



HAL
open science

Synthèse de nouveaux analogues de nucléosides potentiellement antiviraux.

Flavia Cristina Rosa Alvarenga

► **To cite this version:**

Flavia Cristina Rosa Alvarenga. Synthèse de nouveaux analogues de nucléosides potentiellement antiviraux.. Médecine humaine et pathologie. Université Grenoble Alpes, 2016. Français. NNT : 2016GREAV068 . tel-02003332

HAL Id: tel-02003332

<https://theses.hal.science/tel-02003332>

Submitted on 1 Feb 2019

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

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

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE LA COMMUNAUTÉ UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

Spécialité : **Science du Médicament**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

Flavia Rosa Alvarenga

Thèse dirigée par **Jean-Luc Decout**

préparée au sein du **Département de Pharmacochimie
Moléculaire** dans l'**École Doctorale Chimie et Science du
Vivant**

Synthèse de nouveaux analogues de nucléosides potentiellement antiviraux

Thèse soutenue publiquement le **29 Janvier 2016**,
devant le jury composé de :

Pr. Yannick VALLEE

Professeur, Université Grenoble Alpes, *Président du Jury*

Dr Sylvie POCHE

Directeur de recherche CNRS Institut Pasteur, Paris, *Rapporteur*

Dr Jérôme DESIRE

Maître d'enseignement et de recherche, Université de Poitiers,
Rapporteur

Dr. Stéphane CHAMBERT

Maître d'enseignement et de recherche, INSA Lyon, *Examineur*

Dr Jean-François CONSTANT

Chargé de Recherche CNRS, Université Grenoble Alpes, *Examineur*

Dr Philippe DELAIR

Maître d'enseignement et de recherche, Université Grenoble Alpes, *Invité*

Pr Jean-Luc DECOUT

Professeur, Université Grenoble Alpes, *Directeur de thèse*



Résumé

Les analogues synthétiques des nucléosides naturels constituant des acides nucléiques occupent une place importante dans le domaine du médicament comme principes actifs antiviraux ou anticancéreux. Ces nucléosides agissent comme « prodrogues » en perturbant la biosynthèse des acides nucléiques viraux ou des cellules cancéreuses après phosphorylation. Dans la recherche de nouveaux médicaments antiviraux, nous avons cherché à synthétiser de nouveaux analogues des nucléosides naturels, les 2-désoxy-adénosine et -guanosine, et de l'aciclovir et de ses dérivés (vanciclovir, ganciclovir...) qui sont très utilisés dans le traitement de l'Herpès. Des premiers travaux en série adénine et guanine, n'ont pas permis d'obtenir les dérivés cycliques recherchés dans lesquels la base et la chaîne latérale introduite en position 9 de la base sont liés par un atome d'oxygène se trouvant en position 8 pour former un nouveau cycle. Quatre analogues cycliques en série guanine ont été synthétisés dans lesquels la base et la chaîne latérale en position 8 sont liés soit par un hétéroatome (préparés par réaction de substitution nucléophile), soit par une liaison carbone-carbone (préparés par réaction radicalaire) et sont en cours d'évaluation antivirale.

Mots-Clés : Nucléosides, antiviraux, analogues des nucléosides.

Abstract

The synthetic analogues of the natural 2'-deoxyribonucleosides, linked by phosphodiester groups in nucleic acids, constitute major classes of antiviral and anticancer drugs. Such nucleosides act as "prodrugs" disturbing the biosynthesis of nucleic acids after phosphorylation. Searching for new antiviral drugs, the aim of this work was the synthesis of new modified nucleosides analogues of 2'-deoxyadenosine and -guanosine also analogues of aciclovir and its derivatives (vanciclovir, ganciclovir...) widely used for Herpes treatment. In the first works in adenine and guanine series, the cyclic analogues in which the base and a side chain introduced at position 9 of the base are linked at position 8 by an oxygen atom could not be obtained. Four cyclic analogues in the guanine series were prepared in which the base and the 9-side chain are linked at position 8 are either linked by a heteroatom (synthesized by nucleophilic substitution) or by a carbon-carbon bond (synthesized by free radical reaction). The evaluation of the antiviral activity of these compounds is underway.

Keywords: nucleosides, antiviral, nucleoside analogues.

GLOSSAIRE

8-BrACV	8-bromoaciclovir
8-BrGCV	8-bromoganciclovir
8-BrPCV	8-bromopenciclovir
α TIF/VP16	Facteur régulateur de transcription
ACV	Aciclovir
ACV-MP	Aciclovir monophosphate
ACV-TP	Aciclovir-triphosphate
ADN	Acide 2'-désoxyribonucléique
AIBN	2,2'-Azobis(2-méthylpropionitrile)
ARN	Acide ribonucléique
BVDU	Brivudin®
BVDU-Dp	Brivudin® diphosphate
BVDU-MP	Brivudin® monophosphate
BVDU-TP	Brivudin® triphosphate
CCM (ou TLC)	Chromatographie sur couche mince
CDV	Cidofovir
CDV-MP	Cidofovir monophosphate
CDK	Kinases cycline-dépendante
CMV/HHV-5	Cytomégalovirus
COSY	Correlation spectroscopy
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropyléthylamine/Hünig's base
DMA	<i>N,N</i> -Diméthylacetamide
DMAP	4- <i>N,N</i> -Diméthylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
dGTP	2'-Désoxyguanosine triphosphate
dTMP	2'-désoxythymidine monophosphate
dUMP	2'-désoxyuridine monophosphate
EBV/HHV-4	Virus Epstein-Barr
FCV	Famciclovir
GCV	Ganciclovir
HCMV	« Human cytomegalovirus »

HHV-6	Herpès Virus-6 Humain
HHV-7	Herpès Virus-7 Humain
HMBC	« Heteronuclear Multiple Bond Correlation »
HMQC	« Heteronuclear multiple-quantum correlation spectroscopy »
HPLC	Chromatographie liquide haute performance
HV	Herpes Virus
Hve	« Herpes virus entry »
HSV	Virus Herpès Simplex
HSV-1/HHV-1	Virus Herpès Simplex type-1
HSV-2/HHV-2	Virus Herpès Simplex type-2
IDU	Idoxuridine®
ISIS 2922	Fomivirsen
IUPAC	International union of pure and applied chemistry
KSHV/HHV-8	Virus associé au syndrome de Kaposi ou « Kaposi Sarcoma »
<i>m</i> -CPBA	Acide <i>mé</i> ta-chloroperbenzoïque
MT	Microtubules
NCP	Complexe du pore nucléaire
ND	« nuclear domain »
NP	Enveloppe nucléaire
PFA	Foscarnet®
PCV	Penciclovir
PK	Protéine Kinase
Ppm	Partie par million
RMN (ou NMR)	Résonance magnétique nucléaire
SNC	Système nerveux central
SSB	protéine fixant l'ADN simple brin « single-stranded DNA binding protein »
TEA	Triéthylamine
TFA	Acide trifluoroacétique
TFT	Trifluridine®
THF	Tétrahydrofurane
TK	Tyrosine kinase
TNF- α	Facteur de nécrose tumorale alpha
UV	Ultraviolet
VACV	Valaciclovir
VGCV	Valganciclovir

Vhs	Virion « host shut-off »
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VZV	Virus Varicella-Zoster

SOMMAIRE

1. Introduction	22
PARTIE 1. Le virus de l'herpès	26
1.1 Les Virus	26
1.2 Le virus de l'herpès	26
1.3 La structure du virus	28
1.4 Le cycle de vie du virus de l'herpès	31
1.4.1 Attachement et entrée du virus	32
1.4.2 Le transport du virus	33
1.4.3 L'expression des gènes	34
1.4.4 La réplication de l'ADN viral	35
1.4.5 Assemblage, encapsidation et bourgeonnement	37
1.5 Latence	39
1.6 Epidémiologie	40
1.7 Diagnostic	41
1.8 Traitement	42
1.9 Médicament en utilisation clinique	42
1.9.1 Aciclovir et Valaciclovir	43
1.9.2 Ganciclovir et Valganciclovir	44
1.9.3 Penciclovir et Fanciclovir	45
1.9.4 Idoxuridine®	46
1.9.5 Brivudin®	46
1.9.6 Trifluridine®	47
1.9.7 Cidofovir	48
1.9.8 Foscarnet®	48
1.9.9 Docosanol®	49
1.9.10 Fomivirsen	50
1.10 Mécanismes de résistance	53

1.11	Nouveaux agents anti-herpès.....	53
1.11.1	Inhibiteurs de l'ADN polymérase	54
1.11.2	Inhibiteurs de l'encapsidation virale.....	57
1.11.3	Inhibiteurs de la protéase herpétique	59
1.11.4	Inhibiteurs de formation du complexe hélicase-primase	59
1.11.5	Inhibiteurs du complexe « terminase »	60
1.11.6	Inhibiteurs des cibles cellulaires d'hôte impliquées dans l'infection par des virus de l'herpès.....	61
1.11.7	Inhibiteurs du protéasome	62
1.11.8	Inhibiteurs du portail vertex	62
1.11.9	Mécanismes d'action inconnu	63
PARTIE 2.	Nucléosides	66
2.1	Cyclonucléosides	67
2.2	Activité des Analogues des cyclopurines.....	68
2.3	Synthèse des cyclonucléosides avec une liaison oxy, thio ou amino.....	68
2.3.1	Analogues constitués d'un cycle incorporant un atome d'oxygène	69
2.3.2	Analogues constitués d'un cycle incorporant un atome de soufre.....	74
2.3.3	Analogues constitués d'un cycle incorporant un atome d'azote.....	76
2.3.4	Cyclisation à partir d'analogues de nucléosides portant une chaîne linéaire à la place du sucre.....	78
2.4	Nucléosides constitués d'un cycle carboné	81
2.4.1	Réactions de cyclisation photo-initiées.....	81
2.4.2	Réactions de cyclisation amorcées par des agents radicalaires	84
PARTIE 3.	Objectifs.....	90
2.	Travaux personnels.....	94
PARTIE 1.	Approche de cyclisation via un hétéroatome, principalement un atome d'oxygène	98
1.1	Voies de synthèses 1 et 2	99
1.2	Voie de synthèse 3.....	103

PARTIE 2. Synthèse de dérivés du ganciclovir et penciclovir comportant un cycle à 7 chaînons	114
PARTIE 3. Approche de cyclisation via la création d'une liaison C-C	118
3.1 Cyclisation photo-amorcée	122
3.2 Cyclisation radicalaire amorcée chimiquement	124
3. Conclusion et perspectives	134
4. Bibliographie	142
5. Partie expérimentale	166
PARTIE 1. Material and Methods	168
PARTIE 2. Synthesis protocols	170
2.1 Synthesis of 252	170
2.2 Synthesis of 236	171
2.3 Synthesis of 242	172
2.4 Synthesis of 243	173
2.5 Synthesis of 227b	174
2.5.1 Protocol 1	174
2.5.2 Protocol 2	174
2.6 Synthesis of 245	175
2.7 Synthesis of 246	176
2.8 General protocol for 8-bromoguanine alkylation	177
2.8.1 Synthesis of 232c	177
2.8.2 Synthesis of 228c	178
2.8.3 Synthesis of 233a	179
2.8.4 Synthesis of 229c	180
2.9 Synthesis of 227a	181
2.10 General protocol for 8-bromoadenine alkylation	182
2.10.1 Compounds of 232a and 232b	182
2.10.2 Compounds 228a and 228b	185
2.11 General protocol for the dioxalane deprotection	188

2.11.1	Compound 229a.....	188
2.11.2	Compound 229b.....	189
2.12	Synthesis of 254.....	190
2.13	General protocol for the protection	191
2.13.1	Compound 289c (guanine).....	191
2.13.2	Compound 289a (adenine N9)	192
2.13.3	Compound 289b (adenine N7)	193
2.13.4	Compound 285a.....	194
2.13.5	Compound 289c.....	195
2.13.6	Compound 285b.....	196
2.14	General protocol for the bromination of Ganciclovir (GCV) and Penciclovir (PCV).....	197
2.14.1	Compound 255a.....	197
2.14.2	Compound 255b.....	198
2.15	General protocol for cyclization of GCV and PCV.....	199
2.15.1	Protocol 1.....	199
2.15.2	Protocol 2.....	199
2.16	General protocol for radical cyclization	202
2.16.1	Compound 286a.....	202
2.16.2	Compound 286b.....	203
2.17	General protocol for deprotection of TBDMS	204
2.17.1	Compound 287a.....	204

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Virus de l'Herpes (adapté de sanofi arts et [14])	28
Figure 2 : Cartographie des gènes du HSV-1, HCMV et EBV. L'orientation relative des gènes connus présentées sous la forme de flèches. Les flèches vertes représentent les gènes dont la fonction est connue. Les HV partagent 43 gènes qui sont organisés en 7 blocs, représentés dans la figure par des flèches bleues. TR, TRL, TRS sont des fragments de répétitions terminales ; IR, IRL, IRS sont des fragment de répétitions internes ^[17]	29
Figure 3 : Représentation de la capsidite et ses sous-unités les hexons et pentons (adapté de http://viralzone.expasy.org et http://www.sandforsk.se/)	30
Figure 4 : Cycle de réplication des HV ^[27]	32
Figure 5 : Attachement et entrée du virus de l'Herpes ^[28]	33
Figure 6 : Diagramme illustrant le transport des capsides vers le noyau des cellules hôtes par le moteur cytoplasmique « dynein/dynactin » (transport « rétrograde ») ^[21]	34
Figure 7 : Schéma de réplication de l'ADN viral (adapté de http://viralzone.expasy.org).....	37
Figure 8 : Assemblage de la capsidite ^[19]	38
Figure 9 : Bourgeonnement du virus d'herpes ^[62]	39
Figure 10 : Les principaux médicaments utilisés dans le traitement des infections causées par les virus de l'herpès.....	43
Figure 11 : Mécanisme d'action de l'ACV ^[97]	44
Figure 12 : Mécanisme d'action du CDV ^[97]	48
Figure 13 : Les alkoxyalkyl esters du CDV comme exemples de modification des principes actifs déjà utilisés ^[58, 84]	54
Figure 14 : Valomaciclovir comme exemple de modification des principes actifs déjà utilisés ^[58, 84]	55
Figure 15 : Analogues méthylènecyclopropane : nouvelle classe de molécules avec une activité HS ^[58, 84]	56

Figure 16 : Structure du BVDU comparée à celle des analogues bicycliques de nucléosides FV-100 et CF-1743 ^[58, 84]	57
Figure 17 : Dérives naphtyridinone avec activité inhibitrice de l'ADN polymérase ^[58, 84]	57
Figure 18 : Composés benzimidazoles envisagés comme inhibiteurs de la terminase virale ^[58, 84]	58
Figure 19 : La prodrogue Leflunomide® et sa forme active ^[58, 84]	58
Figure 20 : inhibiteur de la protéase herpétique ^[58, 84]	59
Figure 21 : Inhibiteurs du complexe hélicase-primase ^[58, 84]	60
Figure 22 : Inhibiteurs du complexe terminase ^[58, 84]	60
Figure 23 : Inhibiteurs des cibles cellulaires de l'hôte impliqué dans l'infection par virus de l'herpès ^[58, 84]	61
Figure 24 : Composés thiourées inhibiteurs du portail vertex ^[58, 84]	62
Figure 25 : Nouvelle série de composés conçus pour le traitement des infections par VZV ^[58, 84]	63
Figure 26 : Famille des inhibiteurs non-nucléosidiques du HCMV et VZV ^[58, 84]	63
Figure 27 : Quinazolines avec activité antivirale contre le HCMV ^[58, 84]	64
Figure 28 : Structures du premier cyclonucléoside synthétisé, du premier cyclonucléoside naturel découvert ^[195] et la structure numérotée de la guanosine	67
Figure 29 : Cyclonucléosides ^[194]	68
Figure 30 : Analogues synthétisés par réaction radicalaire photo-amorcée ^[196, 262-269]	82
Figure 31 : Effets conformationnels sur la stéréochimie de la formation des 5',8- <i>cyclo</i> -2'-désoxyadenosine ^[196, 280]	86
Figure 32 : Comparaison entre le mécanisme de la réaction de la 2'-désoxyguanosine et de l'ACV avec l'ADN polymérase	90
Figure 33 : Analogues proposés et son mécanisme d'action	91

Figure 34. Exemples d'analogues cycliques de nucléosides décrits dans la littérature. ^[195, 259, 261]	92
Figure 35 : Cyclonucléosides ayant des effets antiviraux ^[194, 284, 285]	92
Figure 36 : Structure des analogues cycliques proposés.....	92
Figure 37 : Spectres RMN superposés des composés (232a et 232b)	105
Figure 38 : Spectre RMN HMBC du composé (237a)	106
Figure 39 : Spectre de masse à haute résolution des composés (232a) et (256).....	108
Figure 40 : Spectre RMN du proton dans le DMSO d ₆ du composé (256)	109
Figure 41 : Superposition des spectres RMN du proton des composés (23a), (256) et (232b)	110
Figure 42 : Spectre RMN du proton du composé cyclique dérivé du GCV (258a).....	115
Figure 43 : Spectre RMN du proton du composé cyclique dérivé du PCV (258b)	116
Figure 44 : Chromatogrammes d'HPLC sur colonne de phase inverse C18 « end-capped », élution par H ₂ O/MeOH/ 90/10 avec 0.1% de TFA. Analyse du milieu réactionnel obtenu après réaction photochimique du composé 8BrGV (20 mM) dans l'eau (25 mL) sous irradiation UV par une lampe à vapeur de mercure basse pression 10 W, sans filtre, pendant 48 heures. Les chromatogrammes a, b, c et d correspondent respectivement au GCV, 8-BrGCV, iodure de sodium et mélange réactionnel	123
Figure 45 : Spectre RMN du proton du composé cyclique dérivé du GCV (287a).....	128
Figure 46 : Représentation de la Structure du composé (287a, l'énantiomère <i>R,R</i>) obtenue par étude aux rayons X d'un cristal obtenu à partir d'une solution dans le DMSO d ₆ pour la RMN.....	129
Figure 47 : Spectre RMN du proton du composé cyclique dérivé du PCV (287b)	130
Figure 48 : Spectre RMN du proton du composé cyclique dérivé du GCV (288a).....	132

TABLE DES SCHEMAS

Schéma 1 : Synthèse du premier cyclonucléoside contenant une liaison 8,2'-O-anhydro ^[195]	69
Schéma 2 : Différentes stratégies de synthèse utilisant des groupements protecteurs permettant de séparer les isomères ^[195]	70
Schéma 3 : Synthèse du 8,2'-O-anhydro-8-(hydroxyméthyl)-9-(β-D-arabino-furanosyl)adénine ^[195]	71
Schéma 4 : Synthèse des analogues nucléosidiques ayant un carbocycle bloquée en conformation <i>anti</i> ^[195, 222]	71
Schéma 5 : Synthèse des nucléosides avec une liaison 8,5'-O ^[195, 224, 225]	71
Schéma 6 : Synthèse des 5'-O,8-cycloadénosine avec cyclisation intramoléculaire catalysée par le chlorure de cuivre (I) ^[229]	72
Schéma 7 : Synthèse du 8(R),5'-O-cyclonucléosides via la cyclisation intramoléculaire d'un intermédiaire 5'-triflate ^[230]	73
Schéma 8 : Synthèse du cyclonucléoside ayant un fragment psicofuranosyle à partir d'un antibiotique isolé à partir de <i>Streptomyces hygroscopicus</i> var. <i>decoyus</i> ^[195, 232]	73
Schéma 9 : Synthèse du 8,2'-O-anhydro-8-oxy-9-(α-D -xylofuranosyl)adénine, un α-cyclonucléoside ^[195]	74
Schéma 10 : Synthèse des α-cyclonucléosides et des α-cyclonucléosides possédant des benzimidazoles halogénés ^[195, 234]	74
Schéma 11 : Synthèse de la 2'-désoxyadénosine <i>via</i> un cyclonucléoside ^[195]	75
Schéma 12 : Différents groupements protecteurs utilisés pendant la synthèse des cyclonucléosides ^[195]	75
Schéma 13 : Première synthèse de cyclonucléosides de purine ayant une liaison amine en C8, entre l'hétérocycle et le sucre ^[195]	76
Schéma 14 : Synthèse des composés possédant une liaison 8,2'-oxoamido et des cyclonucléosides ayant un pont hydrazine ^[195]	77

Schéma 15 : Synthèse des dérivés issus de l'intermédiaire clé (100) ^[195, 249]	77
Schéma 16 : Synthèse de cyclonucléoside possédant un pont 8,2'-carboxyamido ^[195, 251]	78
Schéma 17 : Cyclisation des analogues de nucléosides portant une chaîne linéaire ^[195, 253, 256, 257]	79
Schéma 18 : Cyclisation du 8-bromoaciclovir (8-BrACV) ^[195, 261]	80
Schéma 19 : Synthèse de la série d'analogues de 8, <i>N</i> -anhydronucléosides et préparation de l'adénine cyclique (141) ^[258]	80
Schéma 20 : Réaction radicalaire amorcée photochimiquement des nucléosides portant un groupe thiophényle ^[196, 262]	81
Schéma 21 : Intermédiaire clé retrouvé dans la synthèse des analogues nucléosidiques ^[196, 262-269]	82
Schéma 22 : Synthèse des cyclonucléosides dans lesquels le groupe thiophényle est porté par la base ^[196, 263]	83
Schéma 23 : Synthèse de cyclonucléosides en utilisant des dérivés 5'-céto comme précurseurs pour la formation sélective d'un radical 5'-nucleosidyle ^[196, 270]	83
Schéma 24 : Synthèse « one-pot » de cyclonucléosides à partir de 8-bromo-2'-désoxynucléosides ^[196, 271-274]	84
Schéma 25 : Synthèse de cyclonucléosides en utilisant de la lumière noire ^[278]	84
Schéma 26 : Synthèse du 5',8- <i>cyclo</i> -2'-deoxyadenosine et son mécanisme de formation ^[279, 280]	85
Schéma 27 : Formation des dérivées 5',8- <i>cyclo</i> -2'-désoxyguanosine et mécanisme de formation proposé ^[281]	87
Schéma 28 : Synthèse des 8,6'- <i>cyclo</i> -2',6'-didésoxyadénosine par cyclisation en présence de zinc ^[282]	87
Schéma 29 : Synthèse du dérivé 8,2'-éthanocycloadénosine ^[196, 283]	88
Schéma 30 : Formation des cycles à six atomes comme intermédiaires de réactions à partir de l'adénine portant une chaîne linéaire ^[256]	97

Schéma 31 : Analogues d'adénine portant un cycle à sept atomes à partir de l'adénine portant une chaîne linéaire ^[256]	97
Schéma 32 Analyse rétrosynthétique des dérivés recherchés	98
Schéma 33 : Voie de synthèse envisagée pour accéder au composé cyclisé (233)	99
Schéma 34 : Voie de synthèse 1 proposée pour accéder au cyclonucléoside (233).....	99
Schéma 35 : Bromation des bases adénine et guanine pour la formation des intermédiaires clés.....	100
Schéma 36 : Méthodologies testées pour l'introduction d'un nucléophile non protégé en position 8.....	101
Schéma 37 : Introduction du nucléophile en position 8 sous une forme protégée ou sa protection ultérieure.....	101
Schéma 38 : Alkylation de la guanine et de l'adénine avec le 4-bromo-1-butène (239)	102
Schéma 39 : Méthodologie de synthèse utilisée pour oxyder la double liaison terminale de la chaîne introduite en position N9 des bases guanine et adénine. Conditions utilisées avec l'Oxone® (monoperoxy sulfate de potassium) : solution tampon (K ₂ CO ₃ (0,6M), sel sodique d'EDTA (4x10 ⁻³ M).....	102
Schéma 40 : Voie de synthèse convergente pour accéder au dérivé (253)	103
Schéma 41 : Voie de synthèse 2 envisagée pour accéder au composé (233)	103
Schéma 42 : Voie de synthèse 3 envisagée pour accéder au cyclonucléoside (233)	104
Schéma 43 : Alkylation de la 8-bromoadénine et de la 8-bromoguanine avec le composé (239).....	104
Schéma 44 : Déprotection en milieu acide du groupement dioxolane des composées (231a, 231b et 231c)	105
Schéma 45 : Essais de cyclisation intramoléculaire pour accéder au composé cyclique (238)	107
Schéma 46 : Déprotonation du N1 de la guanine qui désactive le système en substitution nucléophile	108

Schéma 47 : Mécanisme proposé pour la formation du composé (273)	111
Schéma 48 : Formation de cycles à 7 atomes des dérivées GVC et PCV	111
Schéma 49 : Bromation du GCV et du PCV	112
Schéma 50 : Formation du cycle à 7 chaînon des dérivées du 8-BrGCV et du 8-BrPCV	114
Schéma 51 : Formation des 5',8-cyclopurines dans l'ADN et structures chimiques des stéréoisomères des nucléosides dans lesquels ces lésions sont formées ^[298]	118
Schéma 52 : Formation du radical en C5' et cyclisation intramoléculaire des 8-bromonucléosides	119
Schéma 53 : Synthèse des 5',8-cyclo-2'-deoxyadénosine ^[271]	120
Schéma 54 : Cyclisation des radicaux C5'-guanosynil via les état de transition en chaise ^[302]	121
Schéma 55 : Formation des cyclonucléosides par voie radicalaire chimique ^[281]	121
Schéma 56 : Schéma de synthèse proposé pour accéder aux cyclonucléosides recherchés	122
Schéma 57 : Réaction photo-amorcée utilisée pour la cyclisation du 8-BrGCV	122
Schéma 58 : Schéma de synthèse pour accéder au cyclonucléoside (288).....	124
Schéma 59 : Protection du 8-BrGCV et du 8-BrPCV par TBDMS	124
Schéma 60 : Réaction de cyclisation par l'AIBN/Bu ₃ SnH et produits formés.* Détermination du taux de conversion réalisée par RMN	127
Schéma 61 : Déprotection des groupement TBDMS	131
Schéma 62 : Synthèse du composé 256	136
Schéma 63 : Synthèses complémentaires pour accéder à des analogues des cyclonucléosides	137
Schéma 64 Synthèse des composés cycliques à 7 chaînons à partir du GCV et PCV	138
Schéma 65 : Réactions réalisée pour accéder au composé 288a	138

Schéma 66 : Synthèses réalisées pour accéder aux composés cycliques des dérivés GCV et PCV. *Détermination du taux de conversion réalisée par RMN139

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification de l' <i>Herpesviridae</i> Humaine	27
Tableau 2 : Les gènes de réplication lytique essentiels aux HV.....	36
Tableau 3 : Médicament utilise au traitement de l'herpès	51
Tableau 4 : Les méthodes utilisé pour la cyclisation	107
Tableau 5 : Compraison de la fragmentation MS/MS des composés 269 et 273	110
Tableau 6 : Conditions des essais de cyclisation sous microondes pour la formation du composé cyclisé dérivé du GCV et PCV.....	114
Tableau 7 : Méthodologie utilisée pour la cyclisation photochimique du 8-bromoganciclovir	122
Tableau 8 : Conditions essayées pour la cyclisation intramoléculaire du 8-BrGCV disilylé .	126

1. INTRODUCTION

L'objectif de cette thèse est de synthétiser des analogues de nucléosides en série purine (adénine, guanine) dans lesquels la base nucléique et une chaîne faisant office de sucre sont liés par deux liaisons chimiques formant ainsi un cycle additionnel à 6 ou 7 atomes. Ce nouveau cycle pourra être formé par création d'une liaison carbone-carbone ou par l'intermédiaire d'un hétéroatome qui sera choisi en priorité comme étant un atome d'oxygène de façon à mieux mimer le sucre.

Il s'agit ainsi d'obtenir des analogues de nucléosides aux propriétés antivirales ou antitumorales en choisissant comme premières cibles des virus de la famille de l'herpès exprimant et utilisant une kinase et une polymérase virales qui sont moins sélectives que les enzymes eucaryotes correspondantes.

Le nouveau cycle formé devra ainsi porter un groupement hydroxyméthylène pouvant être phosphorylé par les kinases virales pour donner le 5'-triphosphate correspondant (groupement étant à minima transformé en monophosphate par une kinase virale). Ce cycle devra si possible aussi porter une fonction hydroxyle secondaire de façon à mieux mimer le 2-désoxyribose des nucléosides naturels correspondants.

Cette thèse a donc pour objectif ambitieux de démontrer que de tels nucléosides peuvent avoir des propriétés antivirales en particulier contre des virus de la famille de l'herpès.

PARTIE 1. LE VIRUS DE L'HERPES

1.1 LES VIRUS

A la fin du XIXe siècle trois chercheurs, Adolf Mayer, Dimitri Ivanovsky et Martinus Beijerinck ont remarqué parallèlement que l'agent infectieux responsable de la maladie de la mosaïque du tabac était un type inconnu de vie biologique. Un agent ultrafiltrable contagieux qui passait par les filtres Chamberlin, connus pour retenir les bactéries. Beijerinck a aussi remarqué que ces « agents ultrafiltrables » se multipliaient en association avec le métabolisme de l'hôte. Cette observation suggère un agent de la maladie plus petit que tout ce qui était connu auparavant. Ceci fut la première étape d'une longue série d'observations et d'expériences qui ont conduit à la découverte des virus.^[1, 2]

Les virus sont des parasites intracellulaires qui ne peuvent pas se répliquer indépendamment de l'hôte, contrairement à la plupart des micro-organismes. Les virus présentent un "cycle de vie" complexe qui inclut à la fois une phase extracellulaire et une phase intracellulaire. Ils sont constitués d'un acide nucléique (acide désoxyribonucléique ADN ou acide ribonucléique ARN) porteur de l'information génétique, d'une structure protéique, la capsid, qui protège l'acide nucléique (l'ensemble acide nucléique-capsid est appelé nucléocapsid) et parfois une enveloppe. En somme, les structures du virus autour de l'acide nucléique protègent l'information génétique et, permettent au virus de se fixer sur des récepteurs cellulaires. C'est contre ces structures qu'est dirigée la réponse immunitaire.^[3-12]

1.2 LE VIRUS DE L'HERPES

Le virus de l'Herpès (HV) est largement diffusé dans la nature et représente un agent pathogène pour les animaux et les humains. Ce sont des grands virus à ADN (80 à 100 nanomètres) qui ont une propriété biologique commune, leur capacité à établir des infections latentes qui peuvent conduire à des symptômes récurrents, en particulier sur les personnes immunodéprimées. Les infections par le HV sont liées à un grand nombre de maladies humaines qui constituent un problème de santé public. La morbidité produite par ces infections aiguës et récurrentes allant des lésions de la peau à l'encéphalite, du déficit immunitaire à la maladie auto-immune, occasionnent beaucoup de souffrances humaines. Le contrôle et le traitement de la maladie est donc aujourd'hui une nécessité, soit par immunisation (vaccins) soit par administration d'un traitement antiviral efficace.

Actuellement, huit espèces de HV ont été identifiées. Elles sont classifiées en trois sous-familles dont le classement est basé sur les différences des propriétés biologiques des virus (comme la taille et le contenu du génome, la réponse immunologique, le tropisme cellulaire) : *alpha*-, *beta*- et *gamma*herpesvirinae (Tableau 1).^[13]

Tableau 1 : Classification de l'*Herpesviridae* Humaine

Sousfamille	Nom	Abbréviation	Maladie
<i>Alpha</i> herpesvirinae	Virus Herpès Simplex type-1	HSV-1/HHV-1	Oro-facial
	Virus Herpès Simplex type-2	HVS-2/HHV-2	Genital
	Virus Varicella-Zoster	VZV/HHV-3	Varicelle et zona (herpes zoster)
<i>Beta</i> herpesvirinae	Cytomegalovirus	CMV/HHV-5	Infection congénitale
	Herpesvirus-6 Humain	HHV-6	Roséole infantile
	Herpesvirus-7 Humain	HHV-7	
<i>Gamma</i> herpesvirinae	Virus Epstein-Barr	EBV/HHV-4	Mononucléose
	Virus associé au syndrome de Kaposi ou « Kaposi Sarcoma »	KSHV/HHV-8	Maladie de Kaposi

Bien que les membres de la famille *Herpesviridae* diffèrent par le tropisme tissulaire et de nombreux aspects de leurs interactions avec l'hôte, les mécanismes par lesquels ils répliquent leur ADN lors de l'infection « lytique », comportant en particulier les trois phases classiques de transcription et expression des gènes très précoces et tardifs, sont en grande partie conservés. Les dispositifs moléculaires impliqués dans la réplication de l'ADN du HV et sa régulation fournissent des modèles importants pour l'étude de la réplication de l'ADN des cellules eucaryotes. De nombreuses protéines codées par le HV lors de sa réplication sont des analogues fonctionnels d'éléments de la machinerie de réplication génétique des cellules eucaryotes. Par ailleurs, les enzymes virales impliqués dans la réplication de l'ADN viral ont fourni des cibles importantes pour le développement d'antiviraux.

1.3 LA STRUCTURE DU VIRUS

Les particules virales possèdent un diamètre de 150 à 200 nm. Elles sont constituées de quatre composants : le génome viral, la capside, le tégument et l'enveloppe (Figure 1).

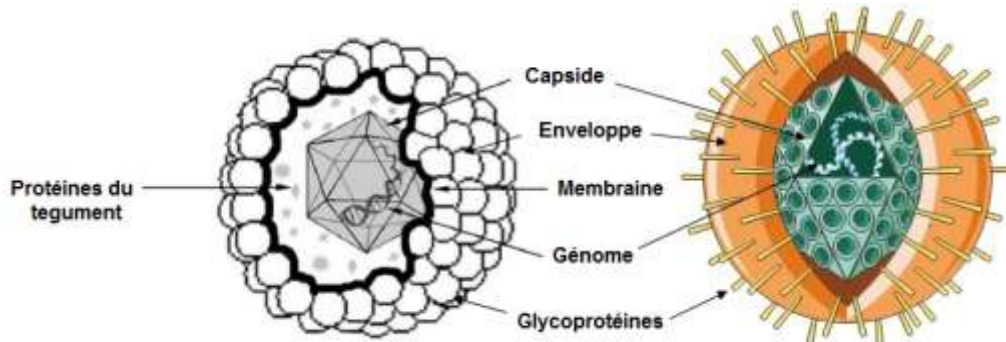


Figure 1 : Virus de l'Herpes (adapté de sanofi arts et [14])

Le génome viral est constitué d'un double brin d'ADN linéaire avec des nucléotides non appariés à chaque extrémité. L'ADN est composé de deux types de segments unis de façon covalente, le segment long « L » et les segments courts « S » (Figure 2). Chacun de ces segments consistent en une séquence unique (UL ou US) flanquée d'une paire d'éléments répétés et orientés de façon opposée. Les deux segments du génome peuvent donc être inversés et combinés de diverses façons de manière à former jusqu'à quatre isomères qui diffèrent uniquement par l'orientation relative de leurs séquences. Des régions codantes des protéines occupent la grande majorité du génome des HV et les séquences de gènes correspondantes sont accessibles dans des bases de données.^[15, 16] Les gènes viraux sont généralement nommés selon leur localisation dans chacun des segments UL et US, suivi d'un numéro qui correspond à leur position relative de gauche à droite, par exemple le gène UL23 correspond à la thymidine kinase (TK). Les protéines virales sont nommées selon leur propriété générale, par exemple la protéine du virion, ou selon leur fonction respective.

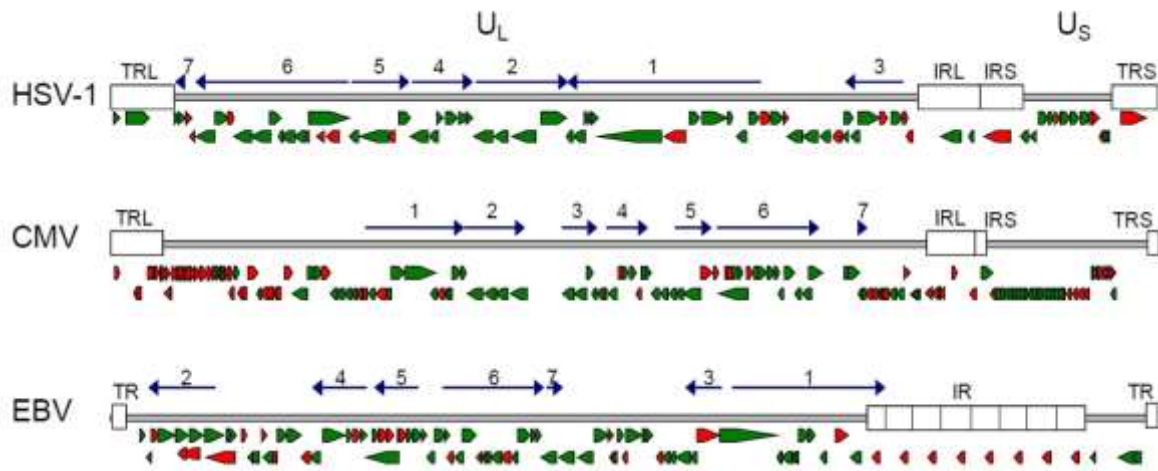


Figure 2 : Cartographie des gènes du HSV-1, HCMV et EBV. L'orientation relative des gènes connus présentés sous la forme de flèches. Les flèches vertes représentent les gènes dont la fonction est connue. Les HV partagent 43 gènes qui sont organisés en 7 blocs, représentés dans la figure par des flèches bleues. TR, TRL, TRS sont des fragments de répétitions terminales ; IR, IRL, IRS sont des fragments de répétitions internes ^[17]

La capsid est une coque protéique hautement ordonnée. Elle a une taille moyenne de 110 nm ayant une géométrie icosaédrique symétrique imposée par les 162 sous-unités constitutives, les capsomères (Figure 3). La géométrie est caractérisée par un nombre de triangulation ($T = 16$) correspondant à la plus petite unité possible symétrique obtenue par arrangement de trois molécules identiques d'une protéine quelconque (triangle équilatéral symétrique obtenu par rotation de 120° ; un icosaèdre est formé de 20 triangles équilatéraux et donc de $3 \times 20 = 60$ protéines). Un nombre de triangulation de 16 correspondra donc à un icosaèdre formé de $60 \times 16 = 960$ unités protéiques. Les faces et les bords de l'icosaèdre sont formés par 150 hexons et 12 pentons (162 sous-unités), comme présenté dans la Figure 3. Pour permettre la communication avec l'environnement extérieur, au sein du « portail vertex », le capsomère est substitué par un pli unique de cinq sommets et il est remplacé par un « portail dodécamère » de protéine, qui forme un creux suffisamment grand pour permettre le passage du double brin d'ADN. Le « portail vertex » a, au moins, deux fonctions essentielles dans le cycle de vie du virus : i) au cours de l'infection, il permet l'éjection du génome viral dans le noyau de la cellule de l'hôte ; ii) lors de l'assemblage du virus, le portail vertex sert à emballer activement l'ADN du virus dans la capsid. ^[18-20]

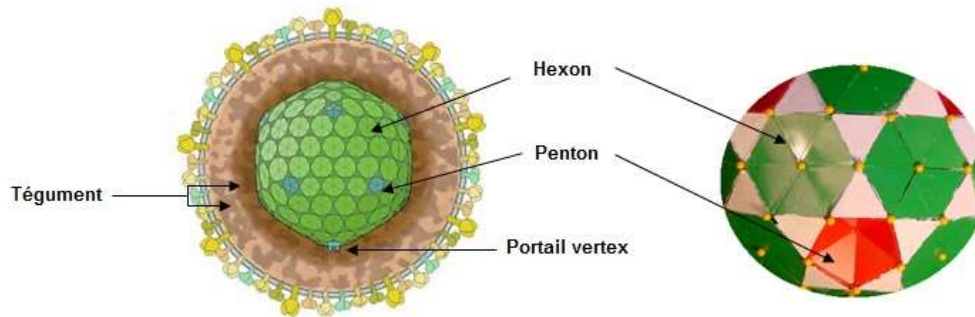


Figure 3 : Représentation de la capsidie et ses sous-unités les hexons et pentons (adapté de <http://viralzone.expasy.org> et <http://www.sandforsk.se/>)

Le tégument est une couche protéique amorphe distribuée asymétriquement autour de la capsidie (Figure 3). Les protéines du tégument sont impliquées dans le démarrage de la réplication du virus et dans l'inhibition des défenses naturelles de l'hôte suite à l'entrée dans la cellule. Ces protéines sont acquises tout au long du périple du virus dans la cellule hôte et possèdent des fonctions indispensables à la maturation du virus. Les protéines du tégument varient selon les espèces du virus de l'herpès.^[21, 22] La composition du tégument dans les trois sous-familles *Herpesviridae* a été étudiée. Le HSV-1, le HCMV ou l'EBV, ont, respectivement, au moins 26, 38 ou 17 des composants du tégument codés par les gènes viraux qui sont recrutés par les virions. Certaines de ces protéines, telles que pUL36, pUL47, pUL48 et pUL49, sont classées comme des composants majeurs, importants structurellement, alors que certains, comme le « virion host shut-off » (vhs) et la protéine kinase pUL13, sont des composantes mineures et pourtant aussi importantes. Certaines protéines du tégument sont conservées chez tous les virus de la famille de l'herpès et leurs fonctions sont progressivement dévoilées. Le tégument est une partie indispensable du virion mature, et il joue des rôles importants dans la production de particules virales. Pour comprendre les mécanismes par lesquels les virus sont assemblés beaucoup d'efforts ont été faits pour élucider les interactions moléculaires mises en jeu entre les différentes protéines du tégument.^[22]

L'enveloppe entoure à son tour la capsidie et le tégument, et consiste en une membrane lipidique acquise à partir des membranes cellulaires. L'enveloppe virale contient de glycoprotéines de surface qui varient en type et en quantité selon les différents types de HV.^[14, 23] Les glycoprotéines sont responsables de l'attachement et de la pénétration du virus dans la cellule hôte. Trois de ces glycoprotéines, gB et l'hétérodimère gH/gL, sont présents dans tous les HV et sont indispensables pour la fusion du virus avec la membrane de la cellule hôte.^[14, 23, 24]

1.4 LE CYCLE DE VIE DU VIRUS DE L'HERPES

Le cycle de vie général des HV peut être divisé en un cycle lytique et une phase de latence. Lors du cycle lytique, un grand nombre de protéines virales sont exprimées. L'infection lytique d'une cellule entraîne la création de virus descendants, ce qui conduit, généralement, à la destruction de la cellule hôte. Dans certains types de cellules, les HV peuvent établir une phase de latence. Cette phase est définie comme un état persistant dans lesquels le génome viral est maintenu dans le noyau de la cellule hôte. Occasionnellement, les génomes viraux peuvent se réactiver et un nouveau cycle lytique est démarré. Typiquement, seulement quelques protéines virales et certains ARN non codants sont exprimés pendant la phase de latence, ce qui facilite la maintenance du génome et laisse le système immunitaire de l'hôte en mode non activé « stealth ». Lorsque les événements de réactivation virale se produisent à des niveaux relativement faibles, ils sont normalement bien contrôlés par le système immunitaire. Cependant, chez les sujets immunodéprimés, le virus peut être réactivé et peut ainsi amorcer de nouvelles infections symptomatiques. Les mécanismes par lesquels la phase de latence est amorcée ainsi que la façon dont la réactivation est induite ne sont pas encore complètement compris.^[25]

Les virus modulent le cycle cellulaire à leur avantage afin d'obtenir les ressources et les conditions adéquates pour leur réplication. Pendant son cycle de vie, le HV exécute une chaîne complexe de transformations orientées vers l'optimisation de sa multiplication, avec un contrôle maximal des processus cellulaires de son hôte.^[26] Les virus ont un large tropisme cellulaire, ils peuvent infecter différents types de cellules comme les lymphocytes, les cellules épithéliales, les fibroblastes ou les neurones.

Le cycle de réplication (Figure 4) viral commence avec l'attachement et l'entrée du virus. Pour ce faire, des protéines virales et des récepteurs membranaires cellulaires se lient, ce qui initie la fusion des deux membranes. En suite les nucléocapsides, qui contiennent le génome viral, sont libérées dans le cytoplasme et transportées jusqu'au noyau, où le génome est libéré. L'expression des gènes et La réplication de l'ADN viral nécessitent trois classes de gènes viraux, α , β et γ . L'Assemblage, encapsidation et bourgeonnement à travers la membrane nucléaire libèrent la capsid dans le cytoplasme. Grâce à un processus complexe de « dés- et ré-enveloppement » les particules virales mûres atteignent l'espace extracellulaire.^[27] Le cycle de réplication du virus de l'herpès est résumé dans la Figure 4 et sera décrit dans les paragraphes suivants.

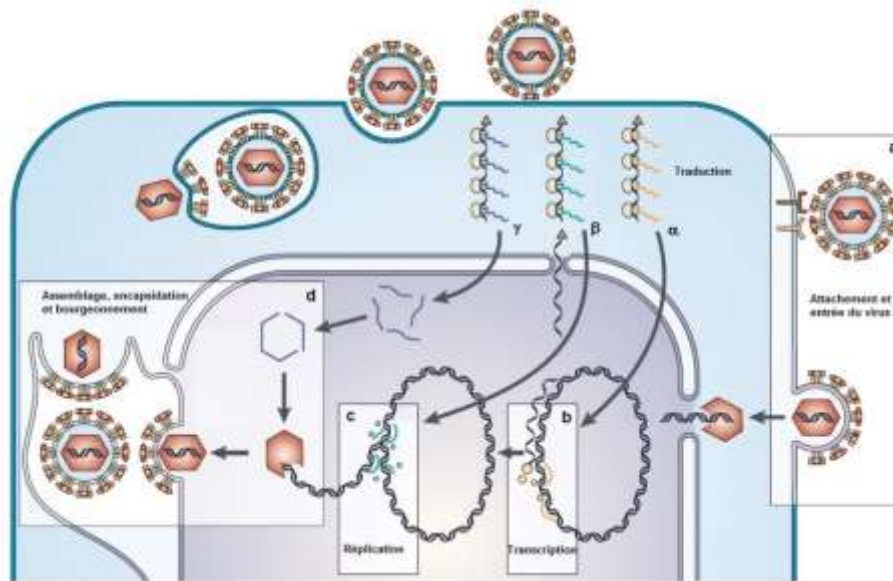


Figure 4 : Cycle de réplication des HV^[27]

1.4.1 Attachement et entrée du virus

L'infection cellulaire par les virus nécessite une fusion virus-cellule à la fois des couches intérieures et extérieures des membranes cellulaires et virales. Le processus de fixation initiale d'une particule de HV suivi de la fusion de son enveloppe avec la membrane cellulaire marque le début d'un nouveau cycle de réplication des HV. Pendant ce processus, d'abord à la surface des cellules par des interactions des glycoprotéines gB et gC, pour les HSV, ou gp350/gp220 pour l'EBV, avec les glycosaminoglycanes (héparane sulfates) des protéoglycanes cellulaires (Figure 5a). Ensuite, l'enveloppe fusionne avec la membrane cellulaire, ce qui peut se produire soit par fusion direct à la membrane plasmique soit après l'internalisation des particules virales par endocytose (Figure 5b). La voie d'entrée dépend du type de cellules infectées.^[25, 28]

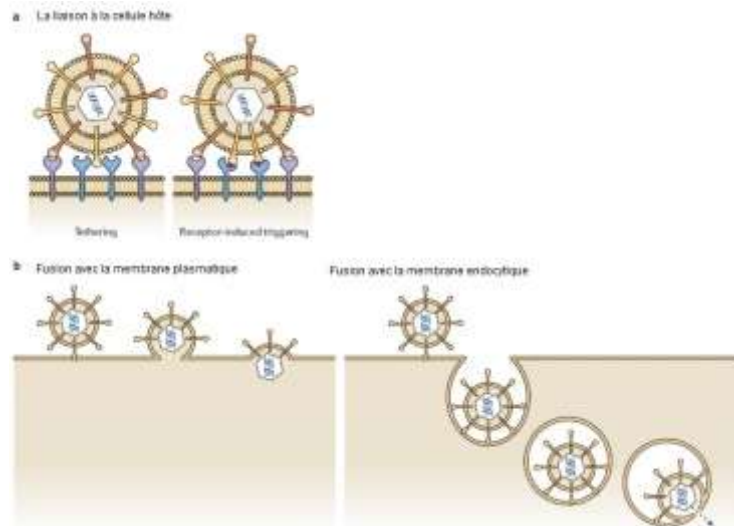


Figure 5 : Attachement et entrée du virus de l'Herpes^[28]

L'enveloppe du HV contient plus d'une douzaine de glycoprotéines différentes parmi lesquelles une partie assure l'entrée dans les cellules.^[28-30] Ces glycoprotéines multifonctionnelles jouent un rôle important dans le processus d'infection cellulaire. Chaque glycoprotéine peut se lier à différents récepteurs, interagir avec d'autres glycoprotéines ou encore subir des changements conformationnels induisant la fusion membranaire.^[28] Les trois glycoprotéines du virion gB, gH et gL, communes à tous les HV, fonctionnent comme « le cœur de la machinerie » d'infection, pendant la pénétration dans la cellule.^[14, 24, 28, 31-33] L'attachement viral est stabilisé par l'interaction de la glycoprotéine gD (pour le HSV-1) et l'un des nombreux co-récepteurs cellulaires. Ces récepteurs appartiennent à trois grandes familles connues par l'acronyme Hve (Herpes virus entry).^[34]

1.4.2 Le transport du virus

Une fois la fusion des membranes virales et cellulaire achevée, le tégument se sépare et se libère de la capsid dans le cytoplasme. Les capsides devront se diriger vers le noyau, l'endroit qui constitue le site de transcription et de réplication de l'ADN viral.

Les capsides sont transportées vers le noyau par le moteur cytoplasmique « dynein/dynactin » (transport « rétrograde »), via l'interaction de la protéine virale tégumentaire, indispensables pour ce transport, avec les microtubules (MT) (Figure 6).^[28, 30, 35-49]

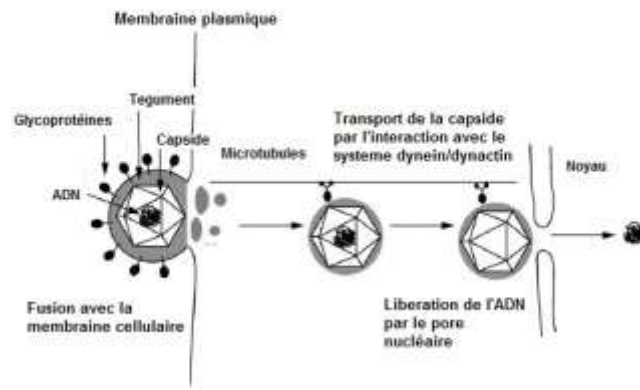


Figure 6 : Diagramme illustrant le transport des capsides vers le noyau des cellules hôtes par le moteur cytoplasmique « dynein/dynactin » (transport « rétrograde »)^[21]

Il y a ensuite fixation du virus au pore nucléaire (NCP), qui servira de passage pour l'insertion du matériel génétique viral dans le noyau cellulaire (Figure 6). L'enveloppe nucléaire (NP) agit comme une barrière qui compartimente le génome des cellules eucaryotes dans le noyau, presque tous les échanges entre le noyau et le cytoplasme se produisent via les NPC, incorporé dans la double membrane de l'enveloppe nucléaire. Des chaînes multiprotéiques qui régulent le transport passif à travers l'enveloppe nucléaire sont liées au pore nucléaire.^[46, 48] Les protéines virales UL du « portail vertex » (Figure 3) subissent les changements nécessaires à l'injection de l'ADN viral dans le noyau.^[18]

Les événements clés de la réplication des HV, la transcription de l'ADN, la synthèse, l'assemblage de la capsid, l'emballage de l'ADN et l'acquisition de l'enveloppe, prennent place dans le noyau de la cellule infectée.^[50]

1.4.3 L'expression des gènes

Lors de l'injection de l'ADN dans le noyau, le génome passe de l'état linéaire à l'état circulaire^[26, 51], c'est à ce moment que s'établit la phase de latence ou la phase lytique. Tous les HV partagent la caractéristique d'une expression séquentielle hautement régulée de leurs gènes menant à la réplication du génome et, par la suite, à la formation des nouveau virus.

