (2× C^{Ar}), 98.7 (C⁵), 89.5 (C^{4'}), 87.6 (C^{1'}), 86.4 (C^{''}), 80.5 (C^{''}), 79.1 (C^{''}), 77.5 (C^{''}), 72.2 (C^{3'}), 62.5 (C^{5'}), 42.2 (C^{2'}). HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calcd for C₁₉H₁₅N₃O₇Na: 420.0808, found: 420.0820.

4.1.4.9. 5-[4-(4-Trifluoromethoxyphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (26). Yield 71%, ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.55 (s, 1H, H⁶),

7.61 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, H^{Ar}), 7.30 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H^{Ar}), 6.23 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H, H^1), 4.41 (dt, $J = 6.0, 3.8$ Hz, 1H, $H^{3'}$), 3.96 (q, $J = 3.2$ Hz, 1H, $H^{4'}$), 3.85 (dd, $J = 12.0, 2.9$ Hz, 1H, $H^{5a'}$), 3.75 (dd, $J = 12.0, 3.3$ Hz, 1H, $H^{5b'}$), 2.35 (ddd, $J = 13.6, 6.1, 3.9$ Hz, 1H, $H^{2a'}$), 2.30–2.21 (m, 1H, $H^{2b'}$). ^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.1 (C^4), 151.17 ($C^{Ar}-O$), 150.9 (C^5), 147.7 (C^6), 135.3 ($2 \times C^{Ar}$), 122.5 ($2 \times C^{Ar}$), 122.2 (OCF_3 , C^{Ar}), 98.9 (C^5), 89.3 (C^1), 87.4 (C^4), 80.9 (C''), 77.7 (C''), 75.4 (C''), 75.2 (C''), 71.8 (C^3), 62.4 (C^5), 42.0 (C^2). HRMS (ESI): m/z [M + Na] $^+$ calcd for $C_{20}H_{15}N_2O_6F_3Na$: 459.0780, found: 459.0775.

4.1.4.10. 5-[4-(4-Fluoro-3-methylphenyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (27). Yield 62%, 1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.52 (s, 1H, H^6), 7.40 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H^{Ar}), 7.37–7.31 (m, 1H, H^{Ar}), 7.08–7.00 (m, 1H, H^{Ar}), 6.23 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H, H^1), 4.41 (dt, $J = 6.0, 3.7$ Hz, 1H, $H^{3'}$), 3.95 (q, $J = 3.2$ Hz, 1H, $H^{4'}$), 3.84 (dd, $J = 12.0, 2.9$ Hz, 1H, $H^{5a'}$), 3.75 (dd, $J = 12.0, 3.4$ Hz, 1H, $H^{5b'}$), 2.34 (ddd, $J = 13.6, 6.1, 3.9$ Hz, 1H, $H^{2a'}$), 2.29–2.21 (m, 1H, $H^{2b'}$), 2.25 (s, 3H, Ar-CH $_3$). ^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.1 (C^4), 151.0 (C^2), 147.4 (C^6), 136.7 (C^{Ar}), 133.2 (C^{Ar}), 127.0 (C^{Ar}), 126.8 (C^{Ar}), 118.8 (C^{Ar}), 116.6 (C^{Ar}), 99.1 ($C^{5'}$), 89.3 (C^1), 87.3 (C^4), 81.78 (C''), 78.02 (C''), 74.33 (C''), 73.9 (C''), 71.8 (C^3), 62.4 (C^5), 41.9 (C^2), 22.0 (CH $_3$). HRMS (ESI): m/z [M + Na] $^+$ calcd for $C_{20}H_{17}N_2O_5FNa$: 407.1019, found: 407.1028.

4.1.4.11. 5-(6-Hydroxyhepta-1,3-diynyl)-2'-deoxyuridine (28). Yield 65%, 1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.43 (s, 1H, H^6), 6.22 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H, H^1), 4.40 (dt, $J = 6.0, 3.4$ Hz, 1H, $H^{3'}$), 3.94 (q, $J = 3.2$ Hz, 1H, $H^{4'}$), 3.82 (dd, $J = 12.0, 3.0$ Hz, 1H, $H^{5'}$), 3.73 (dd, $J = 12.0, 3.4$ Hz, 1H, $H^{5'}$), 2.49 (dd, $J = 8.1, 5.9$ Hz, 2H, CH $_2$ alkyl), 2.32 (ddd, $J = 13.6, 6.1, 3.9$ Hz, 1H, $H^{2'}$), 2.28–2.18 (m, 1H, $H^{2'}$), 1.98 (bs, 1H, CH alkyl), 1.25 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, CH $_3$ alkyl). ^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.3 (C^4), 151.0 (C^2), 147.1 (C^6), 99.4 (C^5), 89.2 (C^4), 87.2 (C^1), 82.7 (C''), 78.7 (C''), 71.9 (C^3), 67.7 (C''), 67.3 (C''), 67.1 (CH alkyl), 62.4 (C^5), 41.8 (C^2), 30.3 (CH $_2$ alkyl), 22.6 (CH $_3$ alkyl). HRMS (ESI): m/z [M + Na] $^+$ calcd for $C_{16}H_{18}N_2O_6Na$: 357.1063, found: 357.1058.