Les gènes exprimés pendant la phase lytique peuvent être classés en trois groupes selon leur apparition dans le temps. Le premier groupe est constitué par les gènes très précoces (IE ou α), qui sont transcrits immédiatement suite à l'infection et qui sont indépendants d'autres produits pour leur expression. Les gènes α assurent la transcription des gènes précoces (E ou β) du deuxième groupe qui codent les protéines impliquées dans la réplication de l'ADN viral. Certaines protéines virales α et β entraînent également

l'expression des gènes du troisième groupe, les gènes tardifs (L ou γ), qui codent la plupart des protéines nécessaires à la formation des nouvelles particules virales.^[14, 25, 29, 50]

La cascade d'expression des gènes viraux est initialement contrôlée par un facteur régulateur de transcription appelé α TIF ou VP16 introduit dans la cellule infectée en tant que composant du tégument. Cette protéine du tégument interagit avec la protéine cellulaire Oct-1 pour activer l'ARN polymérase II-dépendante et initier la transcription des gènes α . Plusieurs protéines α sont impliquées dans le cycle réplcatif du virus et modifient plusieurs fonctions clés de la cellule hôte.^[26, 52, 53]

Les protéines α sont souvent multifonctionnelles et stimulent l'expression postérieure des gènes β et γ . La deuxième classe de gènes exprimés est celle des gènes β . Leur expression nécessite la présence des protéines α . Les protéines virales issues de ces gènes sont strictement essentielles à la réplication de l'ADN viral. D'autres protéines synthétisées, notamment la TK virale, la ribonucléotide réductase, la dUTPase, et l'uracile ADN glycosylase, contrôlent le métabolisme des nucléotides. L'ADN polymérase est la principale cible des thérapies anti-herpétiques courantes, qui bloquent aussi une partie de l'activité de la TK. On peut également subdiviser les protéines β en deux groupes (β 1 et β 2) selon l'initiation de leur expression dans le temps. Les gènes β 1 sont exprimés très précocement et de façon presque concomitante aux protéines α . Les gènes β 2 sont exprimés dans un laps de temps un peu plus long suite à l'expression des protéines α . Le gène codant pour la TK virale fait partie du groupe de gènes β 2. Finalement, les gènes exprimés plus tardivement, les gènes γ , également subdivisé en γ 1 et γ 2 selon leur expression dans le temps, sont principalement impliqués dans la formation de la structure du virion. Les protéines synthétisées sont alors assemblées pour former la capsid et le tégument du virion. Le niveau d'accumulation de ces protéines atteint son maximum après le début de la synthèse de l'ADN viral et l'expression de ces gènes est stimulé par la synthèse de l'ADN. Cependant, les gènes γ 1 sont exprimés relativement tôt suite à l'infection et sont stimulés au départ par les gènes très précoces. Leur niveau augmente significativement par l'initiation de la réplication de l'ADN viral. Les gènes γ 2 typiques sont exprimés plus tardivement dans l'infection.^[26, 50]

1.4.4 La réplication de l'ADN viral

La réplication de l'ADN viral, ainsi que celle d'autres virus à ADN, s'effectue dans le noyau au niveau de structures « subnuclear » dite du « nuclear domain » (ND). Ces sites ND subissent une ouverture pour former des structures spécialisées dans la cellule nommées compartiments de réplication. Ces compartiments contiennent l'ADN viral et les facteurs de

réplication de l'ADN essentiels pour l'assemblage et le fonctionnement du réplisome^[54] (complexe de protéines impliqué dans la réplication de l'ADN, Tableau 2).^[26]

La réplication de l'ADN est amorcée sur la forme circulaire à l'une des trois origines de réplication possibles (une séquence unique d'ADN répétée permettant le démarrage de la réplication). La protéine d'origine se lie à des éléments spécifiques dans une des origines de réplication et déclenche le dédoublement de l'ADN viral circulaire (Figure 7a). La protéine d'origine (Figure 7a en bleu) va recruter la protéine fixant l'ADN simple brin (« single-stranded DNA binding protein-SSB ») (Figure 7a en vert).^[26, 50]

La réplication de l'ADN viral dépend d'un ensemble de facteurs d'élongation codés par le virus, qui sont communs à toutes les classes de HV. Ceux-ci comprennent i) l'ADN polymérase; ii) l'ADN polymérase « *clamp* »; iii) l'hélicase-primase et iv) la « SSB » (Tableau 2).^[26, 50]

Tableau 2 : Les gènes de réplication lytique essentiels aux HV

Fonction	HSV-1	CMV	KSHV
Protéine de liaison d'origine	UL9/OBP	UL84	ORF50
ADN polymérase	UL30/PoI	UL54	ORF9
ADN polymérase <i>clamp</i>	UL42	UL44	ORF59
SSB/recombinase	UL29/ICP8	UL57	ORF6
Hélicase	UL5	UL105	ORF44
Primase	UL52	UL70	ORF56
Hélicase-primase (loading protein)	UL8	UL102	ORF40/41

Le complexe hélicase-primase et l'ADN polymérase virale s'associent et initient des cycles de réplication dans une configuration particulière de l'ADN dite en mode thêta (Figure 7a). L'ADN polymérase est une holoenzyme comprenant deux sous-unités : une sous-unité catalytique et une sous-unité plus petite qui se lie en C terminale de l'enzyme et ensuite stimule la processivité (la capacité d'une enzyme à catalyser des réactions successives sur une même molécule sans la relâcher). L'interaction de ces deux unités est requise pour la réplication de l'ADN viral. L'ADN polymérase possède une affinité pour un vaste éventail de substrats comparativement aux enzymes cellulaires, ce qui en fait une cible de choix pour des antiviraux. La réplication virale passe du mode thêta au mode du cercle roulant (Figure 7b) par un mécanisme encore inconnu. Ce dernier mode de réplication produit des ADN viraux concatémères (longues molécules d'ADN constituées d'un même monomère répété et

formant un multimère linéaire) qui seront ensuite coupés en monomères durant l'enveloppement de l'ADN viral.^[26, 50, 55]

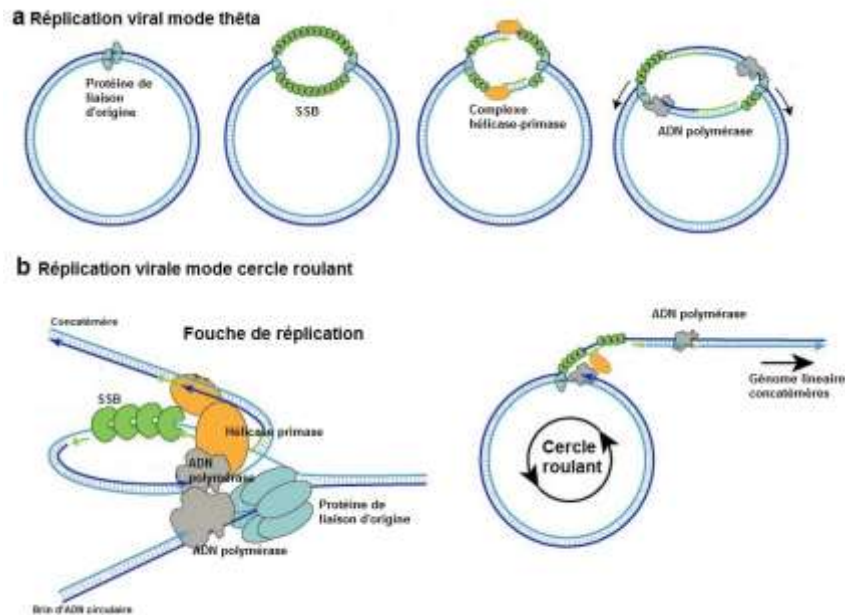


Figure 7 : Schéma de répllication de l'ADN viral (adapté de <http://viralzone.expasy.org>)

1.4.5 Assemblage, encapsidation et bourgeonnement

L'assemblage des capsides est un processus complexe. En partie parce que le produit final, qui est prêt à recevoir l'ADN (la procapside/capsomères), est une structure à deux capsules (two-shelled) qui contient, au moins, onze protéines différentes conçues pour s'associer à la structure finale d'une façon précise. La structure de la capside est similaire pour les différents virus de la famille *Herpesviridae*, cependant les noms utilisés pour les protéines impliquées dans leur synthèse peuvent varier. L'assemblage des capsides virales se produit dans le noyau et la synthèse fait appel à plusieurs protéines virales tardives. Il est probable que les capsides soient assemblées dans des compartiments de répllication préformés à partir des complexes de capsomères, qui sont importés dans le noyau après leur assemblage individuel dans le cytosol.^[25, 56]

L'enveloppe externe est formée par la protéine majeure de la capside (« major capsid protein »), qui est constitué d'hexagones et de pentagones (Figure 3) et par la protéine du portail, qui forme, dans un des sommets, le portail vertex. Les pentons et hexons sont reliés entre eux par la protéine d'échafaudage externe (triplex et UL38) (Figure 8). La partie interne des capsides est formé par la protéine d'échafaudage interne. La coupure de l'extrémité *N*-terminale d'une protéine d'échafaudage par une protéase entraîne le réarrangement de la

procapside de la forme sphérique à la forme icosaédrique (Figure 8). Cette protéine est cruciale pour la réplication virale car elle déclenche la maturation de la capside.

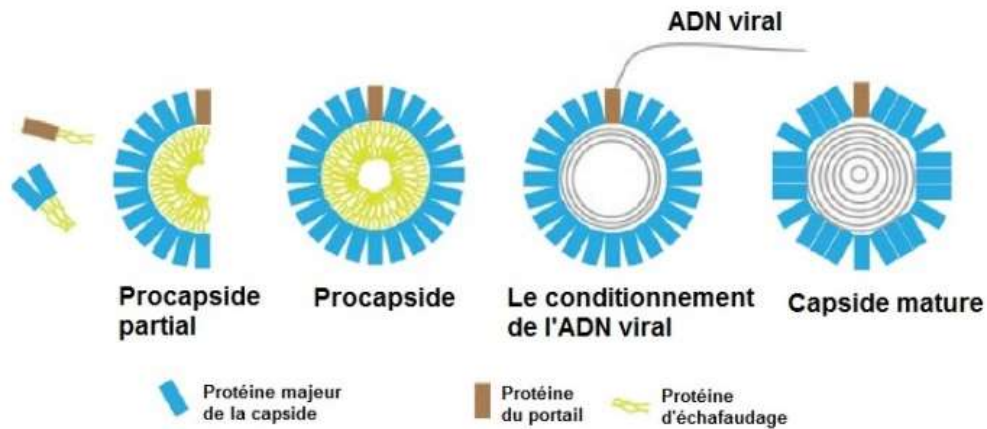
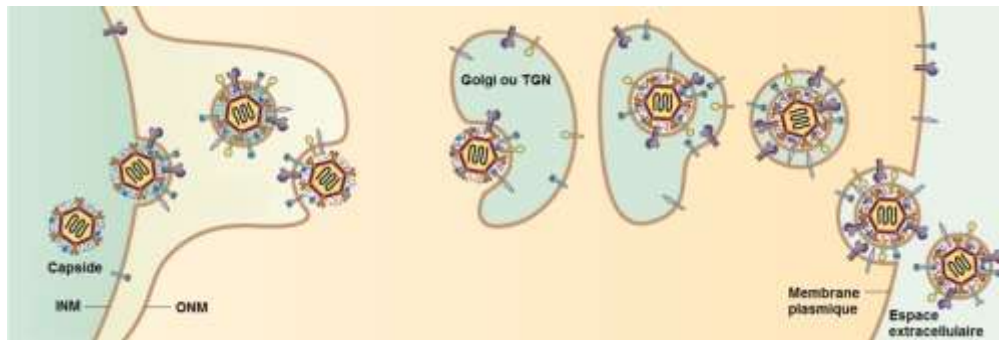


Figure 8 : Assemblage de la capside^[19]

Les capsides vides sont alors chargées en ADN viral par un processus qui implique simultanément coupure de l'ADN concatémère en de simples unités monomériques et leur empaquetage par le complexe enzymatique dit « terminase »^[57] pour former la nucléocapside (Figure 8).^[16, 19, 25, 56, 58-60]

Après la formation des nucléocapsides matures dans le noyau, l'association des protéines du tégment a lieu. La séquence d'addition des protéines du tégment et les régions dans lesquelles la capside acquiert ces protéines ne sont pas complètement connues.^[22]

La capside est trop volumineuse pour être transportée à travers le pore nucléaire, donc les virus remodelent les membranes dans un processus médié, en partie, par des kinases virales (UL97 pour HCMV, UL13 pour les HSV, BGLF4 pour l'EBV et ORF36 pour KSHV).^[58, 61] Les capsides bourgeonnent au niveau de la membrane nucléaire interne (IMN) (enveloppement primaire) pour former une particule enveloppée dans l'espace périnucléaire (Figure 9). Ces particules fusionnent avec la membrane nucléaire externe (OMN) (« désenveloppement ») et sont libérés dans le cytoplasme, ce qui laisse l'enveloppe dans la membrane nucléaire externe (Figure 9). Dans le cytosol, les capsides se lient aux membranes cytoplasmiques des différents compartiments cellulaires (Figure 9). Comme les glycoprotéines virales sont disséminées dans toutes les membranes de la cellule suite à leur synthèse, elles sont acquises par le virion en même temps que l'enveloppe virale et se retrouvent donc, à la surface de la particule (Figure 9). Les virions enveloppés sont libérés de la cellule après enveloppement secondaire.^[36, 50, 56, 59, 62-64]

Figure 9 : Bourgeonnement du virus d'herpes^[62]

1.5 LATENCE

La latence est une propriété remarquable des HV qui assure l'entretien de l'information génétique des virus chez leurs hôtes pendant une longue période, sans la nécessité de réplication productive. La latence virale ne doit pas être confondue avec la latence clinique, qui est l'incubation, période pendant laquelle le virus est actif mais les symptômes ne sont pas encore apparus.^[65] Les trois sous-familles du HV sont capables d'établir une infection latente, qui est associée à une expression restreinte du génome viral.

Les mécanismes moléculaires impliqués dans l'établissement, la conservation et la réactivation de la latence ne sont que partiellement compris. Le fait que la latence tend à se produire en particulier dans certains types de cellules suggère que l'environnement cellulaire est essentiel pour déterminer le cycle infectieux du virus. Trois états fondamentaux qui doivent être atteints pour l'établissement de la latence ont été identifiés : i) après l'infection initiale et la réplication aiguë, les virus doivent limiter leur propre profil d'expression génique, ce qui limite la production de nouveaux virus ; ii) les virus doivent, à la fois, surveiller et manipuler l'environnement de la cellule hôte pour créer les conditions appropriées pour la réactivation et iii) les virus doivent promouvoir la survie de la cellule infectée par échappement à la réponse immunitaire de l'hôte, car la mort de la cellule entraîne la perte du génome latent. Une relation complexe entre le virus et l'hôte est donc nécessaire pour que la latence soit effective.^[66, 67]

Par définition, pendant le temps de latence le génome viral ne subit pas d'amplification. Cela peut être rationalisé par le fait qu'il n'y a aucune expression des gènes viraux essentiels à la réplication de l'ADN. Il est possible qu'il existe des facteurs qui : soit se lient aux origines de réplication (Figure 7a) pour éviter le début de la réplication/transcription de l'ADN viral, soit des facteurs qui séquestrent l'ADN viral dans des hétérochromatines qui empêchent la réplication/transcription.^[26]

La transcription associée à la latence est : soit limitée aux ARN non codants, soit elle peut inclure des transcriptions d'oncoprotéines virales qui modifient le comportement des cellules hôtes.^[68] Pour établir une latence, le génome viral doit être circularisé pour former un ADN circulaire (épissomique) enroulé dans les histones.^[65] En revanche, les HV qui sont latents dans les cellules en division utilisent la machinerie de réplication de la cellule hôte pour répliquer leur ADN. L'ADN viral est copié par des polymérases cellulaires, ainsi que les chromosomes, lors de la mitose cellulaire.^[26, 65, 68]

Les recherches plus récentes ont suggéré que les petits ARN régulateurs, appelés microARN (miRNA), jouent un rôle important dans les trois aspects de la latence ainsi que dans la réactivation du virus.^[66, 67]

1.6 ÉPIDÉMIOLOGIE

Les huit membres de famille *Herpesviridae* infectent couramment les humains. Il est estimé que près de 100% de la population adulte a déjà été infectée par, au moins, un de ces membres. Le HSV de type 1 (oro-labial) et 2 (génital), le CMV, l'EBV et le VZV sont les cinq membres associés à la plupart des problèmes de santé cause par les HV (Tableau 1).^[65, 66]

Une importante partie de population mondiale est infectée par les HSV de type 1 et 2. Bien que la prévalence globale et la distribution des infections par HSV ne puissent pas être exactement établies en raison de la faible disponibilité des données séro-épidémiologiques. Les tendances générales indiquent que des infections par HSV-1 sont plus répandues dans le monde que l'infection par HSV-2 et que plus d'un milliard de personnes dans le monde sont infectées par le HSV-2.^[69]

Environ 0,7% de tous les nouveau-nés aux États-Unis, sont infectés par le CMV. Parmi les nouveau-nés infectés près de 20% sont nés avec, ou vont développer, des séquelles permanentes, telles que la perte d'audition, la perte de vision, la paralysie cérébrale ou la déficience cognitive.^[70]

Le virus EBV est très commun. Aux États-Unis 90% des adultes testés sont positifs aux anticorps anti-EBV à l'âge de 35 ans. En revanche, la prévalence chez les enfants est plus faible variant entre 20% à 80% en fonction de l'âge et de l'aire géographique.^[71]

La distribution mondiale de l'infection par VZV est non saisonnière. La séroprévalence varie de 30-100% en fonction de l'âge, de l'aire géographique, de l'origine ethnique et socio-économique. De manière générale, la prévalence dans les pays pauvres est proche de 100% et les infections sont, normalement, acquises dans la petite enfance. Aux États-Unis,

la séroprévalence du VZV est de l'ordre de 40 à 50%. La population des pays développés a tendance à présenter des taux de séroprévalence plus faibles. Dans ces pays, les infections sont souvent acquises au cours de l'adolescence et de l'âge adulte, avec des taux plus élevés dans les populations socio-économiques moins favorisé. Environ 20 à 30% des enfants d'âge préscolaire sont infectés par le VZV.^[72] L'analyse des études conduites dans différents pays ont montré une incidence de l'herpès zoster (zona) de 4-4,5 pour 1000 personnes par an. Toutes les études ont montré une augmentation de l'incidence chez les individus adultes, particulièrement après 50 ans.^[73]

1.7 DIAGNOSTIC

La majorité des infections par HSV sont cliniquement diagnostiquées or le diagnostic précis de la présence du HV est essentiel pour une gestion optimale de l'infection.^[74] Le diagnostic reposant seulement sur les manifestations cliniques ne sont pas fiables car les infections par différents types de virus de l'herpès peuvent avoir des symptômes similaires, ce qui pourrait conduire à un traitement inadéquat.^[75] Une variété de tests pour le diagnostic est disponible, le vrai défi reste de choisir le plus adapté et d'interpréter correctement son résultat. Chaque test a des avantages et des limitations potentielles qui influent sur son utilité selon la situation.^[74-78]

- **Tests virologiques** : c'est la méthode classique d'identification du virus qui utilise des phases d'isolement et de culture cellulaire avec observation des effets cytopathiques des cellules inoculées. Le principal avantage de cette technique par rapport à la culture en tubes classique est la rapidité des résultats, de 1 à 5 jours au lieu de 1 à 4 semaines.
- **Frottis cytologiques ou frottis de Tzanck** : un échantillon de cellules épithéliales pris par frottis à la base d'une lésion peut être étudié pour déterminer si les cellules épithéliales montrent des changements compatibles avec une infection par le HSV. Le frottis cytologique de routine ne peut pas différencier les infections par HSV-1/2 et VZV mais est un outil diagnostic utile pour déterminer l'existence d'une étiologie virale de la maladie en progrès.
- **Test d'immunofluorescence directe** : cette technique peut être utilisée pour le diagnostic rapide d'un échantillon clinique avec dosage d'anticorps. Cela permet de détecter directement la présence des antigènes de HSV-1/2 ou VZV dans les échantillons en utilisant des anticorps pathogéniques fluorescents spécifiques de la cible sans la nécessité d'une réaction d'anticorps secondaire. Cette méthode permet l'identification précise du pathogène qui cause l'infection.

- **Sérologie** : le test est largement utilisé pour évaluer le statut immunitaire et dans des investigations épidémiologiques. Aujourd'hui le type de test spécifique choisi pour HSV utilise des techniques classiques de laboratoire comme le western blot, l'immunoblot et le test ELISA. Ces tests sont particulièrement utiles avant le transplant d'organe, lorsque les patients qui ont une sérologie HSV positive peuvent recevoir un traitement antiviral prophylactique pour éviter la réactivation HSV et l'infection grave.

1.8 TRAITEMENT

L'histoire de la thérapie antivirale commence à Yale aux États-Unis en 1959 avec l'équipe dirigée par William Prusoff. Son équipe a synthétisé l'un des premier analogues de la 2'-désoxythymidine, la 5-iodo-2'-désoxyuridine (Idoxuridine).^[79] Ce composé est le premier médicament antiviral approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) pour le traitement des kératites herpétiques. Pour son travail le professeur Prusoff a été reconnu comme « le père de la chimiothérapie antivirale ».^[80-83]

Aujourd'hui les infections par le virus de l'herpès peuvent être traitées efficacement par des médicaments antiviraux. Le traitement standard comprend des médicaments qui partagent un mécanisme d'action commun : ils compromettent la synthèse de l'ADN viral par inhibition de l'ADN polymérase virale. L'Aciclovir (ACV), le Ganciclovir (GCV), le Penciclovir (PCV) et leurs prodrogues comme le Valaciclovir (VACV) et le Famciclovir (FCV) sont les médicaments de choix. L'utilisation prolongée de ces médicaments est associée à l'apparition de souches résistantes, en particulier chez les patients immunodéprimés. Un autre facteur limitant leur utilisation est la toxicité élevée qu'ils présentent.^[81, 84-86]

1.9 MÉDICAMENT EN UTILISATION CLINIQUE

La durée du traitement dépend de différents facteurs liés à l'infection comme son caractère primaire, récurrent, chronique ou persistant. Les traitements de courtes durées comme pour HSV, VZV ou de durées plus longues comme dans les infections par CMV peuvent être basés sur une thérapie unique. Les paramètres pharmacocinétiques à prendre en compte, lors de l'évaluation du potentiel thérapeutique incluent la biodisponibilité (administration topique, orale, etc.), la distribution dans l'organisme, l'interaction médicament-médicament dans le cas des polythérapies et finalement le facteur limitant de la thérapie : le développement de résistance spécialement chez les patients immunodéprimés.

Les principaux principes actifs utilisés dans le traitement des infections causées par le virus de l'herpès (Figure 10) sont principalement de type nucléosidique. Ils sont ci-après par

type en précisant leur(s) mécanisme(s) d'action, leurs indications et leurs principaux effets indésirables.

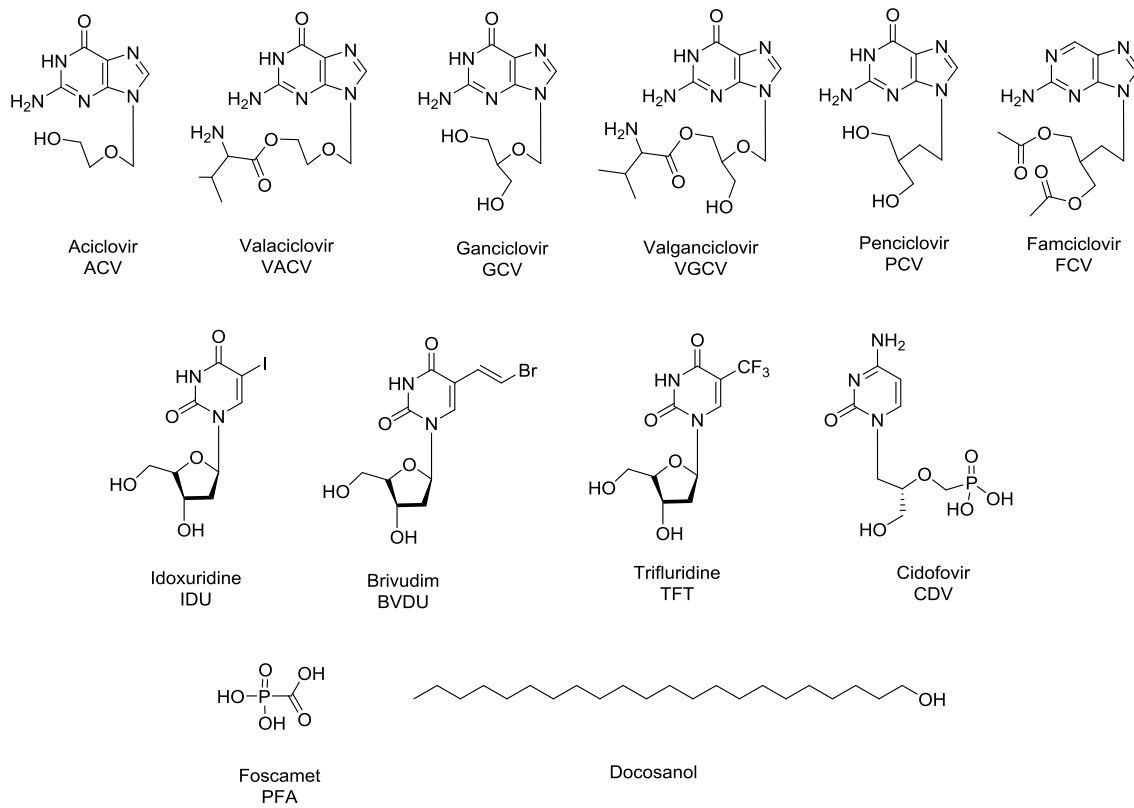


Figure 10 : Les principaux médicaments utilisés dans le traitement des infections causées par les virus de l'herpès

1.9.1 Aciclovir et Valaciclovir

Le développement de l'aciclovir (ACV) à la fin des années 1970 par Howard Schaeffer et Lilia Beauchamp a révolutionné le traitement des infections par HSV.^[87] Le groupe Wellcome Research Laboratories a montré comment un agent antiviral pouvait être à la fois efficace contre des virus (HSV-1, HSV-2 et VZV) et avoir un excellent profil de tolérance/innocuité.^[88-90] Depuis sa mise sur le marché en 1981, l'ACV est devenu le traitement standard des infections HSV et l'herpès zoster (zona).^[87, 88, 91-93]

L'ACV est un analogue acyclique de la 2'-désoxyguanosine dans laquelle le groupement 3'-hydroxyle est absent dans la chaîne latérale mimant le désoxyribose ainsi que les atomes de carbone 2' et 3' du sucre (Figure 10). Il est probable que la flexibilité de la chaîne latérale qui permet à l'ACV d'être reconnu comme un nucléoside naturel facilite son entrée dans les cellules.^[94] L'ACV est une prodrogue qui agit après phosphorylation en triphosphates, la séquence de réaction qui conduit à formation de l'aciclovir triphosphate (ACV-TP) est résumée dans la Figure 11.^[81, 91, 94-96]

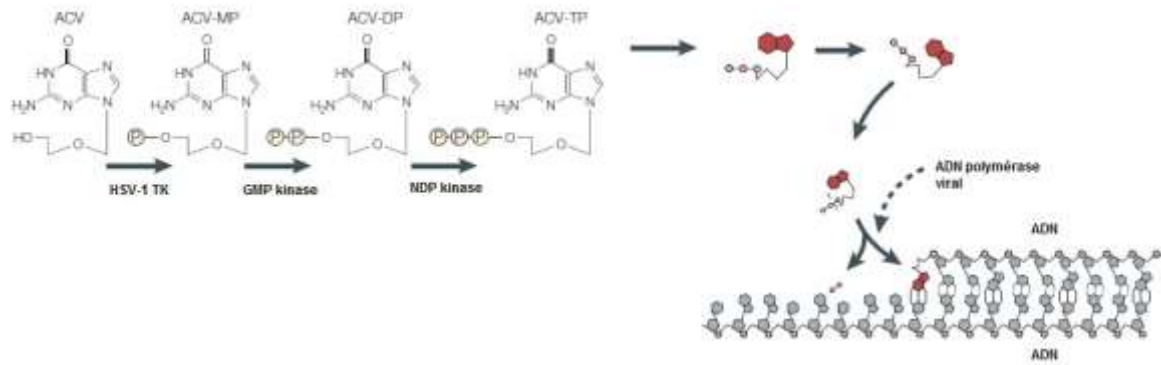


Figure 11 : Mécanisme d'action de l'ACV^[97]

Dans les cellules infectées par les HSV, la TK virale effectue la première phosphorylation qui transforme l'ACV en ACV-MP (monophosphate), les enzymes cellulaires ne sont pas capables de réaliser cette première phosphorylation. L'ACV-MP est ensuite reconnu comme substrat par les enzymes cellulaires qui le transforment en diphosphate puis en triphosphate. L'ADN polymérase virale peut utiliser l'ACV-TP comme un substitut du composé naturel, le dGTP (2'-désoxyguanosine triphosphate), qui sera incorporé à l'extrémité du brin d'ADN viral en croissance. La synthèse du brin d'ADN viral s'arrête en raison de l'absence de la deuxième fonction hydroxyle secondaire qui permet au nucléotide naturel de réagir à nouveau.^[81, 95, 96, 98, 99]

Bien que la biodisponibilité de l'ACV par voie orale soit faible (seulement 20% du médicament est effectivement absorbé), elle est suffisante pour un bénéfice clinique important, en particulier quand des doses élevées sont prises fréquemment.^[81, 95, 96]

La prodrogue valaciclovir (VACV) (Figure 10), l'ester de valine de l'ACV, fait passer la biodisponibilité orale de l'ACV à 70%. Cette prodrogue est complètement et rapidement convertie en ACV après administration orale. Le VACV incorporant la valine est reconnu par les transporteurs de peptides intestinaux et rénaux. Après absorption, le VACV est converti en ACV par hydrolyse enzymatique, lors du premier passage hépatique.^[95, 96, 100-102]

Les principaux effets indésirables de l'ACV qui limitent son utilisation sont l'insuffisance rénale et des effets sur le système nerveux central (SNC).^[96, 101, 103]

1.9.2 Ganciclovir et Valganciclovir

Le ganciclovir (GCV) (Figure 10) est un analogue acyclique de la 2'-désoxyguanosine dont la structure est proche à celui de l'ACV avec addition d'un groupe hydroxyméthyle (Figure 10) ce qui entraîne un mécanisme d'action un peu distinct.^[95, 96, 98-101, 104-107] Cette distinction se traduit par l'augmentation de l'activité contre le CMV et un profil de toxicité

différent.^[105] Avant de subir la phosphorylation par des kinases virales, le GCV est inactif. La première phosphorylation est catalysée soit par la HSV TK soit par la CMV protéine kinase ce qui explique la spécificité du GCV pour le CMV. Une fois phosphorylé par l'enzyme du virus, l'analogue est diphosphorylé puis triphosphorylé par des enzymes cellulaires et, comme l'ACV, peut être incorporé au brin de l'ADN viral en croissance par l'enzyme ADN polymérase.^[95, 96, 101, 103, 104, 107, 108] Contrairement à l'ACV, le GCV n'est pas un « terminateur de chaîne » absolu, des fragments de génome de CMV continuent à être synthétiser. Les effets antiviraux de cet analogue sont probablement dus à sa capacité à inhiber la synthèse de l'ADN et donc sa réplication par ralentissement de l'allongement du brin d'ADN.^[98, 99, 105]

Le GCV a une faible biodisponibilité quand il est administré par voie orale (6–9%) et pour surmonter ce problème, comme dans le cas de l'ACV, une prodrogue a été synthétisée : le valganciclovir (VGCV), l'ester de valine du GCV (Figure 10). Le VGCV est rapidement absorbé et hydrolysé par des estérases intestinales et hépatiques en GCV et sa biodisponibilité est 10 fois supérieure à celle du GCV.^[95, 100, 102, 107, 109, 110]

Le GCV et VGCV peuvent être utilisés dans le traitement des infections par HSV types 1 et 2 et ils constituent les médicaments de choix dans le traitement des infections par CMV, y compris pour les infections chez les patients immunodéprimés.^[95, 100, 101, 103, 104, 107, 109]

La myélosuppression réversible est l'effet indésirable le plus commun qui limite l'utilisation du GCV et VGCV. D'autres effets toxiques hématologiques, en particulier des neutropénies, peuvent aussi être observés pendant le traitement. Les effets sur le SNC vont des maux de tête au changement du comportement, convulsions ou encore coma. Un tiers des patients arrêtent prématurément le traitement à cause des effets toxiques sur la moelle osseuse ou des effets sur le système nerveux central (SNC).^[96, 99, 101, 103, 106]

1.9.3 Penciclovir et Fanciclovir

Le penciclovir (PCV) est un analogue acyclique de la 2'-désoxyguanosine avec une structure comparable à celle du GCV, dans lequel l'atome d'oxygène de la fonction éther de la chaîne latérale a été remplacé par un groupe méthylène (Figure 10).^[100, 106] Cet analogue présente un mécanisme d'action similaire à celui de l'ACV. Les deux composés sont phosphorylés seulement dans les cellules infectées par le HV par action de la TK virale et ensuite les enzymes cellulaires transforment l'analogue en diphosphate puis en triphosphate. L'analogue triphosphorylé se lie de façon compétitive au nucléotide naturel à l'ADN polymérase ce qui provoque l'inhibition de l'enzyme.^[95, 96, 98-101, 103, 106, 111-113] Quelques différences dans les mécanisme d'action du PCV et de l'ACV ont été observés : (i) le PCV a une plus grande affinité pour la TK virale que l'ACV ; (ii) le triphosphate PCV est plus stable

que celui de l'ACV dans les cellules infectées par HSV, ce qui augmente la demi-vie du premier triphosphate de 10 à 20 fois; (iii) l'ADN polymérase virale a une plus grande affinité pour l'ACV-TP ; (iv) l'ACV est un « terminateur de chaîne » tandis que le PCV permet une croissance limitée du brin d'ADN comme le GCV car il possède un groupement hydroxyle sur sa chaîne latérale qui mime le groupement hydroxyle en 3' du nucléotide naturel.^[112]

De la même manière que l'ACV et le GCV, le PCV a une faible biodisponibilité par voie orale ce qui a conduit à la synthèse de sa prodrogue, le famciclovir (FCV) (Figure 10). Cette prodrogue est rapidement absorbée et métabolisée en PCV. Le premier groupe acétal est clivé par des estérases dans la paroi intestinale et le deuxième est éliminé lors du phénomène de premier passage hépatique et, par la suite, la conversion du 6-désoxypenciclovir en PCV est catalysée par l'aldéhyde oxydase, également dans le foie.^[95, 106, 111, 113]

Le PCV et sa prodrogue sont prescrits dans le traitement des infections par HSV-1, HSV-2 et VZV.^[95, 96, 103] Les principales indications de ces composés sont les infections récurrentes mucocutanées par HSV.^[95]

Les effets indésirables associés au FCV sont des maux de tête, diarrhées et nausées. L'utilisation topique du PCV est associée à des réactions cutanées locales. Le PCV est mutagène à fortes concentrations.^[96, 101]

1.9.4 Idoxuridine®

La 5-iodo-2'-désoxyuridine (IDU) est un analogue iodé de la 2'-désoxythymidine (Figure 10) qui le premier principe actif antiviral spécifique approuvé par la FDA. Après phosphorylation, cet analogue est incorporé dans l'ADN viral ce qui rend cet ADN plus fragile et conduit à une transcription défectueuse. Ce médicament est peu spécifique et même à faibles doses, il inhibe également la réplication des cellules non infectées. Aux États-Unis, l'IDU est seulement approuvé pour le traitement de kératites herpétiques, néanmoins, dans d'autres pays, il peut être aussi utilisé dans le traitement de l'herpès labial, génital et de l'herpès zoster (zona).^[95, 96, 102, 114, 115]

1.9.5 Brivudin®

Le brivudin® (BVDU) (Figure 10) a été synthétisé en 1976 à l'université de Birmingham par Jones et Walker comme éventuel agent radio-sensibilisant.^[116] En 1978, le BVDU a été identifié comme un agent antiviral sélectif contre le virus de l'herpès par le groupe de De Clercq^[117], peu de temps après l'ACV. Pendant des nombreuses années ces

deux composés sont restés comme les « gold standards », des médicaments de référence pour le développement des nouveaux agents antiviraux.^[116, 117]

Le BVDU est un analogue de la 2'-désoxythymidine qui a un mécanisme d'action similaire à celui de l'ACV. L'action de cet analogue va dépendre d'une première étape de phosphorylation par la TK virale, qui convertit le BVDU en 5'-monophosphate (BVDU-MP) et ensuite en BVDU-DP. Les kinases cellulaires phosphorylent le BVDU-DP en BVDU-TP qui peut interagir avec l'ADN polymérase virale soit comme un inhibiteur compétitif de la 2'-désoxythymidine triphosphate, soit comme un substrat alternatif qui sera incorporé dans le brin de l'ADN en croissance. Cette incorporation peut à la fois affecter le fonctionnement et la stabilité de l'ADN au cours du processus de réplication. Ce médicament est actuellement utilisé dans les infections par HSV-1 et VZV et est considéré comme plus efficace que l'ACV pour le traitement de VZV.^[84, 95, 102, 117-121]

Les effets indésirables décrits pour le BVDU sont la nausée, le vomissement, la perte d'appétit et le mal de tête.^[122] Le BVDU et la 5-fluorouracile qui est un principe actif anticancéreux ne doivent pas être utilisés ensemble en raison de l'interaction potentiellement mortelle de ces deux médicaments. En effet, le BVDU augmente le temps de demi-vie de la 5-fluorouracile et par conséquent ses effets toxiques.^[116]

1.9.6 Trifluridine®

La trifluridine® (TFT) est un nucléoside pyrimidique fluoré (Figure 10), analogue de la 2'-désoxythymidine qui a été développé comme antitumoral au début des années 1960^[88] et qui présente une activité antivirale. Cet analogue après phosphorylation par des kinases cellulaires inhibe de manière irréversible la thymidylate synthase, enzyme responsable de la conversion du 2'-désoxyuridine monophosphate (dUMP) en 2'-désoxythymidine monophosphate (dTMP). De plus le triphosphate de ce principe actif inhibe de façon compétitive l'incorporation de la 2'-désoxythymidine triphosphate dans l'ADN viral et cellulaire. Le TFT est actif contre HSV-1, HSV-2 et CMV. Ce médicament est efficace chez certains patients qui ont des infections cutanées résistantes à l'ACV.

Le TFT est utilisé sous la forme de gouttes pour les yeux ou sous la forme de crème ophtalmique.^[95] Les effets indésirables comprennent un inconfort par instillation et une possible formation d'œdème de la paupière. Des réactions d'hypersensibilité, des irritations et kératopathies sont plus rares.^[96]

1.9.7 Cidofovir

Le cidofovir (CDV) est un analogue acyclique de la 2'-désoxycytidine 5'-monophosphate comportant un groupement phosphonate (Figure 10). Il a des propriétés antivirales contre une large gamme de virus à ADN, comme le virus de l'herpès. Le mécanisme d'action de cet analogue débute par sa phosphorylation par des enzymes cellulaires. Le CDV-DP agit comme un substrat alternatif de l'ADN polymérase virale et, comme l'aciclovir, cet analogue est incorporé au brin d'ADN viral en croissance et fonctionne comme un « terminateur de chaîne » (Figure 12). Pour stopper la croissance du brin d'ADN du virus CMV deux incorporations successives de cet analogue sont nécessaires.^[101, 107, 113, 123]

Ce médicament peut être utilisé contre les virus HSV-1, HSV-2, VZV, CMV et les souches du virus de l'herpès résistantes à l'ACV. Le CDV est actif contre les souches TK-déficientes ou souches TK-modifiées car ce principe actif est phosphorylé par des enzymes cellulaires. Par contre, des souches virales qui présentent une mutation de l'ADN polymérase peuvent être aussi résistantes au CDV. Les deux facteurs limitant l'utilisation de ce médicament sont sa faible biodisponibilité par voie orale et sa néphrotoxicité qui est son principal effet indésirable.^[95-97, 100, 101, 107, 115, 120, 121, 123, 124]

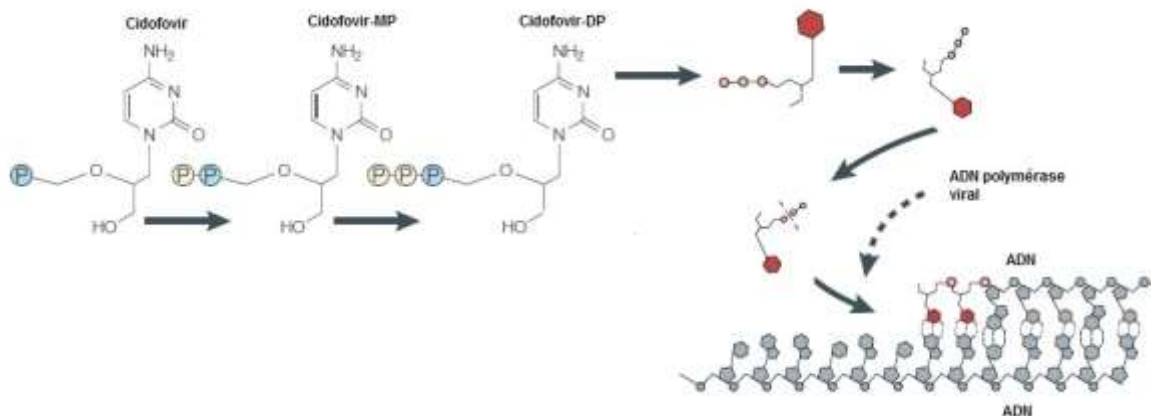


Figure 12 : Mécanisme d'action du CDV^[97]

1.9.8 Foscarnet®

Le foscarnet® (PFA) est un analogue plus stable du pyrophosphate libéré lors de la réaction d'incorporation par la polymérase d'un nucléotide à l'extrémité du brin d'ADN en croissance (Figure 10) Il agit directement sur l'ADN polymérase virale sans nécessiter une activation préliminaire.^[95, 125] Cet analogue bloque de façon réversible et non compétitive le site de la liaison pyrophosphate dans l'ADN polymérase virale et inhibe ainsi la réaction des

triphosphates nucléosidiques.^[126] Cet analogue a une affinité amplement supérieure pour l'enzyme virale en comparaison à la polymérase humaine, ce qui justifie son utilisation.^[125]

Les réactions indésirables majeures qui peuvent limiter l'utilisation de ce médicament incluent la néphrotoxicité, l'hypocalcémie ainsi que des anomalies métaboliques dues au caractère dianionique du principe actif à pH physiologique qui conduit à une forte affinité pour les cations divalents. Ce médicament peut être utilisé dans les cas d'infection par des souches du virus de l'herpès TK mutantes résistantes à l'ACV et à ses analogues. Bien que le PFA inhibe l'ADN polymérase par un mécanisme qui diffère des analogues nucléotidiques, des souches présentant des mutations résistantes à ces derniers peuvent aussi être résistant au PFA.^[127] La résistance à ce médicament est due à une modification de l'ADN polymérase virale qui est moins sensible à l'inhibition provoquée par le PFA.^[84, 96, 99, 102, 107, 113, 121, 125, 128, 129]

1.9.9 Docosanol®

Le N-docosanol est un alcool aliphatique saturé de 22 carbones (Figure 10), aussi connu comme l'alcool béhénylique, résultant de l'hydrogénation des mélanges d'acides gras extraits à partir de diverses sources végétales. Cet alcool peut être utilisé dans le traitement des infections causées par des virus à enveloppe lipidique, comme le virus de l'herpès.^[130-133]

Le mécanisme d'action du docosanol n'a pas été complètement élucidé. Il semble interagir avec les lipides de la membrane cellulaire de façon à perturber la fusion virale avec la membrane de la cellule cible ainsi que la migration transmembranaire, l'entrée dans le cytoplasme et la migration vers le noyau des cellules épithéliales. Bien que le doconasol n'empêche pas la liaison des glycoprotéines virales aux récepteurs membranaires, il prolonge ce temps de pénétration dans la cellule, ce qui entraîne une nette réduction de la réplication virale. Comme son mécanisme d'action est différent des analogues nucléosidiques, cet alcool montre une activité antivirale dans les souches ACV-résistantes de HSV.^[131]

Cette molécule est approuvée par la FDA comme un médicament « over-the-counter » (OTC, en vente libre) sous forme de crème à 10% pour le traitement de l'herpès oro-labial récurrent. En raison de son caractère lipophile, le doconasol a une très bonne pénétration dans la peau.^[130-133]

1.9.10 Fomivirsén

Le fomivirsén (ISIS 2922) est un oligonucléotide de 21 nucléotides dans lequel les liaisons phosphodiester naturelles ont été remplacées par des liens thiophosphates (phosphorothioates). Il présente des propriétés antivirales puissantes et sélectives contre la rétinite à CMV. L'activité antivirale de cet oligonucléotide est due à l'inhibition antisens^[134] de l'expression du gène cible, il agit en se fixant de façon complémentaire à la séquence de l'ARN messager viral empêchant sa traduction en protéine, ce qui est indispensable à la multiplication du virus. Un autre mécanisme d'action potentiel de ce médicament inclut des interactions non spécifiques avec des particules virales qui peuvent empêcher l'adsorption à la surface de la cellule hôte ou conduire à l'inhibition des enzymes nécessaires à la synthèse de l'ADN viral.^[95, 96, 99, 101, 135]

Tableau 3 : Médicaments utilisées pour le traitement de l'herpès

Abréviation	Principe actif	Nom commercial	Voies d'administration	Active contre	Mécanisme d'action	Principaux effets indésirables
ACV	Aciclovir	Zovirax®	IV, O, T, ophth*	HSV-1 ; HSV-2 ; VZV	Analogue du nucléoside naturel qui est actif sous la forme de triphosphate qui se lie à l'ADN polymérase	Insuffisance rénale et effets sur le SNC
BVUD	Brivudin	Zostex®, Zonavir®, Zerpex®	O, ophth, T	HSV-1 ; VZV	Analogue du nucléoside naturel qui est actif sous la forme de triphosphate qui se lie à l'ADN polymérase	Nausées, vomissements, perte d'appétit et interaction potentiellement mortelle avec la 5-fluorouracile
CDV/HPMP C	Cidofovir	Vistidine®, Vistide®, Forvade®	IV	HSV-1 ; HSV-2 ; VZV ; HCMV	Analogue du nucléotide qui est actif sous la forme de triphosphate qui se lie à l'ADN polymérase	Néphrotoxicité
-	Docosanol	Abreva®	T	HSV-1	L'alcool interagit avec les lipides de la membrane cellulaire et perturbe la fusion virale, la migration transmembranaire, l'entrée dans le cytoplasme et la migration vers le noyau des cellules épithéliales	Maux de tête, acné, sécheresse de la peau, rougeur, douleur ou gonflement
FCV	Famciclovir	Famvir®	O	HSV-1 ; HSV-2 ; VZV	Analogue du nucléoside naturel qui est actif sous la forme de triphosphate qui se lie à l'ADN polymérase	Maux de tête, diarrhées et nausées
PFA	Foscarnet	Foscavir®	IV, O*	HSV-1 ; HSV-2 ; VZV ; HCMV	Analogue du pyrophosphate qui inhibe sélectivement le site de liaison dans l'ADN polymérase	Néphrotoxicité, hypocalcémie et anomalies métaboliques

ISIS 2922	Fomivirsén	Vitravene®	Intravitréenne	HCMV	Oligonucléotide phosphorothioate qui s'hybride à sa séquence complémentaire d'ARNm et bloque sa traduction	Troubles de la vision, rougeurs des yeux, sensibilité à la lumière
GCV	Ganciclovir	Cytovene®, Cymevene®	IV, O, Intravitréenne	HSV-1 ; HSV-2 ; HCMV	Analogue du nucléoside naturel qui est actif sous la forme de triphosphate qui se lie à ADN polymérase	Myélossuppression, neutropénies et effets sur le SNC
IDUR	Iodoxuridine	Herpid®, Stoxil®, Dendrid®, Iloxene®, Virudox®	Ophth	HSV-1 ; HSV-2 ; VZV	Analogue du nucléoside naturel qui est actif sous la forme de triphosphate qui se lie à l'ADN polymérase	Troubles de la vision, rougeurs des yeux, sensibilité à la lumière
PCV	Penciclovir	Denavir®, Vectavir®	T, IV*	HSV-1 ; HSV-2 ; VZV	Analogue du nucléoside naturel qui est actif sous la forme de triphosphate qui se lie à l'ADN polymérase	Maux de tête, diarrhées et nausées
TFT	Trifluridine	Viroptic®	Ophth	HSV-1 ; HSV-2 ; VZV	Analogue du nucléoside naturel qui est actif sous la forme de triphosphate qui se lie à l'ADN polymérase	Inconfort du à l'instillation et œdème de la paupière
VACV	Valaciclovir	Valtrex®, Zelitrex®	O	HSV-1 ; HSV-2 ; VZV	Analogue du nucléoside naturel qui est actif sous la forme de triphosphate qui se lie à l'ADN polymérase	Insuffisance rénale et effets sur le SNC
VGCV	Valgaciclovir	Valcyte®	O	HSV-1 ; HSV-2 ; HCMV	Analogue du nucléoside naturel qui est actif sous la forme de triphosphate qui se lie à l'ADN polymérase	Myélossuppression, neutropénies et effets sur le SNC

Abréviations: IV, intraveineuse; O, orale; T, topique ; ophth, ophthalmique/ * Utilisation non approuvée aux Etats Unis.

1.10 MECANISMES DE RESISTANCE

Depuis l'introduction des médicaments antiviraux sur le marché, l'émergence de souches résistantes à ces médicaments a été régulièrement décrite, particulièrement chez les patients immunodéprimés, les patients porteurs d'organes transplantés ou ayant subi une greffe de moelle osseuse ainsi que chez les malades infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Chez les patients immunodéprimés la réplication du virus peut être prolongée ayant ainsi tendance à produire une infection persistante. La réplication de souches moins pathogéniques pourrait être aussi favorisée car la réponse immunitaire de l'hôte est réduite. Ce qui pourrait être le cas des souches résistantes.^[113]

La résistance à l'ACV et ses dérivés peut être développée à partir de trois mécanismes différents : i) la production partielle de la TK virale ou l'absence de la production de cette enzyme, ii) la modification de la spécificité de l'enzyme (TK) vis-à-vis du substrat (l'enzyme ne reconnaît plus l'ACV comme substrat) iii) la modification de l'ADN polymérase. Le mécanisme de résistance le plus courant consiste en l'absence ou la production partielle de la TK virale, ce qui empêche la phosphorylation initiale de la prodrogue antivirale réalisée par la TK qui est nécessaire pour atteindre sa forme active.^[96, 136]

Le mécanisme de résistance des CMV au GCV consiste en une réduction de la phosphorylation intracellulaire de cette molécule réalisée par des phosphotransférases virales, encodées par le gène UL97 (kinase UL97) ou en des mutations dans l'ADN polymérase. Des souches super résistantes qui comportent ces deux modifications enzymatiques peuvent présenter une résistance croisée au CDV et au foscarnet.^[96, 107, 136]

Une mutation dans le gène de l'ADN polymérase virale associée ou non à une mutation du gène de la kinase UL97 (TK) conduisent à des souches résistantes au CDV. Ces souches résistantes au CDV peuvent aussi être résistantes au GCV et au foscarnet.^[96]

La résistance au foscarnet, comme décrit précédemment, est due à des mutations dans l'ADN polymérase virale, ce qui réduit l'activité de ce médicament.^[96]

1.11 NOUVEAUX AGENTS ANTI-HERPES

Malgré la forte prévalence des infections par les virus de l'herpès, il existe un nombre limité de médicaments disponibles pour le traitement de ces infections. Le mécanisme d'action de ces médicaments repose sur le blocage du cycle de vie viral par l'inhibition de l'activité de l'ADN polymérase virale. Leurs applications restent limitées en raison de leur toxicité relativement élevée et l'émergence de nouvelles souches résistantes. Le

développement de nouvelles molécules contre les virus de l'herpès, plus actives et moins toxiques, est donc nécessaire.^[84]

Bien que le développement des nouveaux agents antiviraux se concentre sur le développement des inhibiteurs de l'ADN polymérase virale, de nouvelles approches destinées à viser différentes cibles moléculaires virales et/ou humaines apparaissent. D'autant que plusieurs études ont révélées que l'inhibition des enzymes de la cellule hôte, tels que le protéasome^[137] (qui dégrade des protéines mal formées ou qui ne fonctionnent plus) ou les kinases, empêchent l'infection par le virus de l'herpès. Il est à noter que le mécanisme d'action de certains nouveaux agents est encore mal connu ou inconnu.^[84]

Cette description a été inspirée par des articles de revue publiés par Skoreński^[84] et Gable.^[58]

1.11.1 Inhibiteurs de l'ADN polymérase

Une approche pour le développement des nouveaux médicaments antiviraux consiste en la modification des principes actifs déjà utilisés. Les alkoxyalkyl esters du CDV, comme l'hexadécyloxypropyl CDV (Brincidofovir CMX001) et l'octadécyloxyéthyl CDV (ODE-CDV) (Figure 13), sont des exemples de cette approche. Ces composés ont été développés pour améliorer la biodisponibilité orale du CDV.^[81, 84-86, 138, 139]

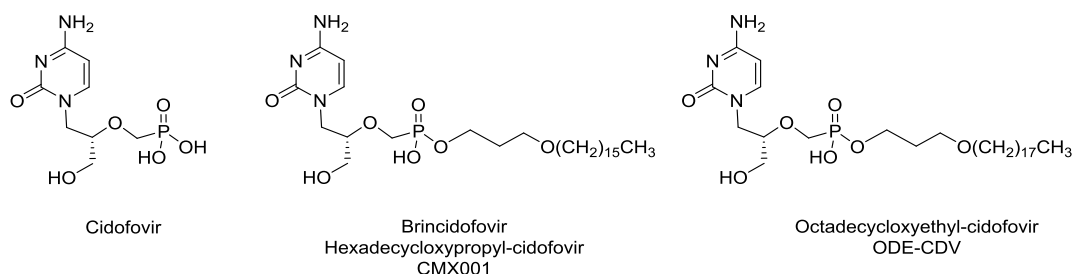


Figure 13 : Les alkoxyalkyl esters du CDV comme exemples de modification des principes actifs déjà utilisés^[58, 84]

Ces deux phosphoesters sont actifs contre les souches résistantes de CMV portant les mutations des gènes UL97 et UL57, qui sont les mutations responsables de la résistance au GCV.^[86] Bien qu'ils exercent leur activité antivirale par le même mécanisme d'action que le CDV, le composé parent, ces composés ont montré une activité *in vitro* contre le CMV supérieure à celle du CDV.^[139] Cette augmentation d'activité est associée à des niveaux de production intracellulaires plus élevés de CDV-DP après administration de ces prodrogues.^[84]

Les données initiales des études *in vivo* et les tests cliniques de phase I du composé CMX001 suggère que la néphrotoxicité, qui est l'effet indésirable dose-limitant causé par le CDV, a été éliminé. Il est possible que le composé CMX001, contrairement au CVD, ne soit pas un substrat de l'enzyme humaine transporteur d'anion organique (organic anion transporter 1) dans les tubules proximaux rénaux. Cela expliquerait la réduction de la néphrotoxicité.

Il n'est pas encore possible déterminer si l'augmentation du CDV intracellulaire jouera un rôle dans le développement de la résistance à ce médicament. La première souche de CMV résistante au CMX001 identifiée *in vitro* (UL54 D542E) présente une mutation différente de toutes celles observées pour les souches CDV-résistantes. Cela indique que le CMX001 peut conduire à un profil de résistance unique. Pourtant, des résistances à cet analogue du CDV devraient être observées pour des mutations de l'ADN polymérase virale conduisant à la non-reconnaissance du CDV-DP comme substrat de la polymérase (UL30, Tableau 2).^[85] Le CMX001 est actuellement en étude clinique de phase 3 pour l'évaluation de son efficacité contre d'autres virus à ADN (ClinicalTrials.gov, identifiant **NCT01769170**).

Le valomaciclovir est un analogue structural du VACV qui est encore un exemple de développement des nouveaux médicaments antiviraux basés sur la modification des principes actifs déjà utilisés. La 2'-désoxyguanosine (Figure 14) est une prodrogue ayant une excellente activité contre les α -herpes virus (HSV-1/2, VZV) et le l'EBV.^[84-86, 138, 140]

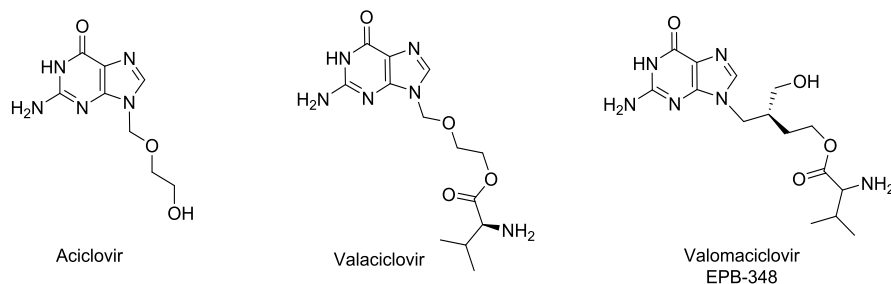


Figure 14 : Valomaciclovir comme exemple de modification des principes actifs déjà utilisés^[58, 84]

Comme les autres analogues de 2'-désoxyguanosine (ACV, GCV, PCV et ses dérivés), le valomaciclovir (EPB-348) nécessite des phosphorylations intracellulaires, par la TK virale ce qui fait de cette phosphorylation l'étape limitante. Comme le GCV, l'EPB-348 hydrolysé et phosphorylé est un inhibiteur compétitif de l'ADN polymérase virale qui perturbe la croissance du brin d'ADN. Comparé à l'ACV et au PCV, l'EPB-348 a une activité beaucoup plus élevée contre le VZV.^[141, 142] Des études de phase 2 sont en cours pour l'évaluation contre la mononucléose et l'herpès zoster (ClinicalTrials.gov, identifiants **NCT00575185** et **NCT00831103**).