4.1.4.12. 5-[5-Hydroxypenta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (29). Yield 52%, 1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.48 (s, 1H, H^6), 6.22 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H, H^1), 4.40 (dt, $J = 6.0, 3.7$ Hz, 1H, $H^{3'}$), 4.29 (s, 2H, CH $_2$ -O), 3.94 (q, $J = 3.2$ Hz, 1H, $H^{4'}$), 3.83 (dd, $J = 12.0, 3.0$ Hz, 1H, $H^{5a'}$), 3.74 (dd, $J = 12.0, 3.4$ Hz, 1H, $H^{5b'}$), 2.33 (ddd, $J = 13.6, 6.2, 3.9$ Hz, 1H, $H^{2a'}$), 2.28–2.19 (m, 1H, $H^{2b'}$). ^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.2 (C^4), 151.0 (C^2), 147.5 (C^6), 99.0 (C^5), 89.2 (C^1), 87.3 (C^4), 83.0 (C''), 77.8 (C''), 71.8 (C^3), 70.8 (C''), 69.7 (C''), 62.4 (C^5), 51.1 (CH $_2$), 41.9 (C^2). HRMS (ESI): m/z [M + Na] $^+$ calcd for $C_{14}H_{14}N_2O_6Na$: 329.0750, found: 329.0739.

4.1.4.13. 5-[5-Cyclopentylpenta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (30). Yield 62%, 1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.42 (s, 1H, H^6), 6.22 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H, H^1), 4.40 (dt, $J = 6.0, 3.6$ Hz, 1H, $H^{3'}$), 3.94 (q, $J = 3.2$ Hz, 1H, $H^{4'}$), 3.83 (dd, $J = 12.0, 3.0$ Hz, 1H, $H^{5a'}$), 3.73 (dd, $J = 12.0, 3.4$ Hz, 1H, $H^{5b'}$), 2.36 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H, CH $_2$ alkyl), 2.34–2.28 (m, 1H, $H^{2a'}$), 2.27–2.18 (m, 1H, $H^{2b'}$), 2.13–2.02 (m, 1H, CH alkyl), 1.85–1.78 (m, 2H, CH $_2$ alkyl), 1.71–1.53 (m, 4H, $2 \times$ CH $_2$ alkyl), 1.34–1.26 (m, 2H, CH $_2$ alkyl). ^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.4 (C^4), 151.0 (C^2), 146.9 (C^6), 99.5 (C^5), 89.2 (C^4), 87.2 (C^1), 85.4 (C''), 78.9 (C''), 71.9 (C^3), 67.2 (C''), 66.0 (C''), 62.4 (C^5), 41.8 (C^2), 40.1 (CH alkyl), 33.0 ($2 \times$ CH $_2$ alkyl), 26.2 ($2 \times$ CH $_2$ alkyl), 25.8 (CH $_2$ alkyl). HRMS (ESI): m/z [M + Na] $^+$ calcd for $C_{19}H_{22}N_2O_5Na$: 381.1426, found: 381.1412.

4.1.4.14. 5-[4-(Cyclopropyl)buta-1,3-diynyl]-2'-deoxyuridine (31). Yield 43%, 1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8.41 (s, 1H, H^6), 6.22 (t, 1H, $J = 6.4$ Hz, H^1), 4.30 (dt, 1H, $J = 6.1, 3.7$ Hz, $H^{3'}$), 3.94 (q, $J = 3.2$ Hz, 1H, $H^{4'}$), 3.82 (dd, $J = 12.0$ Hz, 3.0, 1H, $H^{5a'}$), 3.73 (dd, $J = 12.0$ and 3.4 Hz, 1H, $H^{5b'}$), 2.32 (ddd, $J = 13.6, 6.4, 3.8$ Hz, 1H, $H^{2a'}$), 2.27–2.18 (m, 1H,

$H^{2b'}$), 0.93–0.84 (m, 3H, CH and CH $_2$ alkyl), 0.77–0.71 (m, 2H, CH $_2$ alkyl). ^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) δ 164.4 (C^4), 151.0 (C^2), 147.0 (C^6), 99.5 (C^5), 89.2 (C^4), 89.0 (C''), 87.2 (C^1), 79.1 (C''), 71.9 (C^3), 66.6 (C''), 62.4 (C^5), 61.06 ($C^{3''}$), 41.84 (C^2), 9.43 (CH $_2$ and CH, alkyl), 0.75 (CH $_2$, alkyl). HRMS (ESI): m/z [M + Na] $^+$ calcd for $C_{16}H_{16}N_2O_5Na$: 339.0957, found: 339.0941.