Les analogues méthylèncyclopropane représentent une nouvelle classe de molécules avec une activité contre des virus de l'herpès. La première génération de ces composés était essentiellement des analogues bioisostérique de l'ACV dans lesquels le groupement C-O-C a été remplacé par le fragment méthylèncyclopropane (Figure 15).^[143] De façon similaire, la seconde génération de ces analogues ressemble plutôt au GCV (Figure 15).^[143-145] Parmi les composés synthétisés de la deuxième génération le cyclopropavir^[58, 84, 138, 145-147] (Figure 15) présente une très bonne activité antivirale contre le virus CMV dans un modèle animal^[148] et contre le HHV-6 *in vitro*.^[149, 150] Des tests ont également montré une absence de toxicité dans une culture de fibroblastes humains.^[149]

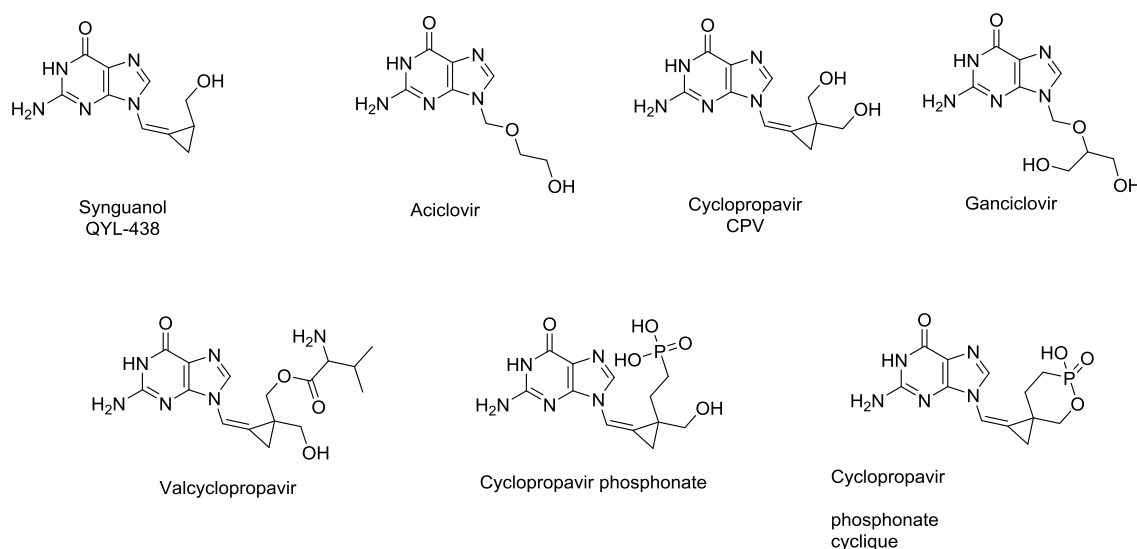


Figure 15 : Analogues méthylèncyclopropane : nouvelle classe de molécules avec une activité HS^[58, 84]

L'excellente activité du CPV associée à sa phosphorylation spécifique par l'enzyme virale (UL97)^[151] a amené au développement de nouveaux composés. L'ester de la *L*-valine vise à augmenter la biodisponibilité orale et des analogues phosphonates. Ces deux derniers, (Figure 15) le phosphonate du cyclopropavir et le phosphonate cyclique du cyclopropavir, sont actifs contre le HCMV. Le phosphonate du cyclopropavir est aussi actif contre l'EBV.^[58, 152] Des études de phase 1 sont en cours dans le cadre de traitements du CMV (ClinicalTrials.gov, identifiant **NCT01433835**).

Les analogues bicycliques des nucléosides (BCNA) ciblent sélectivement la TK ont été récemment développés. Ces analogues ont une spécificité élevée pour VZV et HSV-1/2. Les BCNA, à l'inverse du BVDU, ne sont pas dégradés par des enzymes cataboliques, ce qui se traduit par l'amélioration de leur stabilité. D'autre part, à l'opposé du BVDU, l'utilisation de ces analogues n'est pas associée à l'augmentation de la durée de vie de la 5-fluorouracile et à ses effets toxiques lors d'une administration concomitante (Tableau 3).^[58]

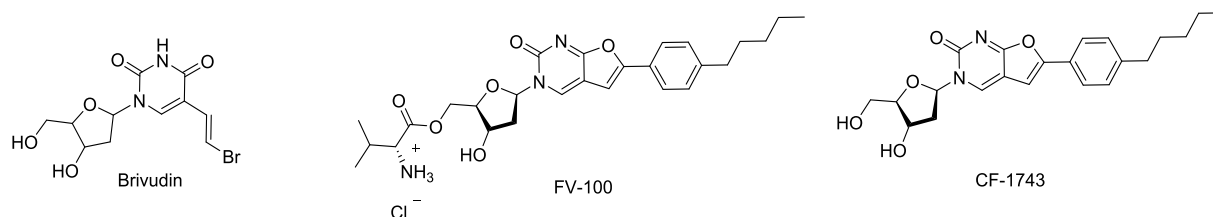


Figure 16 : Structure du BVDU comparée à celle des analogues bicycliques de nucléosides FV-100 et CF-1743^[58, 84]

Il n'est encore pas démontré que les BCNAs agissent par inhibition directe de l'ADN polymérase car les formes triphosphates ne sont pas détectées dans les cellules.^[58, 138]

En 2010, une prodrogue (FV-100) (Figure 16) qui est un ester de la valine du CF-1743, a été testée dans un essai clinique de phase 2 en comparaison avec le VACV chez des patients atteints d'infections par VZV (ClinicalTrials.gov, identifiant **NCT00900783**), les résultats de cette étude ne sont pas disponibles. En 2015, les études cliniques de phase 3 portant sur l'efficacité de cet analogue, en comparaison avec le valaciclovir, ont été débutées (ClinicalTrials.gov, identifiant **NCT02412917**).

A partir d'un criblage la série des dérivés naphthyridinone, présentée par Fader^[153] en 2013, a montré une activité inhibitrice de l'ADN polymérase virale des CMV. Ces dérivés dont la formule structurale générale représentée dans la Figure 17 à côté de celle du composé 6011 qui a montré la plus haute activité inhibitrice de la série.^[84, 153]

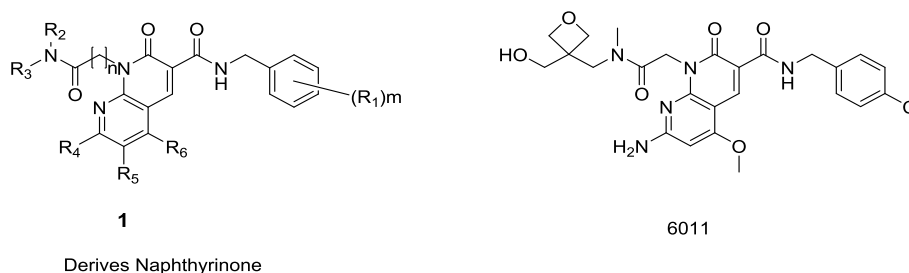


Figure 17 : Dérives naphthyridinone avec activité inhibitrice de l'ADN polymérase^[58, 84]

1.11.2 Inhibiteurs de l'encapsidation virale

Lors de l'élaboration de benzimidazoles envisagés comme inhibiteurs de la terminase (Figure 18) le composé maribar (MBV ou benzimidavir) (Figure 18) a été identifié. Ce composé est un benzimidazole *L*-ribose qui a une action hautement spécifique et surprenante sur la kinase UL97 (HCMV) qui conduit à l'inhibition des kinases virales et non de la terminase comme observé pour ses prédécesseurs chimiques. Ce composé est actif contre les infections à CMV et EBV.^[58, 84, 138, 154]

Le mécanisme par lequel le maribar MBV exerce son action n'est pas encore complètement élucidé car les fonctions précises de l'enzyme UL97^[155, 156] et ses produits, ainsi que son rôle dans le cycle de vie du virus, ne sont pas totalement défini.^[151, 155-158] Le MVB a passé les tests cliniques de phase 1 et 2 avec des effets antiviraux prometteurs (ClinicalTrials.gov, identifiant **NCT00002373** et **NCT00223925**) mais, malheureusement, les études cliniques de phase 3 n'ont pas indiqué de différence significative entre le composé étudié et le GCV (ClinicalTrials.gov, identifiant **NCT00497796**).

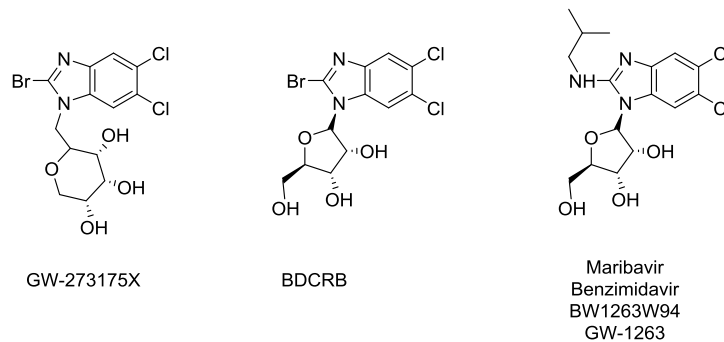


Figure 18 : Composés benzimidazoles envisagés comme inhibiteurs de la terminase virale^[58, 84]

Le léflunomide® a été découvert lors d'un criblage de médicaments déjà sur le marché. Ce médicament est un immunosuppresseur et inhibiteur de la dihydroorotate déshydrogénase mitochondriale dans la voie de synthèse des pyrimidines. Il est utilisé dans le traitement de l'arthrite rhumatoïde et l'arthrite psoriasique. Le léflunomide® est utilisé sous forme de prodrogue, qui *in vivo* est transformé en forme active, le dérivé cyano (Figure 19, A771726).^[58, 84, 159] Récemment, Chacko *et al.*^[159] ont montré que le léflunomide® pourrait être utilisé chez les patients infectés par le HCMV et par des souches HSV-1 résistantes aux médicaments disponibles qui ont subi des transplantations de moelle osseuse. Bien que le mécanisme par lequel le léflunomide® exerce son effet antiviral n'ait pas encore été établi, cette molécule semble empêcher l'assemblage des virions.^[159-161]

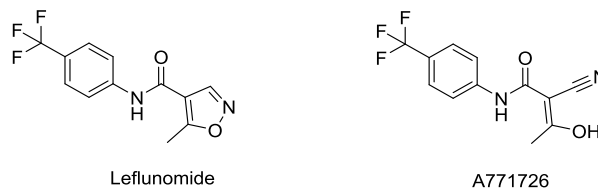


Figure 19 : La prodrogue Leflunomide® et sa forme active^[58, 84]

1.11.3 Inhibiteurs de la protéase herpétique

La protéase des HV ou Pr, faisant partie de la famille des protéines appelées « assemblines », sont essentielles pour la réplication du virus. Elle est exprimée dans le cytoplasme des cellules infectées sous la forme d'un monomère fusionné à la protéine d'assemblage. Les Prs des HSV-1 et HSV-2 partagent une homologie de séquences de 90%. Cependant, l'homologie des protéases avec d'autres membres de la sous-famille (Tableau 1) des virus de l'herpès est plus faible. L'analyse structurale des Prs de HSV-2, du HCMV, du VZV et du KSHV par cristallographie a révélé une nouvelle famille de protéases sérines qui ne ressemble pas aux protéases déjà décrites.^[58, 84]

Un hexapeptide qui porte une fonction diester phosphonique (Figure 20) et qui inhibe irréversiblement par liaison en un site allostérique la protéase du KSHV a été décrit en 2004 par le groupe de Craik^[162]. La structure de ce peptide est issue des études qui avaient pour but le développement d'analogues de substrats plus puissants dans l'inhibition de la protéase virale.^[162-164]

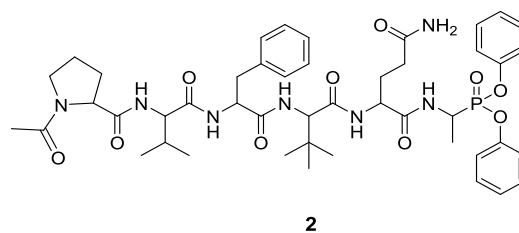


Figure 20 : inhibiteur de la protéase herpétique^[58, 84]

1.11.4 Inhibiteurs de formation du complexe hélicase-primase

Une nouvelle classe d'agents antiviraux est constituée par des inhibiteurs de formation du complexe hélicase-primase (Tableau 2). Le « chef de file » de cette série, le pritelivir (BAY57-1293 ou AIC316, Figure 21), a une excellente activité contre les virus de l'herpès HSV-1 et HSV-2.^[58, 81, 84, 85, 165] Ce composé présente une efficacité supérieure *in vitro* par rapport à l'ACV pour le traitement des infections par HSV. Le pritelivir semble stabiliser le complexe hélicase-primase au stade de la fourche de réplication.^[165] Il est actuellement en essai clinique de phase 2 (ClinicalTrials.gov, identifiant **NCT01658826** et **NCT01047540**).

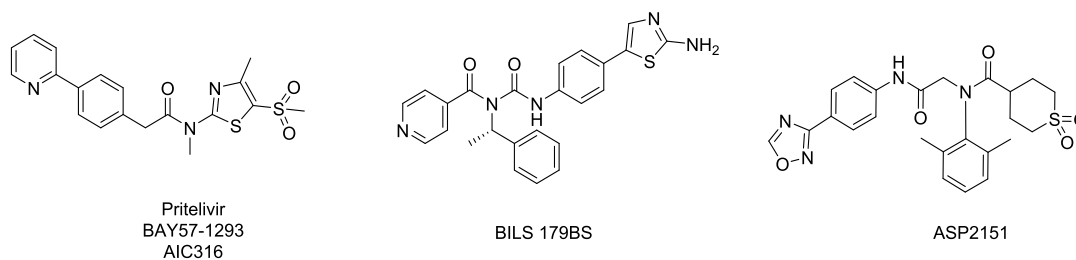


Figure 21 : Inhibiteurs du complexe hélicase-primase^[58, 84]

Le composé BIL179BS (Figure 21) est un composé de structure similaire au pritelivir, qui est efficace contre les virus HSV, y compris les souches résistantes à la thérapie par les analogues nucléosidiques.^[166]

Astellas Pharma a développé le composé ASP2151 (Figure 21) un inhibiteur de formation du complexe hélicase-primase qui présente une activité antivirale contre HSV-2 et VZV intéressante.^[167] Malheureusement, pendant les essais cliniques des effets indésirables importants ont été identifiés et les études cliniques ont été arrêtées.^[167, 168]

1.11.5 Inhibiteurs du complexe « terminase »

Le letermovir (AIC246, Figure 22), est un excellent inhibiteur du complexe d'assemblage du virion appelé complexe « terminase » qui interagit avec la protéine UL56^[169] d'une sous-unité du complexe viral. Cette interaction conduit à une inhibition de la dernière étape de réplication du virus HCMV qui est essentielle au cycle de vie du virus.^[58, 84, 138, 170, 171]

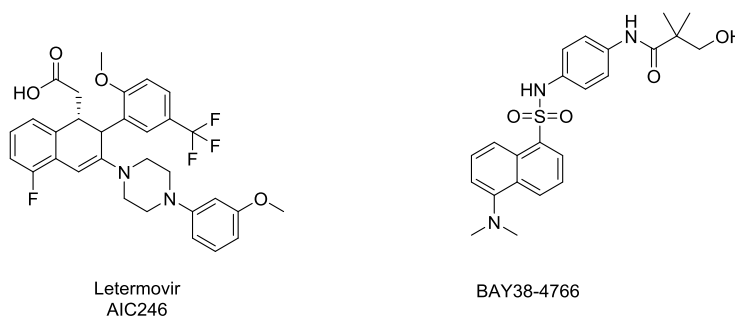


Figure 22 : Inhibiteurs du complexe terminase^[58, 84]

En décembre 2011 des études cliniques de phase 2 sur le letermovir ont été réalisées (ClinicalTrials.gov, identifiant **NCT01063829**) et, en 2012, le composé a reçu le statut de médicament orphelin (Orphan Drug) en Union Européenne et « Fast Track Designation » aux États-Unis.^[58] Le letermovir a été utilisé pour le traitement des patients porteurs de souches résistantes au GCV, PFA, et CDV au cours du programme expérimental des nouveaux médicaments.^[172]

Le composé BAY38-4766 (Figure 22), qui présente le même mécanisme d'action que le letermovir, s'est révélé actif contre le virus CMV, dans des modèles animaux.^[173] Il été soumis à des études cliniques de phase 1, cependant il n'existe pas de rapport sur l'état actuel du développement clinique de ce composé ou des analogues de la série.^[109]

1.11.6 Inhibiteurs des cibles cellulaires d'hôte impliquées dans l'infection par des virus de l'herpès

Des inhibiteurs de CDK (kinases cycline-dépendante) utilisées pour empêcher la réplication virale dans la culture cellulaire, ont fourni le premier exemple d'une cible cellulaire de l'hôte qui peut être utilisée dans l'inhibition des virus de l'herpès. Ces inhibiteurs ont montré une efficacité contre les virus HSV 1 et 2, VZV, et HCMV.^[27, 174] Les inhibiteurs des CDK agissent en retardant la réplication des virus à différentes étapes du cycle de vie virale, par contre le mode d'inhibition semble varier selon les différents types de virus de l'herpès. De façon générale, des inhibiteurs de CDK, comme la roscovitine (Figure 23), semblent inhiber des virus qui nécessitent une phase de réplication nucléaire.^[27, 58]

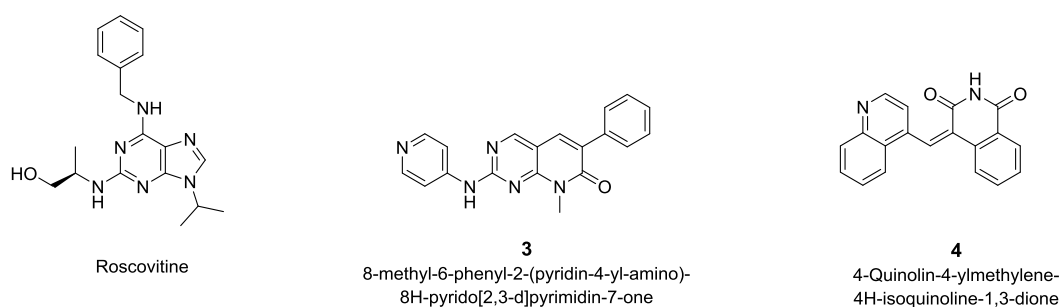


Figure 23 : Inhibiteurs des cibles cellulaires de l'hôte impliqué dans l'infection par virus de l'herpès^[58, 84]

La découverte de facteurs de transduction du signal cellulaire cruciaux pour l'infection virale a permis l'identification de nouvelles cibles moléculaires pour le traitement et le développement d'une nouvelle classe d'agents antiviraux. Les kinases RICK (CARDIAK ; RIP2), RIO, NIK (HGK, MAP4K4°, MKK3 (MEK) et SRPK-2 CDK sont spécifiquement et uniquement régulées à la hausse dans les cellules infectées par le CMV.^[158] Ces kinases cellulaires ont été identifiées comme des cibles thérapeutiques potentielles et comme des marqueurs pour le diagnostic des infections. Les composés (**3**) et (**4**) (Figure 23) sont des inhibiteurs puissants de la protéine kinase cellulaire humaine qui ont montré une activité antivirale contre HCMV dans des essais de réplication virale.^[84, 175]

1.11.7 Inhibiteurs du protéasome

En 2004, un brevet décrivant l'application des inhibiteurs de protéasome comme agents anti-virus de l'herpès a été publiée.^[176] Les résultats cliniques ont indiqués une forte corrélation entre le niveau de TNF- α (facteur de nécrose tumorale) dans le plasma et la probabilité de l'activation/réactivation du virus CMV. Les résultats de Proesch *et al.*^[176] ont démontrés que des inhibiteurs du protéasome déjà connus réduisait de façon significative la réplication du CMV dans des fibroblastes pulmonaires embryonnaires infectés, qui sont en fait un type de cellules cibles dans l'infection par CMV *in vivo*. L'inhibition de la réplication du virus est probablement associée à une diminution des protéines α et de l'expression de la protéine précoce. En outre, l'application de composés MG-132 (Z-Leu-Leu-Leu-CHO) et PS-1 (Z-Ile- Glu (OtBu) -Ala-Leu-CHO) a entraîné une réduction significative de la synthèse des protéines virales tardives (protéines structurales).^[58, 84]

1.11.8 Inhibiteurs du portail vertex

Une série de dérivés thiourées, de formule générale (5) représentée dans la Figure 24, qui inhibent la formation correcte du portail vertex a été identifiée. Ces composés sont actifs contre HSV-1, HSV-2, HCMV et VZV. Parmi les composés synthétisés, le WAY-150138 est celui qui a présente les meilleurs résultats, il ne semble pas empêcher la réplication de l'ADN viral, il paraît agir tardivement dans le cycle de réplication virale.^[177] Le développement de ces composés a été abandonné en raison de leur faible stabilité due à l'hydrolyse de la thiourée ainsi qu'à une faible biodisponibilité.^[58]

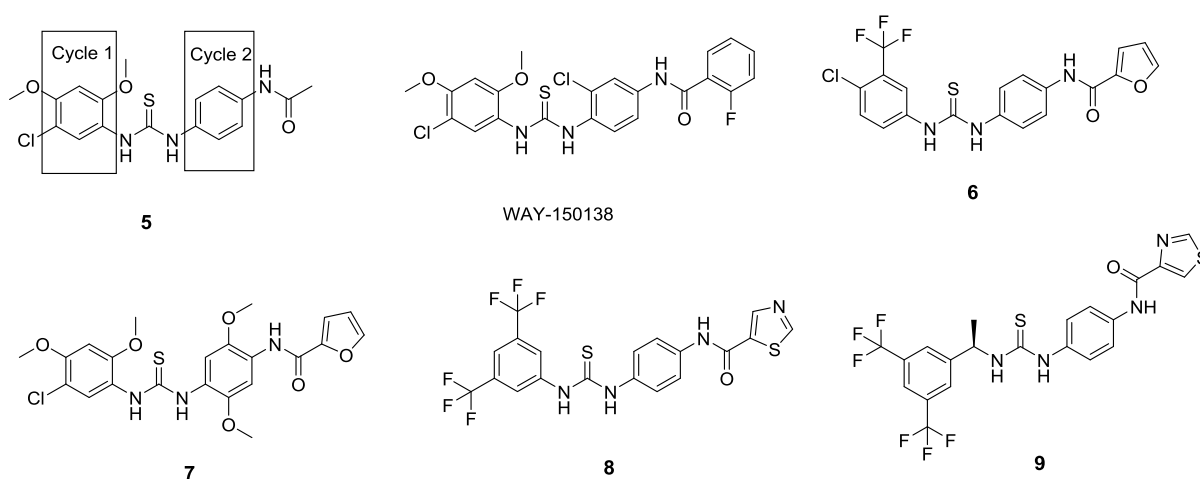


Figure 24 : Composés thiourées inhibiteurs du portail vertex^[58, 84]

Une nouvelle série des composés, basée sur des études de SAR (« structure-activity relationships »), a été synthétisée (6, 7 et 8). Ces composés présentent un mécanisme d'action différente des composés « parents » (WAY-150138). Ils inhibent le processus de

fusion du virus avec les cellules de l'hôte par blocage des glycoprotéines B. Les modifications apportées ont conduit au composé (9) (Figure 24) dont l'activité antivirale est plus forte et qui est plus stable en milieu acide et en milieu basique. [58, 178, 179]

1.11.9 Mécanismes d'action inconnu

Le brevet publié par Balzarini *et al* [180] a inspiré une nouvelle série de composés conçus pour le traitement des infections par VZV. La formule générale de ces analogues de nucléosides est présentée Figure 25 par la structure générale (10). Le composé (11) a ainsi montré une activité antivirale puissante dans les cultures cellulaires infectées par VZV et l'addition d'un fragment peptidique à ce dérivé a conduit à une meilleure solubilité et à une meilleure biodisponibilité.

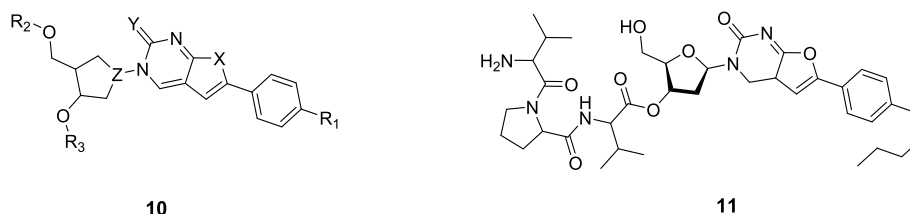


Figure 25 : Nouvelle série de composés conçus pour le traitement des infections par VZV [58, 84]

La conception d'une molécule avec une double activité antivirale a été rapportée en 2009 (Figure 26). Ces composés présentent probablement un nouveau mécanisme d'action car ils sont actifs sur des souches mutantes résistantes du virus CMV. Les structures des composés qui ont montré les activités antivirales les plus intéressantes sont représentées dans la Figure 26. [84, 181]

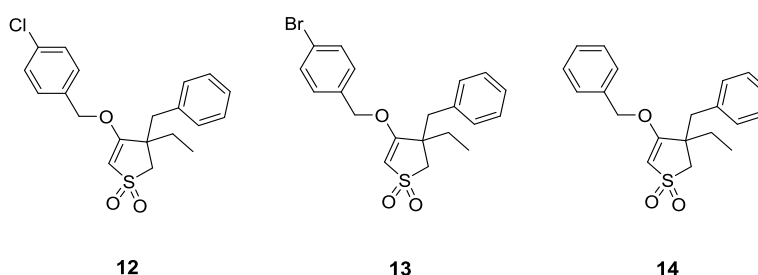


Figure 26 : Famille des inhibiteurs non-nucléosidiques du HCMV et VZV [58, 84]

Les quinazolines, de formule générale présentée dans la Figure 27, synthétisées par Wunberg *et al* [182] ont montré une bonne activité antivirale contre le HCMV. Parmi les composés testés les composés (16) et (17) ont présenté les plus grandes activités (Figure 27). [84, 182]

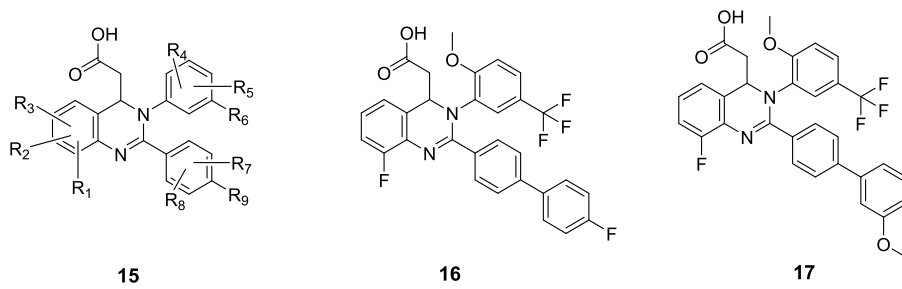


Figure 27 : Quinazolines avec activité antivirale contre le HCMV^[58, 84]

PARTIE 2. NUCLEOSIDES

Les nucléosides et les nucléotides sont impliqués dans tous les aspects de la vie cellulaire : la régulation métabolique, la catalyse, l'approvisionnement énergétique et le stockage de l'information génétique. L'étude de l'activité biologique des nucléosides, nucléotides et acides nucléiques est un domaine de recherche fondamentale depuis les années 1940. Le vaste et important rôle conféré à la chimie de cette classe de composés en fait un important sujet de recherche en chimie bio-organique et médicinale. Suite à l'identification de la structure en double hélice de l'ADN, le rôle des acides nucléiques dans les cellules a été élucidé.^[183]

Au cours des deux dernières décennies du XXe siècle, il a été clair que la synthèse de nucléotides modifiés et des analogues de nucléosides est une des clés pour comprendre les fonctions et mécanismes cellulaires impliqués dans un grand nombre de maladies. Les nucléosides modifiés ont révélé leur utilité en tant qu'outils thérapeutiques. Les recherches ont abouti à plusieurs succès thérapeutiques comme des médicaments antiviraux, anticancéreux et d'autres composés utilisés comme des outils de diagnostic, bien qu'ils provoquent souvent des effets indésirables importants.^[184]

L'accès à ces analogues nucléosidiques se fait principalement par synthèse chimique, par conséquent des efforts peuvent encore conduire à de nouveaux médicaments comme le montre le succès obtenu récemment dans le cadre du traitement de l'Hépatite C avec le sofosbuvir.^[184, 185] De telles modifications des nucléosides naturels peuvent être apportées de plusieurs façons, soit par modification de la base hétérocyclique soit par modulation du sucre. Les modifications liées à la base sont limitées car l'activité biologique est directement liée à sa capacité à former des liaisons hydrogène. Les modifications du cycle furanose sont plus polyvalentes.^[184] En effet, il est possible d'éliminer des groupes hydroxyles (désoxynucléosides), de modifier leur configuration ou même d'introduire de nouveaux substituants, comme dans le cas de l'agent AZT anti-VIH.^[186] Il est également possible de remplacer le cycle furanose par un hétérocycle différent (AZA-nucléosides^[187], thionucléosides^[188] et dioxolanyle^[189], oxathiolanyle^[189] et nucléosides isoxazolidinyle^[189]), par un carbocycle (carba-nucléosides^[190]) ou par une chaîne acyclique. Ces modifications ont des effets importants sur la conformation des nucléosides. Des restrictions de conformation peuvent également être obtenues en introduisant des contraintes comme dans le cas des spironucléosides^[191]. Des modifications supplémentaires consistent à remplacer la liaison C-N par une liaison C-C stable à l'hydrolyse comme dans le cas des C-nucléosides^[192]. Toutes ces modifications doivent conserver la disposition entre la base et le groupe hydroxyméthyle,

qui est crucial pour l'activité biologique. Le groupe hydroxyméthyle est en outre nécessaire à la phosphorylation de l'analogue pour former le nucléotide correspondant, qui est la forme biologiquement active. Cette phosphorylation doit être effectuée par des kinases, une famille d'enzymes qui est généralement assez sélective, vis-à-vis du sucre.^[184]

Ces transformations sont différentes et nécessitent des approches synthétiques diverses.^[184, 193]

Cette présentation a été inspiré par des articles de revue publiés par Mieczkowski^[194, 195], Len^[196] et Yoshimura^[197]

2.1 CYCLONUCLEOSIDES

Les cyclonucléosides sont définis comme des analogues de nucléosides naturels avec une seconde liaison covalente entre le nucléoside et le sucre. Ils diffèrent des nucléosides classiques par une structure plus rigide, qui peut entraîner une meilleure interaction de la molécule avec la cible, ce qui est important dans la conception de nouveaux composés bioactifs. Cette classe de nucléosides a été identifiée avant les années cinquante lors d'études conformationnelles. Pourtant, ce fût seulement dans les années soixante que la synthèse de ces composés a été développée à la suite des premiers travaux de Todd *et al*^[198] et du groupe de Ikehara^[199]. Todd *et al*^[198] ont synthétisé le premier cyclonucléoside (Figure 28), un sel cyclique dérivé de l'adénosine. Depuis, la diversité structurale de ces espèces a beaucoup évolué. Ils peuvent différer au niveau de la position et du type d'hétéroatome utilisé pour fermer le nouveau cycle (N, O, S ou C). Les cyclonucléosides étaient classés comme un groupe de composés non naturels jusqu'en 2005, ce qui a changé après la découverte du premier cyclonucléoside isolé à partir de l'éponge marine *Eryus sp*^[200] (Figure 28).^[194, 195]

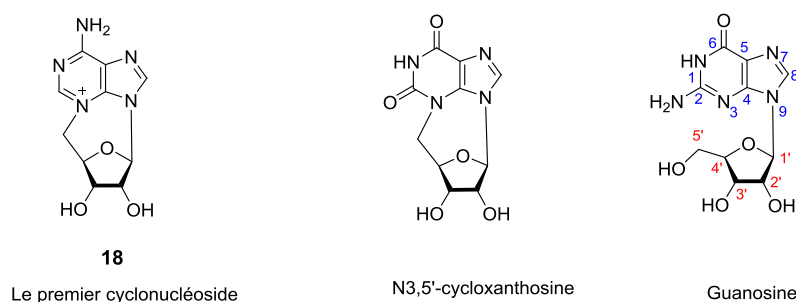


Figure 28 : Structures du premier cyclonucléoside synthétisé, du premier cyclonucléoside naturel découvert^[195] et la structure numérote de la guanosine

Parmi les nucléosides ayant une conformation restreinte, les cyclonucléosides sont obtenus par liaison d'un atome du sucre à un atome de la nucléobase. Deux types de

cyclonucléosides différents peuvent être obtenus : 1) ceux dont le nouveau cycle incorpore un hétéroatome O, N ayant servi à la cyclisation et 2) ceux formés par création d'une liaison carbone-carbone.^[193]

2.2 ACTIVITE DES ANALOGUES DES CYCLOPURINES

Plusieurs cyclonucléosides ont été décrits et présentent une large gamme d'activités biologiques avec des applications en tant qu'antiviraux contre HCMV, HSV, HCV (virus de l'hépatite C) et VIH. Ils ont également montré des activités antitumorales^[201, 202], principalement contre divers types de leucémies. Certains dérivés peuvent être utilisés pour des études enzymatiques^[203-205] et dans la recherche des lésions de l'ADN formées par réactions radicalaires sous irradiation. Des cyclonucléosides ont été incorporés dans des chaînes d'oligonucléotides pour en améliorer les propriétés d'hybridation à des séquences d'ARN ou d'ADN complémentaires et la stabilité vis-à-vis des nucléases dans des approches antisens ou anti-gènes que nous ne développerons pas ici.^[194]

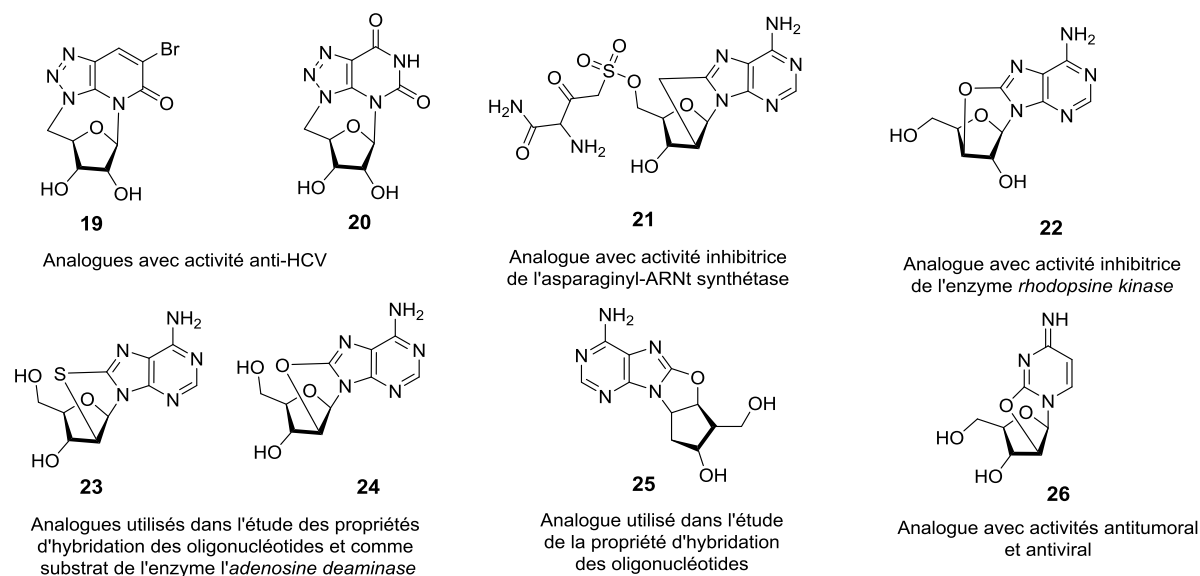


Figure 29 : Cyclonucléosides^[194]

2.3 SYNTHÈSE DES CYCLONUCLEOSIDES AVEC UNE LIAISON OXY, THIO OU AMINO

Les cyclonucléosides peuvent être obtenus par différentes voies. Parmi celles-ci la substitution d'un atome d'halogène semble être la plus commune pour accéder à des composés possédant un lien oxy, thio ou amino. Ces procédés comprennent la formation d'une nouvelle liaison covalente entre le sucre et la base par élimination de l'halogène de la base.^[195]

2.3.1 Analogues constitués d'un cycle incorporant un atome d'oxygène

Ikehara *et al.*^[206] ont décrit la première synthèse d'un cyclonucléoside de purine qui contenait une liaison 8,2'-O-anhydro (Schéma 1) inspiré par la synthèse des sels des cyclonucléosides contenant un pont C5'-N.^[195, 198, 207]

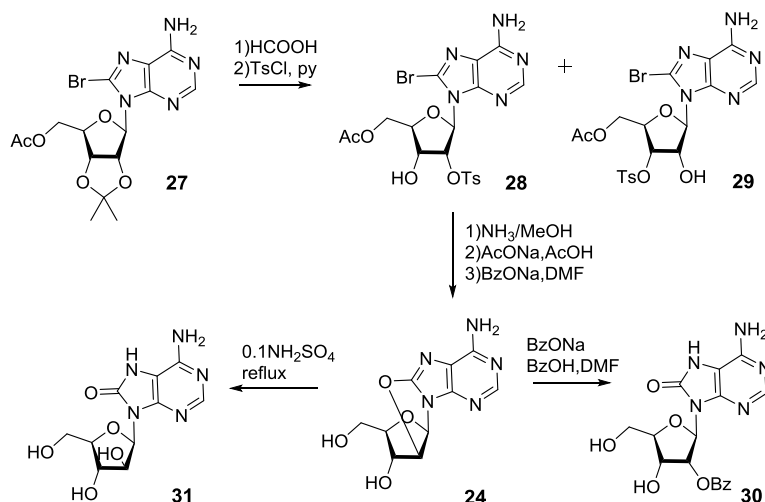


Schéma 1 : Synthèse du premier cyclonucléoside contenant une liaison 8,2'-O-anhydro^[195]

Des travaux conséquents ont été réalisés afin de développer une méthodologie qui permet de séparer les isomères (**28**) et (**29**) (Schéma 1) ainsi que des investigations complémentaires sur la cyclisation 8,2' (**24**, Schéma 2) *versus* la cyclisation 8,3' (**22**, Schéma 2).^[195, 206, 208-219] Le développement de différentes stratégies de synthèse utilisant des groupements protecteurs a permis de surmonter ce problème (Schéma 2).^[195, 210, 216, 219]

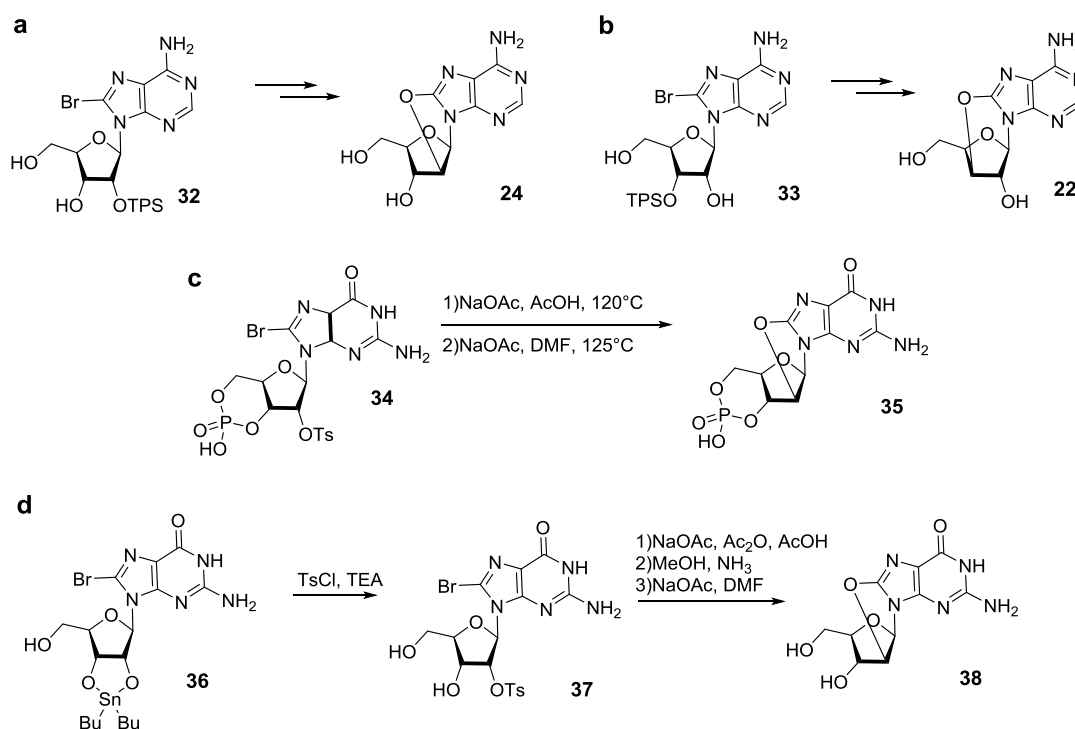
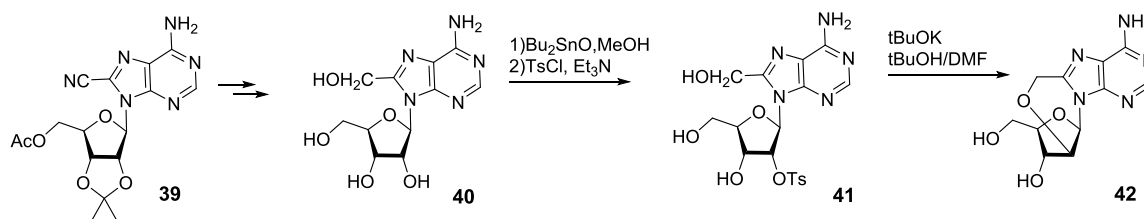


Schéma 2 : Différentes stratégies de synthèse utilisant des groupements protecteurs permettant de séparer les isomères ^[195]

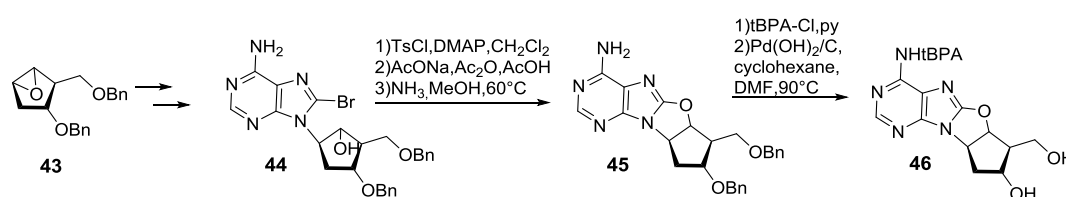
Dans le Schéma 2 (a et b) en remplaçant le groupement protecteur tosylé par un groupement 2,4,6-triisopropylphénylsulfonyle (TPS), les isomères (32) et (33) deviennent séparables par chromatographie ou cristallisation.^[195, 219] Dans le Schéma 2c, pour expliquer la sélectivité de la tosylation, deux hypothèses ont été suggérées par les auteurs : i) le groupement phosphate empêche la réaction du groupement 3'-OH par encombrement stérique, ii) un repliement du cycle furanose en conformation 2'-endo pourrait mettre la fonction 2'-OH dans une position plus favorable que la fonction 3'-OH pour l'attaque de l'atome de carbone portant le groupement tosylé.^[195, 211-213, 220] Dans le Schéma 2d l'utilisation d'un agent activateur, l'oxyde de di-*n*-butyl-étain, permet la 2'-O-tosylation sélective.^[195, 214]

Des études de cinétique réalisées pour la cyclisation des composés du schéma 2a et b ont montré que la cyclisation en 3' est plus lente qu'en 2', et la cyclisation se produit plus rapidement pour le nucléoside portant un groupement *N*⁶-diméthyle en comparaison au nucléoside de l'adénine correspondante (effet donneur supérieur).^[195, 210]

Lors des études de relations structure-activité réalisées en utilisant des enzymes (adénosine désaminase, adénosine kinase et *S*-adénylhomocystéinase) et des dérivés d'adénosine, Ueda *et al*^[221] ont décrit la synthèse du 8,2'-*O*-anhydro-8-(hydroxyméthyl)-9-(β-*D*-arabino-furanosyl)adénine (42, Schéma 3). Dans les cycloadénosines 8-substituées, la conformation relative sucre/purine est bloquée en imposant une conformation *syn* en raison de l'effet stérique.^[195, 221]

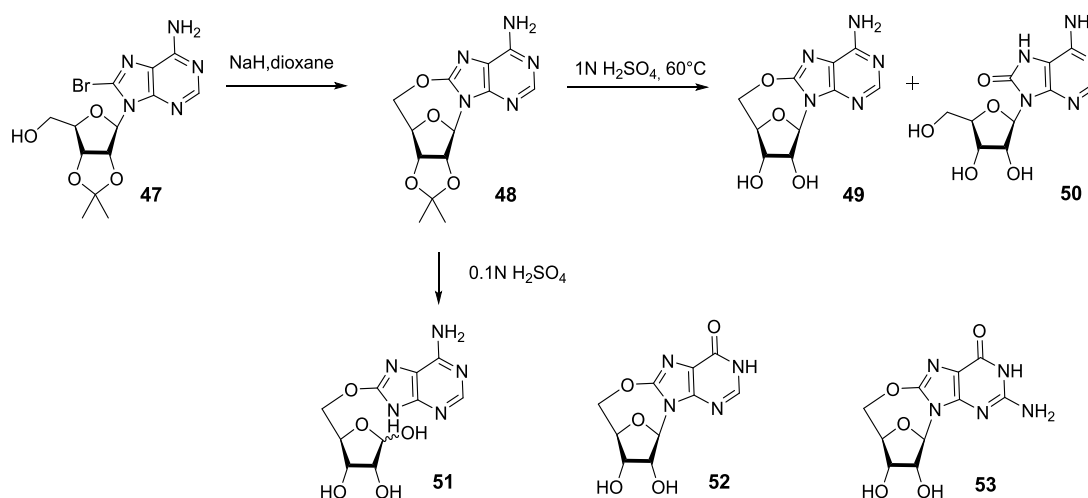
Schéma 3 : Synthèse du 8,2'-O-anhydro-8-(hydroxyméthyl)-9-(β-D-arabino-furanosyl)adénine^[195]

Des analogues nucléosidiques ayant un carbocycle bloquée en conformation *anti* ont été décrit par Urata *et al.*^[222, 223] (Schéma 4). Ces analogues ont été conçus pour être incorporés dans des oligonucléotides pour évaluer la capacité d'hybridation avec l'ADN et des séquences d'ARN naturel.^[195, 222, 223]

Schéma 4 : Synthèse des analogues nucléosidiques ayant un carbocycle bloquée en conformation *anti*^[195, 222]

Les synthèses décrites ont comme point commun une cyclisation intramoléculaire qui se déroule par attaque du nucléophile introduit en position 8 de l'hétérocycle sur le groupement partant porté par le sucre.

La synthèse des nucléosides avec une liaison 8,5'-O a été décrite simultanément par Ikehara *et al.*^[224] et Nagpal *et al.*^[225]. En partant du sulfonate, les cyclonucleosides sont formés par attaque nucléophile d'un atome d'oxygène, de soufre ou d'azote sur le carbone électrophile, qui porte le groupement partant (Schéma 5).^[195, 224, 225]

Schéma 5 : Synthèse des nucléosides avec une liaison 8,5'-O^[195, 224, 225]

De façon similaire, la guanosine (**53**) et l'analogue inosine (**52**) ont été décrits. Des observations ont été réalisées concernant cette voie de synthèse : i) le fait que l'hydrolyse de la liaison anhydro (**50**) se produit principalement dans l'acide en milieu plus concentré peut suggérer que la protonation du *N7* est antérieure à celle du *N9* (Schéma 5) ; ii) la présence d'un groupement 2',3'-isopropylidène a conduit à la conformation appropriée nécessaire à la formation de la liaison intramoléculaire ; iii) les essais de cyclisation directe, sans protection, de la 8-bromoadénosine, ont conduit à un mélange de composés oligomères formés par des liaisons éther entre la position 8 et les fonctions hydroxyles 2', 3' ou 5'. Des travaux postérieurs ont montré que la présence d'autres groupes labiles en position C8, tels que N₃, Cl, F ou SCH₃ peuvent conduire à la formation de cyclonucléosides.^[195, 224-228]

Yu *et al*^[229] ont décrit en 2015, une cyclisation intramoléculaire catalysée par le chlorure de cuivre (I) dans la synthèse des 5'-O,8-cycloadénosine (Schéma 6). Cette réaction, en une étape, consiste en une alkoxylation-déshydrogénation (« copper-catalyzed intramolecular dehydrogenative alkylation of purine nucleosides ») avec cyclisation intramoléculaire catalysée par le cuivre (I) et l'oxydant di-*tert*-butyl peroxide (DTBP).

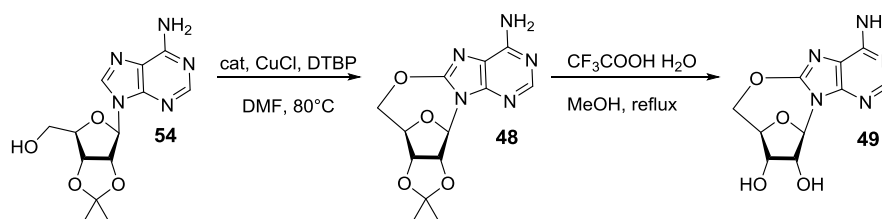


Schéma 6 : Synthèse des 5'-O,8-cycloadénosine avec cyclisation intramoléculaire catalysée par le chlorure de cuivre (I)^[229]

Pochet et Amiable^[230] ont décrit la formation de 8(*R*),5'-O-cyclonucléosides (Schéma 7) via la cyclisation intramoléculaire d'un intermédiaire 5'-triflate. Cet analogue a été synthétisé dans le cadre d'un programme de recherche des nouveaux inhibiteurs de la 5'-phosphate *N*-hydrolase 1 (DNPH1)

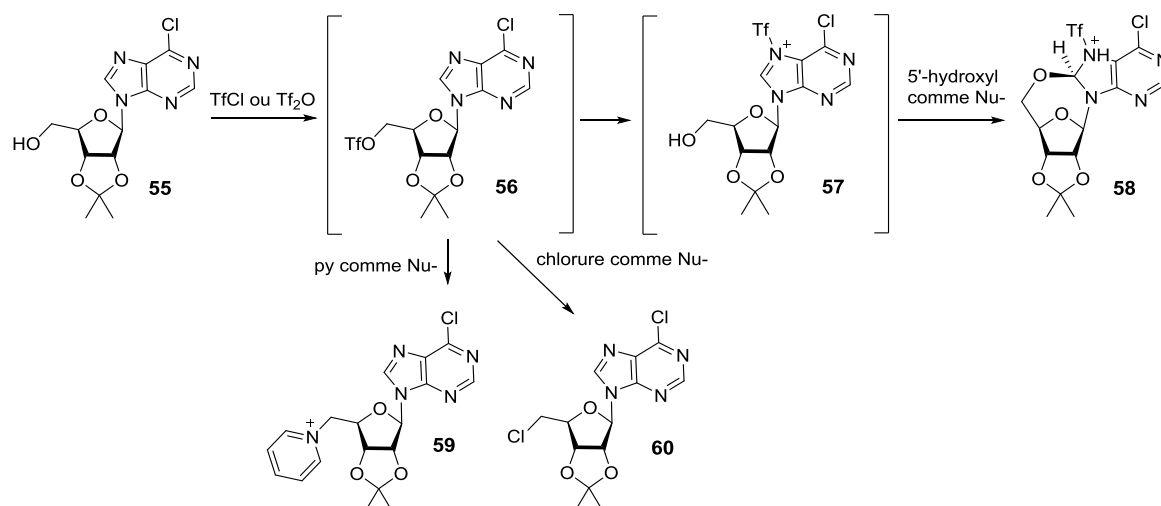


Schéma 7 : Synthèse du 8(R),5'-O-cyclonucleosides via la cyclisation intramoléculaire d'un intermédiaire 5'-triflate^[230]

Les auteurs proposent qu'après la formation du 5'-O-triflate (**56**), celui-ci peut être soit converti par réaction intramoléculaire en zwitterion portant un groupement *N7*-triflate cationique (**57**), ce qui permet l'attaque de la fonction hydroxyle 5' sur le C8 pour former le cyclonucleoside (**58**), ou soit par *N*-sulfonation directe (**57**) (Schéma 7). La stéréosélectivité de la cyclisation peut être expliquée par la répulsion électronique entre les atomes d'oxygène en positions 4' et 5', qui mène à l'attaque de la position 8 exclusivement dans la configuration *R*.^[230]

Un antibiotique isolé à partir de *Streptomyces hygrosopicus* var. *decoycus*^[231] a été utilisé comme produit de départ pour la synthèse décrite par Zavgorodny *et al*^[232]. Ils ont rapporté la synthèse du cyclonucleoside ayant un fragment psicofuranose à partir de ce nucléoside naturel. L'acylation du nucléoside suivie par la bromation a donné l'intermédiaire (**63**) (Schéma 8) qui, ensuite, a été déprotégé et cyclisé dans la même étape.^[195, 232]

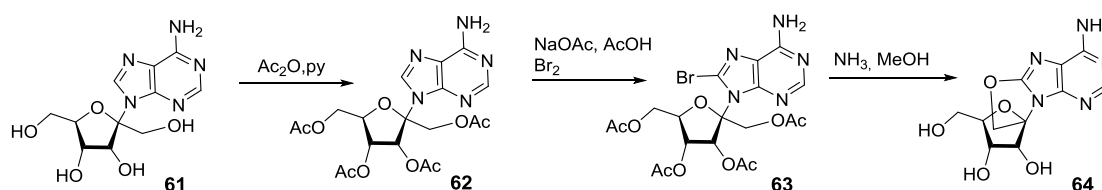


Schéma 8 : Synthèse du cyclonucleoside ayant un fragment psicofuranosyle à partir d'un antibiotique isolé à partir de *Streptomyces hygrosopicus* var. *decoycus*^[195, 232]

Les exemples de synthèse des nucléosides qui ont une configuration α , du centre anomérique, sont moins courants que ceux de configuration β , car, normalement, c'est cette dernière qui est la forme active des nucléosides. La préparation d' α -cyclonucleosides a été décrite par Ikehara *et al*^[233]. La cyclisation du 9-(α -D-xylo-furanosyl)adénine (**65**) passe par la

formation du dérivé 8-bromo (**66**, Schéma 9) qui est rapidement cyclisé en 8,2'-O-anhydro-8-oxy-9-(α -D-xylofuranosyl)adénine.^[195, 233]

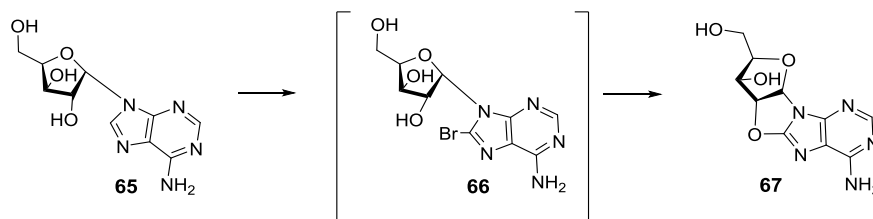


Schéma 9 : Synthèse du 8,2'-O-anhydro-8-oxy-9-(α -D -xylofuranosyl)adénine, un α -cyclonucléoside^[195]

Des cyclisations similaires ont été observées en traitant les nucléosides « parents » avec une base forte dans le méthanol aqueux (Schéma 10a).^[195] Des α -cyclonucléosides possédant des benzimidazoles halogénés (Schéma 10) à la place des purines naturelles ont été synthétisés par Townsend et coll.^[234]

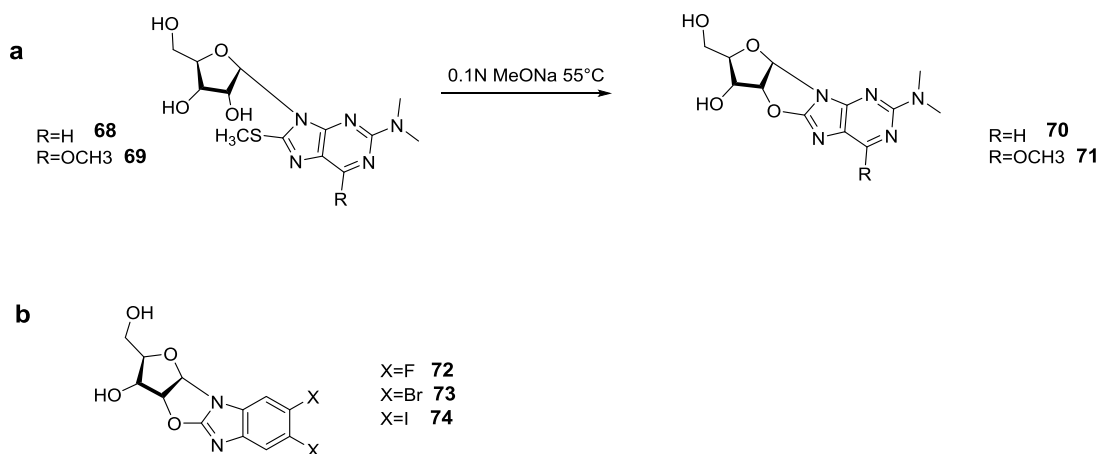
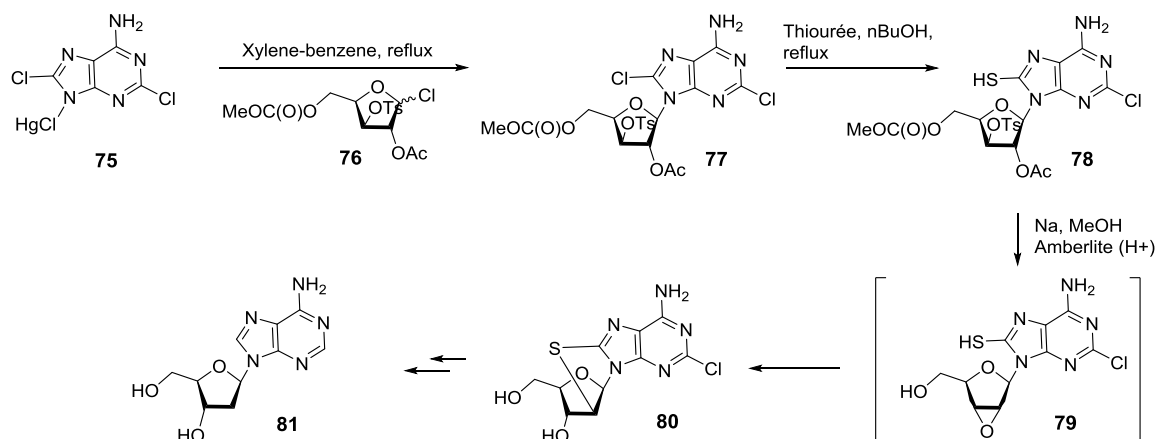


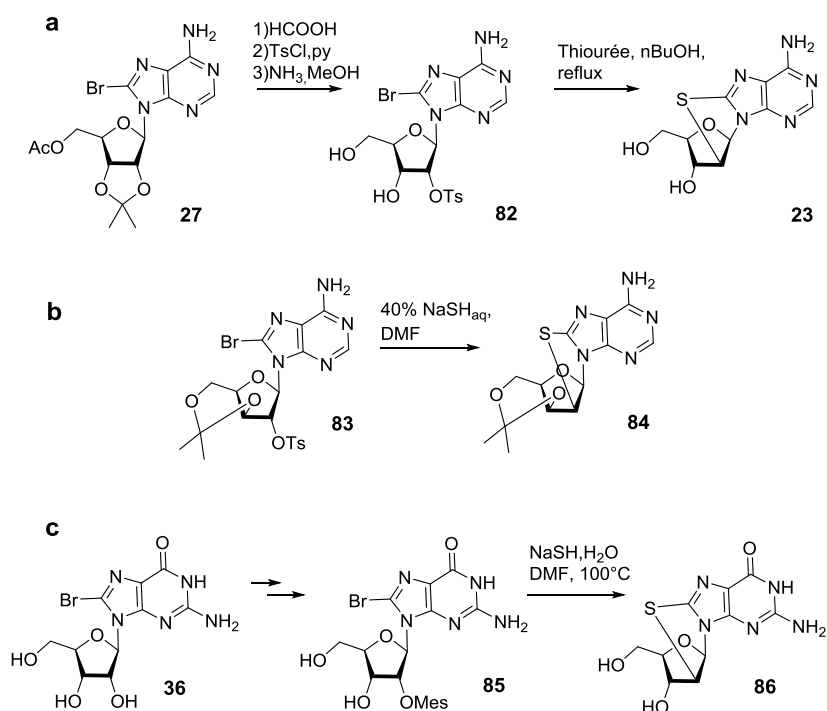
Schéma 10 : Synthèse des α -cyclonucléosides et des α -cyclonucléosides possédant des benzimidazoles halogénés^[195, 234]

2.3.2 Analogues constitués d'un cycle incorporant un atome de soufre

Ikehara *et al*^[235], en 1965, ont décrit la synthèse de la 2'-désoxyadénosine (Schéma 11) *via* un cyclonucléoside. Cet analogue a été synthétisé afin d'étudier l'interaction des cyclonucléosides avec des systèmes enzymatiques.^[235, 236] Les synthèses des dérivés ayant une liaison 8,2'-S sont similaires à celles décrites pour les analogues contenant une liaison 8,2'-O. De ce fait, on retrouve des intermédiaires communs (Schéma 12).