4.2. Antiviral activity assays

The antiviral assays, other than the anti-HIV assays, were based on inhibition of virus-induced cytopathicity or plaque formation in HEL [herpes simplex virus type 1 (HSV-1) (KOS), HSV-2 (G), vaccinia virus, vesicular stomatitis virus, cytomegalovirus (HCMV), and varicella-zoster virus (VZV)], Vero (parainfluenza-3, reovirus-1, Sindbis virus and Cocksackie B4), HeLa (vesicular stomatitis virus, Cocksackie virus B4, and respiratory syncytial virus) or MDCK [influenza A (H1N1; H3N2) and influenza B] cell cultures. Confluent cell cultures (or nearly confluent for MDCK cells) in microtiter 96-well plates were inoculated with 100 CCID $_{50}$ of virus (1 CCID $_{50}$ being the virus dose to infect 50% of the cell cultures) or with 20 plaque forming units (PFU). After a 1–2 h virus adsorption period, residual virus was removed, and the cell cultures were incubated in the presence of varying concentrations (200, 40, μ M) of the test compounds. Viral cytopathicity was recorded as soon as it reached completion in the control virus-infected cell cultures that were not treated with the test compounds. Antiviral activity was expressed as the EC $_{50}$ or compound concentration required to reduce virus-induced cytopathogenicity or viral plaque (VZV) plaque formation by 50%. The minimal cytotoxic concentration (MCC) of the compounds was defined as the compound concentration that caused a microscopically visible alteration of cell morphology. Alternatively, the cytostatic activity of the test compounds was measured based on inhibition of cell growth. HEL cells were seeded at a rate of 5×10^3 cells/well into 96-well microtiter plates and allowed to proliferate for 24 h. Then, medium containing different concentrations of the test compounds was added. After 3 days of incubation at 37 °C, the cell number was determined with a Coulter counter. The cytostatic concentration was calculated as the CC $_{50}$, or the compound concentration required to reduce cell proliferation by 50% relative to the number of cells in the untreated controls. The methodology of the anti-HIV assays was as follows: human CEM ($\sim 3 \times 10^5$ cells/cm 3) cells were infected with 100 CCID $_{50}$ of HIV(III $_B$) or HIV-2(ROD)/mL and seeded in 200 μ L wells of a microtiter plate containing appropriate dilutions of the test compounds. After 4 days of incubation at 37 °C, HIV-induced CEM giant cell formation was examined microscopically.

Acknowledgements

O.S. is grateful to the French Ministère de l'Enseignement Supérieur MNERST for a Ph.D. scholarship. The research was supported by the KU Leuven (GOA 10/014). The authors thank L. Persoons, F. De Meyer, L. Ingels, A. Camps, L. Van den Heurck and S. Carmans for dedicated technical assistance for the antiviral assays.

References

- [1] M. Ahmadian, D.E. Bergstrom, 5-Substituted nucleosides in Biochemistry and Biotechnology, Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, in: P. Herdewijn (Ed.), Wiley-VCH, Weinheim, 2008, pp. 249–276.
- [2] E. De Clercq, Antiviral and antitumor activities of 5-substituted 2'-deoxyuridines, Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 2 (1980) 253–267 (review).
- [3] S. Brakmann, S. Lobermann, High-density labelling of DNA: preparation and characterization of the target material for single-molecule sequencing, Angew. Chem., Int. Ed. 40 (2001) 1427–1429.
- [4] G. Giller, T. Tasara, B. Angerer, K. Mühlegger, M. Amacker, H. Winter, Incorporation of reporter molecule-labeled nucleotides by DNA polymerases. I.