Schéma 11 : Synthèse de la 2'-désoxyadénosine via un cyclonucléoside^[195]

Plusieurs autres synthèses ont été décrites pour des analogues avec une liaison 8,2'-S (Schéma 12, a, b et c). Elles diffèrent dans le choix des groupements protecteurs utilisés pendant la synthèse (comme Tos, Ms, etc).

Schéma 12 : Différents groupements protecteurs utilisés pendant la synthèse des cyclonucléosides^[195]

Comme pour les analogues avec une liaison 8,2'-O et 8,3'-O l'étape de la cyclisation intramoléculaire se fait par l'attaque du nucléophile, introduit en position 8 de la base, sur le groupe partant porté par le sucre (Schéma 12).^[195, 235, 237-245]

2.3.3 Analogues constitués d'un cycle incorporant un atome d'azote

Kaneko et Schimizu^[246] ont décrit la première synthèse de cyclonucléosides de purine ayant une liaison amine en C8, entre l'hétérocycle et le sucre (Schéma 13). La méthodologie utilisée dans la synthèse de ces analogues (Schéma 13) est la même que celle décrite auparavant (Schéma 2 et Schéma 12).^[195, 246]

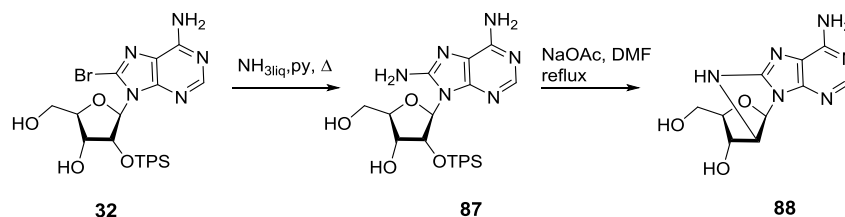


Schéma 13 : Première synthèse de cyclonucléosides de purine ayant une liaison amine en C8, entre l'hétérocycle et le sucre^[195]

Sasaki *et al*^[247-249] ont contribué à l'extension de la gamme de cyclonucléosides aminés (Schéma 14).^[195, 247-249] Le composé (**89**) a été obtenu en chauffant le composé (**82**) avec de la *N*-méthylhydroxylamine. Cependant le composé (**94**) attendu n'a pas été obtenu, probablement en raison de la réduction de la nucléophilie porté par le groupement hydroxyamino. Des transformations similaires ont été décrites pour des dérivés d'inosine (**95** et **96**), de guanine (**97**) et d'adénine (**98** et **99**).^[195, 247, 248, 250]

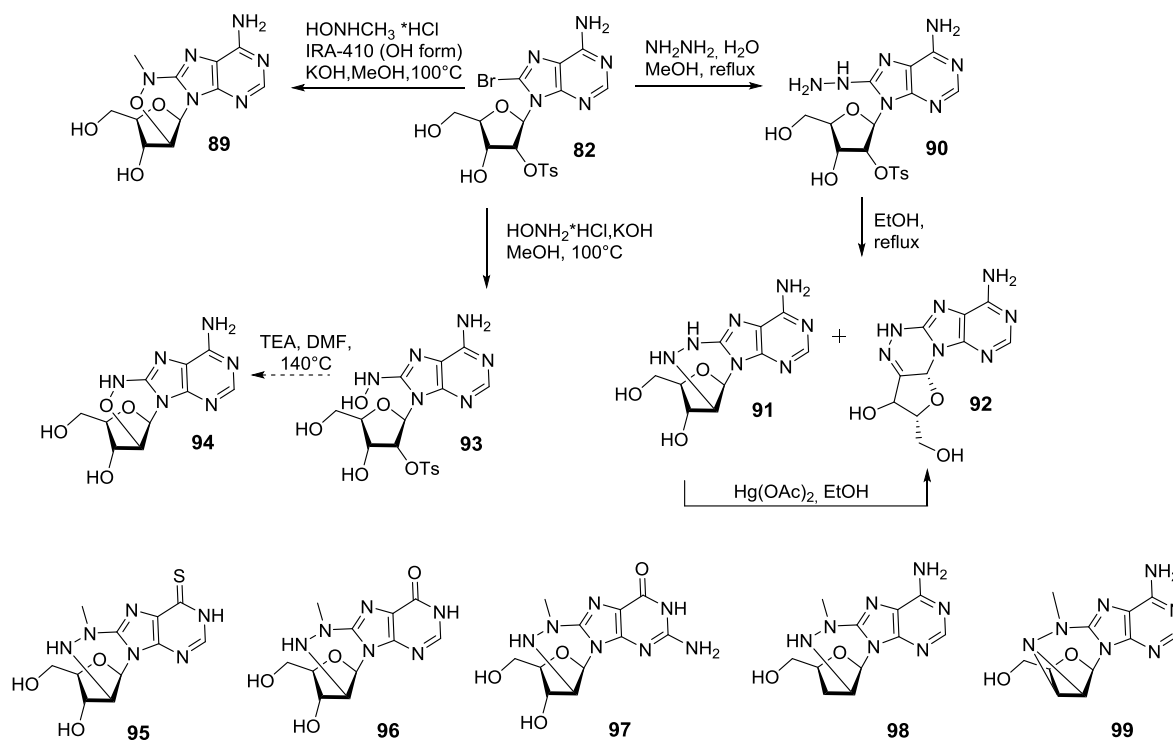


Schéma 14 : Synthèse des composés possédant une liaison 8,2'-oxoamido et des cyclonucleosides ayant un pont hydrazine^[195]

Sasaki *et al*^[249] ont décrit les composés (**101-104**) qui sont des dérivés de l'intermédiaire clé (**100**, Schéma 15) qui soumis à différentes conditions donne les différents analogues correspondants (Schéma 15). Quand les mêmes conditions de réaction ont été appliquées à la 8-bromo-3'-O-[(triosopropylphényl)sulfonyl]adénosine, la réaction avec l'excès d'hydrazine conduit à la formation d'un dérivé 8-hydrazino instable, qui a été converti directement en 8,3'-aminiminocyclonucleoside (**105**).^[195, 249]

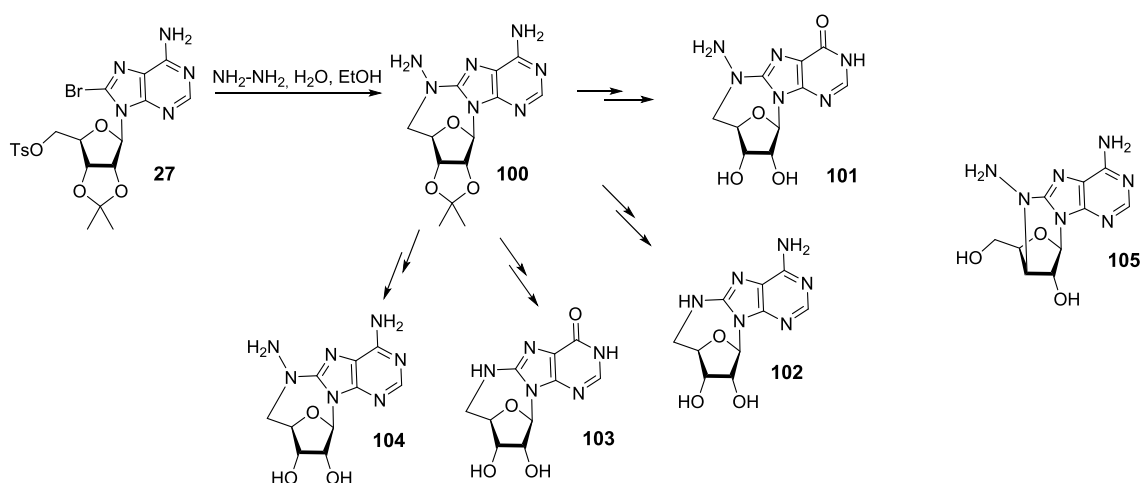


Schéma 15 : Synthèse des dérivés issus de l'intermédiaire clé (**100**)^[195, 249]

Avec une méthodologie de synthèse similaire, Reese et coll.^[251] ont décrit le seul exemple de synthèse à ce jour de cyclonucléoside possédant un pont 8,2'-carboxyamido (**109**, Schéma 16).^[195, 251]

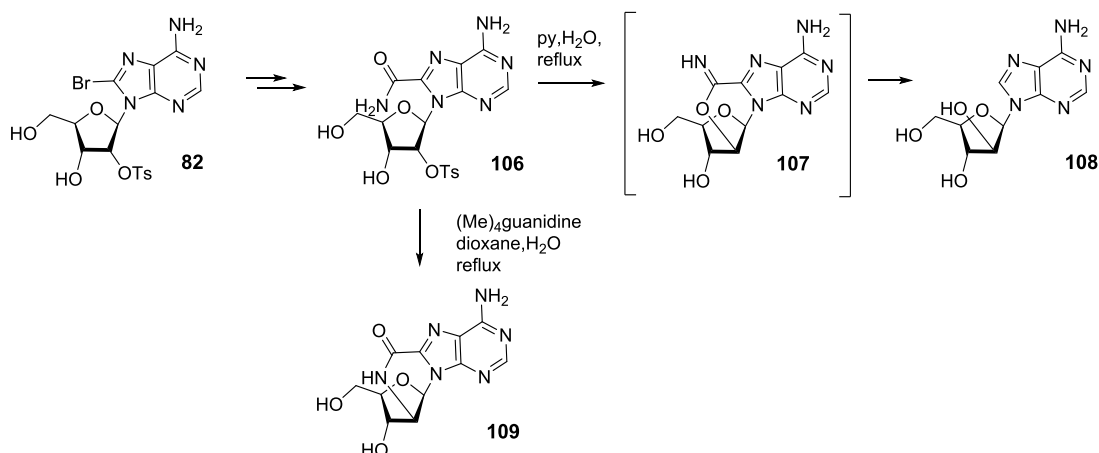


Schéma 16 : Synthèse de cyclonucléoside possédant un pont 8,2'-carboxyamido^[195, 251]

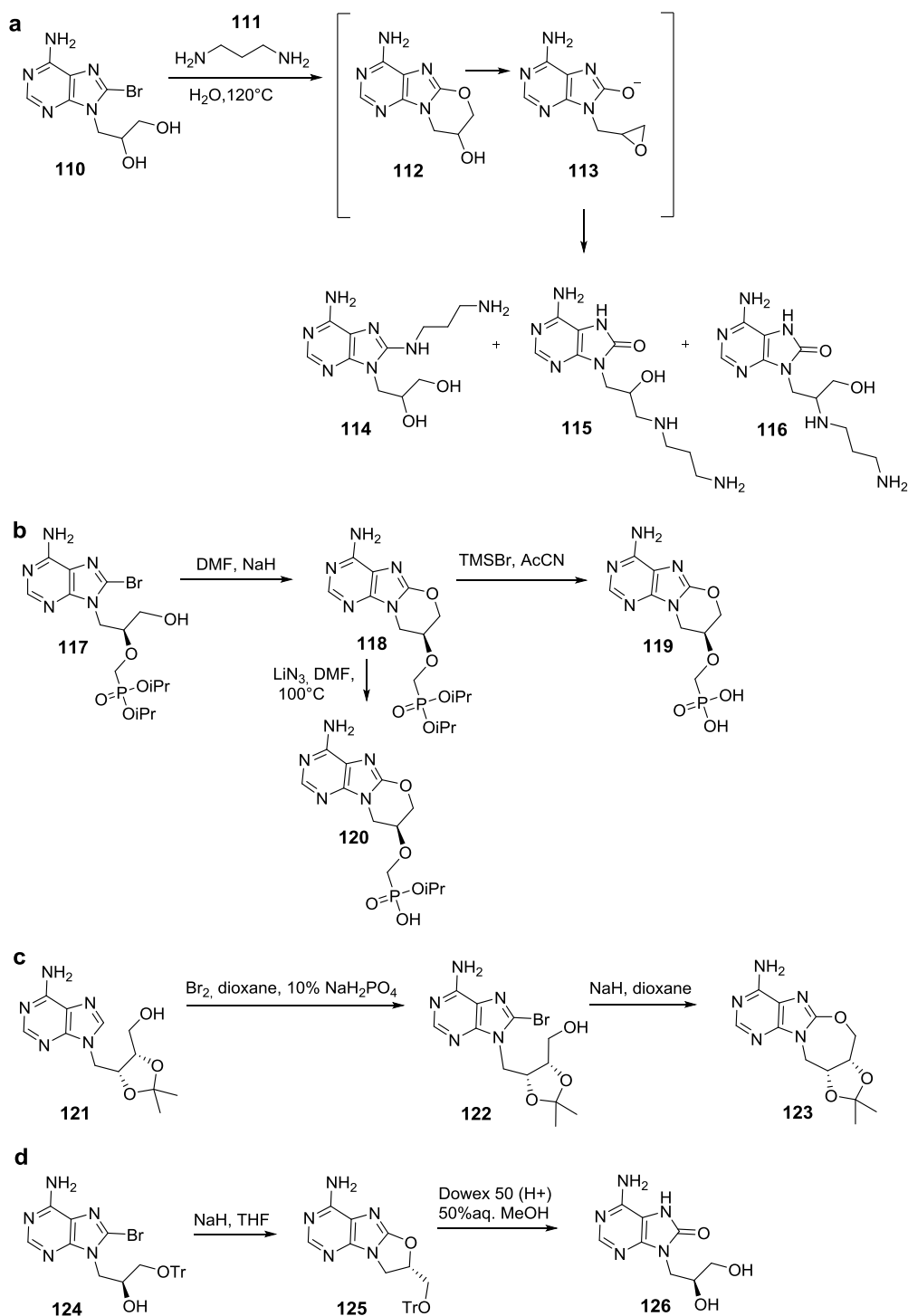
Les auteurs suggèrent que l'intermédiaire (**107**) (Schéma 16) conduit à la 9-(β-D-*arabino*-furanosyl)adénine (**108**) isolée.^[195, 251]

2.3.4 Cyclisation à partir d'analogues de nucléosides portant une chaîne linéaire à la place du sucre

Dans la série adénine, Holý et coll.^[252-260] ont décrit la première synthèse de cyclonucléosides issus des nucléosides portant une chaîne linéaire lors d'une tentative de conversion de l'atome de brome en amine.

Dans le Schéma 17a, la formation des produits peut être attribuée au passage *via* un intermédiaire cyclique (**112**) qui en présence d'un nucléophile fort peut, soit subir une réaction en C8 pour donner le composé (**114**), soit fournir l'époxyde (**113**). L'ouverture de cet époxyde par l'amine conduit à la formation des composés (**115**) et (**116**) (Schéma 17a).^[195, 253] Le groupe de Holý a aussi décrit la synthèse des analogues nucléotides possédant un cycle à six membres fusionné à la purine (**119** et **120**, Schéma 17b).^[195, 257]

Des études de formation de dérivés cycliques à sept atomes, analogues de nucléosides portant une chaîne linéaire, ont également été réalisées en série adénine par Holý et coll.^[256]. Ils ont décrit la bromation de la (2*S*,3*S*)-9-(2',3'-*O*-isopropylidene-2,3,4-trihydroxybutyl)adénine (**121**, Schéma 17c) qui ensuite cyclise pour donner le composé (2*S*,3*S*),4'-*O*,8-anhydro-9-(2',3'-*O*-isopropylidene-2,3,4-trihydroxybutyl)adénine (**123**, Schéma 17c).

Schéma 17 : Cyclisation des analogues de nucléosides portant une chaîne linéaire ^[195, 253, 256, 257]

La formation des cyclonucleosides ayant un cycle à cinq atomes avec une liaison entre l'atome d'azote 9 et l'atome de carbone 8 a été décrite (Schéma 17d).^[257] Une cyclisation similaire a été observée avec l'analogue 8-méthylthio ce qui confirme que le groupement 8-SMe peut servir de groupement partant. Le composé (125) s'est révélé instable dans des conditions acides conduisant à la formation du dérivé 8-oxopurine (126, Schéma 17d).^[195, 257]

De dérivés de guanosine 7,8-disubstituées ont été conçus et préparés en tant qu'inducteurs sélectifs de la biosynthèse des lymphocytes B. Dans cette série, Reitz *et al.*^[261] ont notamment décrit la synthèse d'un analogue de purine fusionné à un cycle à sept atomes à partir du 8-BrACV (Schéma 18).^[195, 261]

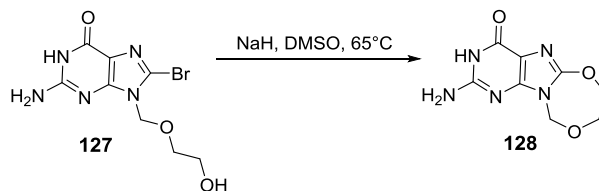


Schéma 18 : Cyclisation du 8-bromoaciclovir (8-BrACV)^[195, 261]

Le groupe d'Holý a également décrit une série d'analogues de 8,*N*-anhydronucléosides en partant de la 8-bromo-9-(4-hydroxybutyl)adénine (**129**, Schéma 19). La synthèse peut être réalisée soit par protection de l'alcool primaire, substitution du brome par une amine et cyclisation intramoléculaire, soit par substitution de l'alcool primaire et de l'atome de brome en C8 par des atomes de chlore ensuite directement engagés dans la cyclisation intramoléculaire avec différentes amines.^[258]

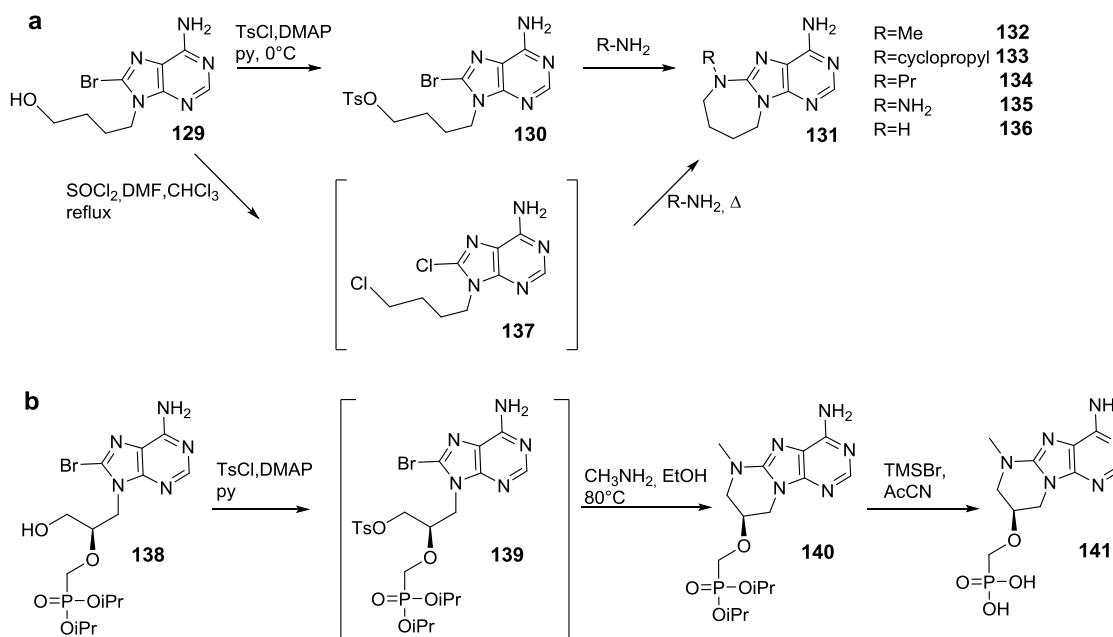


Schéma 19 : Synthèse de la série d'analogues de 8,*N*-anhydronucléosides et préparation de l'adénine cyclique (**141**)^[258]

En utilisant une méthode de synthèse similaire Holý et coll.^[259] ont rapporté la préparation de l'adénine cyclique **141** (Schéma 19b).

2.4 NUCLEOSIDES CONSTITUES D'UN CYCLE CARBONE

Les principales synthèses de cyclonucléosides ayant un pont C-C sont effectuées par la génération d'un radical par amorçage soit photochimique soit avec un initiateur chimique radicalaire. Dans le premier cas, la formation d'un radical sur le sucre et l'addition intramoléculaire sur un atome de carbone de la base nucléique ont été décrites. Dans le deuxième cas, la formation du radical soit sur le sucre soit sur la base nucléique est suivie par l'addition radicalaire.^[193, 196, 197]

2.4.1 Réactions de cyclisation photo-initiées

La synthèse des cyclonucléosides par réaction radicalaire amorcée photochimiquement a été décrite. L'irradiation est effectuée sur des nucléosides portant soit i) un groupe thiophényle, en différentes positions sur l'hétérocycle ou le sucre, ii) un groupement céto en position 5' du sucre ou iii) un atome de brome sur la base nucléique.^[196]

En 1976, Matsuda *et al*^[262] ont proposé un mécanisme pour des cyclisations photo-amorcées. Selon les auteurs, l'intermédiaire clé (**142**) portant le groupe thiophényle est d'abord photo-activé pour donner un intermédiaire 5'-méthyle (**144**) et un radical thiophényle (**143**). La cyclisation entre les atomes C5' et le C8 forme le radical aminyle (**145**), qui ensuite libère un radical hydrogène ce qui conduit, après déprotection à la formation du cyclonucléoside (**147**) correspondant (Schéma 20).^[196, 262]

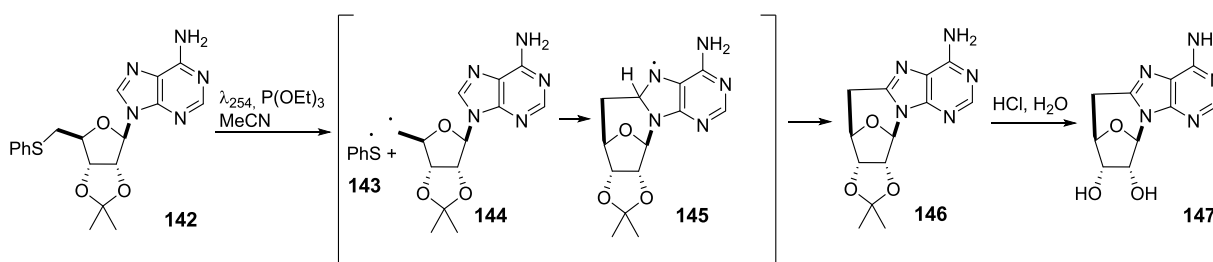


Schéma 20 : Réaction radicalaire amorcée photochimiquement des nucléosides portant un groupe thiophényle^[196, 262]

Les analogues décrits dans la Figure 30 ont été synthétisés en utilisant la méthodologie décrite dans le Schéma 20.^[262-269]

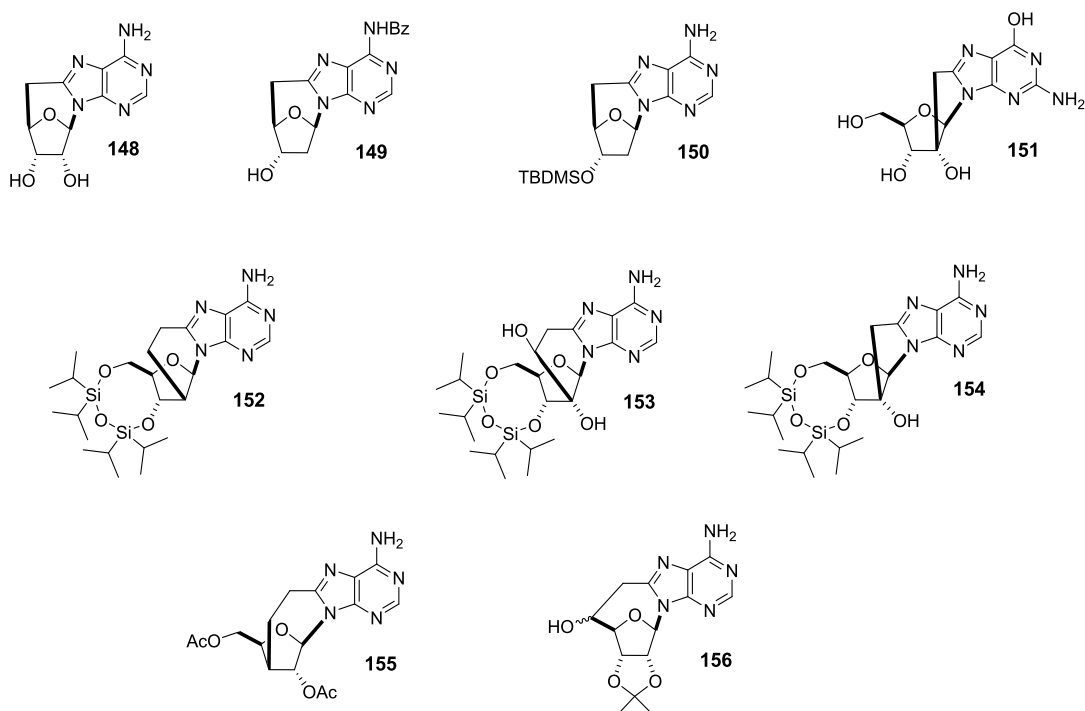


Figure 30 : Analogues synthétisés par réaction radicalaire photo-amorcée [196, 262-269]

Les synthèses utilisent différents groupes protecteurs, néanmoins l'intermédiaire clé (158, 160, 162, Schéma 21) est présent pour toutes ces synthèses. [262-269]

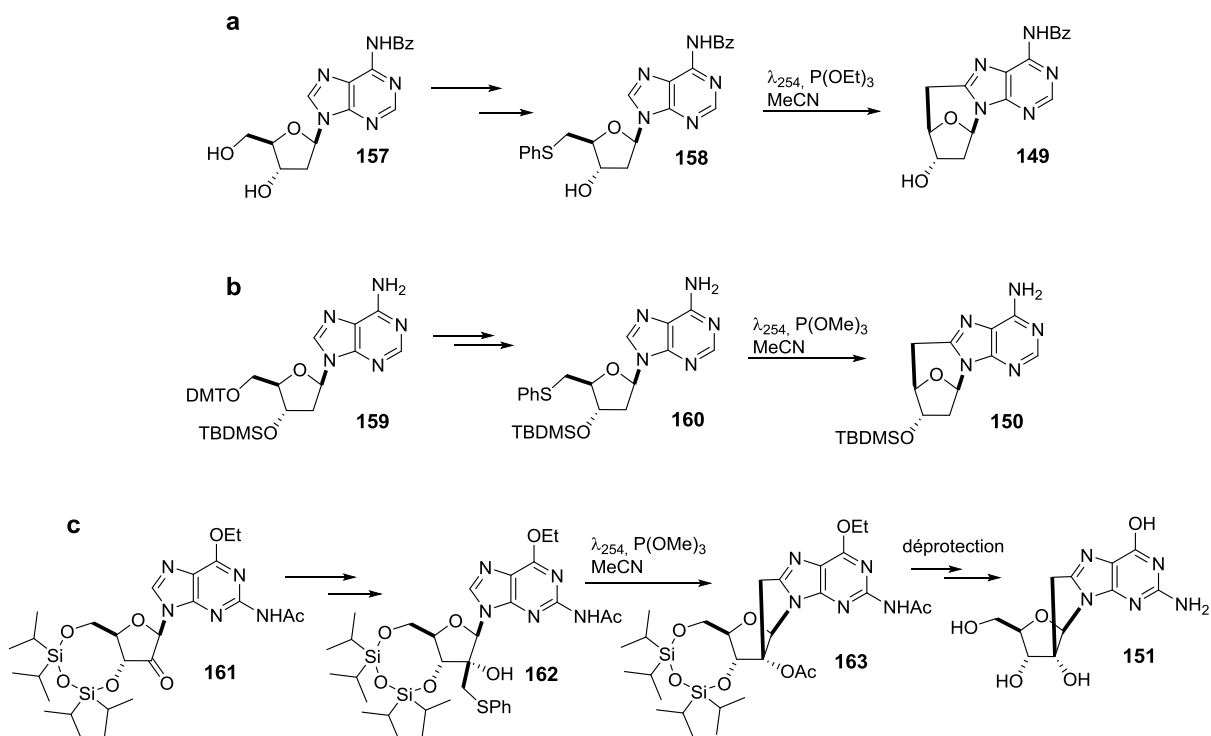


Schéma 21 : Intermédiaire clé retrouvé dans la synthèse des analogues nucléosidiques [196, 262-269]

Ueda et coll. [263] décrivent la synthèse des cyclonucléosides (172) et (171) (Schéma 22) dans lequel le groupe thiophényle est porté par la base. Les auteurs proposent que

l'irradiation de l'intermédiaire clé (**165**) entraîne la formation d'un biradical (**167**) qui se cyclise pour former les cyclonucléosides recherchés (Schéma 22).^[196, 263]

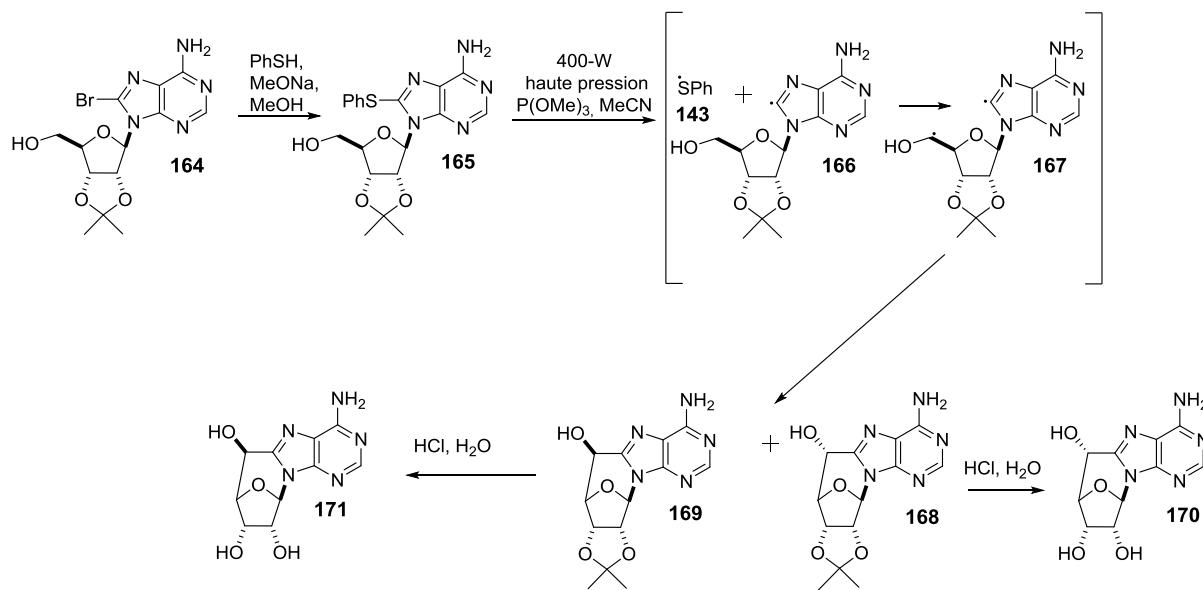


Schéma 22 : Synthèse des cyclonucléosides dans lesquels le groupe thiophényle est porté par la base^[196, 263]

Chatgililoglu et coll.^[270] ont décrit la synthèse du cyclonucléoside (**174**) en utilisant des dérivés 5'-céto (**173**, Schéma 23) comme précurseurs pour la formation sélective d'un radical 5'-nucleosidyle. Dans le mécanisme proposé par les auteurs, la réaction de photolyse de la cétone (**173**) (Schéma 23) génère le radical 2'-désoxyguanosin-5'-yle qui, *via* une cyclisation intramoléculaire, conduit au cyclonucléoside (**174**) ou est réduit pour former le dérivé de 2'-désoxyguanosine (**175**).^[196, 270]

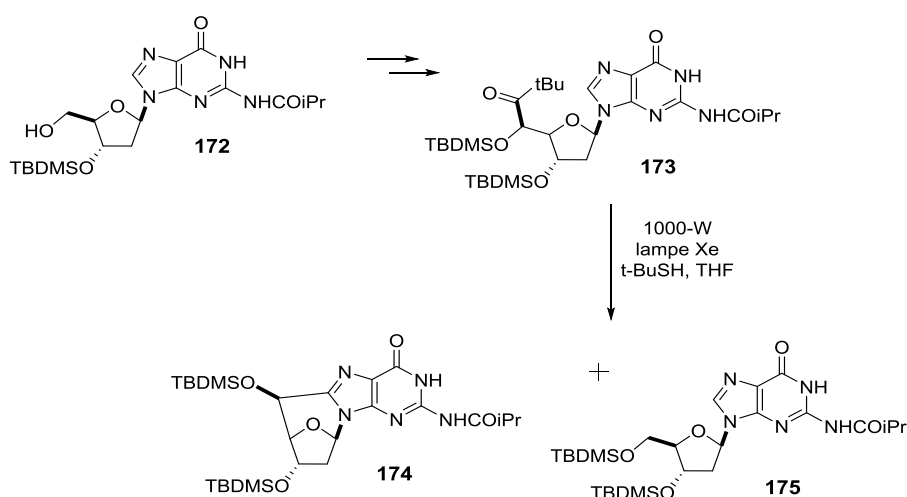


Schéma 23 : Synthèse de cyclonucléosides en utilisant des dérivés 5'-céto comme précurseurs pour la formation sélective d'un radical 5'-nucleosidyle^[196, 270]

Une série de cyclonucléosides a été ainsi synthétisée en « one-pot » à partir de 8-bromo-2'-désoxynucléosides en série purine par Chatgialloglu et coll.^[196, 271-277] (Schéma 24). La formation transitoire sélective du radical en C5' a été réalisée par photolyse « steady-state » sous irradiation UV ou par radiolyse. La formation du radical, issue de la rupture de la liaison C-Br, suivie de la cyclisation et de l'oxydation du radical aminyle intermédiaire conduit aux cyclonucléosides (**177**), (**178**), (**180**) et (**181**) (Schéma 24).^[196, 271-276]

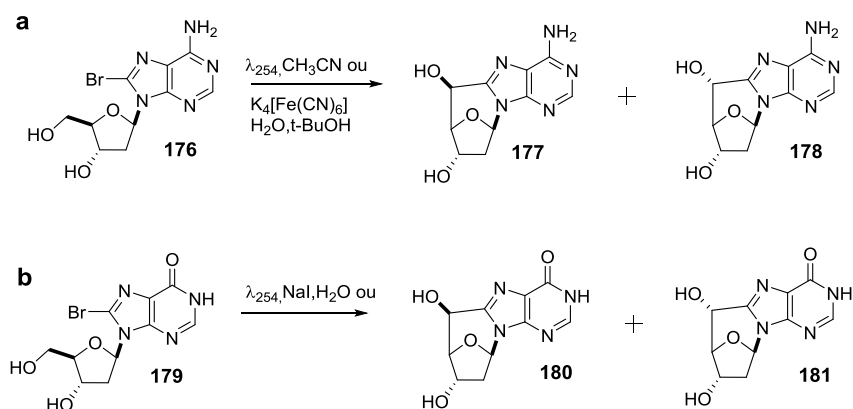


Schéma 24 : Synthèse « one-pot » de cyclonucléosides à partir de 8-bromo-2'-désoxynucléosides^[196, 271-274]

Perchyonok^[278] a décrit la synthèse de cyclonucléosides avec la lumière noire (365 nm), à l'aide d'un atome de brome porté par le sucre (Schéma 25). Le mécanisme proposé pour la réaction commence avec la décomposition de l'initiateur radicalaire par perte d'un atome d'hydrogène, ce qui génère le radical en position C5' du nucléoside. Celui-ci cyclise sur la position 8 du nucléoside avec ensuite régénération de l'initiateur radicalaire par perte d'un atome d'hydrogène.^[278]

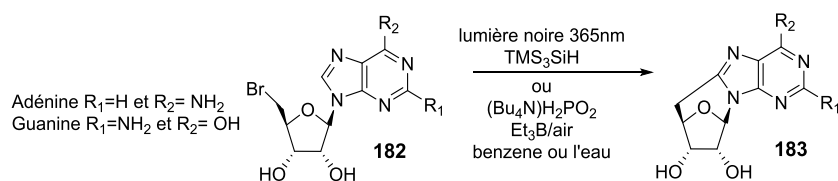


Schéma 25 : Synthèse de cyclonucléosides en utilisant de la lumière noire^[278]

2.4.2 Réactions de cyclisation amorcées par des agents radicalaires

Le groupe de Chatgialloglu a réalisé de nombreux travaux sur les réactions de cyclisation amorcées par des agents radicalaires.^[279-281]

La synthèse du 5',8-cyclo-2'-désoxyadénosine *via* l'aldéhyde correspondant en 5' a été décrite et un mécanisme de formation des cyclonucléosides (**186**) et (**187**) (Schéma 26)

a été proposé. L'addition de l'initiateur de radicaux sur l'aldéhyde (**185**), fourni le radical C-5', qui par réaction intramolécule donne le radical aminyle (**188**). Les deux conformères possibles donnent les isomères 5'R et 5'S. L'encombrement stérique joue un rôle important favorisant la formation du conformère C5'-exo qui conduit à la cyclisation.^[279, 280]

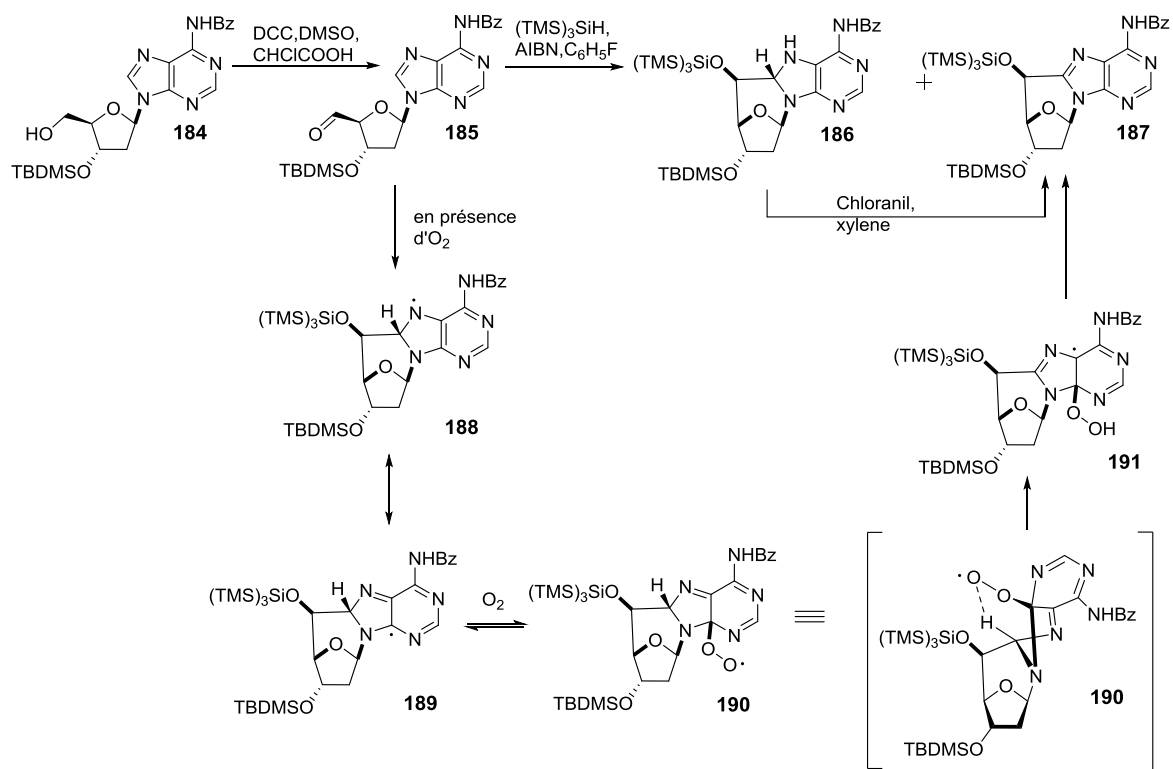


Schéma 26 : Synthèse du 5',8-cyclo-2'-deoxyadenosine et son mécanisme de formation^[279, 280]

Dans la cyclisation en présence de dioxygène, le radical formé est stabilisé par résonance (**189** et **190**, Schéma 26). L'électron non apparié se déplace sur la position C4 (**190**) et l'oxygène moléculaire est additionné pour former le radical peroxyde (**191**). La migration de l'hydrogène est facilitée par l'intermédiaire en forme chaise (**190**), elle est suivie de l'élimination de l'espèce radicalaire HOO^\bullet , ce qui forme le cyclonucléoside (**187**) (Schéma 26). Le cycle de réaction est complété par l'arrachement d'un atome d'hydrogène en position 8 par le radical HOO^\bullet .^[279, 280]

Chatgialloglu et coll.^[280] ont étudié l'effet du solvant, la nature des substituants, le processus de génération de l'espèce radicalaire (**192**) et leur influence dans la cyclisation intramolécule et la formation des cyclonucléosides (**195**) (5'S) et (**196**) (5'R) (Figure 31). Les auteurs ont remarqué que le rapport 5'S/5'R était lié i) à la répulsion causée par l'encombrement stérique du groupe R_1 et la purine, qui favorise la conformation C5'-endo

(**193**), et ii) à l'effet du solvant, un solvant protique permettant la formation de liaisons hydrogène qui aident à stabiliser la conformation C5'-exo (**194**) (Figure 31).^[196, 280]

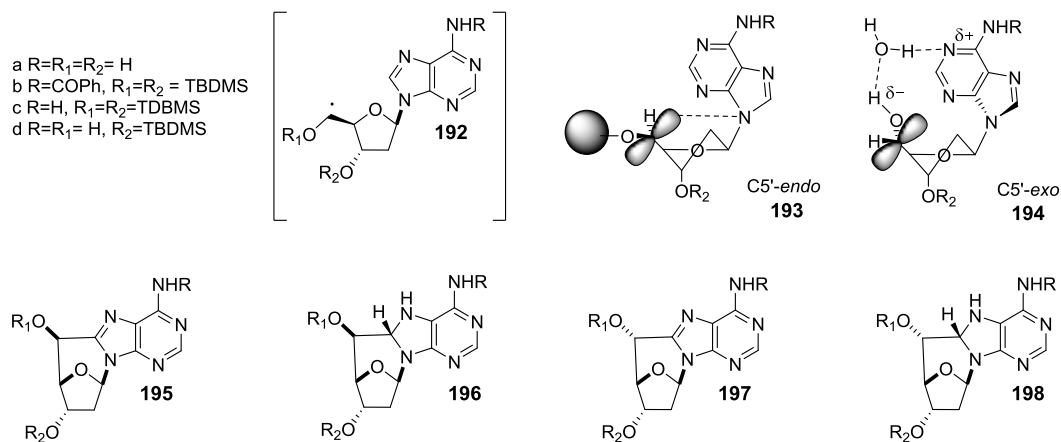


Figure 31 : Effets conformationnels sur la stéréochimie de la formation des 5',8-cyclo-2'-désoxyadénosine^[196, 280]

Ce même groupe a également décrit la formation des cyclonucléosides (**200/201**) et (**202/203**) (Schéma 27). Dans le mécanisme proposé (Schéma 27), l'étape clé de la réaction n'implique pas une cascade radicalaire mais la perte de l'atome de brome et la formation d'un radical en position C8 (**205**) qui migre sur la position C5' (**206**) suivie de la cyclisation (**210**) et d'une oxydation pour donner le cyclonucléoside recherché (**208**).^[281]

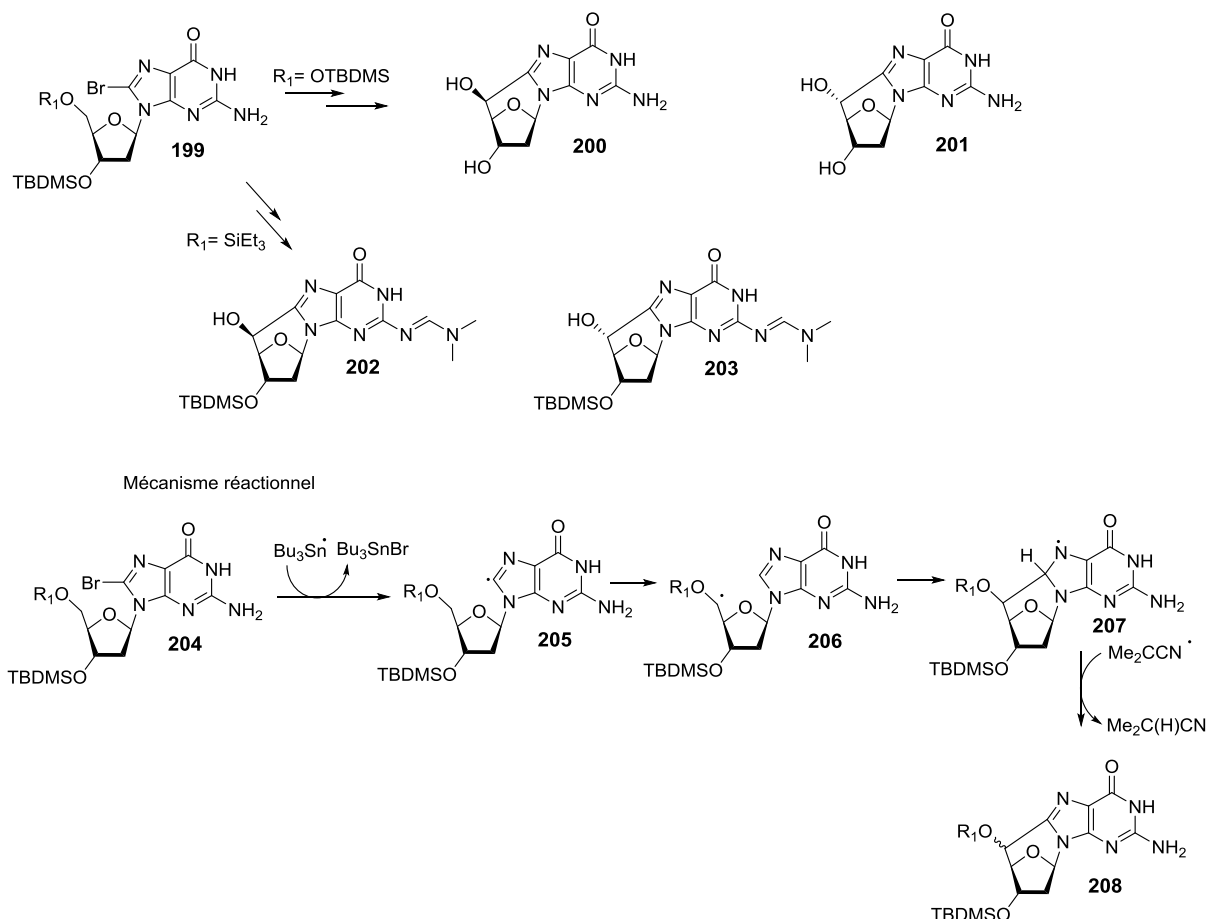


Schéma 27 : Formation des dérivés 5',8-cyclo-2'-désoxyguanosine et mécanisme de formation proposé^[281]

Yueh *et al*^[282] ont décrit la première synthèse des 8,6'-cyclo-2',6'-didésoxyadénosine par cyclisation en présence de zinc qui conduit à la formation du cycle à sept atomes (**211**) (Schéma 28).

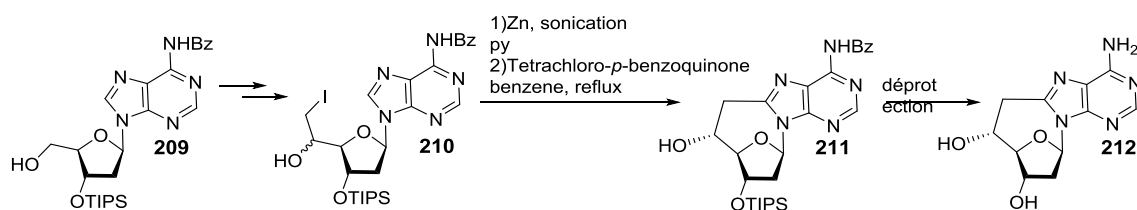


Schéma 28 : Synthèse des 8,6'-cyclo-2',6'-didésoxyadénosine par cyclisation en présence de zinc^[282]

D'autre part, Magnin *et al*^[283] ont décrit la synthèse du dérivé 8,2'-éthanocycloadénosine (**215**, Schéma 29) via la 8-vinyladénosine. Le composé 5-exo n'a pas été détecté, même en augmentant la quantité d'agent radicalaire.^[196, 283]

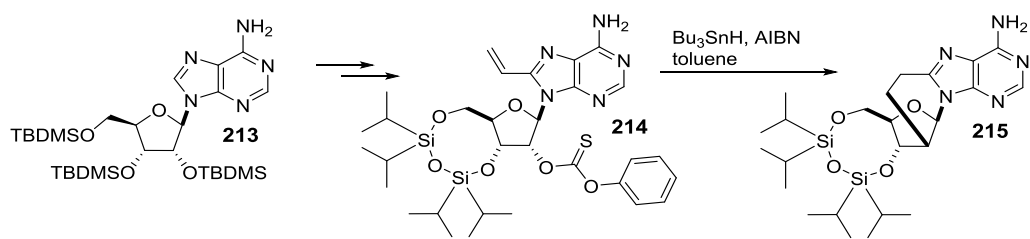


Schéma 29 : Synthèse du dérivé 8,2'-éthanocycloadénosine ^[196, 283]

PARTIE 3. OBJECTIFS

Dans ce projet, nous voulons synthétiser de nouveaux analogues de l'ACV et de ses dérivés (Figure 10) qui sont amplement utilisés dans le traitement de l'herpès, analogues en série guanine et en série adénine dans lesquels la chaîne faisant office de sucre sera cyclisée sur la base.

Les analogues cycliques de nucléosides recherchés ont été conçus pour présenter un encombrement minimum au niveau des modifications introduites par rapport à l'ACV et au sucre naturel des nucléosides de l'ADN, le 2'-désoxyribose, de façon à être substrats des enzymes virales de phosphorylation. Ils comporteront impérativement au moins une fonction hydroxyle primaire pour pouvoir être phosphorylés en triphosphates par les kinases virales et ensuite incorporer dans l'ADN viral par les polymérase virales. La présence d'une fonction hydroxyle secondaire trouvée dans le 2'-désoxyribose naturel était également recherchée.

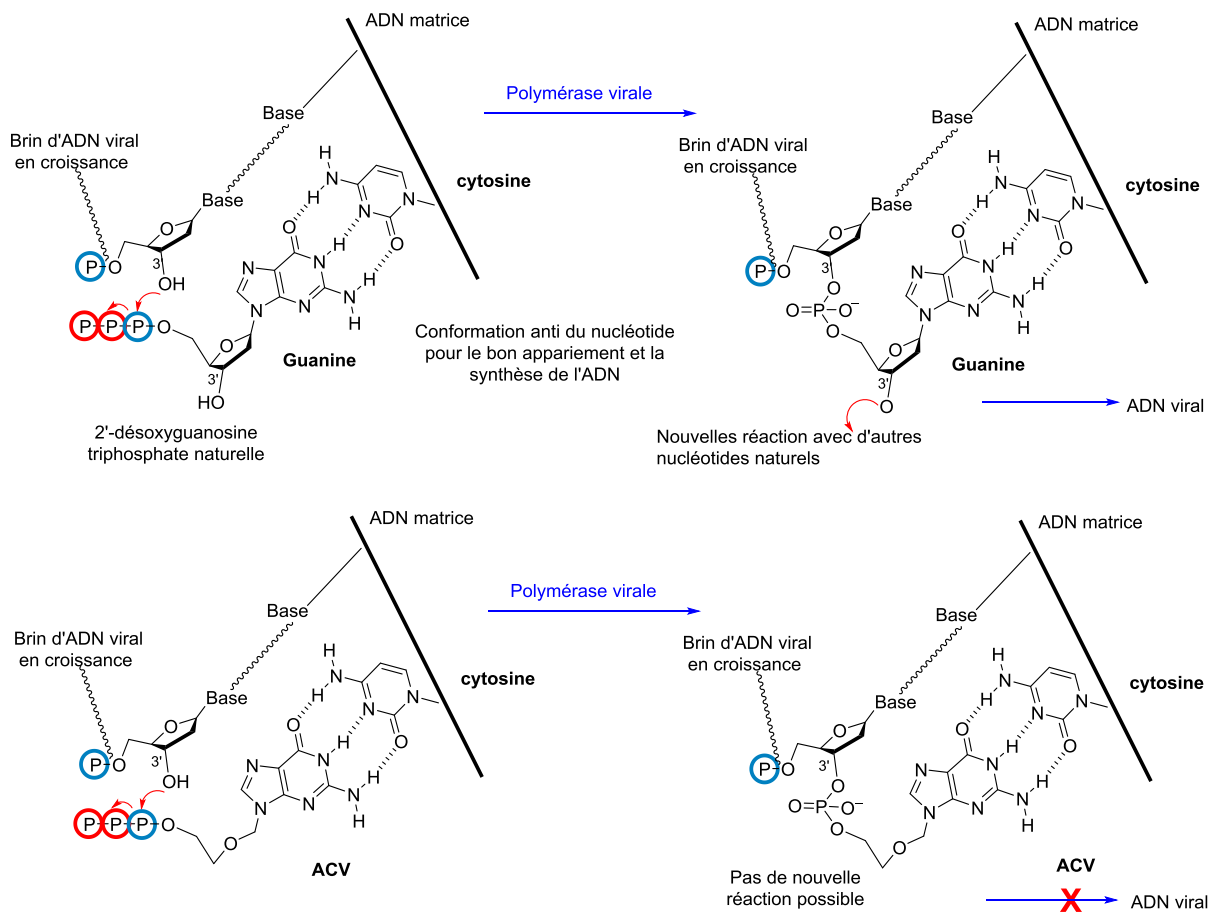


Figure 32 : Comparaison entre le mécanisme de la réaction de la 2'-désoxyguanosine et de l'ACV avec l'ADN polymérase

La création du cycle recherché entre la base purique et le pseudo-sucré mimant le sucre naturel contraint la base à se présenter dans la conformation anti nécessaire à l'appariement avec la base cytosine pour former le double brin d'ADN et non dans la conformation *syn* défavorable. Ceci sera donc favorable à l'incorporation dans l'ADN viral par les polymérase et phosphorylations par les kinases virales. L'encombrement apporté par le cycle mimant le sucre sera minimisé tout en permettant des degrés de liberté dans l'interaction avec la base complémentaire et la réaction au site actif de la polymérase.

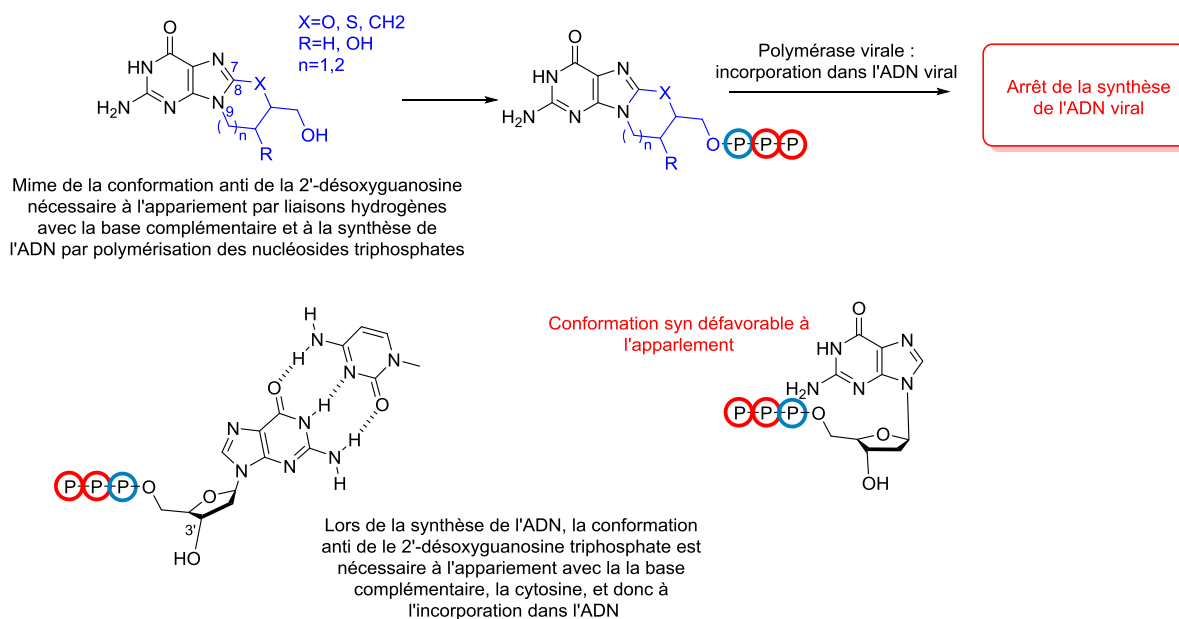


Figure 33 : Analogues proposés et son mécanisme d'action

L'ACV est un analogue de nucléoside comportant la base guanine. Les analogues proposés porteront donc la base guanine en priorité mais des synthèses en série adénine seront également menées pour diversifier la nature des composés à tester et aussi pour des comparaisons en synthèse.

Les principaux dérivés de la guanine apparentés décrits dans la littérature^[195, 259, 261] présentent bien un ou plusieurs cycles additionnels formés à partir d'un hétéroatome fixé en position 8 mais la plupart d'entre eux ne portent pas de fonction hydroxyle primaire pouvant être phosphorylée par les kinases cellulaires (en particulier la TK du HV) ce qui empêche tout effet antiviral selon le mécanisme recherché.

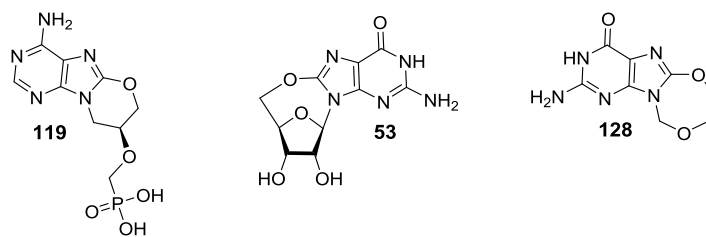


Figure 34. Exemples d'analogues cycliques de nucléosides décrits dans la littérature.^[195, 259, 261]

Parmi les composés comportant une fonction hydroxyle primaire (Figure 35), les modifications apportées par rapport à la 2'-désoxyguanosine naturelle conduisent à un encombrement stérique significatif ce qui peut empêcher une bonne reconnaissance par les enzymes virales. Quelques effets antiviraux ont été décrits pour certains de ces composés.^[194, 284, 285]

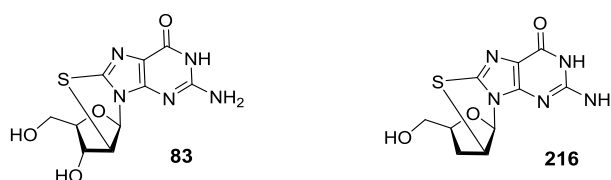


Figure 35 : Cyclonucléosides ayant des effets antiviraux^[194, 284, 285]

Dans ce travail de thèse, nous avons donc voulu synthétisés et évalués pour leurs propriétés antivirales, en particulier contre le HSV-1, les analogues cycliques de nucléosides suivants :

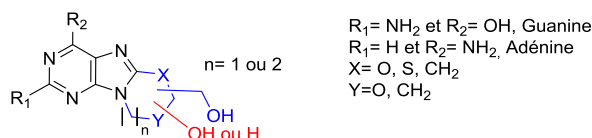


Figure 36 : Structure des analogues cycliques proposés

Le nouveau cycle formé devra ainsi porter un groupement hydroxyméthyl pouvant être phosphorylé par les kinases virales pour donner le 5'-triphosphate correspondant (groupement étant à minima transformé en monophosphate par une kinase virale). Ce cycle devra si possible aussi porter une fonction hydroxyle secondaire de façon à mieux mimer le 2-désoxyribose des nucléosides naturels correspondants.

Les travaux personnels de synthèse sont décrits dans les deux chapitres suivants, le premier porte sur les travaux relatifs à la synthèse de dérivés incorporant un atome d'oxygène dans le cycle formé et le second décrit les travaux relatifs à la formation de cycles par création d'une liaison carbone-carbone.

2. TRAVAUX PERSONNELS

Dans la chimie des nucléosides, des dérivés de purines modifiées en position 8 sont particulièrement importantes, ils sont, normalement, des intermédiaires clés pour accéder aux cyclonucléosides. Les cyclonucléosides sont définis comme des analogues de nucléosides avec une liaison covalente entre le nucléoside et le sucre, ce qui leur confèrent une structure plus rigide. Ils peuvent être divisés en deux catégories différentes, ceux ayant une liaison C-hétéroatome, et ceux ayant une liaison C-carbone entre la base et le sucre. Ces dérivés sont normalement préparés par réaction via des 8-halogénopurines avec le nucléophile correspondant, par exemple des amines, l'hydrazine, des alcoolates, etc. Donc la synthèse de ces analogues peut impliquer : une substitution nucléophile pour accéder aux composés possédant une liaison oxy, thio ou amino ; ou la génération d'un radical soit par initiation photochimique soit par un initiateur chimique radicalaire pour les composés ayant la liaison C-C. ^[194-196, 253, 256, 286]

Le groupe de Holý a étudié des cyclisations de l'adénine portant une chaîne linéaire, principalement des inhibiteurs de l'hydrolase comme la 9-(S)-(2,3-dihydroxypropyle) adénine, qui présente une activité antivirale. ^[253, 256, 286]

La majorité de ces réactions avec des nucléophiles sur la base adénine, portant un atome de brome en position 8 et des groupes hydroxy protégés, procèdent de façon analogue à ceux des nucléosides. Cependant, les composés contenant des groupes hydroxy libres dans la chaîne latérale réagissent anormalement, leur réaction avec l'ammoniac, ou des amines primaires, donnent des dérivés 8-hydroxyadénine, soit des dérivés avec le groupement amine dans la chaîne latérale (Schéma 30). Dans la réaction avec le dérivé 2,3-dihydroxypropyle les deux isomères ont été isolés (**218** et **219**, Schéma 30). Les auteurs ont prouvé le passage par un intermédiaire analogue aux cyclonucléosides qui est ouvert par le nucléophile. ^[253, 256] Une autre étude a également montré que le 8-bromo-9-(2,3,4-trihydroxybutyle)adénine (**220**) réagit avec l'ammoniaque aqueux pour former le 3-amino-2,4-dihydroxybutyle (**222**) via l'intermédiaire cyclique (**221**) (Schéma 30). ^[256, 286]

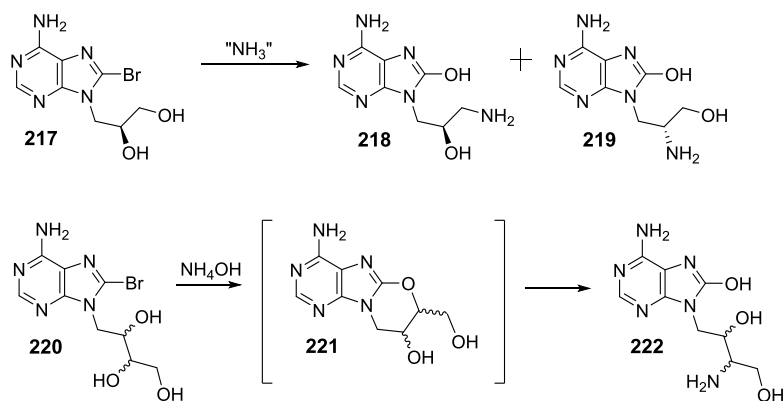


Schéma 30 : Formation des cycles à six atomes comme intermédiaires de réactions à partir de l'adénine portant une chaîne linéaire ^[256]

Holý et coll. ^[256] ont aussi étudié la formation des analogues d'adénine portant un cycle à sept atomes. Lorsque le composé (**223**) est traité avec l'ammoniaque dans un autoclave il est observé la formation des dérivés (**224**), (**225**) et du dérivé de la cyclisation intramoléculaire (**226**). Différemment des composés décrits auparavant (Schéma 30) les dérivés avec le groupement amine dans la chaîne latérale n'étaient pas observés. Le composé (**226**) ne réagit pas avec l'ammoniaque dans les conditions de réactions du Schéma 31. ^[256]

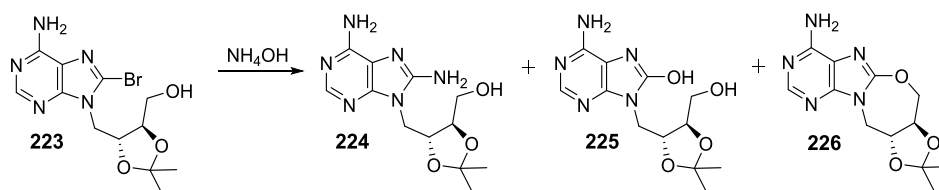


Schéma 31 : Analogues d'adénine portant un cycle à sept atomes à partir de l'adénine portant une chaîne linéaire ^[256]

L'approche utilisant un hétéroatome pour cycliser sera décrite dans la première partie des travaux et l'approche impliquant la formation d'une liaison carbone-carbone sera décrite dans la deuxième partie.

PARTIE 1. APPROCHE DE CYCLISATION VIA UN HETEROATOME, PRINCIPALEMENT UN ATOME D'OXYGENE

Trois voies de synthèse ont été envisagées pour accéder aux analogues proposés. Dans la première voie proposée, le nucléophile est fixé en C8 et l'attaque est réalisée sur une chaîne introduite en N9 de façon à obtenir un cycle à 6 atomes (voie 1, Schéma 32). Dans la deuxième voie retenue, la cyclisation est réalisée entre l'atome N9 et un groupe partant placé sur une chaîne introduite en C8 (voie 2, Schéma 32). Dans la troisième voie, le nucléophile est attaché à la chaîne liée au N9 et l'attaque se fait sur l'atome C8 qui porte le groupement partant (voie 3, Schéma 32).

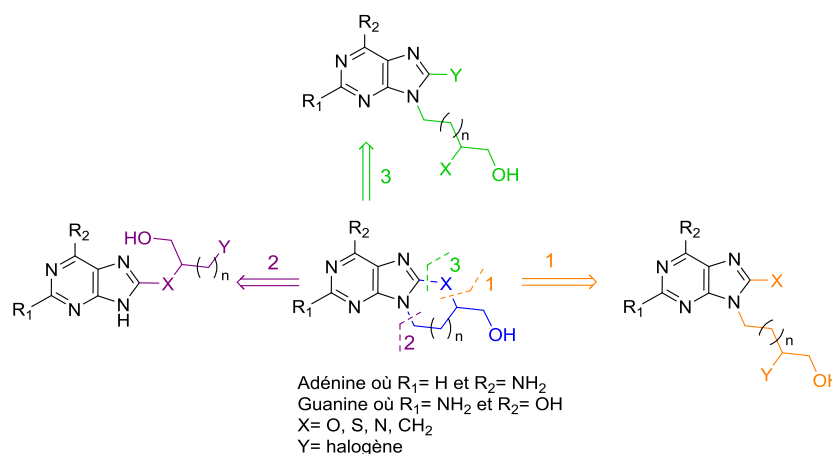


Schéma 32 Analyse rétrosynthétique des dérivés recherchés

Le Schéma 33 résume les trois voies de synthèse envisagées pour accéder aux analogues.

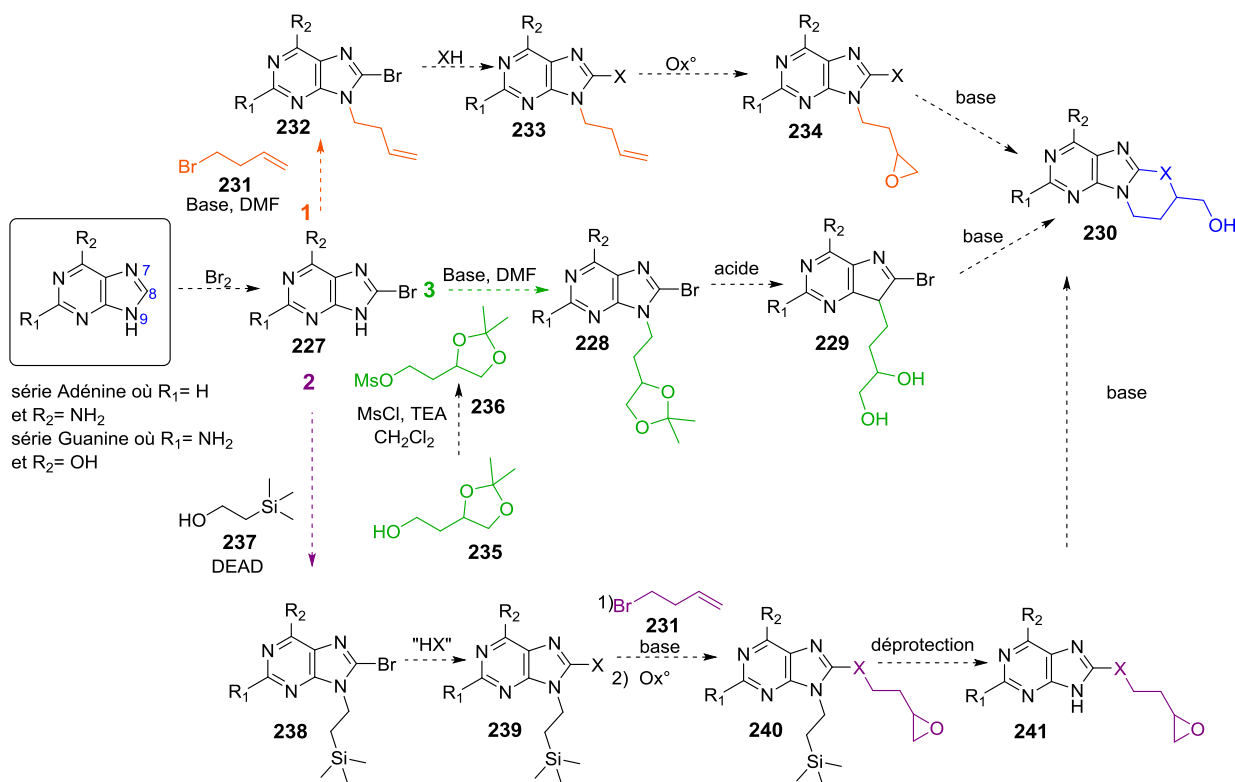


Schéma 33 : Voie de synthèse envisagée pour accéder au composé cyclisé (230)

1.1 VOIES DE SYNTHES 1 ET 2

Dans la voie de synthèse 1, l'intermédiaire clé (227) sera alkylé avec le 4-bromo-1-butène (231) en utilisant une base. L'oxydation en époxyde d'une double liaison terminale introduite sur une chaîne portée en N9 peut conduire à (234) portant un atome nucléophile en position 8 préalablement introduit sous la forme d'une fonction hydroxyle ou thiol par substitution de l'atome de brome.

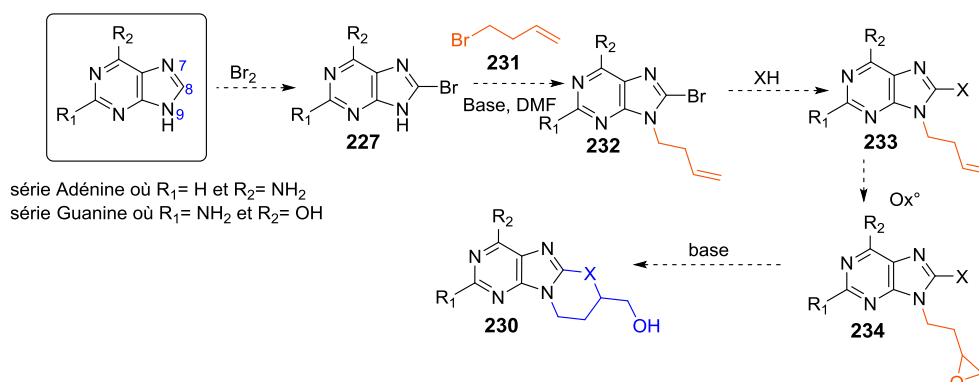


Schéma 34 : Voie de synthèse 1 proposée pour accéder au cyclonucléoside (230)

La synthèse du composé (227) commence tout d'abord avec la bromation directe de la base avec une solution aqueuse de Br₂ ou réalisée directement avec du Br₂ (Schéma 35),

La bromation de l'adénine (**227a**) a été réalisée directement par ajout de Br_2 à l'adénine solide avec un bon rendement de 68%, selon la méthodologie décrite par Bang *et al*^[287]. Alors que la bromation directe de l'adénine et de la guanine, avec une solution aqueuse saturée de Br_2 , n'a donné qu'un faible rendement (respectivement 30% et 12%, Schéma 35).^[288] Les faibles rendements de bromation pourraient être dû à la faible solubilité de l'adénine et de la guanine dans l'eau. Une deuxième méthodologie a donc été utilisée dans laquelle la base est transitoirement protégée par acétylation^[289] pour ensuite être bromée et déprotégée, avec un rendement totale de 52% (**227b**, Schéma 35).

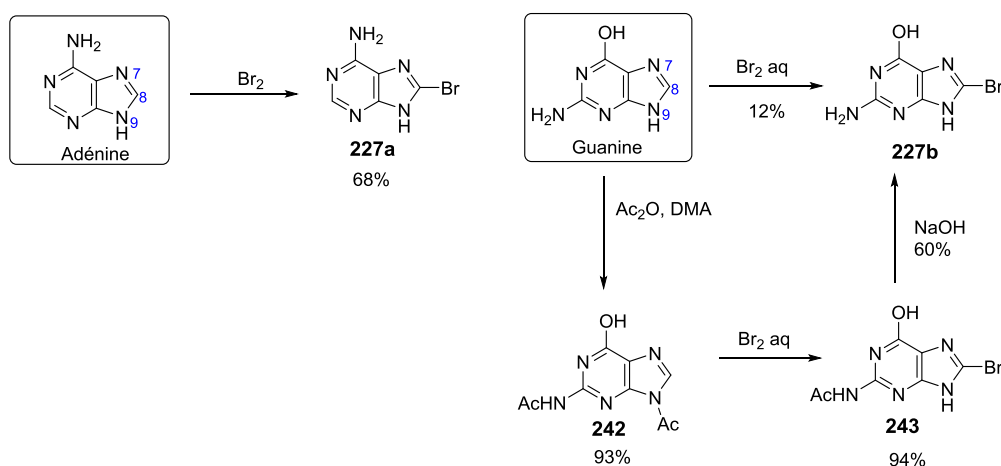


Schéma 35 : Bromation des bases adénine et guanine pour la formation des intermédiaires clés

Des essais préliminaires de substitution de l'atome de brome ont ensuite été réalisés pour déterminer la meilleure méthodologie pour la synthèse proposée. Deux approches différentes ont été testées, l'introduction en position 8 du nucléophile non protégé et l'introduction du nucléophile protégé.

Les méthodologies testées pour le premier cas sont résumées dans le Schéma 36. Pendant ces essais, les conditions de substitution sont apparues très dures, ce qui pourrait être problématique dans les étapes ultérieures.

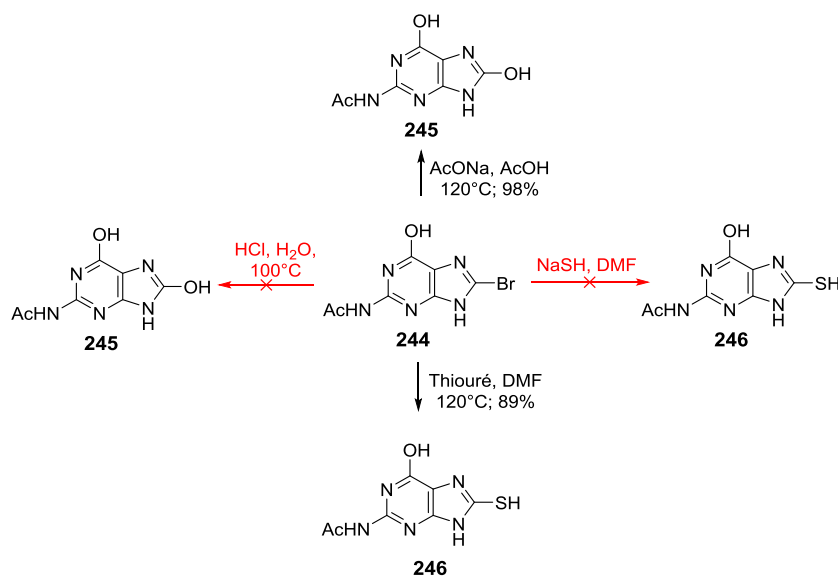


Schéma 36 : Méthodologies testées pour l'introduction d'un nucléophile non protégé en position 8.

Des réactions d'introduction du nucléophile en position 8 sous une forme protégée ou sa protection ultérieure ont également été abordées (Schéma 37) mais ces voies ont été abandonnées en raison soit des problèmes de solubilité (**246**) avec récupération du produit de départ (**247**), soit par manque de sélectivité (**245**).

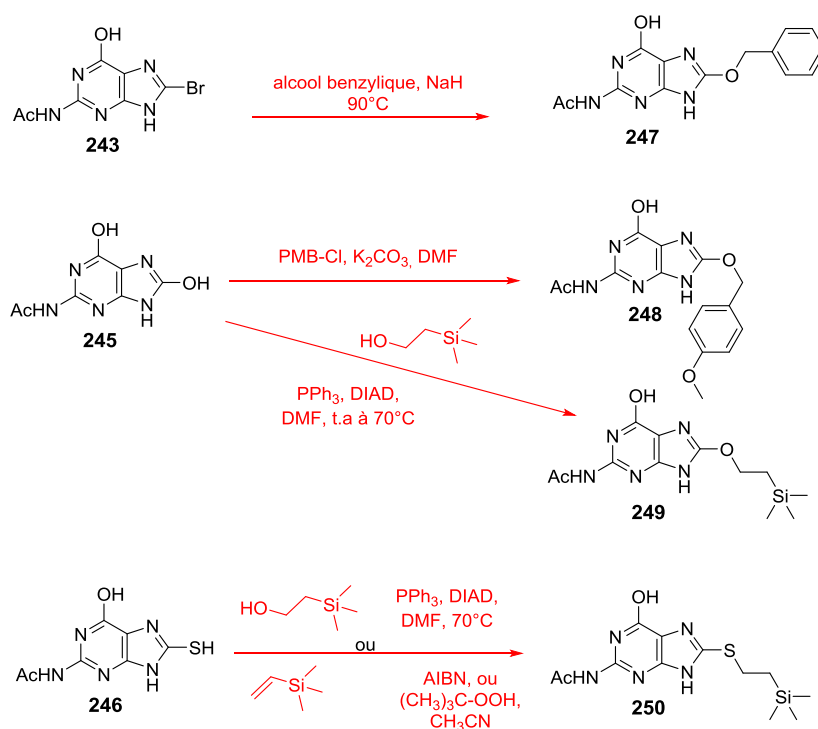


Schéma 37 : Introduction du nucléophile en position 8 sous une forme protégée ou sa protection ultérieure

L'alkylation des bases adénine et guanine bromée en C8 avec le 4-bromo-1-butène (**234**) a ensuite été réalisée en utilisant une méthodologie inspirée par les travaux de

Lambertucci *et al.*^[290]. L'utilisation du carbonate de potassium dans le DMF avec un léger excès de dérivé bromé a donné les meilleurs rendements. Les rendements obtenus sont d'environ 70% pour les deux isomères (*N7/N9*) de l'adénine (**232a/232b**), qui ont été séparés sur colonne avec un rendement de 33% pour chaque isomère (Schéma 38) et de 18% pour le dérivé de la guanine alkylé en position 9 (**232c**).

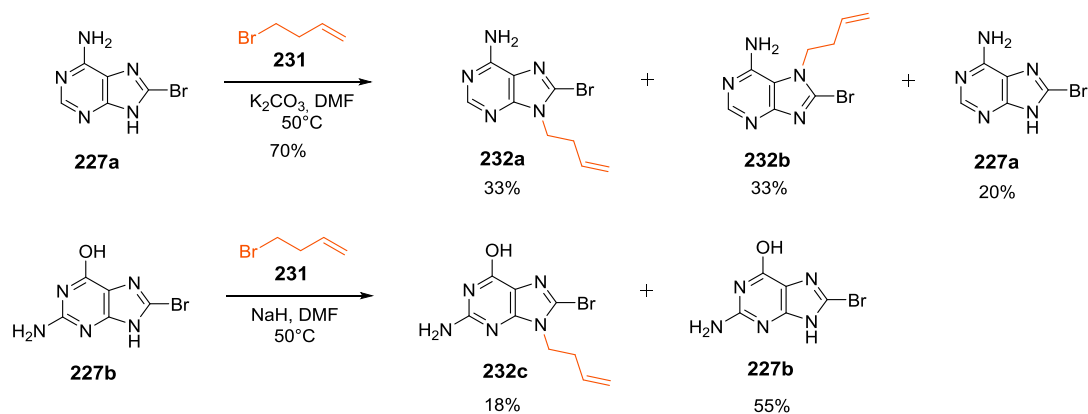


Schéma 38 : Alkylation de la guanine et de l'adénine avec le 4-bromo-1-butène (**231**)

Le produit (**232c**) obtenu a été soumis aux conditions de substitution de l'atome de brome par un groupe acétate hydrolysable (acétate de sodium/acide acétique à reflux) (Schéma 36). Le composé (**233a**) a ainsi été obtenu avec un rendement de 67%. Nous nous sommes ensuite intéressés à l'oxydation de la double liaison terminale introduite dans les composés (**232a**, **232b**, **232c** et **233a**).^[291-294] Malheureusement, les conditions testées n'ont pas donné les produits recherchés avec récupération du produit de départ dans la majorité des conditions testées (Schéma 39).

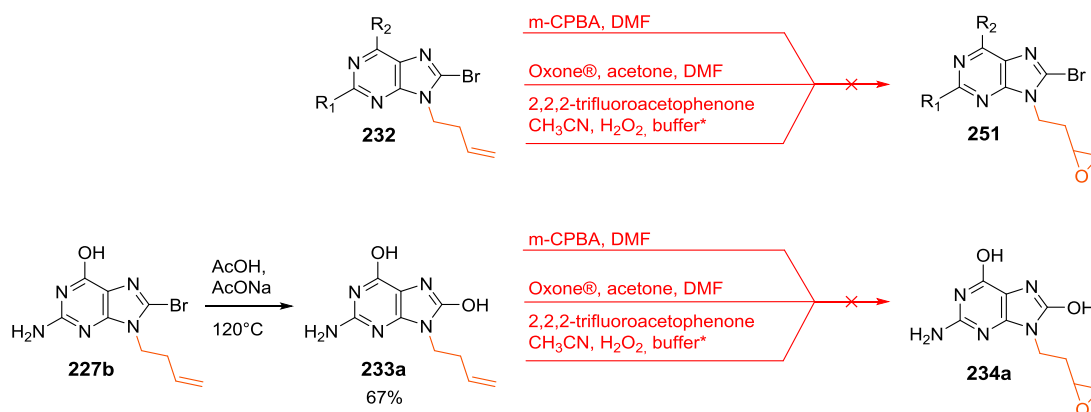


Schéma 39 : Méthodologie de synthèse utilisée pour oxyder la double liaison terminale de la chaîne introduite en position *N9* des bases guanine et adénine. Conditions utilisées avec l'Oxone® (monoperoxy sulfate de potassium) : solution tampon (K_2CO_3 (0,6M), sel sodique d'EDTA ($4 \times 10^{-3} M$))

Une dernière voie de synthèse utilisant le 4-bromo-1-butène (**231**) a donc été envisagée. Il s'agit d'une voie convergente dans laquelle la chaîne est introduite sur la base

en position N9 avec sa fonction époxyde déjà en place (Schéma 40). Malheureusement, ces essais n'ont pas donné les produits recherchés et les produits de départ ont été récupérés. Il est probable que le composé préparé (**252**)^[292, 293] se dégrade dans les conditions utilisées pour l'alkylation inspirées par Larsen *et al.*^[293].

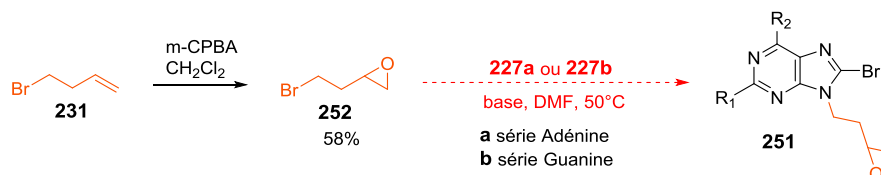


Schéma 40 : Voie de synthèse convergente pour accéder au dérivé (**251**)

Les résultats des essais de synthèse pour la voie 1 étant décevants, cette voie a donc été abandonnée.

En raison des résultats négatifs obtenus dans la voie de synthèse **1**, la voie **2** envisagée (Schéma 41) impliquant des intermédiaires du même type que ceux de la voie 1 (Schéma 34) n'a pas été explorée.

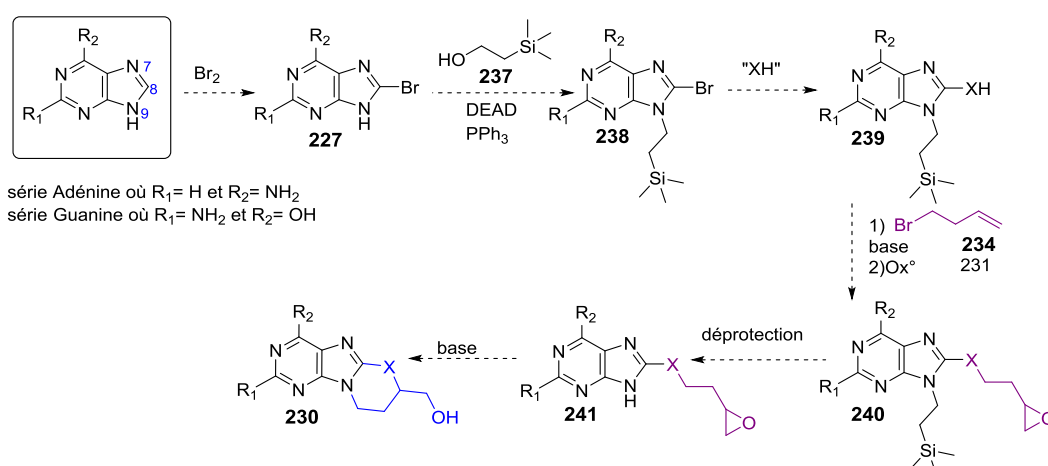


Schéma 41 : Voie de synthèse 2 envisagée pour accéder au composé (**230**)

1.2 VOIE DE SYNTHÈSE 3

Dans la troisième voie de synthèse, on retrouve les bases 8-bromo adénine et 8-bromoguanine comme intermédiaires qui sont alkylées avec le réactif (**236**) préparé à partir de l'alcool correspondant commercialisé mais coûteux ((S)-(+)-2,2-diméthyl-1,3-dioxolane-4-éthanol).

Les composés d'alkylation (**228**) ainsi formés sont déprotégés en milieu acide pour donner les intermédiaires (**229**). La cyclisation intramoléculaire des composés (**232**) pourrait ainsi conduire aux composés recherchés (**233**) (Schéma 42).

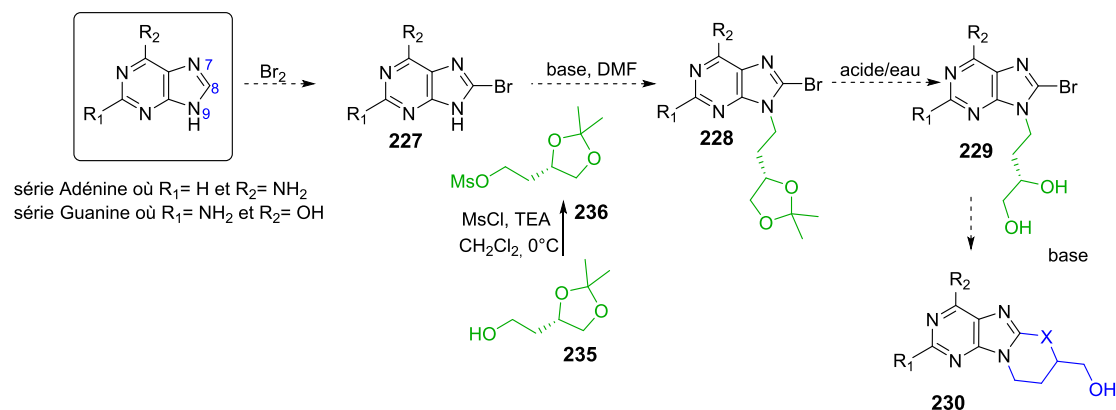


Schéma 42 : Voie de synthèse 3 envisagée pour accéder au cyclonucléoside (233)

Le réactif (**236**) a tout d'abord été préparé^[295] par mésoylation de l'alcool commercialisé avec le chlorure de mésoyle en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane avec un rendement de 96%. Il a ensuite été utilisé sans purification.

La réaction d'alkylation a été inspirée de la méthodologie décrite par Lambertucci *et al*^[290] en utilisant une base dans le DMF et un léger excès de dérivé mésoylé (Schéma 43). En série adénine, les isomères d'alkylation en N7 (**228b**) et N9 (**228a**) formés ont été séparés sous la forme protégée pour caractériser ces intermédiaires. Dans la suite de la synthèse, la séparation des isomères a été réalisée après la déprotection des fonctions alcool par chromatographie de phase inverse, ce qui a donné de meilleurs résultats. Dans la série guanine le dérivé d'alkylation (**228c**) a été obtenu avec un rendement de 43%.

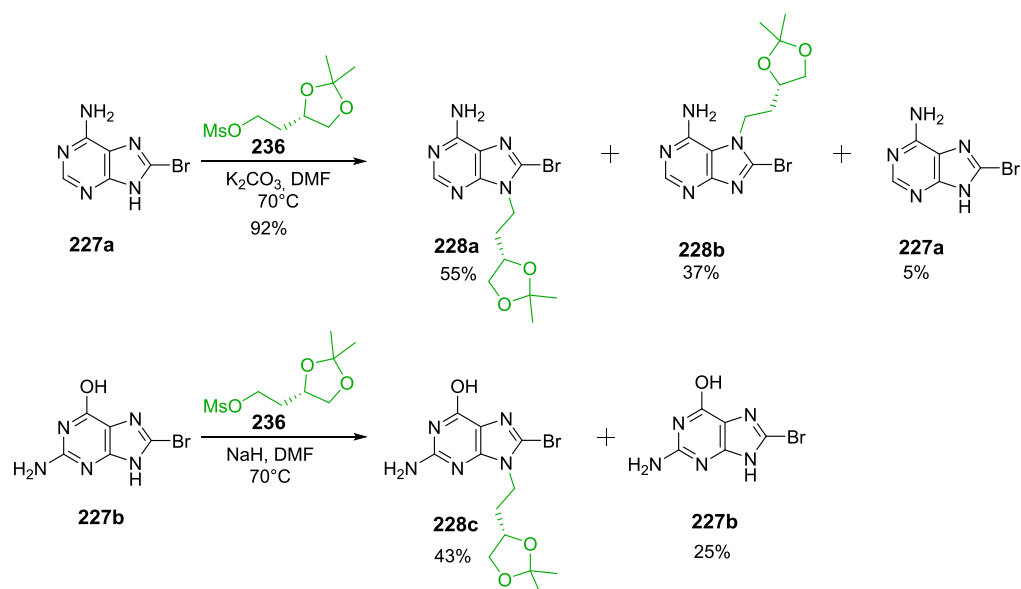


Schéma 43 : Alkylation de la 8-bromo adénine et de la 8-bromo guanine avec le composé (236)

La déprotection des fonctions alcools a été réalisée en milieu acide avec le TFA ou HCl aqueux selon le Schéma 44.^[295, 296]

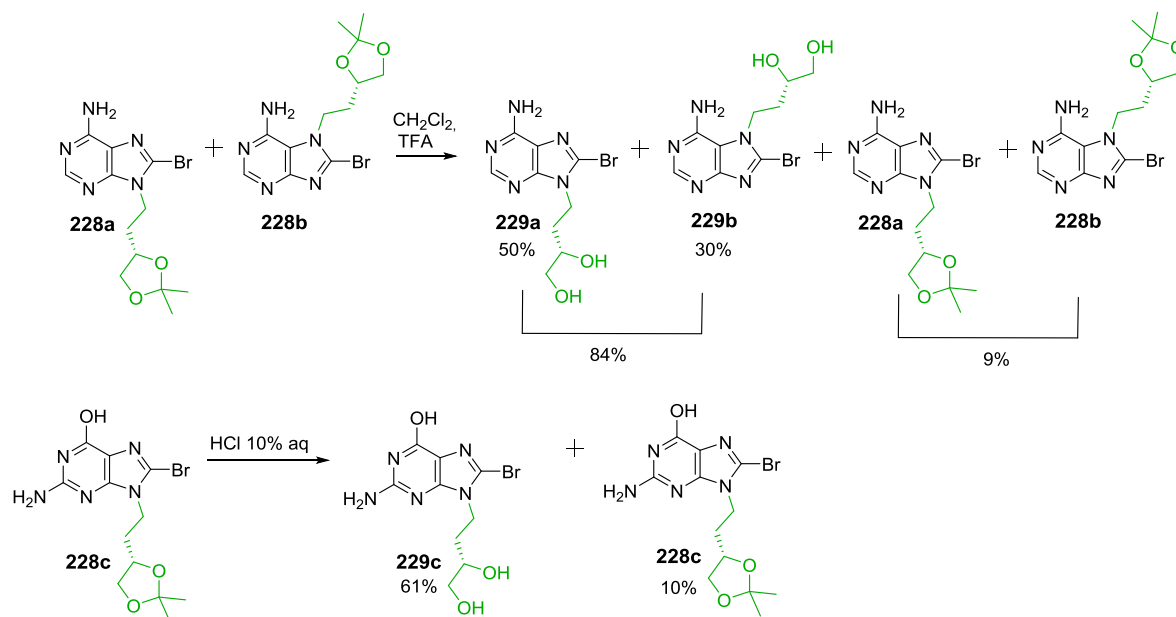


Schéma 44 : Déprotection en milieu acide du groupement dioxolane des composées (228a, 228b et 228c)

La détermination des structures des isomères *N7* et *N9* de l'adénine a été réalisée à l'aide d'expériences de RMN 2D, en particulier en mode HMBC. Dans la Figure 37, on peut remarquer une nette différence du déplacement chimique des deux isomères, notamment le proton lié au carbone 2.

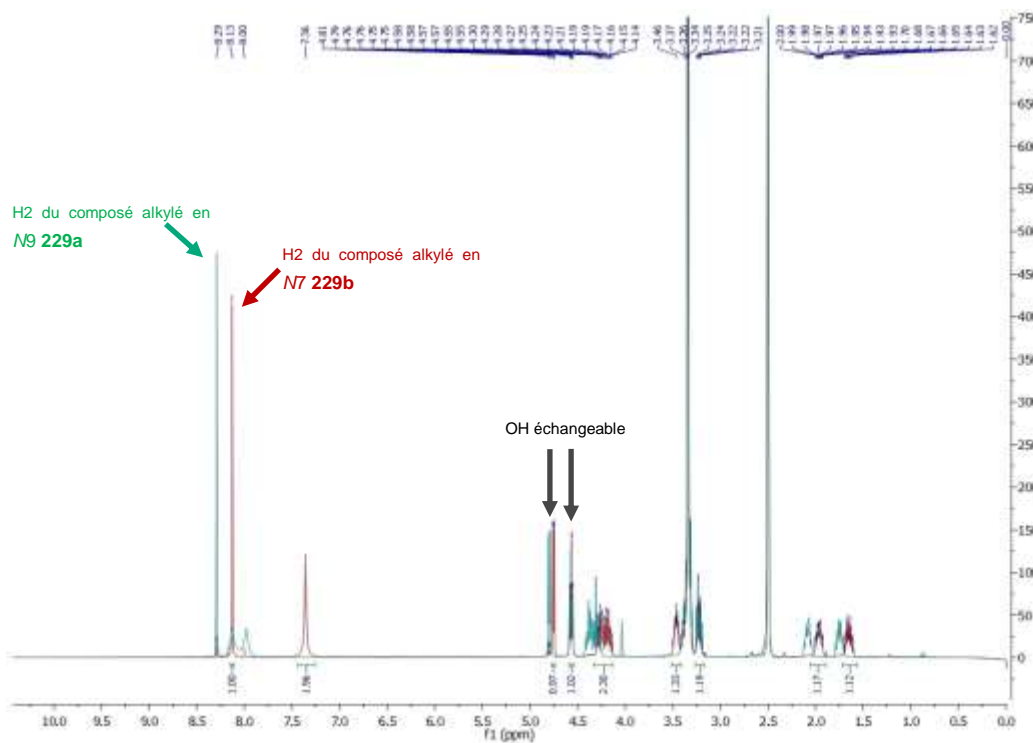


Figure 37 : Spectres RMN superposés des composés (229a et 229b)

Dans le spectre de RMN HMBC du composé (**229a**) (Figure 38) on peut voir un couplage en J^5 entre l'atome de carbone 2 et le proton en C1', ainsi qu'un le couplage en J^3 entre l'atome de carbone 4 et ce même proton confirmant qu'il s'agit de l'isomère N9. Les résultats de RMN HMBC obtenus avec l'autre isomère isolé ont d'autre part confirmé une alkylation en N7.

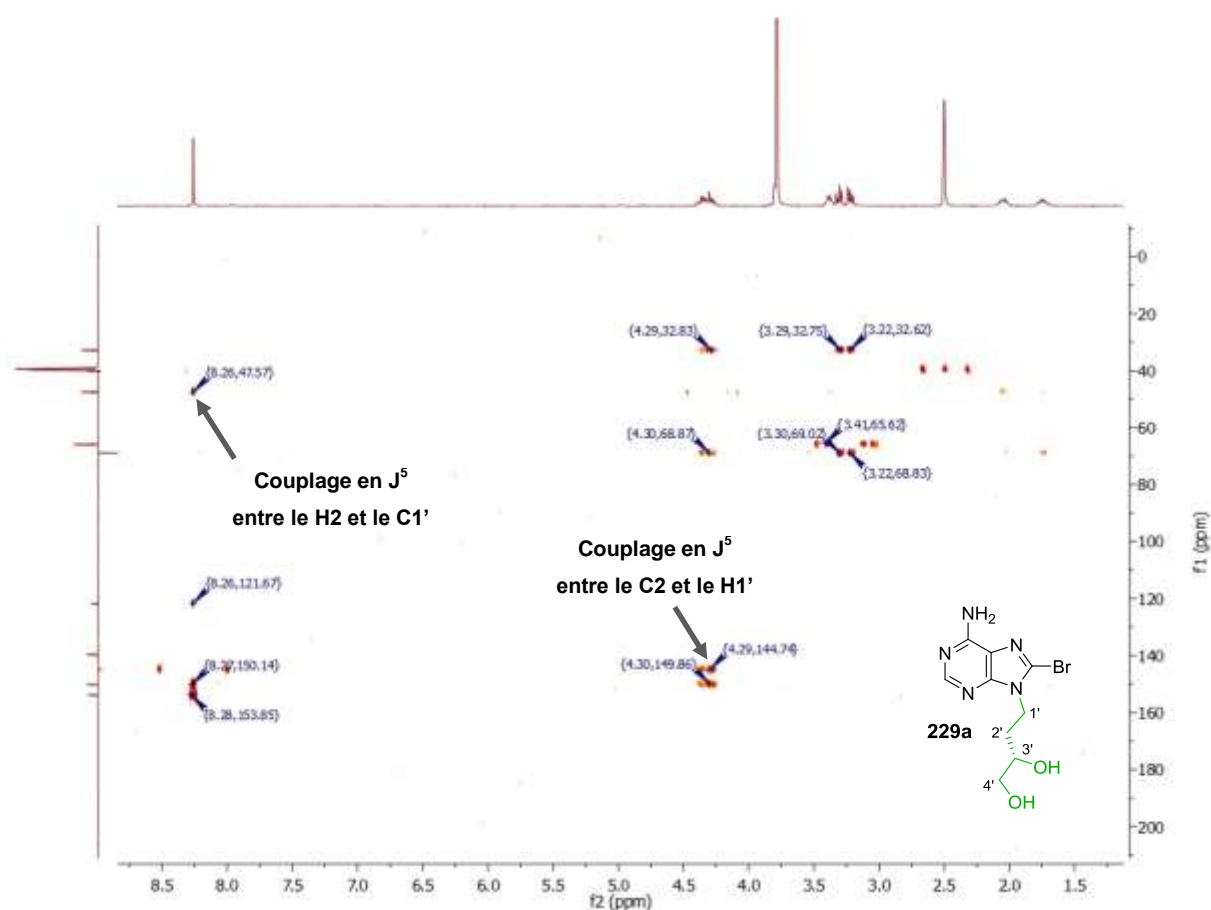


Figure 38 : Spectre RMN HMBC du composé (**229a**)

Des essais de cyclisation ont ensuite été réalisés sur les trois produits obtenus, les dérivés alkylés isomères en N7/N9 (**229a** et **229b**) de l'adénine et la guanine alkylée en position 9 (**229c**) (Schéma 45). Les conditions utilisées sont résumées dans le Tableau 4. Malheureusement, les conditions de synthèse choisies n'ont pas conduit à la cyclisation attendues et le produit de départ était récupéré.

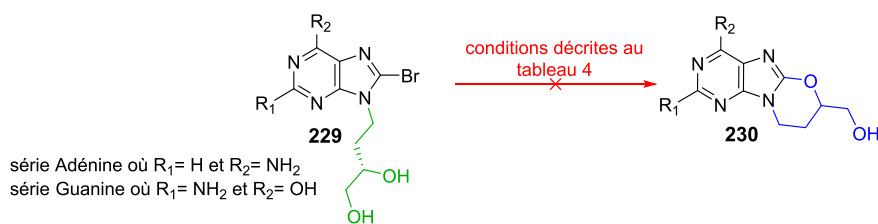


Schéma 45 : Essais de cyclisation intramoléculaire pour accéder au composé cyclique (230)

Tableau 4 : Les méthodes de cyclisation testées

Matériel de départ	Réactifs	Solvant	Température	Produits récupérées
<p>série Adénine où $R_1 = H$ et $R_2 = NH_2$ série Guanine où $R_1 = NH_2$ et $R_2 = OH$</p>	-	DMF	100°C	229
			150°C	229
			t.a	229 et 254
	NaH*	DMF	65°C	229 et 254
			100°C	229 et 254
			t.a	229 et 254
	NaH*	DMSO	65°C	229 et 254
			100°C	229 et 254
	NaH*	DMSO	65°C	229
	microondes		80°C	227
			100°C	227
		K ₂ CO ₃	DMF	t.a
			70°C	229
	<i>t</i> -BuOK	DMF	t.a	229
	TBAF	DMSO	t.a	229
	TFA	Dioxane	70°C	229

Abréviations : t.a, température ambiante.* de 5 à 10 équivalents, DMSO, diméthylsulfoxyde

En milieu basique, plusieurs espèces chargées peuvent être formées, en particulier les deux fonctions alcools peuvent être déprotonées ce qui peut perturber l'attaque nucléophile sur le C8. D'autre part, le cycle formé peut être instable dans les conditions de réaction. Cependant, de tels dérivés de l'adénine comportant un cycle de 6 atomes ont été identifiés par Holý et coll.^[253, 256, 286] par spectrométrie de masse comme intermédiaires lors de synthèses en présence d'ammoniaque (Schéma 30).

D'autre part, pour le dérivé en série guanine, on peut imaginer que la déprotonation du *N1* de la guanine désactive le système en substitution nucléophile et pourrait empêcher la cyclisation, ce qui n'est pas le cas en série adénine (Schéma 46).

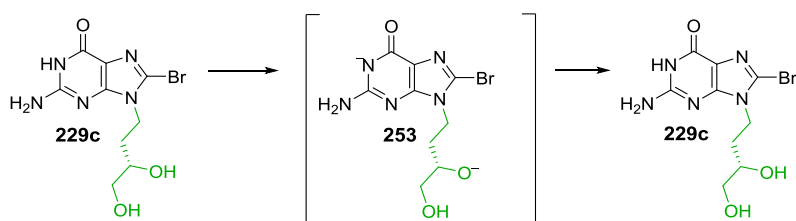


Schéma 46 : Déprotonation du *N1* de la guanine qui désactive le système en substitution nucléophile

Les réactions du dérivé de l'adénine alkylée en *N9* (**229a**) dans les conditions NaH/DMSO/t.a ont révélé en chromatographie sur couche mince (CCM) la formation partielle d'un produit, l'ajout d'un excès de base n'ayant pas permis une réaction complète (taux de conversion maximum estimé par CCM de l'ordre de 10 à 20%). Ce produit pouvait être le produit de cyclisation et a donc été isolé difficilement.