- Chemical synthesis of various reporter group-labeled 2'-deoxyribonucleoside-5'-triphosphates, *Nucleic Acids Res.* 31 (2003) 2630–2635.
- [5] I. Luyten, P. Herdewijn, Hybridization properties of base-modified oligonucleotides within the double and triple helix motif, *Eur. J. Med. Chem.* 33 (1998) 515–576.
 - [6] T. Kottysch, C. Ahlborn, F. Brotzel, C. Richert, Stabilizing or destabilizing oligodeoxynucleotide duplexes containing single 2'-deoxyuridine residues with 5-alkynyl substituents, *Chem. Eur. J.* 10 (2004) 4017–4028.
 - [7] E. De Clercq, Discovery and development of BVDU (brivudin) as a therapeutic for the treatment of herpes zoster, *Biochem. Pharmacol.* 68 (2004) 2301–2315 (review).
 - [8] C. McGuigan, A. Brancale, H. Barucki, S. Srinivasan, G. Jones, R. Pathirana, A. Carangio, S. Blewett, G. Luoni, O. Bidet, A. Jukes, C. Jarvis, G. Andrei, R. Snoeck, E. De Clercq, J. Balzarini, Furano pyrimidines as novel potent and selective anti-VZV agents, *Antivir. Chem. Chemother.* 12 (2001) 77–89 (review).
 - [9] M. Kuwahara, Y. Takahata, A. Shoji, A.N. Ozaki, H. Ozaki, H. Sawai, Substrate properties of C5-substituted pyrimidine 2'-deoxynucleoside 5'-triphosphates for thermostable DNA polymerases during PCR, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13 (2003) 3735–3738.
 - [10] D. Rai, M. Johar, T. Manning, B. Agrawal, D.Y. Kunimoto, R. Kumar, Design and studies of novel 5-substituted alkynylpyrimidine nucleosides as potent inhibitors of mycobacteria, *J. Med. Chem.* 48 (2005) 7012–7017.
 - [11] S. Meneni, I. Ott, C.D. Sergeant, A. Sniady, R. Gust, R. Dembinski, 5-Alkynyl-2'-deoxyuridines: chromatography-free synthesis and cytotoxicity evaluation against human breast cancer cells, *Bioorg. Med. Chem.* 15 (2007) 3082–3088.
 - [12] I. Gillaizeau, Y. Saito, L.A. Agrofoglio, Palladium-assisted routes to nucleosides, *Chem. Rev.* 103 (2003) 1875–1916 (review).
 - [13] A.L.K. Shi Shun, R.R. Tykwinski, Synthesis of naturally occurring polyynes, *Angew. Chem., Int. Ed.* 45 (2006) 1034–1057.
 - [14] N. Minakawa, Y. Ono, A. Matsuda, A versatile modification of on-column oligodeoxynucleotides using a copper-catalyzed oxidative acetylenic coupling reaction, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 11545–11552.
 - [15] Q. Xiao, R.T. Ranasinghe, A.M.P. Tang, T. Brown, Naphthalenyl- and anthracenyl-ethynyl dT analogues as base discriminating fluorescent nucleosides and intramolecular energy transfer donors in oligonucleotide probes, *Tetrahedron* 63 (2007) 3483–3490.
 - [16] C. Glaser, Beiträge zur kenntniss des acetenylbenzols, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 2 (1869) 422–424.
 - [17] A.S. Hay, Oxidative coupling of acetylenes, *J. Org. Chem.* 27 (1962) 3320–3321.
 - [18] G. Eglinton, A.R. Galbraith, Macrocyclic acetylenic compounds. Part I. Cyclotetradeca-1: 3-diyne and related compounds, *J. Chem. Soc.* (1959) 889–896.
 - [19] E. Merkul, D. Urselmann, T.J.J. Müller, Consecutive one-pot Sonogashira–Glaser coupling sequence – direct preparation of symmetrical diynes by sequential Pd/Cu catalysis, *Eur. J. Org. Chem.* 2 (2011) 238–242.
 - [20] F. Yang, X. Cui, Y. Li, J. Zhang, G. Ren, Y. Wu, Cyclopalladated ferrocenylmines: efficient catalysts for homocoupling and Sonogashira reaction of terminal alkynes, *Tetrahedron* 63 (2007) 1963–1969.
 - [21] P. Siemsen, R.C. Livingston, F. Diederich, Acetylenic coupling: a powerful tool in molecular construction, *Angew. Chem., Int. Ed.* 39 (2000) 2632 (review).
 - [22] P. Cadot, W. Chodkiewicz, Coupling of Acetylenes, in: H.G. Viehe (Ed.), *Chemistry of Acetylenes*, Marcel Dekker, New York, 1969, pp. 597–647.
 - [23] V. Escuret, V. Aucagne, N. Joubert, D. Durantel, K.L. Rapp, R.F. Schinazi, F. Zoulim, L.A. Agrofoglio, Synthesis of 5-haloethynyl- and 5-(1,2-dihalo) vinyluracil nucleosides: antiviral activity and cellular toxicity, *Bioorg. Med. Chem.* 13 (2005) 6015–6024.
 - [24] T. Kurita, M. Abe, T. Maegawa, Y. Monguchi, H. Sajiki, Ligand- and base-free synthesis of 1,3-diynes catalyzed by low loading of heterogeneous Pd/C and CuI, *Synlett* 16 (2007) 2521–2524.
 - [25] W. Yin, C. He, M. Chen, H. Zhang, A. Lei, Nickel-catalyzed oxidative coupling reactions of two different terminal alkynes using O₂ as the oxidant at room temperature: facile syntheses of unsymmetric 1,3-diynes, *Org. Lett.* 11 (2009) 709–712.