Le spectre de masse à haute résolution de ce produit a révélé la même valeur de masse que celle obtenue pour le composé de départ alkylé en *N9* et bromé en position 8 (Figure 39). Il s'agirait donc d'un isomère du composé de départ (**229a**).

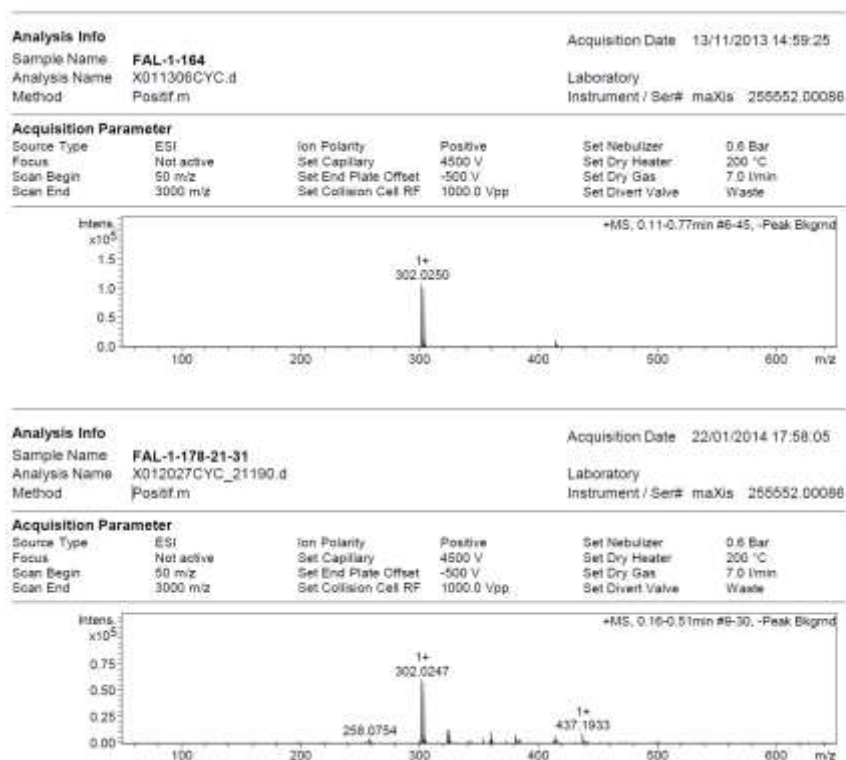


Figure 39 : Spectre de masse à haute résolution des composés (229a) et (254)

En analysant le spectre RMN du proton dans le DMSO d_6 du produit isolé (Figure 40), on remarque qu'il ne s'agit pas de l'analogue cyclisé recherché. On peut distinguer tous les protons attendus pour un isomère du composé de départ avec un doublet échangeable indiquant la présence d'une fonction alcool secondaire. Le triplet correspondant à une fonction alcool primaire par contre n'est pas détecté (normalement détecté en 4,57 ppm comme un triplet pour les deux isomères *N7* et *N9*, Figure 37), et à sa place apparaît un large signal à 10,14 ppm correspondant à un proton échangeable.

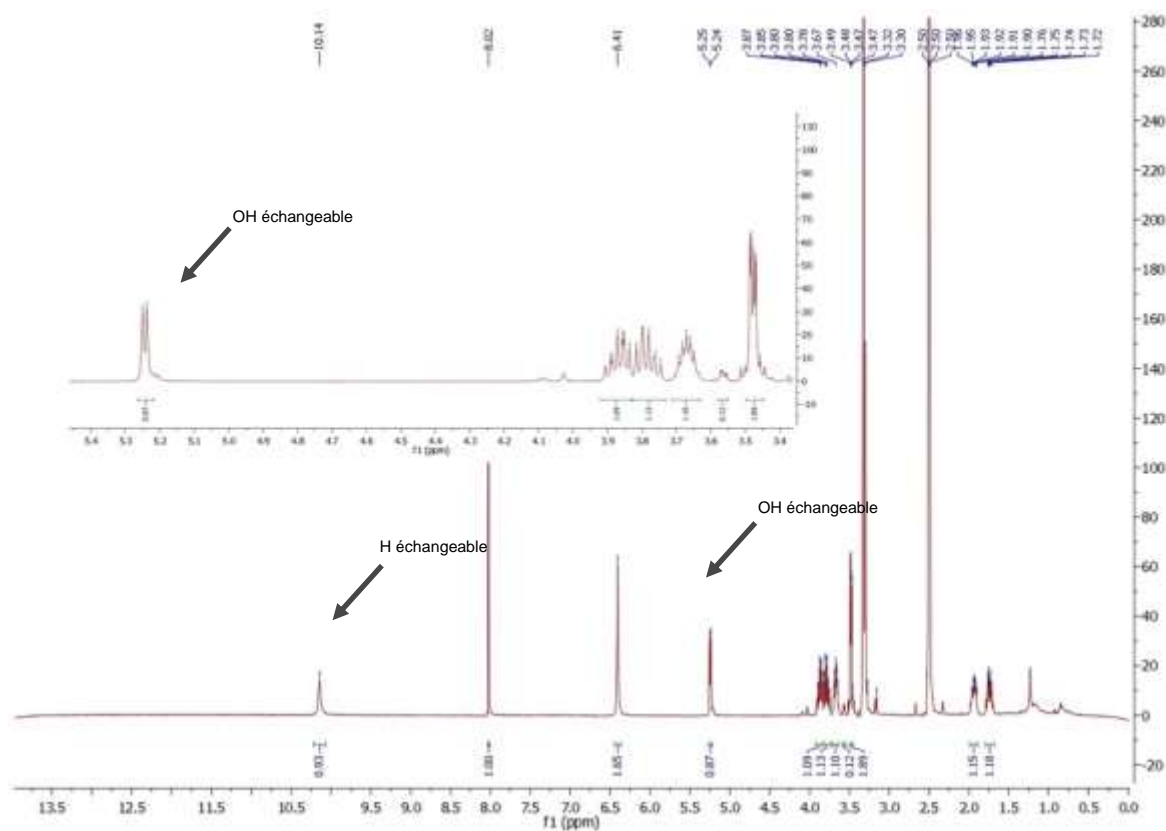


Figure 40 : Spectre RMN du proton dans le DMSO d_6 du composé (254)

En superposant le spectre de RMN du produit isolé avec ceux du composé de départ et de son isomère *N7* (Figure 41), on peut observer une nette différence de déplacement chimique des protons.

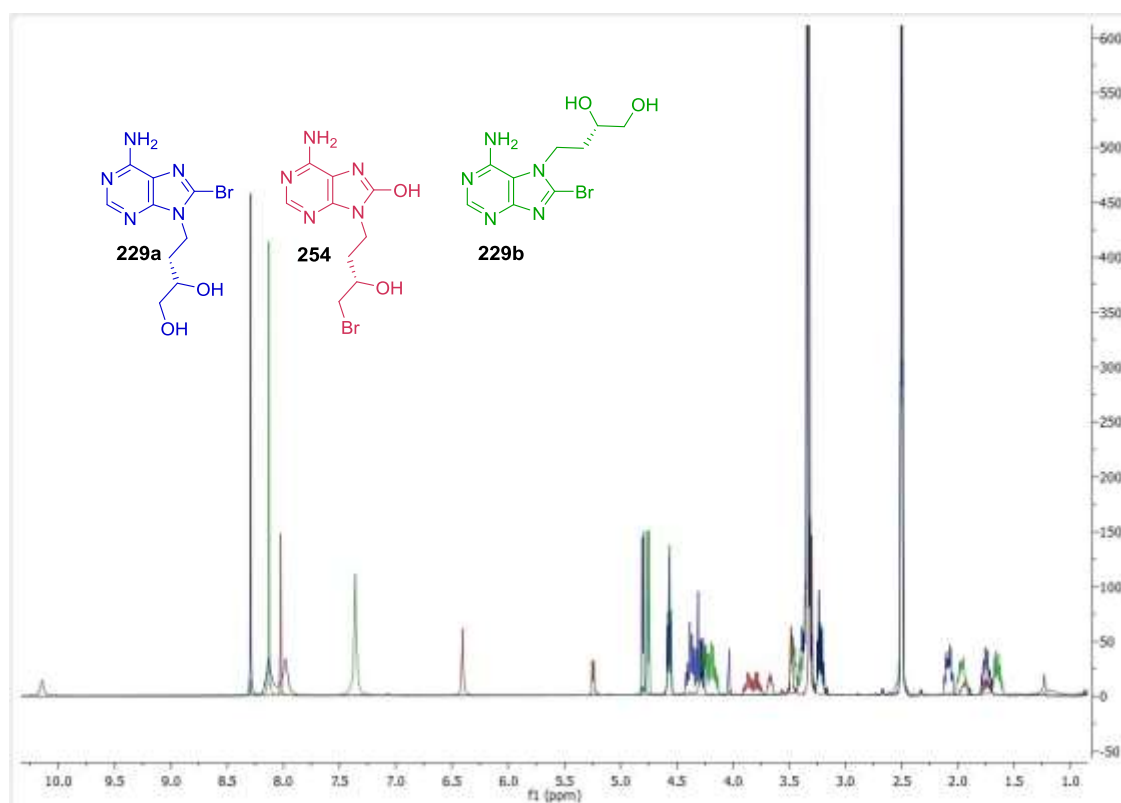


Figure 41 : Superposition des spectres RMN du proton des composés (229a), (254) et (229b)

La comparaison des spectres de masse MS/MS du produit et du composé de départ (Tableau 5) suggère que le produit formé correspond à un isomère du composé de départ dans lequel l'atome de brome se trouverait sur la chaîne liée en N9 et donc un groupe OH aurait été introduit en position C8. Ceci est confirmé par une fragmentation conduisant à la détection d'un pic pouvant correspondre à l'hydroxyadénine ainsi qu'un fragment correspondant à la perte de HBr (Tableau 5).

Tableau 5 : Comparaison de la fragmentation MS/MS des composés (229a) et (254)

Masse du fragment	Fragment correspondant	Composé 229a	Composé 254
284	Perte de H ₂ O	+	+
222	Perte de HBr	-	+
214	Purine-Br	+	-
204	Perte de HBr et H ₂ O	-	+
152	Purine-OH	-	+

+, fragment présent ; -, fragment absent

La formation de ce produit pourrait être expliquée selon le mécanisme proposé dans le Schéma 47. Une cyclisation suivie d'une réouverture en milieu basique due à la réaction de l'alcoolate secondaire pourrait conduire à la formation d'un époxyde au bout de la chaîne se

trouvant en position 9. Cet époxyde pourrait ensuite subir une ouverture par attaque d'un ion bromure pour conduire au produit isolé (**254**). Cette ouverture de l'époxyde semble ici très efficace contenu de la faible proportion d'ions bromure libérés présents. D'autres intermédiaires plus réactifs pouvant mieux rendre compte d'une telle isomérisation sont probablement formés.

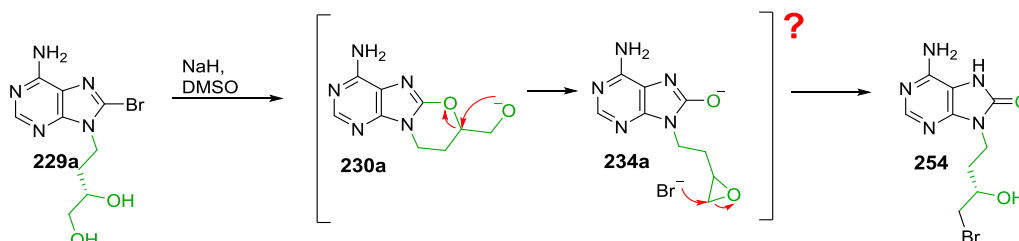


Schéma 47 : Mécanisme proposé pour la formation du composé (**254**)

Des essais ont été menés par addition d'un nucléophile dans le milieu de réaction après détection de la formation du produit (**254**) par CCM mais malheureusement les résultats n'ont pas permis de conclure quant au mécanisme de formation de ce produit et non pas permis son exploitation.

La formation probable du composé (**254**) met en évidence l'instabilité des dérivés cycliques recherchés. Après ces résultats, nous pouvons soit nous diriger vers des étapes de protection et de déprotection sélectives des fonctions alcools pour avoir des conditions plus favorables à la cyclisation soit nous tourner vers des cyclisations par formation d'une liaison carbone-carbone. C'est cette dernière voie que nous avons ensuite explorée. Cependant, nous avons auparavant exploré la cyclisation du 8-bromoganciclovir (8-BrGCV) et du 8-bromopenciclovir (8-BrPCV) qui pouvait conduire à la formation de cycles à 7 atomes portant la fonction alcool primaire recherchée. Ces principes actifs antiviraux GCV et PCV sont en effet accessibles commercialement (Schéma 48).

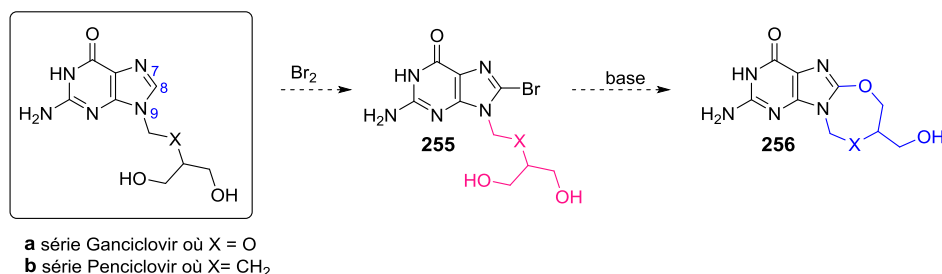


Schéma 48 : Formation de cycles à 7 atomes des dérivées GVC et PCV

Les deux antiviraux (GCV et PCV) ont été bromés (8-BrGCV, 8-BrPCV, Schéma 49) selon la méthodologie décrite par Zheng *et al*^[297].

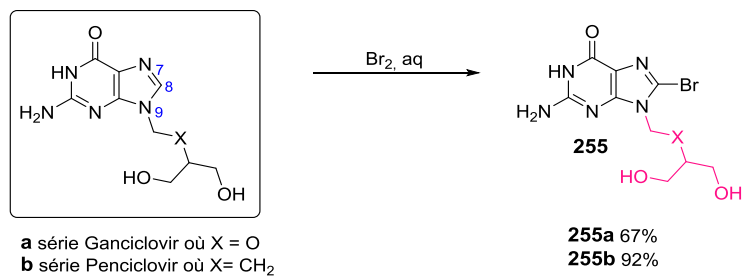


Schéma 49 : Bromation du GCV et du PCV

PARTIE 2. SYNTHÈSE DE DÉRIVÉS DU GANCICLOVIR ET PENCICLOVIR COMPORTANT UN CYCLE À 7 CHAINONS

La synthèse des analogues ayant un cycle à sept atomes a ensuite été réalisée en utilisant la méthodologie décrite par Reitz *et al*^[261] pour la cyclisation de la 8-BrACV (Schéma 50) qui consiste en une cyclisation à 65°C dans le DMSO en présence de NaH. Dans ces conditions, les dérivés bromés du GCV et du PCV sont bien formés et ont été isolés avec des rendements moyens, 50% en série GCV et 45% en série PCV.

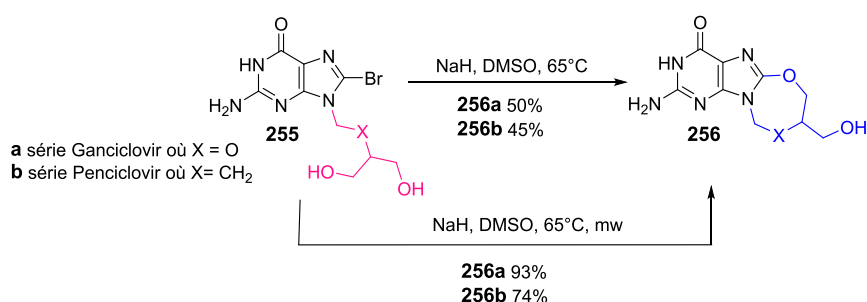


Schéma 50 : Formation du cycle à 7 chaînon des dérivées du 8-BrGCV et du 8-BrPCV

Afin d'augmenter ces rendements de cyclisation, des essais sous microondes ont été réalisés (Tableau 6). Les rendements ont ainsi été fortement augmentés en particulier en série GCV (50 à 93%) et en série PCV (45 à 74%).

Tableau 6 : Conditions des essais de cyclisation sous microondes pour la formation du composé cyclisé dérivé du GCV et PCV

Matériel de départ	Réactifs	Solvant	Température	Produit 256
255a 8-BrGCV	NaH* ; microondes	DMSO	65°C	93%
			90°C	.*
			100°C	.*
255b 8-BrPCV	NaH* ; microondes	DMSO	65°C	74%

- le produit recherché n'a pas été observé ; *dégradation du produit de départ

Les spectres de masse à haute résolution des deux dérivés isolés correspondent bien à la structure attendue un pic moléculaire correspondant à la perte de HBr.

Les spectres de RMN du proton des composés cyclisés (**256a** et **256b**) sont présentés dans la Figure 42 et la Figure 43. L'attribution des protons a été réalisée à l'aide

d'expériences 2D ainsi que par échange des protons labiles par addition d'eau lourde. Dans le spectre du composé (**256a**) obtenu en série GCV, on observe à 5,55 ppm et 5,19 ppm les protons H1' non équivalents avec un effet de toit bien visible. Le proton de la fonction hydroxyle primaire est détecté à 4,97 ppm, sous la forme d'un triplet bien résolu. Les protons 3' sont détectés indépendamment, à 4,49 et 3,81 ppm en raison d'un environnement asymétrique en position 2' et des contraintes résultant de la cyclisation. Les signaux des protons 4' sont également bien dédoublés.

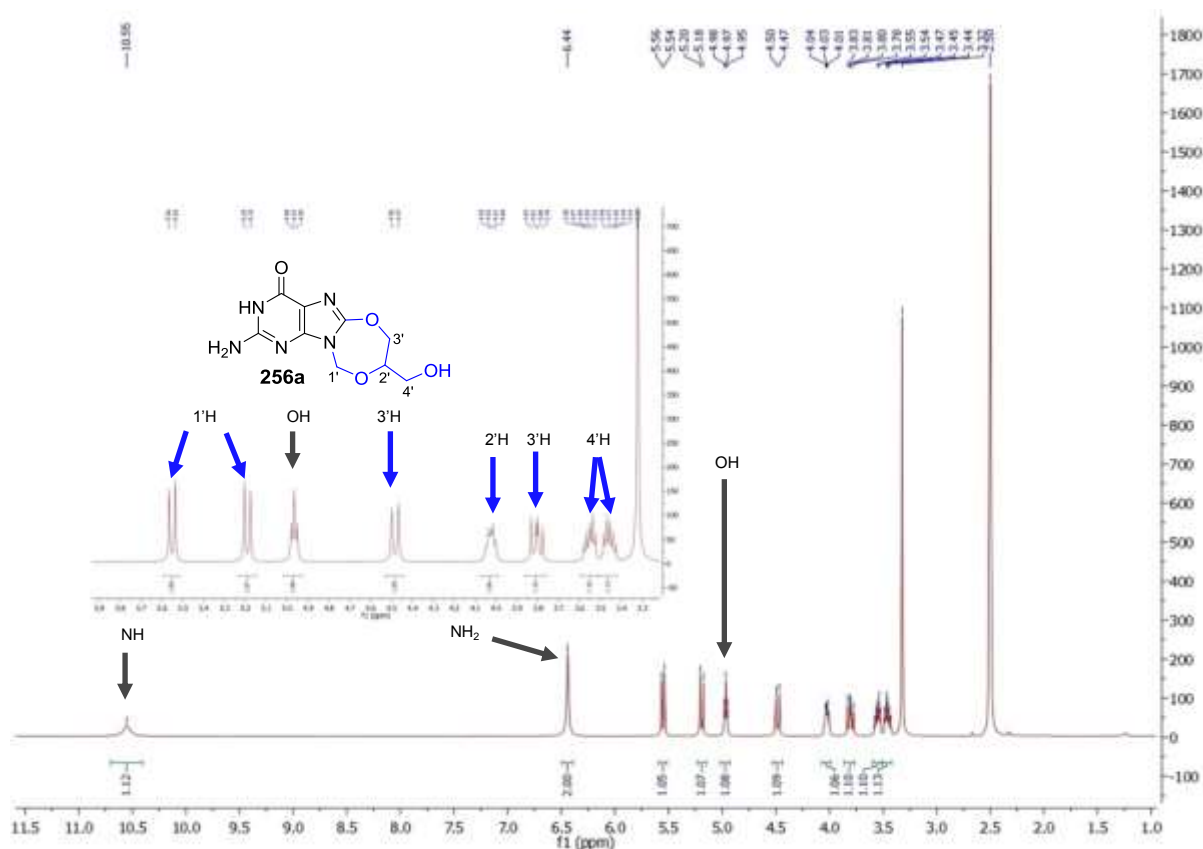


Figure 42 : Spectre RMN du proton du composé cyclique dérivé du GCV (**256a**)

Le spectre de RMN du proton présenté sur la Figure 43 correspond à celui du composé cyclisé (**256b**) en série PCV. Le signal correspondant au proton de la fonction alcool est détecté à 4,75 ppm sous la forme d'un triplet. Ainsi que pour le composé (**256a**), en raison de l'environnement asymétrique en position 3' et des contraintes dues à la cyclisation, les protons en position 4' sont détectés séparément dans le spectre à 4,33 et 3,78 ppm. Les signaux à 4,15 et 3,68 ppm ont été attribués au proton 1'. Les protons en position 5' résonnent à 3,45-3,35 ppm et sont détectés sous la forme d'un multiplet. Les autres protons en position 3' et 2', apparaissent également sous la forme de multiplets, respectivement en 2,12, 1,96 et 1,49 ppm.

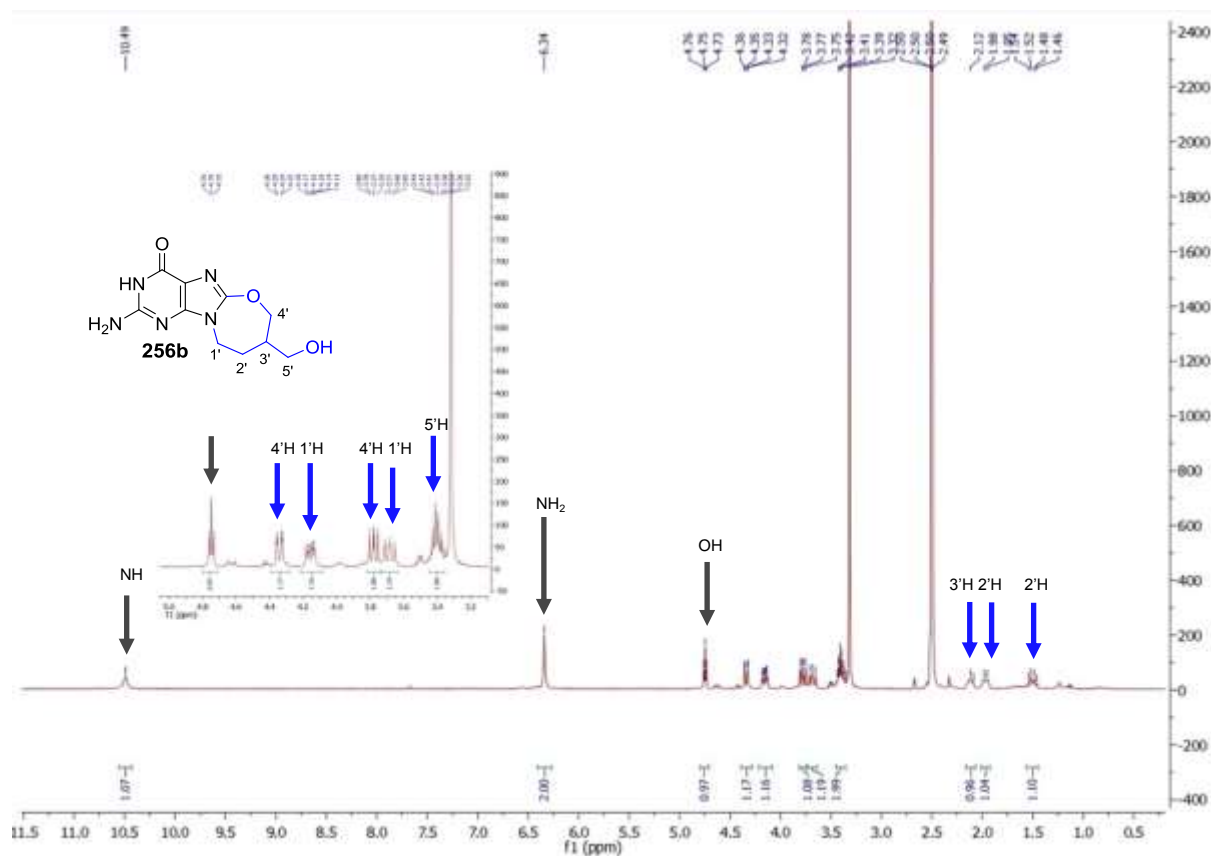


Figure 43 : Spectre RMN du proton du composé cyclique dérivé du PCV (256b)

Nous avons donc obtenu avec des bons rendements par cyclisation en milieu basique des dérivés bromés du GCV et du PCV, leurs analogues à cycle carboné à 7 chaînons portant des fonctions hydroxyles primaire et secondaire sous la forme de mélanges d'énantiomères (*R* et *S*).

L'évaluation antivirale de ces composés est en cours.

PARTIE 3. APPROCHE DE CYCLISATION VIA LA CREATION D'UNE LIAISON C-C

En ce qui concerne la cyclisation par création d'une liaison C-C, l'équipe de Chatgililoglu a réalisé des nombreux travaux de cyclisation radicalaire de nucléosides de la série purine après la mise en évidence par d'autres chercheurs de la formation photochimique de telles structures dans l'ADN pouvant correspondre à des lésions naturelles d'intérêt biologique. Ces lésions sont formées par l'action des radicaux HO[•] et sont appelées lésions tandem car elles se produisent sur deux sites, le 2'-désoxyribose et la base purinique.^[298, 299]

Nous nous sommes donc inspirés de ces travaux^[281, 298, 299] en les appliquant en série GCV et en série PCV.

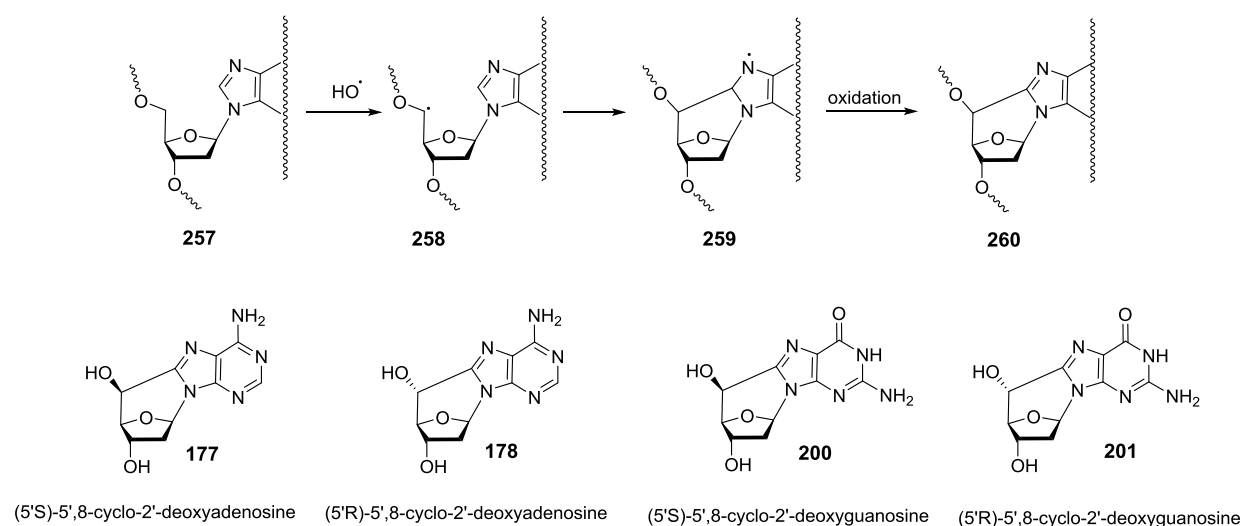


Schéma 51 : Formation des 5',8-cyclopurines dans l'ADN et structures chimiques des stéréoisomères des nucléosides dans lesquels ces lésions sont formées^[298]

La préparation des cyclonucléosides recherchés comportant un cycle à 6 atomes fermé par la création d'une liaison C-C et portant un groupe hydroxyméthylène pouvait donc être inspirée des travaux réalisés en série nucléosides par différents auteurs^[196, 197] dont Chatgililoglu et coll.^[271-274, 276, 281, 298-301] De nombreux travaux portant sur de telles cyclisations ont été décrits en série nucléosides par synthèse photochimique et par voie radicalaire chimique et thermique.^[196, 197, 281, 298, 299]

Chatgililoglu et coll.^[270-276, 279-281, 298, 299, 301-307] ont donc décrit des méthodologies efficaces de préparation des cyclonucléosides de la série purine basées sur des réactions radicalaires en chaîne photochimique ou chimique. Les photolyses UV de la 8-bromo-2'-désoxyadénosine et de la 8-bromo-2'-désoxyguanosine ont ainsi été étudiées dans différents solvants en absence ou en présence d'anions halogénures photosensibilisateurs. La rupture de la liaison C-Br conduit à la formation du radical en C8. Ce radical peut ensuite, dans un solvant approprié, conduire au radical en C5' qui subit la cyclisation intramoléculaire pour donner le cyclonucléoside correspondant (Schéma 52).

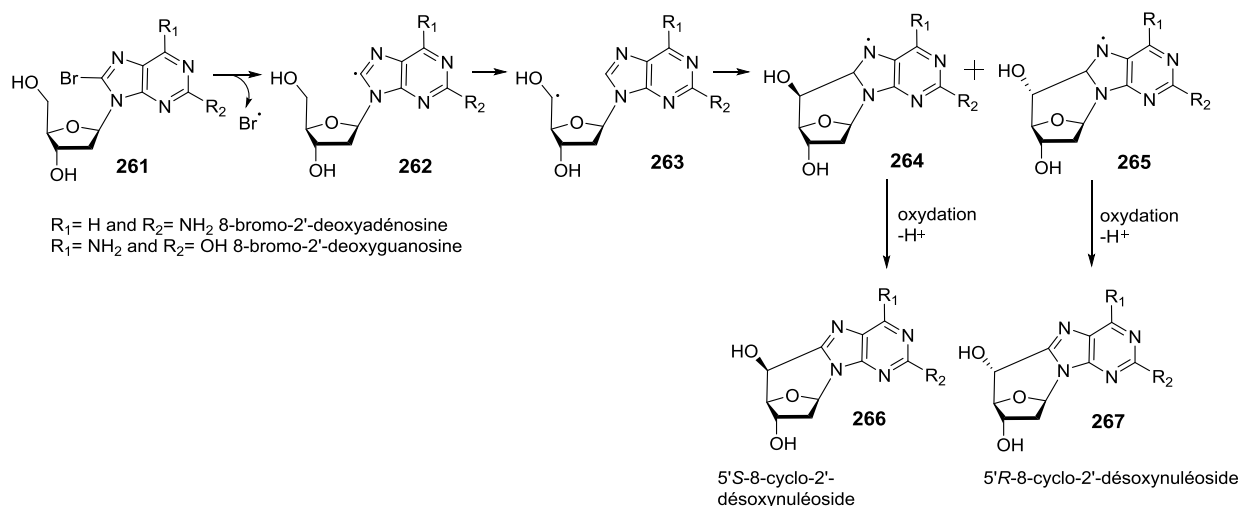
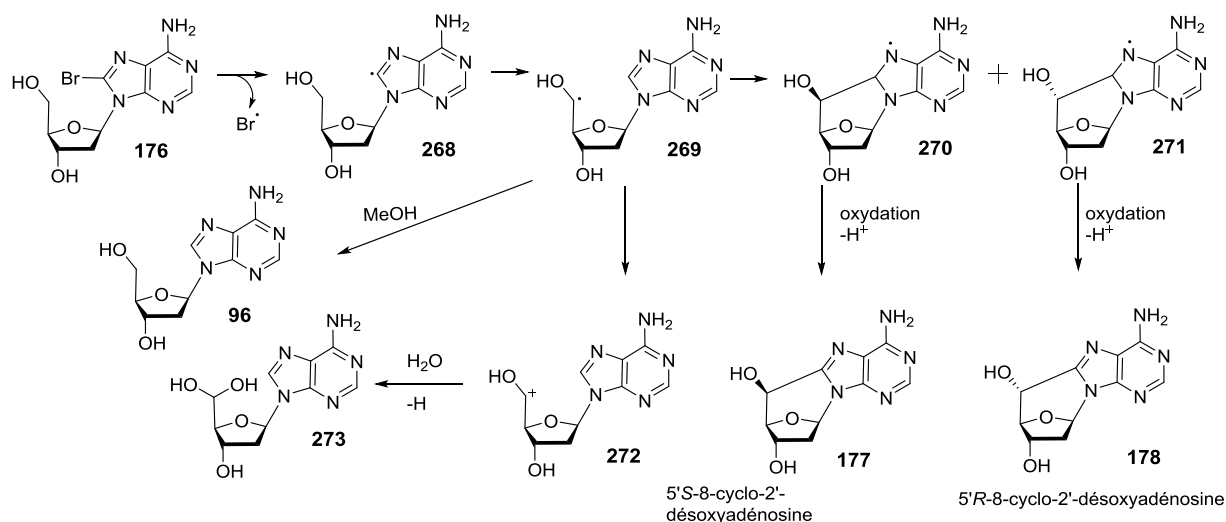
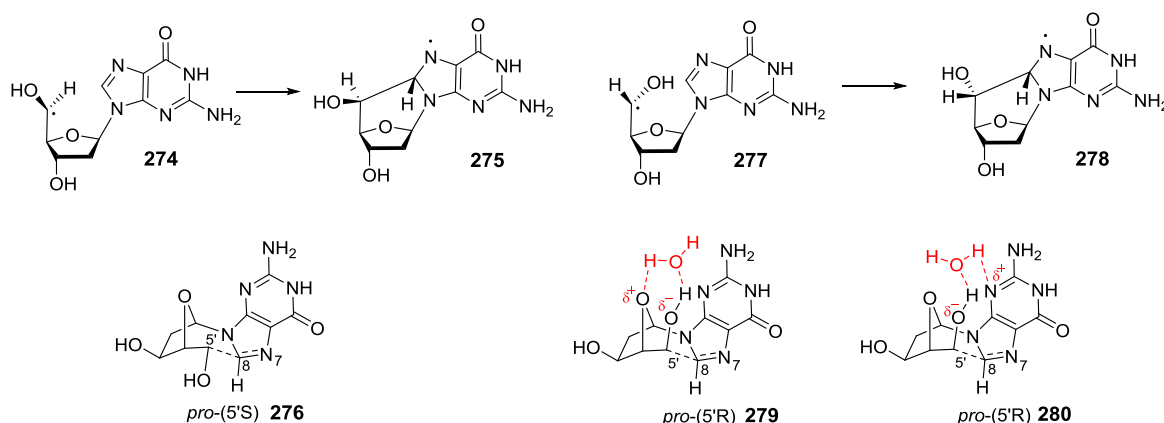


Schéma 52 : Formation du radical en C5' et cyclisation intramoléculaire des 8-bromonucléosides

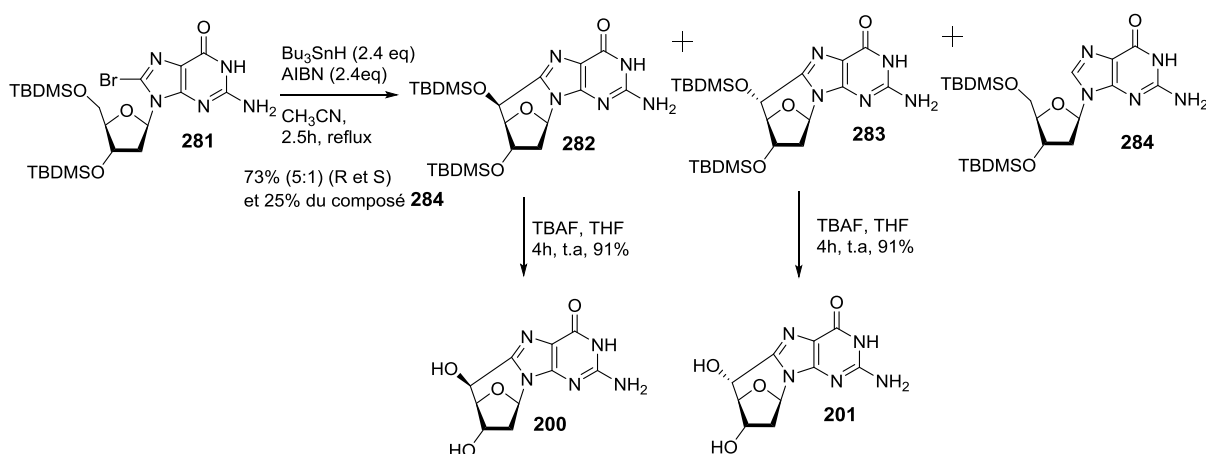
La méthode photochimique « one-pot » utilisée pour la synthèse des 5',8-cyclo-2'-désoxyadénosine (*R* et *S*) conduit à un taux de conversion du produit de départ de 61%. Parmi les produits formés, 27% sont les deux isomères des cyclonucléosides recherchés avec un rapport diastéréoisomérique (5*R*):(5*S*) 6:1, ainsi que 17% du 5'-carboxyaldéhyde hydraté et 10% du produit de réduction (remplacement de l'atome de brome par un atome d'hydrogène, Schéma 53). Cependant, la réaction conduit également à la formation de la 8-bromoadénine et de l'adénine (34% et 5% respectivement), qui sont des produits correspondant à la glycolyse des nucléosides, le milieu réactionnel devenant acide au cours de la réaction (changement du pH de 7 à 4).^[271]

Schéma 53 : Synthèse des 5',8-cyclo-2'-deoxyadénosine^[271]

Le mécanisme de formation des 5',8-cyclo-2'-désoxyguanosine (*R* et *S*) suit le même mécanisme décrit dans le Schéma 53 et conduit aux isomères cyclisés dans un rapport diastéréoisomérique (5*R*):(5*S*) 8:1 et à la 2'-désoxyguanone.^[302] Les deux radicaux intermédiaires proposés sont présentés dans le Schéma 54 dans les conformations *pro*-(5'*S*) (**275**) et *pro*-(5'*R*) (**278**), respectivement. La structure (**277**) correspond à la conformation *pro*-(5'*S*) qui est un des états de transition en forme de chaise proposé avec la fonction hydroxyle 5' en position équatoriale. Les structures (**280**) et (**281**) correspondent aux états de transition de conformation *pro*-(5'*R*), qui ont leurs fonctions hydroxyles 5' en position axiale. Cependant, en solution aqueuse seule la conformation *pro*-(5'*R*) peut être stabilisée par des liaisons hydrogène, impliquant soit l'atome d'oxygène du sucre soit l'atome d'azote de la base. Les auteurs suggèrent que cette liaison hydrogène est à l'origine de la diastéréosélectivité observée. Dans des investigations complémentaires avec un dérivé de la 2'-désoxyguanosine ayant deux groupes hydroxyles protégés par des groupes *tert*-butyldiméthylsilyle *t*-BuMe₂Si, le diastéréoisomère (5'*S*) est l'unique isomère formé. La stéréosélectivité de la réaction de cyclisation pourrait être expliquée par l'encombrement stérique causé par les groupements protecteurs.^[302]

Schéma 54 : Cyclisation des radicaux C5'-guanosinyl via les états de transition en chaise ^[302]

La voie radicalaire chimique a été développée par Chatgililoglu et coll. avec la 8-bromoguanosine silylée en position 3' et 5' et en utilisant deux amorceurs radicalaires : l'hydruure de tributylétain et l'AIBN dans l'acétonitrile (Schéma 55) ^[281]. Ils décrivent ainsi la formation des cyclonucleosides (**200** et **201**) par une réaction qui n'implique pas une cascade radicalaire mais la perte de l'atome de brome et la formation d'un radical en position C8, comme décrit auparavant (Schéma 27). Les cyclonucleosides (**282** et **283**) ont été obtenus avec un rendement de 73% pour les deux isomères et un rapport diastéréoisomérique (5*R*):(5*S*) 1:5. Cette réaction a également conduit à la formation de 25% de la 2'-désoxyguanosine silylée, produit de la perte de l'atome de brome. ^[281] Il est à noter que le rapport diastéréoisomérique est ici inversé par rapport à la réaction photochimique.

Schéma 55 : Formation des cyclonucleosides par voie radicalaire chimique ^[281]

Le Schéma 56 présente donc les voies de synthèse envisagées pour accéder aux cyclonucleosides recherchés inspirées des travaux de Chatgililoglu et coll. ^[281]

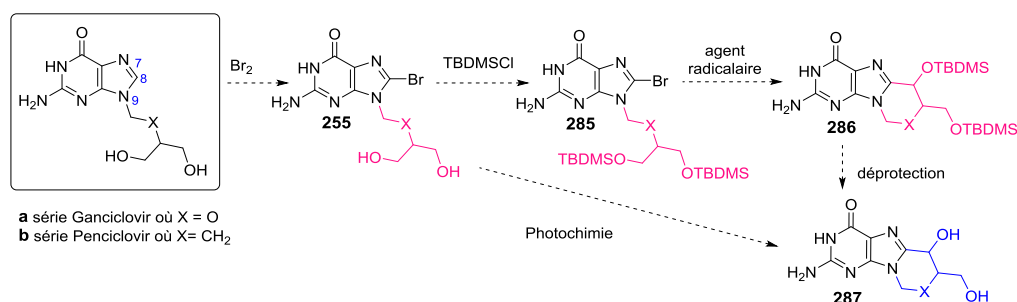


Schéma 56 : Schéma de synthèse proposé pour accéder aux cyclonucléosides recherchés

3.1 CYCLISATION PHOTO-AMORCEE

Nous avons tout d'abord essayé la cyclisation photochimique avec le 8-BrGCV en milieu aqueux comme décrit en série nucléoside après élimination du dioxygène présent en solution par barbotage d'argon (Schéma 57) et en comparaison avec le comportement photochimique dans les mêmes conditions de la 8-bromoguanosine. Des lampes à vapeur de mercure de différentes puissances lumineuses ont été utilisés (de 10 W à 500 W) avec ou non des filtres chromatiques. Les conditions utilisées sont résumées dans le Tableau 7, les irradiations ont été menées en présence ou non d'iodure de sodium, photosensibilisateur utilisé par Chatgialloglu et coll.^[271, 274].

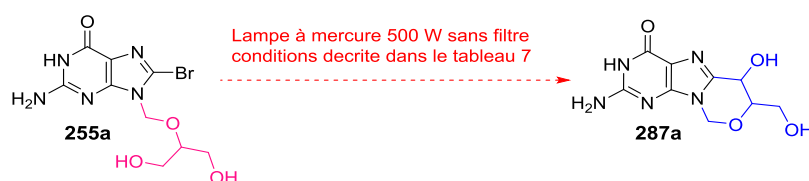


Schéma 57 : Réaction photo-amorcée utilisée pour la cyclisation du 8-BrGCV

Tableau 7 : Méthodologie utilisée pour la cyclisation photochimique du 8-BrGCV

Matériel de départ	Lampe ($\lambda=254$)	Solvant	Photo-amorceur	Temps
	mercure de 10 W à 500 W	H ₂ O	-	1-48h
		H ₂ O	Nal	1-48h
	mercure 500 W	H ₂ O/acétone	-	8h
		H ₂ O/CH ₃ CN	DMPA*	8h

* DMPA 2,2,-diméthoxy-2-phénylacétophénone

Les réactions ont été suivies par HPLC (Figure 44) et par RMN du proton. Les analyses ont été menées avec le GCV, le 8-BrGCV et la 8-bromoguanosine comme témoins d'analyse et ont révélées que les conditions utilisées conduisent essentiellement à la

formation des produits de réduction par perte de l'atome de brome. Les produits de cyclisation n'ont pas été détectés de façon significative.

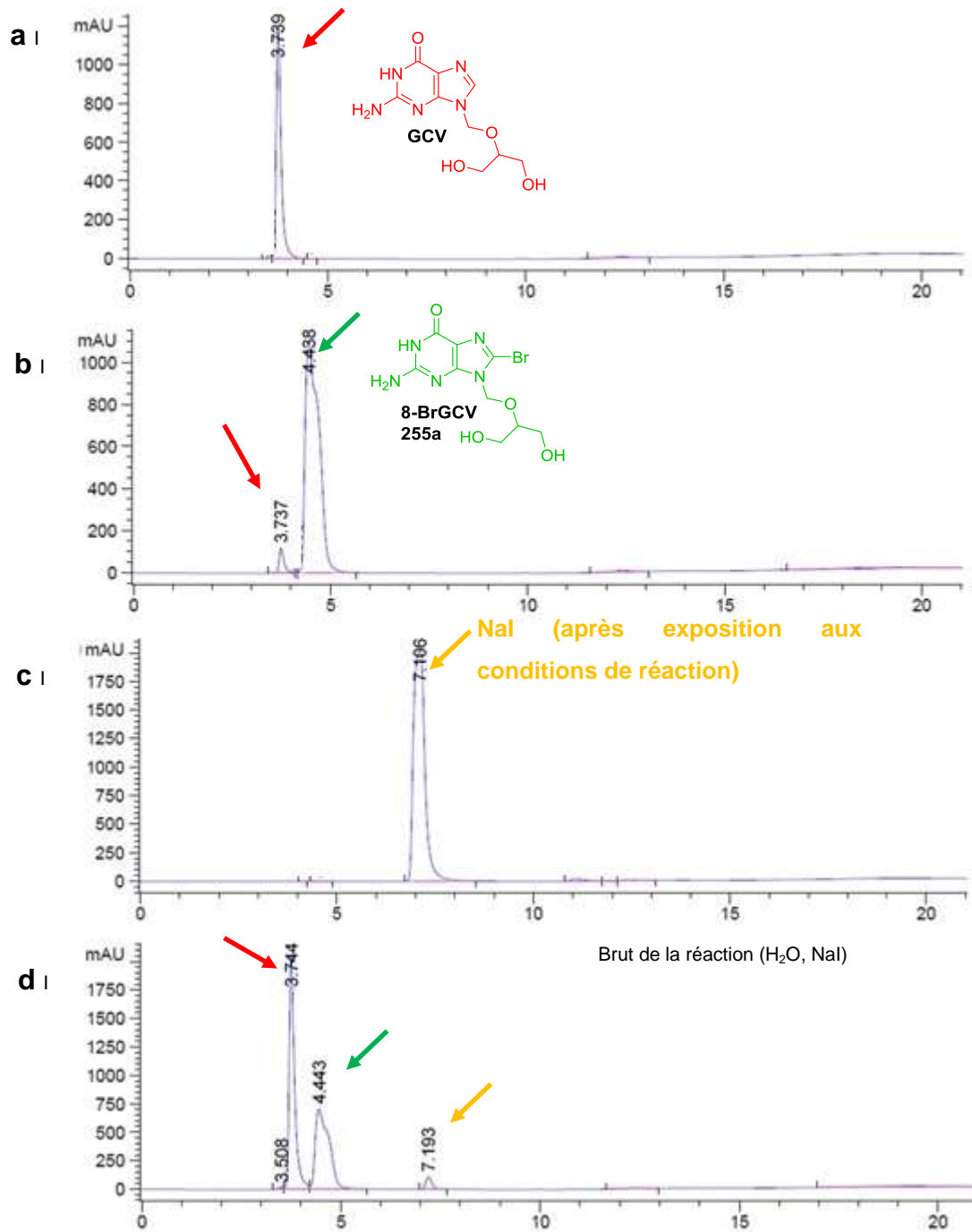


Figure 44 : Chromatogrammes d'HPLC sur colonne de de phase inverse C18 « end-capped », élution par H₂O/MeOH/ 90/10 avec 0.1% de TFA. Analyse du milieu réactionnel obtenu après réaction photochimique du composé 8BrGV (20 mM) dans l'eau (25 mL) sous irradiation UV ($\lambda=254$) par une lampe à vapeur de mercure basse pression 10 W, sans filtre, pendant 48 heures. Les chromatogrammes a, b, c et d correspondent respectivement au GCV, 8-BrGCV, iodure de sodium et mélange réactionnel

3.2 CYCLISATION RADICALE AMORCEE CHIMIQUEMENT

Le Schéma 58 décrit la voie de synthèse envisagée pour accéder aux cyclonucléosides recherchés à partir des analogues bromés de nucléosides, les 8-BrGCV et 8-BrPCV portant en position 9 une chaîne mobile au lieu du ribose ou du 2'-désoxyribose plus rigide correspondant aux nucléosides puriniques étudiés dans la littérature. Cette voie de synthèse est directement inspirée par les résultats décrits par Chatgialloglu et coll.^[281].

La synthèse commence donc avec la protection des fonctions hydroxyles libres par silylation suivie par la cyclisation radicalaire par amorçage chimique et thermique. La déprotection du composé cyclisé peut ensuite conduire aux composés recherchés (Schéma 58). Cette voie de synthèse a été étudiée en série guanine.

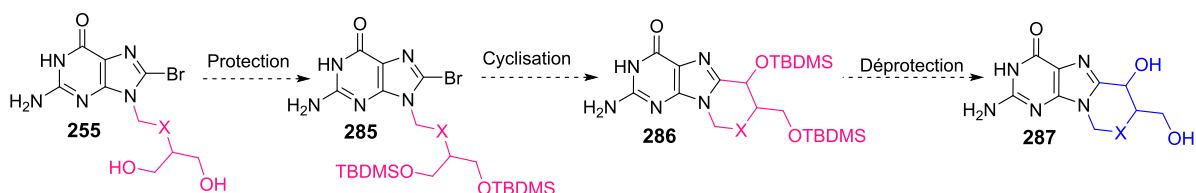


Schéma 58 : Schéma de synthèse pour accéder au cyclonucléoside (287)

La protection des fonctions hydroxyles de la chaîne latérale des composés (**255a**) et (**255b**) a été réalisée en utilisant une méthodologie classique de silylation avec le chlorure de *ter*-butyldiméthylsilyle (TBDMS, imidazole, DMF), respectivement avec des rendements de 98% et 93% (Schéma 59).^[308] Il est à noter que l'introduction du second groupement silylé du GCV monosilylé s'avère plus difficile nécessitant un excès de réactif silylé et un temps de réaction plus long. Le produit monosilylé a en effet pu être isolé et caractérisé en série GCV. Il pourrait donner accès à d'autres dérivés cyclisés après modification de la fonction hydroxyle primaire restante ou être silylé avec un groupement moins encombrant de façon à étudier l'effet de l'encombrement dans la réaction de cyclisation.

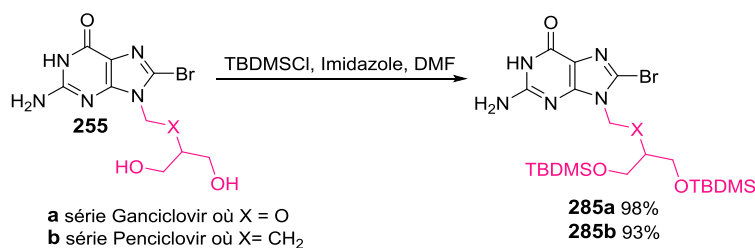


Schéma 59 : Protection du 8-BrGCV et du 8-BrPCV par TBDMS

Dans leurs cyclisations, Chatgialloglu et coll.^[281] ont utilisé comme amorceurs radicalaires, l'AIBN et l'hydruure de tributylétain que nous avons repris dans nos essais.

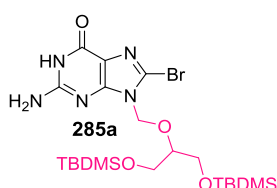
Chatgililoglu et coll.^[281] décrivent que la réaction a été essayée avec la 3',5'- di-TBDMS 2'-désoxyguanosine en utilisant des conditions radicalaires typiques avec 0,2 équivalents d'AIBN et 2,4 équivalent de tributylétain dans l'acétonitrile à reflux. Cependant, ils ont observé dans ces conditions une faible conversion du produit de départ (**281**, Schéma 55). En augmentant la quantité d'AIBN, le rendement de la réaction a été amélioré et, lorsque le dérivé (**281**) est mis en réaction en présence des quantités stœchiométriques d'AIBN/Bu₃SnH, les cyclonucléosides recherchés sont obtenus avec un bon rendement de 73% (rapport diastéréoisomères 5' *S*/5' *R* 5 :1) accompagnés de 25% de produit de réduction.

Des combinaisons de chlorure d'indium avec différents hydrures ont été décrites comme substitués non toxiques de l'hydrure de tributylétain comme amorceurs de réactions radicalaires de cyclisation de dérivés halogénés aromatiques organiques et nous les avons donc aussi essayées pour remplacer le système amorceur hydrure de tributylétain/AIBN.^[309-311]

Les conditions testées sont résumées dans le Tableau 8. Tout d'abord, les conditions de réaction ont été optimisées en série 8-BrGCV (**255a**) et ont été ensuite appliquées en série 8-BrPCV (**255b**). Le mélange des amorceurs de réaction a été ajouté au départ de réaction ou progressivement en solution concentrée à l'aide d'un pousse-seringue pendant 3 heures.

Tableau 8 : Conditions essayées pour la cyclisation intramoléculaire du 8-BrGCV disilylé

Matériel de départ	Réactifs	Solvant	Température	Produits formés	
				Cyclisation	Réduction
	AIBN 5 eq	CH ₃ CN	90°C	-	-
	Bu ₃ SnH 5 eq	CH ₃ CN	90°C	-	-
	AIBN 5 eq/ Bu ₃ SnH 5 eq	CH ₃ CN	90°C	+	+++
	AIBN 10 eq/ Bu ₃ SnH 10 eq	CH ₃ CN	90°C	+	++++
	AIBN 2,4eq / Bu ₃ SnH 2,4 eq	CH ₃ CN	90°C	20%*	60%*
	AIBN 2,4 eq / Bu ₃ SnH 2,4 eq / LiBr 6,5 eq	CH ₃ CN	90°C	-	++++
	Et ₃ B	CH ₃ CN	t.a	-	-
	Et ₃ B	DMSO	t.a	-	-
	InCl ₃ 0,1eq / NaBH ₄ 1,2 eq	CH ₃ CN	t.a	-	-
	InCl ₃ 0,1 eq / NaBH ₄ 2 eq	CH ₃ CN	t.a	-	-
	InCl ₃ 2 eq / Et ₃ SiH 2 eq / Et ₃ B 0,1eq	CH ₃ CN	0°C	-	-



+, formation du produit ; - absence de produit ; *La détermination du taux de conversion a été réalisé par RMN

L'analyse du mélange de réaction après évaporation du solvant a été réalisée par RMN du proton de façon à essayer de quantifier la proportion des produits formés et du composé de départ restant (Tableau 8).

Dans la majorité des conditions utilisées, un produit majoritaire a été détecté et identifié comme étant le produit résultant de la perte de l'atome de brome et de son remplacement par un atome d'hydrogène (**288**). Le produit recherché a été détecté en CCM en proportion suffisante pour être isolé dans une des conditions testées qui correspond à celles utilisées par Chatgialloglu et coll.^[281] pour le rapport stœchiométrique hydrure de tributylétain/AIBN 1/1 et 2,4 équivalents de chacun d'eux. On observe ainsi, en CCM pour les dérivés silylés bromés du GCV et du PCV comme dans le cas des nucléosides, la formation de deux produits identifiés par spectrométrie de masse et par RMN du proton. L'un des

produits a été identifié par RMN du proton et par spectrométrie de masse comme résultant de la perte de l'atome de brome et correspond au produit de réduction (formation des GCV et PCV disilylés) isolé avec un rendement de 60% en série GCV et de 40% en série PCV. L'autre produit correspond bien au mélange des énantiomères cyclisés recherchés (Schéma 60) qui a été isolé dans chaque cas, respectivement avec des rendements de 16 et 27%.

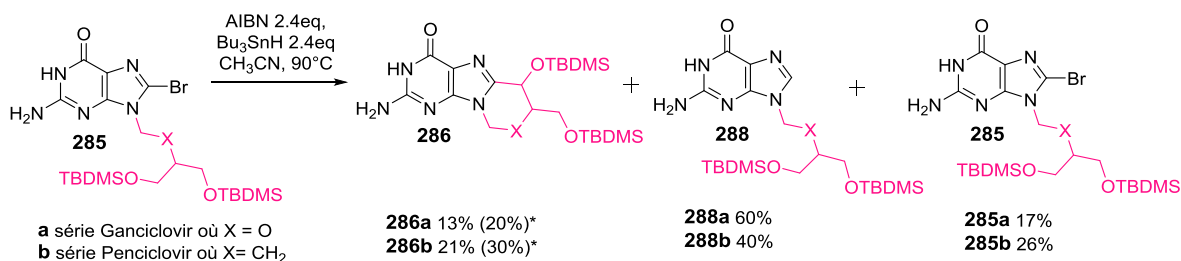


Schéma 60 : Réaction de cyclisation par l'AIBN/Bu₃SnH et produits formés.* Détermination du taux de conversion réalisée par RMN

Il n'a pas été possible d'obtenir une conversion complète des composés silylés bromés de départ même en ajoutant plusieurs fois de l'AIBN et/ou de l'hydrure de tributylétain, ce qui complique encore la séparation des produits recherchés. Les taux maximal de conversion obtenus ont été de 80% en série GCV et de 70% en série PCV. Pour les conditions AIBN/Bu₃SnH 10/10 eq et 5/5 eq deux méthodes ont été essayées en série GCV, l'ajout direct du nombre d'équivalents ou des ajouts successifs de portions de 2,5/2,5 équivalents chaque heure. Ces essais n'ont pas permis d'augmenter le taux de conversion et la proportion de dérivé cyclisé.

Le spectre de RMN du cyclonucléoside (**286a**) isolé en série GCV est présenté dans Figure 45. On peut identifier deux doublets en 5,63 et 5,31 ppm qui correspondent au H1' du cycle formé. Le proton H3' est détecté à 4,77 ppm sous la forme d'un doublet fin avec une constante de couplage de 1,6 Hz ce qui pourrait indiquer soit que les énantiomères ont la configuration axiale-équatoriale^[312] soit équatoriale-équatoriale^[312]. Les deux multiplets observés entre 3,95 et 3,81 ppm correspondent bien aux signaux des protons H2' et H4' (expériences de COSY, HMBC, HMQC). Les protons des groupements protecteurs TBDMS sont aussi détectés entre 0,89 et 0,06 ppm sous la forme de cinq singulets (Figure 45).

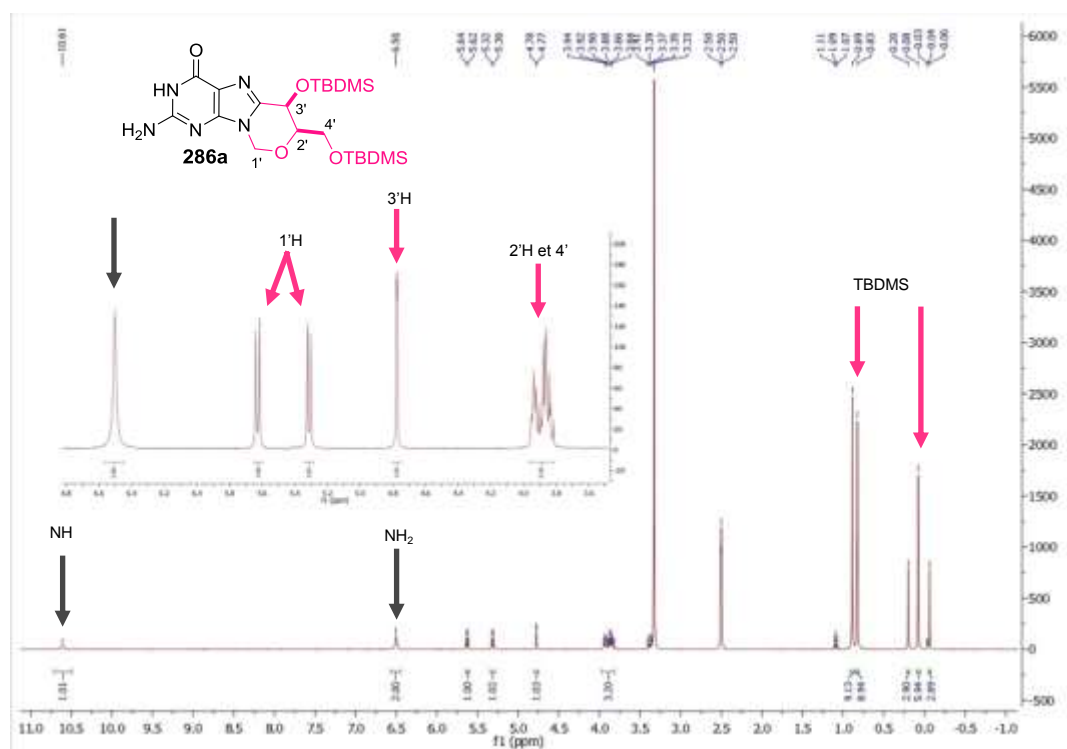


Figure 45 : Spectre RMN du proton du composé cyclique dérivé du GCV (**286a**)

Des cristaux du dérivé cyclisé silylé en série GCV (**287a**) ont été obtenus à partir de la solution dans le DMSO d_6 utilisée pour l'analyse en RMN. Ils ont permis d'obtenir une structure d'assez bonne précision par radiocristallographie aux rayons X (Figure 46 ; facteur de fiabilité $R = 6,4\%$). L'analyse a révélé une structure des énantiomères configuration équatoriale-équatoriale^[312] (*cis* racémique, *S,S* et *R,R*) pour le dérivé isolé ce qui est en accord avec l'analyse du spectre de RMN du proton.

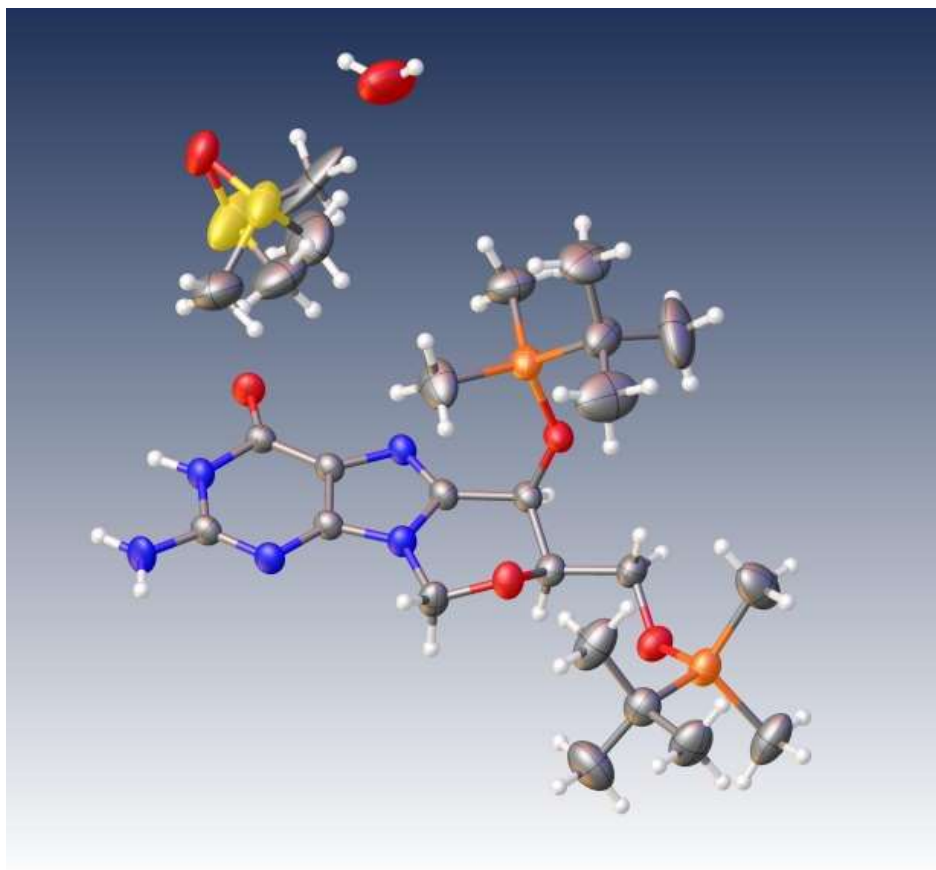


Figure 46 : Représentation de la Structure du composé (286a, l'énantiomère *R,R*) obtenue par étude aux rayons X d'un cristal obtenu à partir d'une solution dans le DMSO d_6 pour la RMN.

Le dérivé cyclique obtenu en série PCV (**286b**) n'a pas pu être obtenu avec un degré de pureté suffisant pour être cristallisé et caractérisé par radiocristallographie. Il est à noter que le composé diTBDMS PCV formé par perte de l'atome de brome qui a été isolé cristallise dans le dichlorométhane.

Le spectre de RMN du proton ($CDCl_3$) du cyclonucléoside (**286b**) isolé en série PCV est présenté dans la Figure 47. L'attribution des protons ont été réalisée à l'aide d'expériences en RMN 2D (expériences de COSY, HMBC, HMQC). Le proton H4' du cycle formé est détecté sous la forme d'un doublet fin à 4,96 ppm avec une constante de couplage de 1,1 Hz. Cette valeur de constante de couplage peut correspondre à des stéréoisomères soit de configuration axiale-équatoriale soit de configuration équatoriale-équatoriale. Le doublet de doublet observé à 4,20 ppm correspond à l'un des protons H1'. Le deuxième proton H1' est observé à 3,76-3,70 ppm sous la forme d'un multiplet. Les deux protons H5' sont identifiés à 3,82-3,80 et 3,60 ppm, le premier est détecté sous la forme d'un multiplet et le second sous la forme d'un doublet de doublet. Les deux multiplets observés entre 2,22 et 1,95 ppm correspondent aux signaux des protons H2' et H3'. Les protons des deux

groupements TBDMS sont bien détectés entre 0,91 et -0,09 ppm sous la forme de cinq singulets (Figure 47).

Le couplage de 1,1 Hz observé entre les protons 3' et 4' dans le spectre de RMN du dérivé cyclique du PCV (**286b**) est proche de celle observée pour le dérivé cyclisé du GCV (**286a**) qui a une valeur de 1,6 Hz. Ceci suggère des stéréochimies similaires et donc probablement une configuration équatoriale-équatoriale des protons pour (**286a**) comme pour (**286b**).

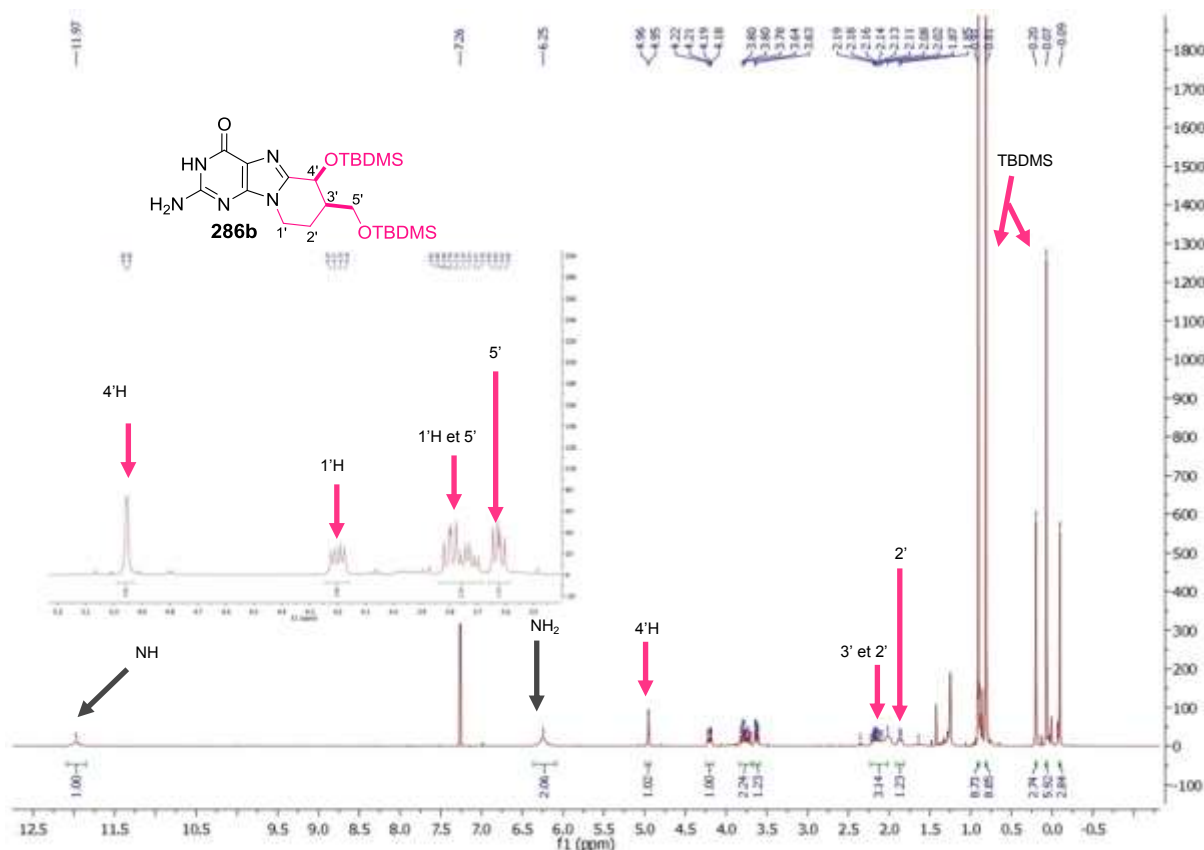


Figure 47 : Spectre RMN du proton du composé cyclique dérivé du PCV (**286b**)

L'étape de désilylation des composés cyclisés s'est révélée plus difficile que prévu. L'utilisation du TBAF en excès a rendu la purification des composés très difficile en raison de l'impossibilité d'élimination de l'excès de TBAF. Les produits étant solubles dans l'eau, leur extraction avec un solvant organique n'a pas été possible. La purification par chromatographie de phase inverse a été essayée mais les résultats ont été décevants ainsi que les tests de purification avec une résine d'échange ionique.

La déprotection a finalement été réalisée avec un mélange H₂O:TFA:THF 1:1:4 (Schéma 61) suivie d'une purification par chromatographie de phase inverse avec un

rendement de 54 % dans le cas du dérivé (**287a**) en série GCV.^[313, 314] Le dérivé (**287b**) en série PCV n'a pas pu être purifié complètement.

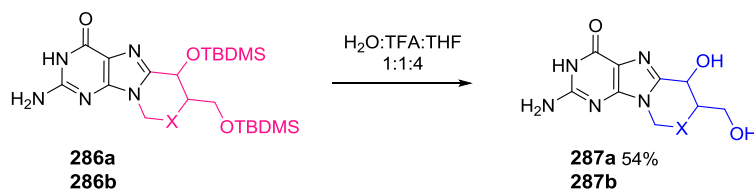


Schéma 61 : Déprotection des groupement TBDMS

Les protons du spectre de RMN dans le DMSO d_6 (Figure 48) ont été attribués à l'aide d'expériences 2D et par échange des protons labiles avec l'eau lourde (expériences de COSY, HMBC, HMQC). On peut tout d'abord remarquer en comparaison avec le spectre du dérivé cyclisé silylé de départ de la Figure 45, que le proton de la fonction hydroxyle primaire se trouve à 4,83 ppm sous la forme d'un triplet, et que le proton de la fonction hydroxyle secondaire à 5,66 ppm sous la forme d'un doublet. Le signal du proton H3' portant la fonction hydroxyle secondaire est détecté sous la forme d'un doublet de doublet à 4,54 ppm. L'absence des protons des groupements TBDMS valide la déprotection du composé (**286a**). D'autre part, la constante de couplage observée entre les protons 2' et 3' est de 1,9 Hz et reste proche de celle observée pour le dérivé cyclisé silylé (**286a**) (1,6 Hz) ce qui suggère que la stéréochimie n'a pas changé après déprotection.

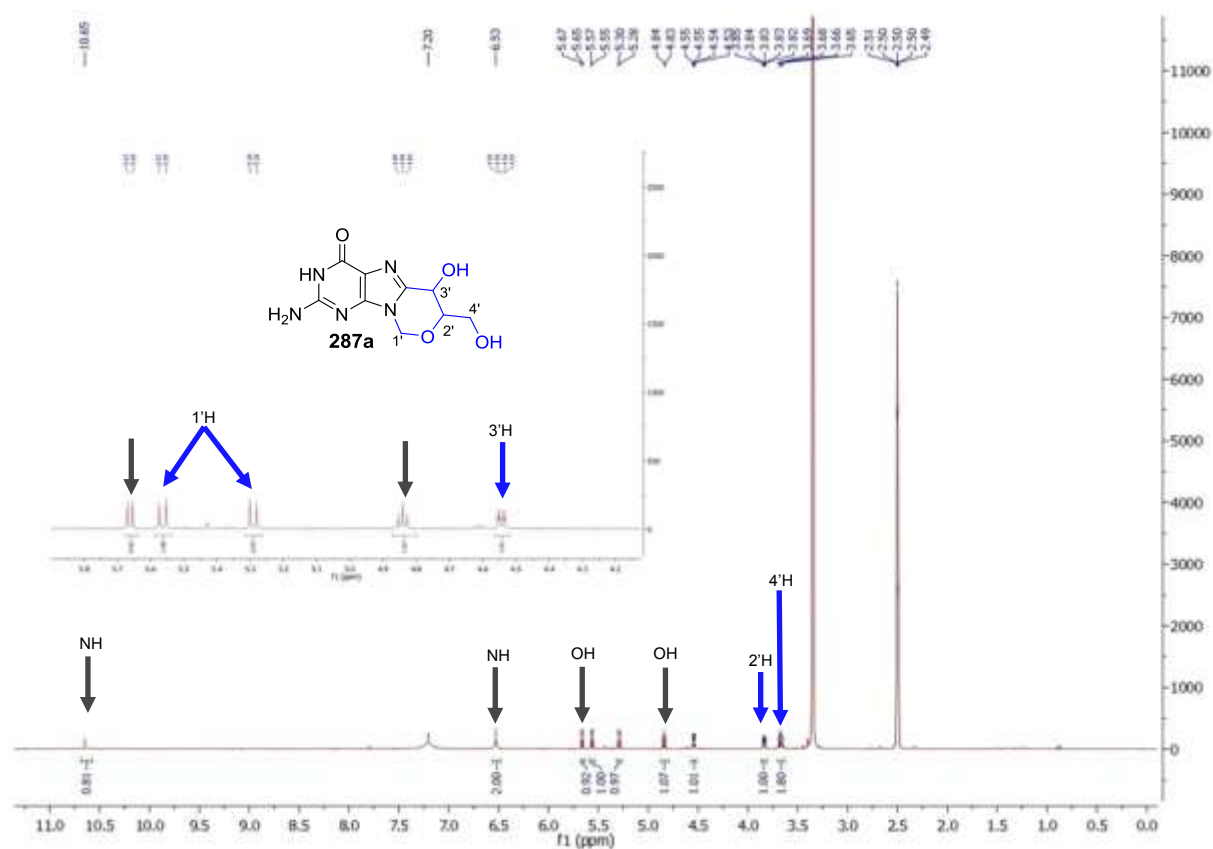


Figure 48 : Spectre RMN du proton du composé cyclique dérivé du GCV (287a)

Nous avons donc synthétisé par cyclisation radicalaire des dérivés bromés silylés du GCV et du PCV et obtenu les premiers analogues à cycle carboné portant les protons en configuration équatoriale-équatoriale (*R,R* et *S,S*). Les rendements de synthèse sont faibles et il reste donc à les optimiser.

Il nous reste à purifier le dérivé en série PCV en vue de son évaluation antivirale. L'évaluation du dérivé cyclique de GCV est actuellement en cours.

3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les synthèses réalisées par cyclisation via un atome d'oxygène ont tout d'abord permis de conforter les observations de Holý et coll.^[256, 257] faites lors de réactions de substitutions d'un atome de brome en position 8 de dérivés 9-alkylés de l'adénine portant sur la chaîne alkyle une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Schéma 30). Nous avons ainsi observé à partir du dérivé de l'adénine non décrit (**229a**) ayant en position 9 une chaîne fixée portant deux fonctions hydroxyles que le cycle à six atomes pouvant se former est instable en milieu basique. L'isolement inattendu de l'isomère bromé (**254**) du composé de départ (**229a**) avec un faible rendement (16%) confirme la formation du cycle recherché mais démontre son instabilité dans les conditions utilisées. L'ouverture du cycle formé pourrait en effet conduire à la création d'une fonction époxyde qui peut ensuite réagir avec l'ion bromure libéré pour donner l'isomère isolé. Cependant, cette dernière réaction mettant en jeu des ions bromure présents en faible concentration ne peut probablement pas à elle seule expliquer la formation à température ambiante du dérivé (**254**). D'autant plus que l'ajout d'ions bromure dans le milieu réactionnel n'a pas permis d'augmenter le rendement de réaction. D'autres intermédiaires plus réactifs que la fonction époxyde terminale sont probablement mis en jeu dans cette transformation.

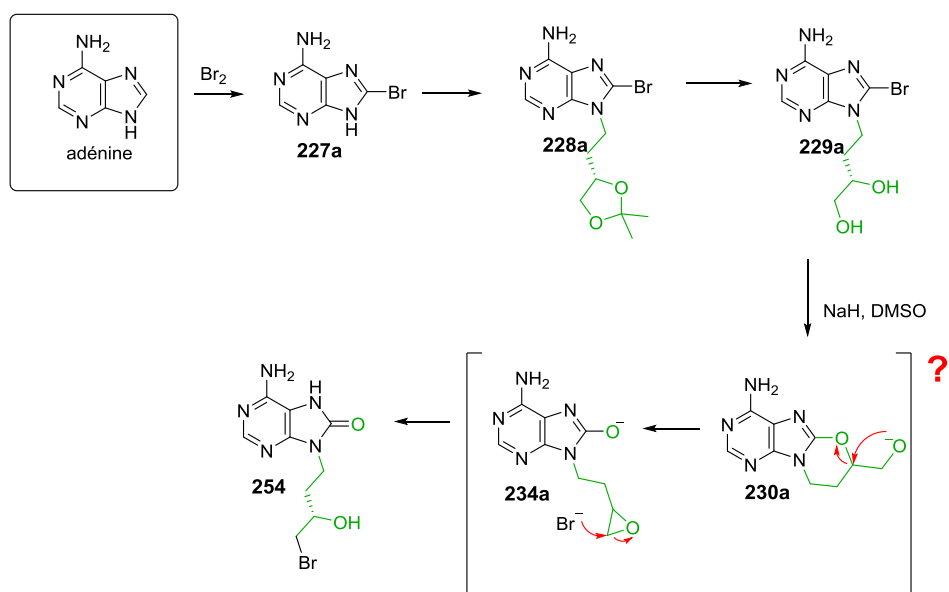


Schéma 62 : Synthèse du composé 254

L'absence de réactivité de l'homologue de (**229a**) en série guanine (**229c**) dans les mêmes conditions pourrait s'expliquer par une déprotonation de la guanine en position 1 qui peut empêcher la cyclisation intramoléculaire. Cependant, nous avons bien réussi à cycliser le GCV et PCV dans les mêmes conditions pour former les dérivés cycliques à 7 chaînons (voir ci-après Schéma 64). C'est donc probablement l'instabilité du cycle à 6 pouvant se former en série guanine qui empêche l'isolement du composé cyclisé correspondant. Par

contre, dans ce cas, nous n'observons pas la migration de l'atome de brome comme en série adénine, migration qui reste à expliquer plus en détails.

Des études complémentaires pourraient être menées en protégeant la fonction hydroxyle primaire ou en allongeant la chaîne hydroxylée pour former un cycle à 7. D'autre part, la silylation des deux fonctions hydroxyles des dérivés (**229a**) et (**229c**) pourrait également permettre, par réaction radicalaire, d'obtenir des dérivés portant un cycle à 5 atomes complètement carboné (Schéma 63). La monosilylation de la fonction hydroxyle primaire, que nous avons réalisée, pourrait aussi conduire à des dérivés cycliques de l'adénine et de la guanine comportant un cycle oxygéné. Faute de temps, nous n'avons pas pu terminer cette étude.

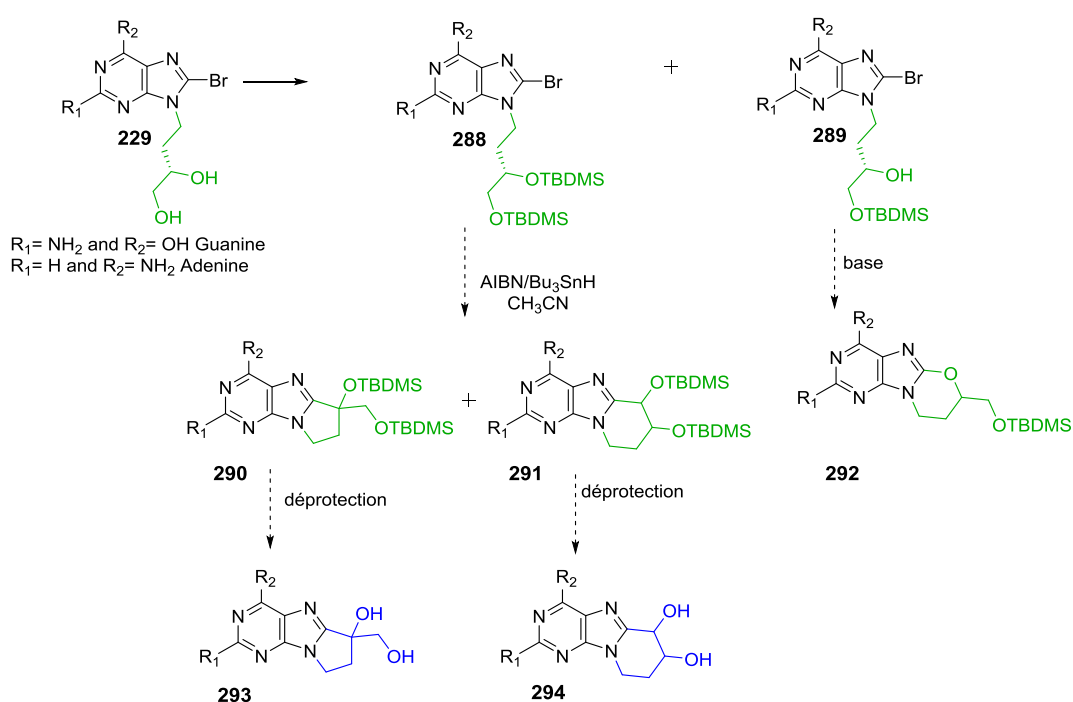


Schéma 63 : Synthèses complémentaires pour accéder à des analogues des cyclonucléosides

La formation du cycle à sept atomes dans lequel un atome d'oxygène est lié à la base a bien été réalisée à partir du GCV et du PCV selon le Schéma 64. Les dérivés cycliques (**256a**) et (**256b**) ont été obtenus avec de très bons rendements en menant la réaction de cyclisation sous irradiation avec des microondes. L'isolement de ces analogues à 7 chaînons peut s'expliquer par une tension de cycle moins importante que dans les composés à cycle à six atomes.

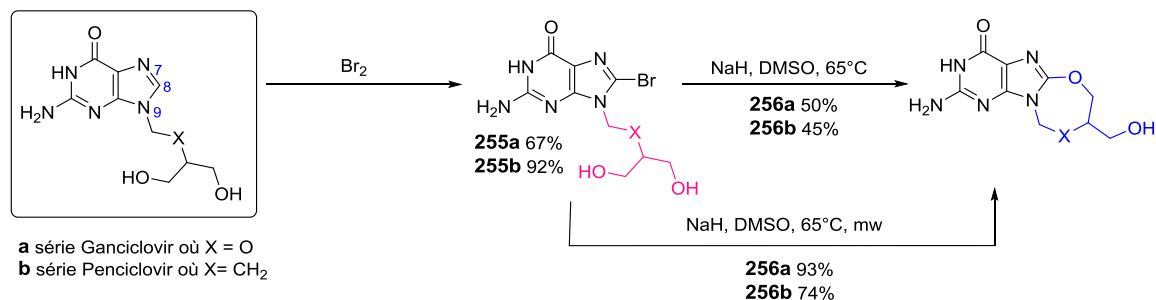


Schéma 64 Synthèse des composés cycliques à 7 chaînons à partir du GCV et PCV

La cyclisation photochimique en milieu aqueux du 8-BrGCV (**255a**) via la création d'une liaison C-C inspirée de la cyclisation photochimique de la 8-bromo-2'-désoxyguanosine décrite dans la littérature n'a pas abouti au composé attendu. Deux explications peuvent rendre compte de ce résultat i) la plus grande mobilité de la chaîne du GCV par rapport au sucre du nucléoside défavorise la cyclisation et/ou ii) un très faible taux de conversion résultant d'un dispositif d'irradiation inadapté en termes de longueurs d'ondes et de puissance.

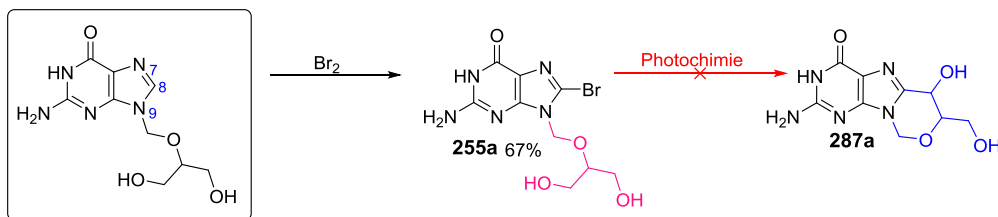


Schéma 65 : Réactions réalisées pour accéder au composé 287a

Par contre, les cyclisations radicalaires des 8-BrGCV et 8-BrPCV disilylés, respectivement (**286a**) et (**286b**) ont pu être réalisées avec de faibles rendements (respectivement 20 et 30%) pour conduire aux dérivés recherchés.

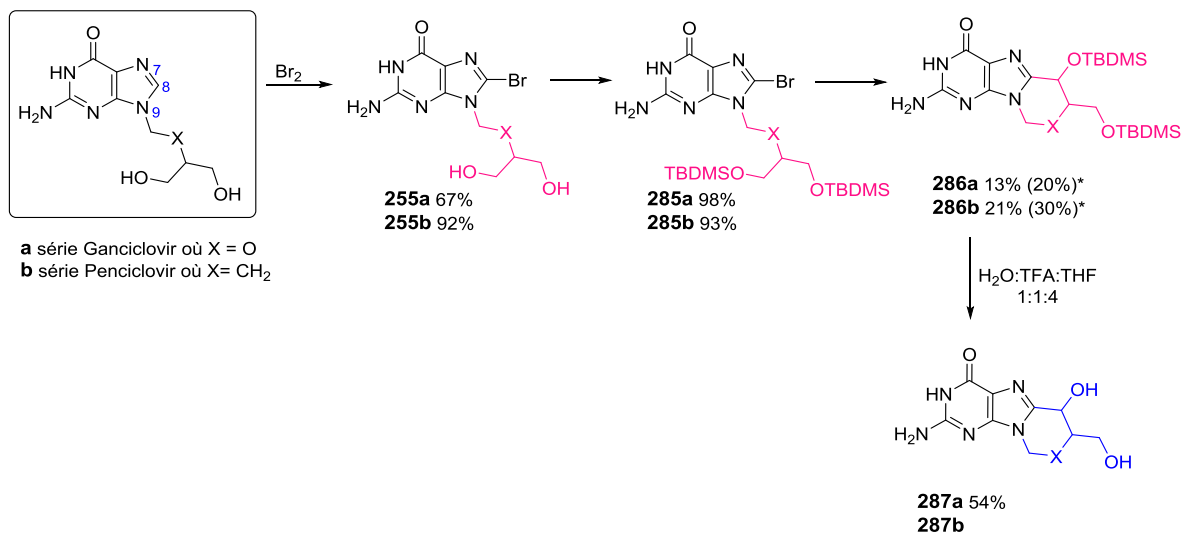


Schéma 66 : Synthèses réalisées pour accéder aux composés cycliques des dérivés GCV et PCV.
 *Détermination du taux de conversion réalisée par RMN

Les dérivés isolés ont probablement tous une configuration équatoriale-équatoriale (*cis* racémique, *R,R* ou *S,S*) comme le montre l'étude aux rayons X de cristaux du dérivé cyclisé silylé obtenu en série GCV (**286a**).

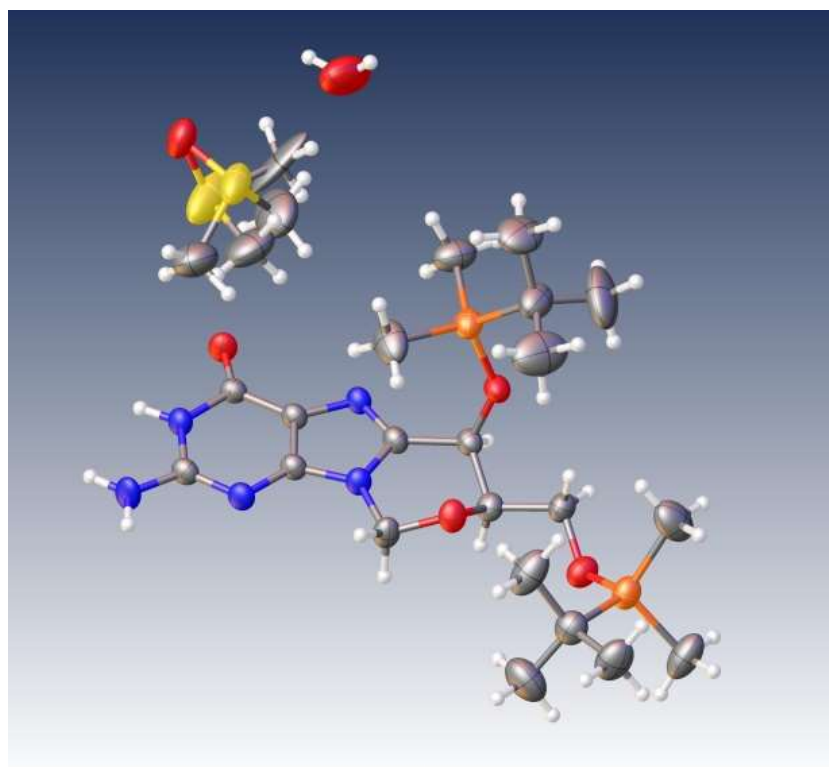


Figure 46 : Représentation de la structure de l'énantiomère *R,R* du composé (**286a**) obtenue par étude aux rayons X d'un cristal obtenu à partir d'une solution dans le DMSO d₆ pour la RMN.

L'évaluation des activités antivirales des dérivés cyclisés obtenus (**256a**) et (**256b**) en série cycles à 7 chaînons et (**287a**) en série du cycle à 6 chaînons) est en cours contre des virus à ARN et des virus à ADN.

Elle est réalisée en collaboration avec l'équipe de la professeure Cláudia Maria Oliveira Simões de l'Université Fédérale de Santa Catarina à Florianopolis au Brésil et l'équipe de Johan Neyts à l'Université de Leuven en Belgique. Il est à noter que la stéréochimie *trans* pourrait être plus favorable à une action antivirale nécessitant une triphosphorylation préalable. Il faudra donc dans le futur chercher à obtenir les isomères de configuration axiale-équatoriale (*trans* racémique, *R,S* ou *S,R*).

4. *BIBLIOGRAPHIE*

1. Lustig, A. and A.J. Levine, *One hundred years of virology*. Journal of Virology, 1992. **66**(8): p. 4629-4631.
2. Zaitlin, M., *The discovery of the causal agent of the tobacco mosaic disease*. Discoveries in Plant Biology, 1998. **1**: p. 105-110.
3. Forterre, P., M. Krupovic, and D. Prangishvili, *Cellular domains and viral lineages*. Trends in Microbiology, 2014. **22**(10): p. 554-558.
4. Forterre, P. and D. Prangishvili, *The major role of viruses in cellular evolution: facts and hypotheses*. Current Opinion in Virology, 2013. **3**(5): p. 558-565.
5. Forterre, P., *Why Are There So Many Diverse Replication Machineries?* Journal of Molecular Biology, 2013. **425**(23): p. 4714-4726.
6. Forterre, P., *The virocell concept and environmental microbiology*. The ISME Journal - Nature, 2013. **7**(2): p. 233-236.
7. Forterre, P., *The great virus comeback*. Biologie Aujourd'hui, 2013. **207**(3): p. 153-68.
8. Forterre, P., *Defining life: the virus viewpoint*. Orig Life Evol Biosph, 2010. **40**(2): p. 151-60.
9. Forterre, P. and D. Prangishvili, *The origin of viruses*. Research in Microbiology, 2009. **160**(7): p. 466-472.
10. Raoult, D. and P. Forterre, *Redefining viruses: lessons from Mimivirus*. Nature Reviews Microbiology, 2008. **6**(4): p. 315-319.
11. Forterre, P., *The origin of viruses and their possible roles in major evolutionary transitions*. Virus Research, 2006. **117**(1): p. 5-16.
12. Patrick, F., *Virocell Concept, The*, in eLS. 2001, John Wiley & Sons, Ltd.
13. Davison, A., et al., *The order Herpesvirales*. Archives of Virology, 2009. **154**(1): p. 171-177.
14. Aurelian, L., *Herpes Simplex Viruses: General Features*, in *Encyclopedia of Virology (Third Edition)*. 2008, Academic Press: Oxford. p. 383-397.
15. McGeoch, D.J., *The genomes of the human herpesviruses: contents, relationships, and evolution*. Annual Review of Microbiology, 1989. **43**: p. 235-65.
16. McGeoch, D.J., F.J. Rixon, and A.J. Davison, *Topics in herpesvirus genomics and evolution*. Virus Research, 2006. **117**(1): p. 90-104.
17. Muehlbach, H., et al., *Dominant-negative proteins in herpesviruses - from assigning gene function to intracellular immunization*. Viruses, 2009. **1**: p. 420-440.
18. Olia, A.S., et al., *Three-dimensional structure of a viral genome-delivery portal vertex*. Nature Structural & Molecular Biology, 2011. **18**(5): p. 597-603.
19. Brown, J.C. and W.W. Newcomb, *Herpesvirus capsid assembly: insights from structural analysis*. Current Opinion in Virology, 2011. **1**(2): p. 142-149.

20. Germi, R., et al., *Three-dimensional structure of the Epstein–Barr virus capsid*. Journal of General Virology, 2012. **93**(8): p. 1769-1773.
21. Kelly, B.J., et al., *Functional roles of the tegument proteins of herpes simplex virus type 1*. Virus Research, 2009. **145**(2): p. 173-186.
22. Guo, H., et al., *Role of tegument proteins in herpesvirus assembly and egress*. Protein Cell, 2010. **1**(11): p. 987-98.
23. Mettenleiter, T.C., B.G. Klupp, and H. Granzow, *Herpesvirus assembly: a tale of two membranes*. Current Opinion in Microbiology, 2006. **9**(4): p. 423-429.
24. Rey, F.A., *Molecular gymnastics at the herpesvirus surface*. EMBO reports, 2006. **7**(10): p. 1000-1005.
25. Bosse, J.-B., *Herpes-virus capsid dynamics in living cells*, 2011. p. No pp.
26. Boehmer, P. and A. Nimonkar, *Herpes Virus Replication*. IUBMB Life, 2003. **55**(1): p. 13-22.
27. Coen, D.M. and P.A. Schaffer, *Antiherpesvirus drugs: a promising spectrum of new drugs and drug targets*. Nature reviews. Drug discovery, 2003. **2**(4): p. 278-88.
28. Connolly, S.A., et al., *Fusing structure and function: a structural view of the herpesvirus entry machinery*. Nature Reviews Microbiology, 2011. **9**(5): p. 369-381.
29. Whitley, R.J. and B. Roizman, *Herpes simplex virus infections*. The Lancet, 2001. **357**(9267): p. 1513-1518.
30. Eisenberg, R.J., et al., *Herpesvirus fusion and entry: a story with many characters*. Viruses, 2012. **4**: p. 800-832.
31. Molesworth, S.J., et al., *Epstein-Barr virus gH is essential for penetration of B cells but also plays a role in attachment of virus to epithelial cells*. Journal of Virology, 2000. **74**(14): p. 6324-32.
32. Wu, L., C.M. Borza, and L.M. Hutt-Fletcher, *Mutations of Epstein-Barr Virus gH That Are Differentially Able To Support Fusion with B Cells or Epithelial Cells*. Journal of Virology, 2005. **79**(17): p. 10923-10930.
33. Wu, L. and L.M. Hutt-Fletcher, *Point mutations in EBV gH that abrogate or differentially affect B cell and epithelial cell fusion*. Virology, 2007. **363**(1): p. 148-155.
34. Krummenacher, C., et al., *Entry of herpesviruses into cells: the Enigma variations*. Advances in Experimental Medicine and Biology, 2013. **790**(Viral Entry into Host Cells): p. 178-195.
35. Mettenleiter, T.C., et al., *The way out: what we know and do not know about herpesvirus nuclear egress*. Cellular Microbiology, 2013. **15**(2): p. 170-178.
36. Cardone, G., et al., *Procapsid Assembly, Maturation, Nuclear Exit: Dynamic Steps in the Production of Infectious Herpesvirions*, in *Viral Molecular Machines*, M.G. Rossmann and V.B. Rao, Editors. 2012, Springer US. p. 423-439.

37. Radtke, K., et al., *Plus- and Minus-End Directed Microtubule Motors Bind Simultaneously to Herpes Simplex Virus Capsids Using Different Inner Tegument Structures*. PLoS Pathog, 2010. **6**(7): p. e1000991.
38. Diefenbach, R.J., et al., *Transport and egress of herpes simplex virus in neurons*. Reviews in Medical Virology, 2008. **18**(1): p. 35-51.
39. Wolfstein, A., et al., *The Inner Tegument Promotes Herpes Simplex Virus Capsid Motility Along Microtubules in vitro*. Traffic, 2006. **7**(2): p. 227-237.
40. Luxton, G.W.G., et al., *Targeting of herpesvirus capsid transport in axons is coupled to association with specific sets of tegument proteins*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005. **102**(16): p. 5832-5837.
41. Döhner, K., et al., *Function of Dynein and Dynactin in Herpes Simplex Virus Capsid Transport*. Molecular Biology of the Cell, 2002. **13**(8): p. 2795-2809.
42. Sodeik, B., M.W. Ebersold, and A. Helenius, *Microtubule-mediated Transport of Incoming Herpes Simplex Virus 1 Capsids to the Nucleus*. The Journal of Cell Biology, 1997. **136**(5): p. 1007-1021.
43. Anderson, F., et al., *Targeting of Viral Capsids to Nuclear Pores in a Cell-Free Reconstitution System*. Traffic, 2014. **15**(11): p. 1266-1281.
44. Zaichick, S.V., et al., *The Herpesvirus VP1/2 Protein Is an Effector of Dynein-Mediated Capsid Transport and Neuroinvasion*. Cell host & microbe, 2013. **13**(2): p. 10.1016/j.chom.2013.01.009.
45. Padeloup, D., et al., *Herpesvirus Tegument Protein pUL37 Interacts with Dystonin/BPAG1 To Promote Capsid Transport on Microtubules during Egress*. Journal of Virology, 2013. **87**(5): p. 2857-2867.
46. Le Sage, V. and A. Mouland, *Viral Subversion of the Nuclear Pore Complex*. Viruses, 2013. **5**(8): p. 2019.
47. Franker, M.A.M. and C.C. Hoogenraad, *Microtubule-based transport – basic mechanisms, traffic rules and role in neurological pathogenesis*. Journal of Cell Science, 2013. **126**(11): p. 2319-2329.
48. Liashkovich, I., et al., *Nuclear delivery mechanism of herpes simplex virus type 1 genome*. Journal of Molecular Recognition, 2011. **24**(3): p. 414-421.
49. Vallee, R.B., et al., *Dynein: An ancient motor protein involved in multiple modes of transport*. Journal of Neurobiology, 2004. **58**(2): p. 189-200.
50. Huot, N., *Relationship between the expression of LAT and RL2 gene during HSV-1 latency*, 2012, Université Paris Sud - Paris XI.
51. Ward, P.L. and B. Roizman, *Herpes simplex genes: the blueprint of a successful human pathogen*. Trends in Genetics, 1994. **10**(8): p. 267-274.
52. Rosenthal, L.J., *Replication of herpesviruses and latency*. Canadian Journal of Microbiology, 1979. **25**(3): p. 239-244.
53. Flemington, E.K., *Herpesvirus Lytic Replication and the Cell Cycle: Arresting New Developments*. Journal of Virology, 2001. **75**(10): p. 4475-4481.

54. Pomerantz, R.T. and M. O'Donnell, *Replisome mechanics: insights into a twin DNA polymerase machine*. Trends in Microbiology, 2007. **15**(4): p. 156-164.
55. Challberg, M., *25 Herpesvirus DNA Replication*. Cold Spring Harbor Monograph Archive; Volume 31 (1996): DNA Replication in Eukaryotic Cells, 1996.
56. Henaff, D., et al., *Analysis of the Early Steps of Herpes Simplex Virus 1 Capsid Tegumentation*. Journal of Virology, 2013. **87**(9): p. 4895-4906.
57. Yang, K., F. Homa, and J.D. Baines, *Putative terminase subunits of herpes simplex virus 1 form a complex in the cytoplasm and interact with portal protein in the nucleus*. Journal of virology, 2007. **81**(12): p. 6419-33.
58. Gable, J.E., T.M. Acker, and C.S. Craik, *Current and Potential Treatments for Ubiquitous but Neglected Herpesvirus Infections*. Chemical Reviews, 2014. **114**(22): p. 11382-11412.
59. Tandon, R., E. Mocarski, and J. Conway, *The A, B, Cs of Herpesvirus Capsids*. Viruses, 2015. **7**(3): p. 899.
60. Baines, J.D., *Herpes simplex virus capsid assembly and DNA packaging: a present and future antiviral drug target*. Trends in Microbiology, 2011. **19**(12): p. 606-613.
61. Tandon, R. and E.S. Mocarski, *Viral and host control of cytomegalovirus maturation*. Trends Microbiol, 2012. **20**(8): p. 392-401.
62. Johnson, D.C. and J.D. Baines, *Herpesviruses remodel host membranes for virus egress*. Nature Reviews Microbiology, 2011. **9**(5): p. 382-394.
63. Lee, C.-P. and M.-R. Chen, *Escape of herpesviruses from the nucleus*. Reviews in Medical Virology, 2010. **20**(4): p. 214-230.
64. Henaff, D., K. Radtke, and R. Lippé, *Herpesviruses Exploit Several Host Compartments for Envelopment*. Traffic, 2012. **13**(11): p. 1443-1449.
65. Grinde, B., *Herpesviruses: latency and reactivation - viral strategies and host response*. Journal of Oral Microbiology, 2013. **5**: p. 22766/1-22766/9.
66. Grey, F., *Role of microRNAs in herpesvirus latency and persistence*. Journal of General Virology, 2015. **96**(4): p. 739-751.
67. Frappier, L., *Regulation of Herpesvirus Reactivation by Host MicroRNAs*. Journal of Virology, 2015. **89**(5): p. 2456-2458.
68. Minarovits, J., E. Gonczol, and T. Valyi-Nagy, *Latency Strategies of Herpesviruses*. 2006: Springer US.
69. Samandary, S., et al., *Associations of HLA-A, HLA-B and HLA-C alleles frequency with prevalence of herpes simplex virus infections and diseases across global populations: Implication for the development of an universal CD8+ T-cell epitope-based vaccine*. Human Immunology, 2014. **75**(8): p. 715-729.
70. Cannon, M.J., *Congenital cytomegalovirus (CMV) epidemiology and awareness*. Journal of Clinical Virology, 2009. **46**, **Supplement 4**: p. S6-S10.

71. Balfour, H.H., et al., *Age-Specific Prevalence of Epstein–Barr Virus Infection Among Individuals Aged 6–19 Years in the United States and Factors Affecting Its Acquisition*. *Journal of Infectious Diseases*, 2013. **208**(8): p. 1286-1293.
72. Sanghavi, S.K., D.T. Rowe, and C.R. Rinaldo. *Cytomegalovirus, Varicella-Zoster virus, and Epstein-Barr virus*. 2009. American Society for Microbiology.
73. Yawn, B.P. and D. Gildeen, *The global epidemiology of herpes zoster*. *Neurology*, 2013. **81**(10): p. 928-30.
74. Stoopler, E.T. and M.S. Greenberg, *Update on herpesvirus infections*. *Dent Clin North Am*, 2003. **47**(3): p. 517-32.
75. Fan, F., et al., *Laboratory diagnosis of HSV and varicella zoster virus infections*. *Future Virology*, 2014. **9**(8): p. 721-731.
76. Van Wagoner, N. and E. Hook, III, *Herpes Diagnostic Tests and Their Use*. *Current Infectious Disease Reports*, 2012. **14**(2): p. 175-184.
77. Agut, H., *Infections aiguës à herpèsvirus humain 6 (HHV-6) : quand et comment traiter ?* *Pathologie Biologie*, 2011. **59**(2): p. 108-112.
78. Csire, M. and G. Mikala. *Human herpesviruses in hematologic diseases*. 2012. InTech.
79. Prusoff, W.H., *Synthesis and biological activities of iododeoxyuridine, an analog of thymidine*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1959. **32**: p. 295-296.
80. Vere Hodge, R.A., *Meeting report: 26th International Conference on Antiviral Research*. *Antiviral Research*, 2013. **100**(1): p. 276-285.
81. Hodge, R.A.V. and H.J. Field, *Antiviral agents for herpes simplex virus*. *Advances Pharmacol. (San Diego, CA, U. S.)*, 2013. **67**(Antiviral Agents): p. 1-38.
82. Cheng, Y.-C., *William H. Prusoff (1920–2011): Father of Antiviral Chemotherapy*. *PLoS Biol*, 2011. **9**(11): p. e1001190.
83. Schinazi, R.F., *William H Prusoff dies at 90 - a renaissance man that revolutionized the treatment of herpesviruses and HIV*. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 2011. **21**(6): p. 219-220.
84. Skoreński, M. and M. Sieńczyk, *Anti-herpesvirus agents: a patent and literature review (2003 to present)*. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2014. **24**(8): p. 925-941.
85. James, S.H. and M.N. Prichard, *Current and future therapies for herpes simplex virus infections: mechanism of action and drug resistance*. *Current Opinion in Virology*, 2014. **8**(0): p. 54-61.
86. Vadlapudi, A.D., R.K. Vadlapatla, and A.K. Mitra, *Update on emerging antivirals for the management of herpes simplex virus infections: a patenting perspective*. *Recent Pat. Anti-Infect. Drug Discovery*, 2013. **8**(1): p. 55-67.
87. Elion, G.B., et al., *Selectivity of action of an antiherpetic agent, 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1977. **74**(12): p. 5716-5720.

88. Heidelberger, C., D.G. Parsons, and D.C. Remy, *Syntheses of 5-trifluoromethyluracil and 5-trifluoromethyl-2'-deoxyuridine*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1964. **7**: p. 1-5.
89. Crumpacker, C.S., et al., *Growth Inhibition by Acycloguanosine of Herpesviruses Isolated from Human Infections*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1979. **15**(5): p. 642-645.
90. Elion, G.B., *The purine path to chemotherapy*. *Science (Washington, D. C., 1883-)*, 1989. **244**(4900): p. 41-7.
91. Whitley, R.J. and J.W. Gnann, *Acyclovir: A Decade Later*. *New England Journal of Medicine*, 1992. **327**(11): p. 782-789.
92. Hirsch, M.S. and R.T. Schooley, *Treatment of Herpesvirus Infections*. *New England Journal of Medicine*, 1983. **309**(17): p. 1034-1039.
93. Clercq, E.D., *Chapter 1 Looking Back in 2009 at the Dawning of Antiviral Therapy Now 50 Years Ago: An Historical Perspective*, in *Advances in Virus Research*. 2009, Academic Press. p. 1-53.
94. Elion, G.B., *Acyclovir: Discovery, mechanism of action, and selectivity*. *Journal of Medical Virology*, 1993. **41**(S1): p. 2-6.
95. De Clercq, E., *Antiviral drugs in current clinical use*. *Journal of Clinical Virology*, 2004. **30**(2): p. 115-133.
96. Brunton, L., et al., *Goodman and Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics*. 2007: McGraw-Hill Education.
97. De Clercq, E., *Strategies in the design of antiviral drugs*. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2002. **1**(1): p. 13-25.
98. Balfour, H.H., *Antiviral Drugs*. *New England Journal of Medicine*, 1999. **340**(16): p. 1255-1268.
99. Coen, D.M., *Antiherpesviral DNA Polymerase Inhibitors*, in *Antiviral Research*. 2009, American Society of Microbiology.
100. De Clercq, E. and H.J. Field, *Antiviral prodrugs – the development of successful prodrug strategies for antiviral chemotherapy*. *British Journal of Pharmacology*, 2006. **147**(1): p. 1-11.
101. Razonable, R.R., *Antiviral Drugs for Viruses Other Than Human Immunodeficiency Virus*. *Mayo Clinic Proceedings*, 2011. **86**(10): p. 1009-1026.
102. De Clercq, E., *Selective Anti-Herpesvirus Agents*. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 2013. **23**(3): p. 93-101.
103. Evans, C.M., G. Kudesia, and M. McKendrick, *Management of herpesvirus infections*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2013. **42**(2): p. 119-128.
104. Crumpacker, C.S., *Ganciclovir*. *New England Journal of Medicine*, 1996. **335**(10): p. 721-729.