Ozkan SARI

Synthèse métallo-catalysée d'acyclonucléosides phosphonates, de nucléosides et d'hétérocycles à visée antivirale

Résumé : Les nucléosides modifiés représentent aujourd'hui une famille incontournable dans la chimiothérapie antivirale. Leur développement progressif au cours de ces 50 dernières années a permis d'endiguer de nombreuses épidémies et d'apporter des traitements efficaces contre de nombreux virus tels que les herpès, les hépatites ou encore le VIH. Toutefois, les infections virales continuent de représenter un problème de santé publique majeur en raison de l'émergence de souches virales résistante aux traitements existants ainsi que l'apparition de nouveaux virus. A ce titre, le développement de nouveaux antiviraux plus actifs, plus sûrs et/ou possédant des modes d'action alternatifs reste plus que jamais d'actualité. Ce manuscrit, divisé en deux grandes parties, présente d'abord la synthèse métallo-catalysée de nouvelles familles de dérivés nucléosidiques (acycliques et osidiques) puis s'étend ensuite à la préparation de dérivés hétérocycliques à visée anti-VIH. Ainsi, dans une première partie, l'utilisation de réactions de métathèses croisées, catalysées au Ru et activées par les ultrasons, ainsi que l'emploi de lipases dans des réactions de protections/déprotections régiosélectives nous ont permis d'élaborer deux nouvelles familles de nucléosides acycliques alkényles. D'autre part, des réactions d'hétérocouplages acétyléniques catalysées au Ni/Cu ont été réalisés dans le cadre de la synthèse d'une bibliothèque de 2'-désoxyuridines portant un motif 1,3-diyne en position C⁵. Dans une deuxième partie, la réaction multicomposante de Biginelli a été utilisée dans le développement d'une série de dérivés de dihydropyrimidines β -dicétoacides à visée anti-VIH par inhibition de l'intégrase virale.

Mots clés : nucléosides, antiviraux, phosphononucléosides, alkényles phosphonates, prodrogues, métathèse, ultrasons, enzyme, couplage diyne, dihydropyrimidine, β -dicétoacide, intégrase du VIH.

Metallo-catalyzed synthesis of acyclic nucleoside phosphonates, nucleosides and heterocycles with potential antiviral activities

Abstract : Modified nucleosides represent the cornerstone of antiviral chemotherapy. Their progressive development over the last 50 years permitted to contain many epidemics and provided effective treatments against many viruses such as herpes, hepatitis or HIV. However, viral infections remain a major public health problem due to the emergence of resistant strains to existing treatments and the appearance of new viruses. As such, the development of new antivirals, most active and safer and/or acting through alternative mechanisms remains, more than ever, necessary. In this context, the work presented in this manuscript are part of the effort to design and synthesize new molecules with antiviral activities. This manuscript, divided in two parts, firstly focus on the metallo-catalyzed synthesis of new families of nucleoside derivatives (acyclic and osidic) and continue with the synthesis of heterocyclic structures targeting anti-HIV activity. Thus, the use of Ru-catalyzed metathesis reactions under ultrasonic activation and the lipases-catalyzed regioselective protection/deprotection reactions allowed us to develop two new families of alkenyl acyclic nucleosides. The synthesis and antiviral evaluation of C⁵-(1,3-diyne)-2'-deoxyuridine derivatives, prepared by Ni/Cu-mediated alkyne C-H heterocoupling reaction, are also described. In the second part, the multicomponent Biginelli reaction has been used to develop a series of dihydropyrimidine derivatives bearing a β -diketoacids unit targeting anti-HIV activity by inhibition of the viral integrase.

Keywords : nucleosides, antivirals, phosphononucleosides, alkenyl phosphonates, prodrugs, metathesis, ultrasonic, enzyme, diyne coupling, dihydropyrimidine, β -diketoacid, HIV integrase.



ICOA, Institut de Chimie Organique et Analytique
UMR 7311 - UFR Sciences - BP 6759 - rue de Chartres
45067 Orléans cedex 2