105. Hamzeh, F.M. and P.S. Lietman, *Intranuclear accumulation of subgenomic noninfectious human cytomegalovirus DNA in infected cells in the presence of ganciclovir*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1991. **35**(9): p. 1818-1823.
106. Freeman, S. and J. Gardiner, *Acyclic nucleosides as antiviral compounds*. *Molecular Biotechnology*, 1996. **5**(2): p. 125-137.
107. Komatsu, T.E., et al., *Resistance of human cytomegalovirus to ganciclovir/valganciclovir: A comprehensive review of putative resistance pathways*. *Antiviral Research*, 2014. **101**(0): p. 12-25.
108. Tyring, S.K., et al., *Valomaciclovir versus valacyclovir for the treatment of acute herpes zoster in immunocompetent adults: A randomized, double-blind, active-controlled trial*. *Journal of Medical Virology*, 2012. **84**(8): p. 1224-1232.
109. Biron, K.K., *Antiviral drugs for cytomegalovirus diseases*. *Antiviral Research*, 2006. **71**(2-3): p. 154-163.
110. Field, H.J. and R.A. Vere Hodge, *Recent developments in anti-herpesvirus drugs*. *British Medical Bulletin*, 2013. **106**(1): p. 213-249.
111. Loregian, A., et al., *Separation methods for acyclovir and related antiviral compounds*. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 2001. **764**(1-2): p. 289-311.
112. Bacon, T.H., et al., *Herpes Simplex Virus Resistance to Acyclovir and Penciclovir after Two Decades of Antiviral Therapy*. *Clinical Microbiology Reviews*, 2003. **16**(1): p. 114-128.
113. Piret, J. and G. Boivin, *Resistance of Herpes Simplex Viruses to Nucleoside Analogues: Mechanisms, Prevalence, and Management*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011. **55**(2): p. 459-472.
114. Kaufman, H., E.L. Martola, and Dohlman, *Use of 5-iodo-2'-deoxyuridine (IDU) in treatment of herpes simplex keratitis*. *Archives of Ophthalmology*, 1962. **68**: p. 235-239.
115. De Clercq, E., *Antiviral drugs: current state of the art*. *Journal of Clinical Virology*, 2001. **22**(1): p. 73-89.
116. Clercq, E.D., *Discovery and development of BVDU (brivudin) as a therapeutic for the treatment of herpes zoster*. *Biochemical Pharmacology*, 2004. **68**(12): p. 2301-2315.
117. De Clercq, E., et al., *(E)-5-(2-Bromovinyl)-2'-deoxyuridine: a potent and selective anti-herpes agent*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1979. **76**(6): p. 2947-2951.
118. De Clercq, E., *Antiviral Drug Development – Success and Failure: A Personal Perspective with a Japanese Connection*. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 2013. **23**(2): p. 45-55.
119. De Clercq, E., *A 40-Year Journey in Search of Selective Antiviral Chemotherapy**. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2011. **51**(1): p. 1-24.
120. Clercq, E.D., *(E)-5-(2-bromovinyl)-2'-deoxyuridine (BVDU)*. *Medicinal Research Reviews*, 2005. **25**(1): p. 1-20.

121. Allaudeen, H.S., et al., *On the mechanism of selective inhibition of herpesvirus replication by (E)-5-(2-bromovinyl)-2'-deoxyuridine*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1981. **78**(5): p. 2698-2702.
122. Abdel-Haq, N., et al., *New antiviral agents*. Indian Journal of Pediatrics, 2006. **73**(4): p. 313-21.
123. De Clercq, E., *Another ten stories in antiviral drug discovery (part C): "Old" and "new" antivirals, strategies, and perspectives*. Medicinal Research Reviews, 2009. **29**(4): p. 611-645.
124. De Clercq, E., *Antiviral drug discovery and development: Where chemistry meets with biomedicine*. Antiviral Research, 2005. **67**(2): p. 56-75.
125. Öberg, B., *Antiviral effects of phosphonoformate (pfa, foscarnet sodium)*. Pharmacology & Therapeutics, 1989. **40**(2): p. 213-285.
126. Crumpacker, C.S., *Mechanism of action of foscarnet against viral polymerases*. The American Journal of Medicine, 1992. **92**(2A): p. 3S-7S.
127. Martin, M., et al., *Opposite effect of two cytomegalovirus DNA polymerase mutations on replicative capacity and polymerase activity*. Antiviral Therapy, 2010. **15**(4): p. 487-494.
128. Maudgal, P.C., E.D. Clercq, and L. Missotten, *Efficacy of bromovinyldeoxyuridine in the treatment of herpes simplex virus and varicella-zoster virus eye infections*. Antiviral Research, 1984. **4**(5): p. 281-291.
129. Piret, J. and G. Boivin, *Antiviral drug resistance in herpesviruses other than cytomegalovirus*. Reviews in Medical Virology, 2014. **24**(3): p. 186-218.
130. Katz, D.H., et al., *n-Docosanol: Broad Spectrum Anti-Viral Activity against Lipid-enveloped Viruses*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1994. **724**(1): p. 472-488.
131. Leung, D.T. and S.L. Sacks, *Docosanol: a topical antiviral for herpes labialis*. Expert Opinion on Pharmacotherapy, 2004. **5**(12): p. 2567-2571.
132. Pope, L.E., et al., *The anti-herpes simplex virus activity of n-docosanol includes inhibition of the viral entry process*. Antiviral Research, 1998. **40**(1-2): p. 85-94.
133. Treister, N.S. and S.-B. Woo, *Topical n-docosanol for management of recurrent herpes labialis*. Expert Opinion on Pharmacotherapy, 2010. **11**(5): p. 853-860.
134. Roush, W., *Antisense Aims for a Renaissance*. Science, 1997. **276**(5316): p. 1192-1193.
135. Geary, R.S., S.P. Henry, and L.R. Grillone, *Fomivirsen: Clinical pharmacology and potential drug interactions*. Clin. Pharmacokinet., 2002. **41**(4): p. 255-260.
136. James, S.H., et al., *Helicase-Primase as a Target of New Therapies for Herpes Simplex Virus Infections*. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2015. **97**(1): p. 66-78.

137. Just, J., et al., *Identification of an unstable 4-hydroxynoneal modification on the 20S proteasome subunit $\alpha 7$ by recombinant antibody technology*. Free Radical Biology and Medicine, 2015. **89**: p. 786-792.
138. Price, N.B. and M.N. Prichard, *Progress in the development of new therapies for herpesvirus infections*. Current Opinion in Virology, 2011. **1**(6): p. 548-554.
139. Hostetler, K.Y., *Alkoxyalkyl prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates enhance oral antiviral activity and reduce toxicity: Current state of the art*. Antiviral Research, 2009. **82**(2): p. A84-A98.
140. Lowe, D.M., et al., *Mode of action of (R)-9-[4-hydroxy-2-(hydroxymethyl)butyl]guanine against herpesviruses*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1995. **39**(8): p. 1802-1808.
141. Abele, G., et al., *Inhibiting effect of (RS)-9-[4-hydroxy-2-(hydroxymethyl)butyl]guanine on varicella-zoster virus replication in cell culture*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1987. **31**(1): p. 76-80.
142. Akesson-Johansson, A., et al., *Inhibition of human herpesvirus 6 replication by 9-[4-hydroxy-2-(hydroxymethyl)butyl]guanine (2HM-HBG) and other antiviral compounds*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1990. **34**(12): p. 2417-2419.
143. Rybak, R.J., et al., *Effective treatment of murine cytomegalovirus infections with methylenecyclopropane analogues of nucleosides*. Antiviral Research, 1999. **43**(3): p. 175-188.
144. Zhou, S., et al., *Synthesis and Antiviral Activity of (Z)- and (E)-2,2-[Bis(hydroxymethyl)cyclopropylidene]methylpurines and -pyrimidines: Second-Generation Methylenecyclopropane Analogues of Nucleosides*. Journal of Medicinal Chemistry, 2004. **47**(3): p. 566-575.
145. Prichard, M.N. and E.R. Kern, *The search for new therapies for human cytomegalovirus infections*. Virus Research, 2011. **157**(2): p. 212-221.
146. Clercq, E.D., *Highlights in Antiviral Drug Research: Antivirals at the Horizon*. Medicinal Research Reviews, 2013. **33**(6): p. 1215-1248.
147. De Clercq, E., *A Cutting-Edge View on the Current State of Antiviral Drug Development*. Medicinal Research Reviews, 2013. **33**(6): p. 1249-1277.
148. Rybak, R.J., et al., *In Vitro Activities of Methylenecyclopropane Analogues of Nucleosides and Their Phosphoralaninate Prodrugs against Cytomegalovirus and Other Herpesvirus Infections*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2000. **44**(6): p. 1506-1511.
149. Kern, E.R., et al., *Oral activity of a methylenecyclopropane analog, cyclopropavir, in animal models for cytomegalovirus infections*. Antimicrob Agents Chemother, 2004. **48**(12): p. 4745-53.
150. Kushner, N.L., et al., *Efficacy of Methylenecyclopropane Analogs of Nucleosides Against Herpesvirus Replication In Vitro*. Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, 2003. **22**(12): p. 2105-2119.

151. Gentry, B.G., et al., *Stereoselective phosphorylation of cyclopropavir by pUL97 and competitive inhibition by maribavir*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2010. **54**(8): p. 3093-3098.
152. Mhaske, S.B., et al., *Phosphonate analogues of cyclopropavir phosphates and their E-isomers. Synthesis and antiviral activity*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2009. **17**(11): p. 3892-3899.
153. Fader, L., et al., *Naphthyridinone derivatives as inhibitors of cytomegalovirus DNA polymerase*, 2013, Boehringer Ingelheim International GmbH, Germany . p. 163pp.
154. Biron, K.K., *Maribavir: A promising new antiherpes therapeutic agent*, in *New Concepts of Antiviral Therapy*, A. Holzenburg and E. Bogner, Editors. 2006, Springer US. p. 309-336.
155. Wolf, D.G., et al., *Distinct and separate roles for herpesvirus-conserved UL97 kinase in cytomegalovirus DNA synthesis and encapsidation*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001. **98**(4): p. 1895-1900.
156. Krosky, P.M., M.-C. Baek, and D.M. Coen, *The human cytomegalovirus UL97 protein kinase, an antiviral drug target, is required at the stage of nuclear egress*. *Journal of Virology*, 2003. **77**(2): p. 905-914.
157. Biron, K.K., et al., *Potent and Selective Inhibition of Human Cytomegalovirus Replication by 1263W94, a Benzimidazole I-Riboside with a Unique Mode of Action*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002. **46**(8): p. 2365-2372.
158. Prichard, M.N., *Function of human cytomegalovirus UL97 kinase in viral infection and its inhibition by maribavir*. *Reviews in Medical Virology*, 2009. **19**(4): p. 215-29.
159. Chacko, B. and G.T. John, *Leflunomide for cytomegalovirus: bench to bedside*. *Transplant Infectious Disease*, 2012. **14**(2): p. 111-120.
160. Waldman, W.J., et al., *Inhibition of Cytomegalovirus in vitro and in vivo by the Experimental Immunosuppressive Agent Leflunomide*. *Intervirology*, 1999. **42**(5-6): p. 412-418.
161. Knight, D.A., et al., *Inhibition of herpes simplex virus type 1 by the experimental immunosuppressive agent Leflunomide 1*. *Transplantation*, 2001. **71**(1).
162. Marnett, A.B., et al., *Communication between the active sites and dimer interface of a herpesvirus protease revealed by a transition-state inhibitor*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004. **101**(18): p. 6870-5.
163. Nomura, A.M., et al., *One Functional Switch Mediates Reversible and Irreversible Inactivation of a Herpesvirus Protease*. *Biochemistry*, 2006. **45**(11): p. 3572-3579.
164. Lazic, A., et al., *Substrate modulation of enzyme activity in the herpesvirus protease family*. *Journal of molecular biology*, 2007. **373**(4): p. 913-23.
165. Kleymann, G., et al., *New helicase-primase inhibitors as drug candidates for the treatment of herpes simplex disease*. *Nature medicine*, 2002. **8**(4): p. 392-8.

166. Crute, J.J., et al., *Herpes simplex virus helicase-primase inhibitors are active in animal models of human disease*. Nature Medicine, 2002. **8**(4): p. 386-391.
167. Chono, K., et al., *ASP2151, a novel helicase-primase inhibitor, possesses antiviral activity against varicella-zoster virus and herpes simplex virus types 1 and 2*. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2010. **65**(8): p. 1733-41.
168. Tyring, S., et al., *ASP2151 for the treatment of genital herpes: a randomized, double-blind, placebo- and valacyclovir-controlled, dose-finding study*. The Journal of Infectious Diseases, 2012. **205**(7): p. 1100-10.
169. Goldner, T., H. Zimmermann, and P. Lischka, *Phenotypic characterization of two naturally occurring human Cytomegalovirus sequence polymorphisms located in a distinct region of ORF UL56 known to be involved in in vitro resistance to letermovir*. Antiviral Research, 2015. **116**: p. 48-50.
170. Goldner, T., et al., *The Novel Anticytomegalovirus Compound AIC246 (Letermovir) Inhibits Human Cytomegalovirus Replication through a Specific Antiviral Mechanism That Involves the Viral Terminase*. Journal of Virology, 2011. **85**(20): p. 10884-10893.
171. Marschall, M., et al., *In Vitro Evaluation of the Activities of the Novel Anticytomegalovirus Compound AIC246 (Letermovir) against Herpesviruses and Other Human Pathogenic Viruses*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2012. **56**(2): p. 1135-1137.
172. Kaul, D.R., et al., *First report of successful treatment of multidrug-resistant cytomegalovirus disease with the novel anti-CMV compound AIC246*. American Journal of Transplantation, 2011. **11**(5): p. 1079-84.
173. Reefschaeger, J., et al., *Novel non-nucleoside inhibitors of cytomegaloviruses (BAY 38-4766): in vitro and in vivo antiviral activity and mechanism of action*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2001. **48**(6): p. 757-767.
174. Bresnahan, W.A., et al., *Inhibition of cellular Cdk2 activity blocks human cytomegalovirus replication*. Virology, 1997. **231**(2): p. 239-47.
175. Bevec, D., et al., *Cellular kinases involved in cytomegalovirus infection and their inhibition*, 2002, Google Patents.
176. Proesch, S., H.D. Volk, and D. Krueger, *Proteaseome inhibitors for the treatment of herpesviridae infected individuals*, 2004, Google Patents.
177. Visalli, R.J., et al., *Identification of small molecule compounds that selectively inhibit varicella-zoster virus replication*. Journal of virology, 2003. **77**(4): p. 2349-58.
178. Bloom, J.D., et al., *Thiourea inhibitors of herpes viruses. Part 2: N-Benzyl-N'-arylthiourea inhibitors of CMV*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2004. **14**(13): p. 3401-3406.
179. Borrmann, T., et al., *Structure-Activity Relationships of Adenine and Deazaadenine Derivatives as Ligands for Adenine Receptors, a New Purinergic Receptor Family*. Journal of Medicinal Chemistry, 2009. **52**(19): p. 5974-5989.
180. Nomura, A.M., et al., *One functional switch mediates reversible and irreversible inactivation of a herpesvirus protease*. Biochemistry, 2006. **45**(11): p. 3572-9.

181. De Castro, S., et al., *4-Benzoyloxy- γ -Sultone Derivatives: Discovery of a Novel Family of Non-Nucleoside Inhibitors of Human Cytomegalovirus and Varicella Zoster Virus*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2009. **52**(6): p. 1582-1591.
182. Wunberg, T., et al., *Substituted quinazolines as antiviral agents, especially against cytomegaloviruses*, 2006, Google Patents.
183. Watson, J.D. and F.H. Crick, *Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid*. *Nature*, 1953. **171**(4356): p. 737-8.
184. Merino, P. and Editor, *Chemical Synthesis of Nucleoside Analogues*. 2013: John Wiley & Sons, Inc. 895 pp.
185. Keating, G., *Ledipasvir/Sofosbuvir: A Review of Its Use in Chronic Hepatitis C*. *Drugs*, 2015. **75**(6): p. 675-685.
186. Horwitz, J.P., J. Chua, and M. Noel, *Nucleosides. V. The Monomesylates of 1-(2'-Deoxy- β -D-lyxofuranosyl)thymine 1,2*. *The Journal of Organic Chemistry*, 1964. **29**(7): p. 2076-2078.
187. Yokoyama, M. and A. Momotake, *Synthesis and biological activity of aza nucleosides*. *Synthesis*, 1999(9): p. 1541-1554.
188. Yokoyama, M., *The Properties of 4'-Thionucleosides*, in *Modified Nucleosides*. 2008, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. p. 173-221.
189. Romeo, G., et al., *Chemical Synthesis of Heterocyclic-Sugar Nucleoside Analogues*. *Chemical Reviews*, 2010. **110**(6): p. 3337-3370.
190. Zhu, X.-F., *The Latest Progress in the Synthesis of Carbocyclic Nucleosides*. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 2000. **19**(3): p. 651-690.
191. Du, J., et al., *Use of 2'-Spirocyclic Ethers in HCV Nucleoside Design*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014. **57**(5): p. 1826-1835.
192. Shaban, M.A.E. and A.Z. Nasr, *The Chemistry of C-Nucleosides and Their Analogs I: C-Nucleosides of Hetero Monocyclic Bases*, in *Advances in Heterocyclic Chemistry*, R.K. Alan, Editor. 1997, Academic Press. p. 223-432.
193. Maougal, E., et al., *Synthesis of Conformationally Constrained Nucleoside Analogues*, in *Chemical Synthesis of Nucleoside Analogues*. 2013, John Wiley & Sons, Inc. p. 345-426.
194. Mieczkowski, A. and L.A. Agrofoglio, *Potential and perspectives of cyclonucleosides*. *Current Medicinal Chemistry*, 2010. **17**(15): p. 1527-1549.
195. Mieczkowski, A., V. Roy, and L.A. Agrofoglio, *Preparation of Cyclonucleosides*. *Chemical Reviews*, 2010. **110**(4): p. 1828-1856.
196. Len, C., M. Mondon, and J. Lebreton, *Synthesis of cyclonucleosides having a C-C bridge*. *Tetrahedron*, 2008. **64**(32): p. 7453-7475.
197. Yoshimura, Y. and H. Takahata, *Recent Advances in Cyclonucleosides: C-Cyclonucleosides and Spore Photoproducts in Damaged DNA*. *Molecules*, 2012. **17**(10): p. 11630.

198. Clark, V.M., A.R. Todd, and J. Zussman, 655. *Nucleotides. Part VIII. cycloNucleoside salts. A novel rearrangement of some toluene-p-sulphonylnucleosides.* Journal of the Chemical Society (Resumed), 1951(0): p. 2952-2958.
199. Ikehara, M., *Purine 8-cyclonucleosides.* Accounts of Chemical Research, 1969. **2**(2): p. 47-53.
200. Capon, R.J. and N.S. Trotter, *N3,5'-Cycloxanthosine, the First Natural Occurrence of a Cyclonucleoside.* Journal of Natural Products, 2005. **68**(11): p. 1689-1691.
201. Hoshi, A., F. Kanzawa, and K. Kuretani, *Antitumor activity of cyclocytidine in a variety of tumors.* Gann, 1972. **63**(3): p. 353-60.
202. Nakahara, W. and R. Tokuzen, *Effect of 2,2'-O-cyclocytidine on transplanted lymphocytic sarcoma and reticulum cell sarcoma in mice.* Gann, 1972. **63**(3): p. 379-81.
203. Palczewski, K., N. Kahn, and P.A. Hargrave, *Nucleoside inhibitors of rhodopsin kinase.* Biochemistry, 1990. **29**(26): p. 6276-82.
204. Hampton, A., P.J. Harper, and T. Sasaki, *Substrate properties of cycloadenosines with adenosine aminohydrolase as evidence for the conformation of enzyme-bound adenosine.* Biochemistry, 1972. **11**(25): p. 4736-9.
205. Ikehara, M. and T. Fukui, *Nucleosides and nucleotides. LVIII. Deamination of adenosine analogs with calf intestine adenosine deaminase.* Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj., 1974. **338**(2): p. 512-19.
206. Ikehara, M., et al., *Synthesis of Purine Cyclonucleoside Having a 8,2'-O-Anhydro Linkage.* Journal of the American Chemical Society, 1966. **88**(13): p. 3165-3167.
207. Reist, E.J., et al., *Potential Anticancer Agents. 1LI. Synthesis of 2-Amino-9-(5'-deoxy- β -D-ribofuranosyl)-9-H-purine-6-thiol.* The Journal of Organic Chemistry, 1961. **26**(5): p. 1557-1562.
208. Ikehara, M. and M. Kaneko, *Synthesis of Purine Cyclonucleoside having 8, 3'-O-Anhydro Linkage.* Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1967. **15**(8): p. 1261-1262.
209. Ikehara, M. and K. Muneyama, *Nucleosides and nucleotides. XXXIV. Purine cyclonucleosides. 4. Synthesis of a cyclonucleoside having an O-cyclo linkage derived from guanosine.* The Journal of Organic Chemistry, 1967. **32**(10): p. 3039-3042.
210. Ikehara, M. and M. Kaneko, *Studies of Nucleosides and Nucleotides. XLII. Purine Cyclonucleosides. (9). Synthesis of Adenine Cyclonucleosides having 8, 2'-and 8, 3'-O-Anhydro Linkages.* Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1970. **18**(12): p. 2401-2406.
211. Ikehara, M. and S. Uesugi, *Studies of nucleosides and nucleotides— LIII.* Tetrahedron, 1972. **28**(14): p. 3687-3694.
212. Khwaja, T.A., R. Harris, and R.K. Robins, *Synthesis of 9- β -D-arabinofuranosyladenine-3',5'-cyclic phosphate from adenosine-3',5'-cyclic phosphate.* Tetrahedron Letters, 1972. **13**(46): p. 4681-4684.

213. Mian, A.M., et al., *Synthesis and biological activity of 9-β-D-arabinofuranosyladenine cyclic 3',5'-phosphate and 9-β-D-arabinofuranosylguanine cyclic 3',5'-phosphate*. Journal of Medicinal Chemistry, 1974. **17**(3): p. 259-263.
214. Wagner, D., J.P.H. Verheyden, and J.G. Moffatt, *Preparation and Synthetic Utility of Some Organotin Derivatives of nucleosides*. The Journal of Organic Chemistry, 1974. **39**(1): p. 24-30.
215. Ikehara, M. and T. Maruyama, *Studies of nucleosides and nucleotides—LXV : Purine cyclonucleosides-26 a versatile method for the synthesis of purine O-cyclonucleosides. The first synthesis of 8,2'-anhydro-8-oxy 9-β-d-arabinofuranosylguanine*. Tetrahedron, 1975. **31**(11–12): p. 1369-1372.
216. Ikehara, M. and M. Muraoka, *Studies of Nucleosides and Nucleotides. LXVIII. Purine Cyclonucleosides. (29). Synthesis and Properties of O-Cyclonucleosides derived from Hypoxanthine, Mercaptopurine, Methylmercaptopyrimidine and Purine*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1976. **24**(4): p. 672-682.
217. Ikehara, M., H. Miki, and A. Hasegawa, *Studies of Nucleosides and Nucleotides. LXXXIV. Purine Cyclonucleosides. XL. Cyclonucleosides derived from 5'-Deoxyadenosine*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1979. **27**(11): p. 2647-2652.
218. Muraoka, M., J. Iwahara, and M. Kaneko, *Synthesis of 2, 6-Diamino-9-β;-D-arabinofuranosylpurine via Cyclonucleoside*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1986. **34**(6): p. 2609-2613.
219. Ikehara, M. and M. Kaneko, *Studies of nucleosides and nucleotides—XLI : Purine cyclonucleosides—8 selective sulfonylation of 8-bromoadenosine derivatives and an alternate synthesis of 8,2'- and 8,3'-S-cyclonucleosides*. Tetrahedron, 1970. **26**(18): p. 4251-4259.
220. Ikehara, M. and S. Uesugi, *Selective tosylation of adenosine 5'-monophosphate*. Tetrahedron Letters, 1970. **11**(10): p. 713-716.
221. Ueda, T., Y. Nomoto, and A. Matsuda, *Synthesis of 8-Alkyladenosines, 8, 2'-Anhydro-8-hydroxymethyl-9-(β;-D-arabinofuranosyl) adenine and Related Compounds (Nucleosides and Nucleotides. LVIII)*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1985. **33**(8): p. 3263-3270.
222. Urata, H., et al., *Synthesis and hybridization properties of I-oligodeoxynucleotide analogues fixed in a low anti glycosyl conformation*. Organic & Biomolecular Chemistry, 2004. **2**(2): p. 183-189.
223. Urata, H., et al., *Racemic synthesis of carbocyclic purine nucleoside analogues with restricted glycosyl conformation*. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1, 1999(13): p. 1833-1838.
224. Ikehara, M. and M. Kaneko, *A novel method for the synthesis of cyclonucleosides. Synthesis of 8,5'-O-anhydro-8-oxyadenosine*. Journal of the American Chemical Society, 1968. **90**(2): p. 497-498.
225. Nagpal, K.L. and M.M. Dhar, *The use of a purine cyclonucleoside for the synthesis of a dinucleoside phosphate*. Tetrahedron Letters, 1968. **9**(1): p. 47-49.

226. Srivastava, P.C., K.L. Nagpal, and M.M. Dhar, *Synthesis of purine cyclonucleosides*. Indian Journal of Chemistry, 1969. **7**(1): p. 1-2.
227. Butora, G., et al., *The elusive 8-fluoroadenosine: a simple non-enzymatic synthesis and characterization*. Tetrahedron, 2007. **63**(18): p. 3782-3789.
228. Naka, T. and M. Honjo, *Synthesis of 8-Carbamoyl- and 8-Carboxyadenosine 3', 5'-Cyclic Phosphates*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1976. **24**(9): p. 2052-2056.
229. Yu, M., et al., *Copper-Catalyzed Intramolecular Alkoxylation of Purine Nucleosides: One-Step Synthesis of 5'-O,8-Cyclopurine Nucleosides*. The Journal of Organic Chemistry, 2015. **80**(19): p. 9446-9453.
230. Amiable, C. and S. Pochet, *Unprecedented formation of 8(R),5'-O-cycloribonucleosides through a triflation reaction of purine ribonucleosides*. Tetrahedron, 2015. **71**(17): p. 2525-2529.
231. Schroeder, W. and H. Hoeksema, *A New Antibiotic, 6-amino-9-D-psicofuranosylpurine*. Journal of the American Chemical Society, 1959. **81**(7): p. 1767-1768.
232. Zavgorodny, S.G., *A novel type of anhydronucleosides to model syn-conformers of natural nucleosides*. Tetrahedron Letters, 1981. **22**(31): p. 3003-3006.
233. Ikehara, M., M. Kaneko, and Y. Nakahara, *Synthesis and properties of an α -cyclonucleoside*. Tetrahedron Letters, 1968. **9**(45): p. 4707-4710.
234. Zou, R., J.C. Drach, and L.B. Townsend, *Design, Synthesis, and Antiviral Evaluation of 2-Chloro-5,6-dihalo-1- β -D-ribofuranosylbenzimidazoles as Potential Agents for Human Cytomegalovirus Infections*. Journal of Medicinal Chemistry, 1997. **40**(5): p. 811-818.
235. Ikehara, M. and H. Tada, *Studies of Nucleosides and Nucleotides. XXIV.1 Purine Cyclonucleosides. I. 8,2'-Cyclonucleoside Derived from 2-Chloro-8-mercapto-9- β -D-xylofuranosyladenine*. Journal of the American Chemical Society, 1965. **87**(3): p. 606-610.
236. Ikehara, M. and H. Tada, *A New Type of "Cyclonucleoside" Derived from 2-Chloro-8-mercapto-9- β -D-xylofuranosyladenine*. Journal of the American Chemical Society, 1963. **85**(15): p. 2344-2345.
237. Ikehara, M. and K. Muneyama, *Nucleosides and nucleotides. XXXVI. Purine cyclonucleosides. 6. Formation of 8,5'-S-cyclonucleoside from guanosine*. The Journal of Organic Chemistry, 1967. **32**(10): p. 3042-3044.
238. Ikehara, M. and H. Tada, *Studies of Nucleosides and Nucleotides. XXXII. Purine Cyclonucleosides. 3. Synthesis of 2'-Deoxy- and 3'-Deoxyadenosine from Adenosine*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1967. **15**(1): p. 94-100.
239. Yamazaki, A., et al., *Synthesis of 2'- and 3'-Deoxyinosines*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1973. **21**(5): p. 1143-1146.
240. Ikehara, M., M. Kaneko, and M. Sagai, *Synthesis of 8,5'-anhydro-8-mercaptoadenosine*. Chemical & pharmaceutical bulletin, 1968. **16**(6): p. 1151-3.

241. Nagpal, K.L., P.C. Srivastava, and M.M. Dhar, *Synthesis of 8,5'-anhydro-8-thioadenosine*. Indian Journal of Chemistry 1971. **9**(2): p. 183-4.
242. Ikehara, M., Y. Nakahara, and S. Yamada, *Studies of Nucleosides and Nucleotides. L. Purine Cyclonucleosides. (14). Synthesis and Properties of Cyclonucleosides derived from 9-D-Xylofuranosyladenine*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1971. **19**(3): p. 538-544.
243. Hampton, A., *Nucleotides. II.1 A New Procedure for the Conversion of Ribonucleosides to 2',3'-O-Isopropylidene Derivatives*. Journal of the American Chemical Society, 1961. **83**(17): p. 3640-3645.
244. Ogilvie, K.K., et al., *Synthesis of 8,2'-Thioanhydroguanosine*. Canadian Journal of Chemistry, 1972. **50**(7): p. 1100-1104.
245. Ikehara, M., T. Maruyama, and H. Miki, *Studies of nucleosides and nucleotides. LXXII. Purine cyclonucleosides. 33. A new method for the synthesis of 8,2'-S-cyclonucleosides*. Journal of carbohydrates, nucleosides, nucleotides, 1977. **4**(6): p. 409-13.
246. Kaneko, M., B. Shimizu, and M. Ikehara, *Synthesis and properties of 8,2'-N-cycloadenosines*. Tetrahedron Letters, 1971. **12**(33): p. 3113-3116.
247. Sasaki, T., K. Minamoto, and H. Itoh, *Convenient synthesis of some purine 8,5'-imino cyclonucleosides*. The Journal of Organic Chemistry, 1978. **43**(12): p. 2320-2325.
248. Sasaki, T., K. Minamoto, and H. Itoh, *Studies directed toward synthesis of guanosine 8,5'-imino cyclonucleosides and derivatives—I*. Tetrahedron, 1980. **36**(24): p. 3509-3515.
249. Sasaki, T., et al., *Long-bridge cyclonucleosides. 1. Synthesis and reactions of some purine 8,2'-(N.alpha.-methylhydrazino) and 8,2'-(N.alpha.-methyloxamido) cyclonucleosides*. The Journal of Organic Chemistry, 1981. **46**(25): p. 5176-5181.
250. Sasaki, T., et al., *Long-bridged cyclonucleosides. 2. A synthetic study aimed at cyclization between the C8 and C3', of some purine nucleosides using a methylhydrazo bridge*. The Journal of organic chemistry, 1982. **47**(23): p. 4465-70.
251. Divakar, K.J. and C.B. Reese, *The cyclization of 8-carboxamido-2[prime or minute]-O-tosyladenosine. A new preparation of 9-[small beta]-D-arabinofuranosyladenine (ara-A)*. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications, 1980(24): p. 1191-1193.
252. Zemlicka, J. and A. Holy, *Preparation of N-dimethylaminomethylene derivatives as a new method of a selective substitution of nucleoside amino groups*. Collection of Czechoslovak Chemical Communications, 1967. **32**(9): p. 3159-68.
253. Holy, A., *Studies on S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase. VIII. Preparation of isomeric 3-aminopropylamino derivatives of 9-(RS)-(2,3-dihydroxypropyl)adenine*. Collection of Czechoslovak Chemical Communications, 1983. **48**(7): p. 1910-21.
254. Clercq, E.D., et al., *Antiviral activity of phosphonylmethoxyalkyl derivatives of purine and pyrimidines*. Antiviral Research, 1987. **8**(5-6): p. 261-272.

255. Hocek, M., et al., *Synthesis and antiviral activity of acyclic nucleotide analogs derived from 6-(aminomethyl)purines and purine-6-carboxamidines*. Collection of Czechoslovak Chemical Communications, 1996. **61**(10): p. 1525-1537.
256. Janeba, Z., et al., *Intramolecular cyclization of some acyclic nucleoside analogs*. Collection of Czechoslovak Chemical Communications, 1996. **61**(3): p. 442-457.
257. Janeba, Z., A. Holy, and M. Masojdkova, *Synthesis of acyclic nucleoside and nucleotide analogs derived from 6-amino-7H-purin-8(9H)-one*. Collection of Czechoslovak Chemical Communications, 2000. **65**(7): p. 1126-1144.
258. Meszarosova, K., A. Holy, and M. Masojdkova, *Synthesis of acyclic adenine 8,N-anhydronucleosides*. Collection of Czechoslovak Chemical Communications, 2000. **65**(7): p. 1109-1125.
259. Janeba, Z., A. Holy, and M. Masojdkova, *Synthesis of 8-amino- and N-substituted 8-aminoadenine derivatives of acyclic nucleoside and nucleotide analogs*. Collection of Czechoslovak Chemical Communications, 2001. **66**(3): p. 517-532.
260. Jansa, P., et al., *A novel and efficient one-pot synthesis of symmetrical diamide (bis-amidate) prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates and evaluation of their biological activities*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2011. **46**(9): p. 3748-3754.
261. Reitz, A.B., et al., *Small-Molecule Immunostimulants. Synthesis and Activity of 7,8-Disubstituted Guanosines and Structurally Related Compounds*. Journal of Medicinal Chemistry, 1994. **37**(21): p. 3561-3578.
262. Matsuda, A., et al., *A new synthesis of 5'-deoxy-8,5'-cyclo-adenosine and -inosine: conformationally-fixed purine nucleosides (nucleosides and nucleotides. XVI)*. Nucleic Acids Research, 1976. **3**(12): p. 3349-3357.
263. Matsuda, A., M. Tezuka, and T. Ueda, *Photochemical cyclisation of 2',3'-O-isopropylidene-8-phenylthioadenosine to the 8,5'(R)- and 8,5'(S)-cycloadenosines (nucleosides and nucleotides-XVII)*. Tetrahedron, 1978. **34**(16): p. 2449-2452.
264. Romieu, A., et al., *Site-Specific Introduction of (5'S)-5',8-Cyclo-2'-deoxyadenosine into Oligodeoxyribonucleotides*. The Journal of Organic Chemistry, 1998. **63**(15): p. 5245-5249.
265. Brooks, P.J., et al., *The Oxidative DNA Lesion 8,5'-(S)-Cyclo-2'-deoxyadenosine Is Repaired by the Nucleotide Excision Repair Pathway and Blocks Gene Expression in Mammalian Cells*. Journal of Biological Chemistry, 2000. **275**(29): p. 22355-22362.
266. Usui, H., A. Matsuda, and T. Ueda, *Synthesis of 8, 2'-Methanoguanosine and 9-(alpha;-D-Arabinofuranosyl)-8, 2'-methanoguanine (Nucleosides and Nucleotides. LXVII.)*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1986. **34**(5): p. 1961-1967.
267. Usui, H. and T. Ueda, *Synthesis of 2'-Deoxy-8, 2'-ethanoadenosine and 3'-Deoxy-8, 3'-ethanoadenosine : Nucleosides and Nucleotides. LXIV*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1986. **34**(1): p. 15-23.
268. Matsuda, A. and T. Ueda, *Synthesis of 8, 6'-Cyclo-6'-deoxyhexofuranosyladenines : Adenosines Fixed in an Anti-conformation (Nucleosides and Nucleotides. LXVI)*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1986. **34**(4): p. 1573-1578.

269. Usui, H. and T. Ueda, *Synthesis of 8, 2'-Methano- and 8, 2'-Ethanoadenosines(Nucleosides and Nucleotides. LXV)*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1986. **34**(4): p. 1518-1523.
270. Manetto, A., et al., *Independent Generation of C5'-Nucleosidyl Radicals in Thymidine and 2'-Deoxyguanosine*. The Journal of Organic Chemistry, 2007. **72**(10): p. 3659-3666.
271. Jimenez, L.B., et al., *The photochemistry of 8-bromo-2-deoxyadenosine. A direct entry to cyclopurine lesions*. Photochemical & Photobiological Sciences, 2004. **3**(11-12): p. 1042-1046.
272. Chatgillaloglu, C., M. Guerra, and Q.G. Mulazzani, *Model Studies of DNA C5' Radicals. Selective Generation and Reactivity of 2'-Deoxyadenosin-5'-yl Radical*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(13): p. 3839-3848.
273. Flyunt, R., et al., *Fate of the 2'-Deoxyadenosin-5'-yl Radical under Anaerobic Conditions*. Journal of the American Chemical Society, 2000. **122**(17): p. 4225-4226.
274. Russo, M., et al., *Chemical Radiation Studies of 8-Bromo-2'-deoxyinosine and 8-Bromoinosine in Aqueous Solutions*. Chemistry – A European Journal, 2006. **12**(29): p. 7684-7693.
275. Boussicault, F., et al., *The Fate of C5' Radicals of Purine Nucleosides under Oxidative Conditions*. J. Am. Chem. Soc., 2008. **130**(26): p. 8377-8385.
276. Chatgillaloglu, C., et al., *(5'S)- and (5'R)-5',8-Cyclo-2'-deoxyguanosine: Mechanistic Insights on the 2'-Deoxyguanosin-5'-yl Radical Cyclization*. Chem. Res. Toxicol., 2007. **20**(12): p. 1820-1824.
277. Chatgillaloglu, C., et al., *Free Radicals in Chemical Biology: from Chemical Behavior to Biomarker Development*. 2013(74): p. e50379.
278. Perchyonok, V.T., *Black light induced radical cyclization approach to cyclonucleosides: an independent approach*. Letters in Organic Chemistry, 2011. **8**(5): p. 337-340.
279. Navacchia, M.L., et al., *Radical Cyclization Approach to Cyclonucleosides*. European Journal of Organic Chemistry, 2005. **2005**(21): p. 4640-4648.
280. Navacchia, M.L., C. Chatgillaloglu, and P.C. Montecchi, *C5'-adenosinyl radical cyclization. A stereochemical investigation*. The Journal of organic chemistry, 2006. **71**(12): p. 4445-52.
281. Terzidis, M.A. and C. Chatgillaloglu, *Radical Cascade Protocol for the Synthesis of (5'S)- and (5'R)-5',8-Cyclo-2'-deoxyguanosine Derivatives**. Australian Journal of Chemistry, 2013. **66**(3): p. 330-335.
282. Yueh, H., et al., *Synthesis and NMR Assignment of the Two Diastereomers of 8,6'-Cyclo-2',6'-Dideoxyadenosine*. Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, 2013. **32**(6): p. 320-332.
283. Magnin, G.C., et al., *Synthesis of a C-8 Modified Adenosine Analogue as a Potential Mechanistic Probe for Ribonucleotide Reductases*. Nucleosides and Nucleotides, 1999. **18**(4-5): p. 611-612.

284. Yoshioka, H., et al., *Preparation of cyclonucleosides and their use as virucides*, 1992, Sanyo Kokusaku Pulp K. K., Japan . p. 6 pp.
285. Ikeda, T. and M. Morozumi, *Preparation of 2'-deoxy- or 2',3'-dideoxypurine nucleosides from anhydromercaptoarabinofuranosylpurines*, 1990, Yamasa Shoyu Co., Ltd., Japan . p. 7 pp.
286. Holy, A., et al., *Studies on S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase. XVI. 9-(Aminoalkyl)-8-hydroxyadenines: preparation, mechanism of formation, and use in affinity chromatography of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase*. Collection of Czechoslovak Chemical Communications, 1986. **51**(2): p. 459-77.
287. Bang, E.-K., et al., *A Self-Complementary Nucleoside: Synthesis, Solid-State Structure, and Fluorescence Behavior*. Chemistry – An Asian Journal, 2011. **6**(8): p. 2048-2054.
288. Kannan, A. and C.J. Burrows, *Synthesis of N2-Alkyl-8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine Derivatives and Effects of These Modifications on RNA Duplex Stability*. The Journal of Organic Chemistry, 2011. **76**(2): p. 720-723.
289. Pautus, S., et al., *New 7-Methylguanine Derivatives Targeting the Influenza Polymerase PB2 Cap-Binding Domain*. Journal of Medicinal Chemistry, 2013. **56**(21): p. 8915-8930.
290. Lambertucci, C., et al., *8-Bromo-9-alkyl adenine derivatives as tools for developing new adenosine A2A and A2B receptors ligands*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2009. **17**(7): p. 2812-2822.
291. Limnios, D. and C.G. Kokotos, *2,2,2-Trifluoroacetophenone: An Organocatalyst for an Environmentally Friendly Epoxidation of Alkenes*. The Journal of Organic Chemistry, 2014. **79**(10): p. 4270-4276.
292. Cruickshank, P.A. and M. Fishman, *Studies in alkylation. II. Reactions of epoxyalkyl bromides*. The Journal of Organic Chemistry, 1969. **34**(12): p. 4060-4065.
293. Larsen, A.T., E.M. May, and K. Auclair, *Predictable Stereoselective and Chemoselective Hydroxylations and Epoxidations with P450 3A4*. Journal of the American Chemical Society, 2011. **133**(20): p. 7853-7858.
294. Hussain, H., I.R. Green, and I. Ahmed, *Journey Describing Applications of Oxone in Synthetic Chemistry*. Chemical Reviews, 2013. **113**(5): p. 3329-3371.
295. Padilla, F., et al., *Pyrrolopyrazines as Selective Spleen Tyrosine Kinase Inhibitors*. Journal of Medicinal Chemistry, 2013. **56**(4): p. 1677-1692.
296. Chu, X.-J., et al., *Pyrrolo[1,2-c]imidazolone derivatives as inhibitors of MDM2-p53 interactions and their preparation and use for the treatment of cancer*, 2012, USA . p. 43pp.
297. Zheng, Q.-H., et al., *Synthesis of 8-Methoxypenciclovir and 8-Methoxyganciclovir through Methyl Triflate, a New Potential Approach to Label Penciclovir and Ganciclovir with Carbon-11*. Synthesis, 2003. **2003**(18): p. 2785-2794.
298. Chatgililoglu, C., et al., *A problem solving approach for the diastereoselective synthesis of (5[prime or minute]S)- and (5[prime or minute]R)-5[prime or minute],8-cyclopurine lesions*. Organic Chemistry Frontiers, 2014. **1**(6): p. 698-702.

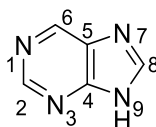
299. Chatgililoglu, C., C. Ferreri, and M.A. Terzidis, *Purine 5',8-cyclonucleoside lesions: chemistry and biology*. Chemical Society Reviews, 2011. **40**(3): p. 1368-1382.
300. Russo, M., et al., *Chemical radiation studies of 8-bromo-2'-deoxyinosine and 8-bromoinosine in aqueous solutions*. Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany), 2006. **12**(29): p. 7684-93.
301. Boussicault, F., et al., *The Fate of C5' Radicals of Purine Nucleosides under Oxidative Conditions*. Journal of the American Chemical Society, 2008. **130**(26): p. 8377-8385.
302. Chatgililoglu, C., et al., *(5'S)- and (5'R)-5',8-Cyclo-2'-deoxyguanosine: Mechanistic Insights on the 2'-Deoxyguanosin-5'-yl Radical Cyclization*. Chemical Research in Toxicology, 2007. **20**(12): p. 1820-1824.
303. Chatgililoglu, C., et al., *New Insights into the Reaction Paths of Hydroxyl Radicals with 2'-Deoxyguanosine*. Chemical Research in Toxicology, 2011. **24**(12): p. 2200-2206.
304. Chatgililoglu, C., C. Caminal, and Q.G. Mulazzani, *Radical-based alkylation of guanine derivatives in aqueous medium*. Organic & Biomolecular Chemistry, 2011. **9**(9): p. 3494-3498.
305. Chatgililoglu, C., C. Ferreri, and M.A. Terzidis, *Purine 5[prime or minute],8-cyclonucleoside lesions: chemistry and biology*. Chemical Society Reviews, 2011. **40**(3): p. 1368-1382.
306. Chatgililoglu, C., et al., *Selective Generation and Reactivity of 5'-Adenosinyl and 2'-Adenosinyl Radicals*. Chemistry – A European Journal, 2004. **10**(5): p. 1249-1255.
307. Ioele, M., et al., *Chemical Radiation Studies of 8-Bromoguanosine in Aqueous Solutions*. Journal of the American Chemical Society, 2000. **122**(9): p. 1900-1907.
308. Gao, H. and A.K. Mitra, *Regioselective synthesis of various prodrugs of ganciclovir*. Tetrahedron Letters, 2000. **41**(8): p. 1131-1136.
309. Inoue, K., et al., *Indium(III) Chloride-Sodium Borohydride System: A Convenient Radical Reagent for an Alternative to Tributyltin Hydride System*. Journal of the American Chemical Society, 2002. **124**(6): p. 906-907.
310. Russell Bowman, W., S.L. Krintel, and M.B. Schilling, *Tributylgermanium hydride as a replacement for tributyltin hydride in radical reactions*. Organic & Biomolecular Chemistry, 2004. **2**(4): p. 585-592.
311. Hayashi, N., I. Shibata, and A. Baba, *Triethylsilane-Indium(III) Chloride System as a Radical Reagent*. Organic Letters, 2004. **6**(26): p. 4981-4983.
312. Pavia, D., et al., *Introduction to Spectroscopy*. 2008: Cengage Learning.
313. Zhu, X.-F., H.J. Williams, and A. Ian Scott, *Aqueous Trichloroacetic Acid: Another Useful Reagent for Highly Selective 5'-Desilylation of Multisilylated Nucleosides*. Synthetic Communications, 2003. **33**(12): p. 2011-2016.

314. Zhu, X.-F., H.J. Williams, and A.I. Scott, *Aqueous trifluoroacetic acid—an efficient reagent for exclusively cleaving the 5'-end of 3',5'-TIPDS protected ribonucleosides*. *Tetrahedron Letters*, 2000. **41**(49): p. 9541-9545.

5. *PARTIE EXPERIMENTALE*

PARTIE 1. MATERIAL AND METHODS

Thin-layer chromatography (TLC) was performed on aluminum backed silica plates (Alugram Sil G/UV₂₅₄ from Macherey–Nagel with fluorescent indicator UV₂₅₄). Purifications were performed by flash chromatography in silica gel 60, 200–400 mesh from Merck or in Reveleris® Flash Chromatography System with GraceResolv® Flash cartridges or Reveleris® cartridges. Data for ¹H, ¹³C NMR spectra were recorded on Brüker AC-400 instrument (400 MHz for ¹H and 100 MHz for ¹³C) or Brüker 500 instrument (500 MHz for ¹H and 126 MHz for ¹³C) and are internally referenced to residual solvent signals. Data for ¹H NMR are reported as follows: chemical shift (δ ppm), integration, multiplicity (s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, m = multiplet, bs = broad singlet), coupling constant and assignment. Interpretation of ¹H and ¹³C NMR spectra often needed the support of 2D experiments COSY, HMQC and HMBC records. Otherwise stated, protons and carbons of purine and derivatives were numbered as below when associated with ¹H and ¹³C NMR signals.

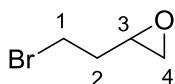


HPLC analyses were performed with an Agilent 1100 series using a diode array detector and a C₁₈ reversed-phase column (Nucleodur C₁₈ ISIS, Macherey–Nagel, 5 μ m particle size, 250 mm \times 4.6 mm), with a mobile phase composed of A = water and TFA 0.1% and B = MeOH and TFA 0.1% with a gradient 90:10 A:B over 30 min, 1 mL/min, 10 μ L injection, detection at 254 nm. Elemental analyses were performed by the service of Département de Chimie Moléculaire, Grenoble Alpes University. Electrospray ionization ESI mass was acquired by the analytical service of Institut de Chimie Organique et Analytique at Orleans, France, using a HRMS Q-ToF MaXis spectrometer.

Unless otherwise specified, chemicals were purchased and used without further purification.

PARTIE 2. SYNTHESIS PROTOCOLS

2.1 SYNTHESIS OF 252



2-(2-bromoethyl)oxirane

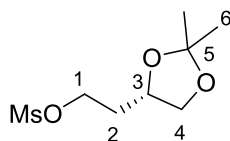
To a solution of *meta*-chloroperoxybenzoic acid (*m*-CPBA) (1.00 g, 7.38 mmol) in dichloromethane (12 mL) was added 4-bromo-1-butene (**239**) (3.84 g, 22.3 mmol). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was washed with aqueous solution of 4 M sodium hydroxide until the aqueous phase was alkaline. The organic layer was washed with water until pH 7. The organic layer was dried over MgSO₄ and the solvents evaporated to give the product as colorless oil (0.65 g, 58%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.39 (t, J = 6.7 Hz, 2H, H₁), 2.97 – 2.92 (m, 1H, H₃), 2.69 (t, J = 4.5 Hz, 1H, H₄), 2.46 – 2.41 (m, 1H, H₄), 2.07 – 1.98 (m, 1H, H₂), 1.96 – 1.87 (m, 1H, H₂).

Cruickshank, P.A. and M. Fishman, *Studies in alkylation. II. Reactions of epoxyalkyl bromides*. The Journal of Organic Chemistry, 1969. **34**(12): p. 4060-4065.

Larsen, A.T., E.M. May, and K. Auclair, *Predictable Stereoselective and Chemoselective Hydroxylations and Epoxidations with P450 3A4*. Journal of the American Chemical Society, 2011. **133**(20): p. 7853-7858.

2.2 SYNTHESIS OF 236

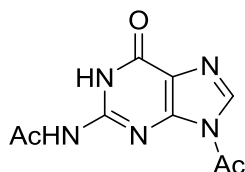


(S)-2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methanesulfonate

To a solution of (S)-(+)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolane-4-ethanol (0.31 g, 2.11 mmol) in dichloromethane (4 mL), at 0 °C was added triethylamine (TEA) (0.43 g, 4.23 mmol) followed by slow addition of methanesulfonyl chloride (0.29 g, 2.54 mmol). The resulted solution was stirred for 2 h at 0 °C. Water was added and the organic layer was separated, dried over MgSO_4 and the solvents evaporated to give the product as a colorless oil (0.46 g, 96%). The product was used without further purification.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.39 – 4.29 (m, 2H, H_1), 4.24 – 4.14 (m, 1H, H_3), 4.10 – 4.03 (m, 1H, H_4), 3.60 – 3.51 (m, 1H, H_4), 3.00 (s, 3H, S- CH_3), 2.01 – 1.89 (m, 2H, H_2), 1.38 (s, 3H, H_6), 1.31 (s, 3H, H_6).

2.3 SYNTHESIS OF 242



N-(9-acetyl-6-hydroxy-9*H*-purin-2-yl)acetamide

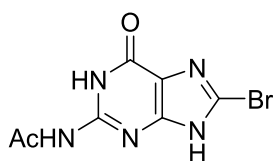
To a suspension of guanine (10.0 g; 66.2 mmol) in dry *N,N*-dimethylacetamide (85 mL), under dry argon, was added acetic anhydride (20 mL; 212 mmol). The resulted suspension was heated to 160 °C and stirred for 7 h. After cooling, the solid obtained was filtered off and washed with ethanol and then dried to give the product as white solid (13.5 g, 93%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 11.99 (bs, 2H, NH), 8.45 (s, 1H, H₈), 2.82 (s, 3H, CH₃), 2.21 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 173.8 (C=O), 168.0 (C=O), 154.7 (C₆), 148.4 (C₂), 147.9 (C₄), 135.0 (C₈), 121.5 (C₅), 24.7 (CH₃), 23.9 (CH₃).

Dalpozzo, R., *et al.*, 9-Vinylguanine: an easy access to aza-analogs of 2',3'-dideoxyguanosine. *Tetrahedron*, 2001. **57**(18): p. 4035-4038.

2.4 SYNTHESIS OF 243

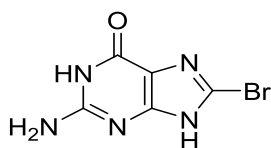


N-(8-bromo-6-hydroxy-9*H*-purin-2-yl)acetamide

To a suspension of *N*-(9-acetyl-6-hydroxy-9*H*-purin-2-yl) acetamide (10.0 g, 66.2 mmol) in water heated to 70 °C, was added a saturated solution of bromine (Br₂) in water until persistence of the orange color. The solution was stirred overnight at room temperature. Then, aqueous solution of sodium bisulfite (NaHSO₃) was added up to neutralization. The pH was adjusted to 7 with a diluted solution of sodium hydroxide (NaOH). The white solid was filtered, washed with water and then with acetone to give the product as a white solid (10.8 g, 94%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.07 (s, 1H, OH), 11.65 (s, 1H, NH), 2.17 (s, 3H, CH₃).

2.5 SYNTHESIS OF 227B



8-bromoguanine

2.5.1 Protocol 1

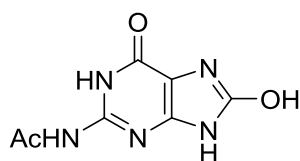
To a suspension of guanine (10.0 g, 66.2 mmol) in water, heated to 70 °C, was added a saturated solution of Br₂ in water until persistence of the orange color. The solution was stirred overnight at room temperature. Then, aqueous solution of NaHSO₃ was added up to neutralization. The pH was adjusted to 7 with a diluted aqueous solution of NaOH. The white solid formed was filtered and washed with water and then acetone to give the product as white solid (2.23 g, 12%).

2.5.2 Protocol 2

253 (50 mg g, 0.185 mmol) was added to an aqueous solution of NaOH (1 M, 5 mL) and heated to 60 °C for 5 h. The white solid formed was filtered and washed with water and then acetone to give the product as white solid (25 mg, 60%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.04 (s, 1H, OH), 10.65 (s, 1H, NH), 6.40 (s, 2H, NH₂).

2.6 SYNTHESIS OF 245



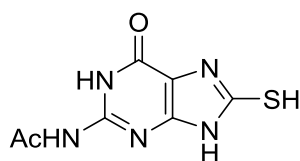
N-(6,8-dihydroxy-9*H*-purin-2-yl)acetamide

To a solution of **253** (0.50 g, 1.76 mmol) in glacial acetic acid (20 mL), under argon, was added sodium acetate (1.44 g, 17.6 mmol). The resulted solution was heated to 120 °C and stirred overnight. After cooling, the pH was adjusted to 7 with an aqueous solution of 1 M NaOH. The white solid obtained was filtered off and washed with water and acetone to give the product a white solid (0.38 g, 98%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 11.99 (s, 1H, NH), 11.62 (s, 1H, OH), 11.42 (s, 1H, NH), 10.83 (s, 1H, NH), 2.16 (s, 3H, CH₃).

Ikehara, M., H. Tada, and K. Muneyama, *Synthesis of 8-Hydroxypurine Nucleosides*. CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN, 1965. **13**(9): p. 1140-1142.

2.7 SYNTHESIS OF 246



2-amino-8-mercapto-9*H*-purin-6-ol

To a suspension of **253** (0.50 g, 1.76 mmol) in DMF 20 mL, under argon, was added thiourea (4.22 g, 55.5 mmol). The resulting suspension was refluxed for 72 h. After cooling, water was added to the reaction. After 15 min the solid was filtered and washed with water to give the product as a white solid (0.37 g, 89%).

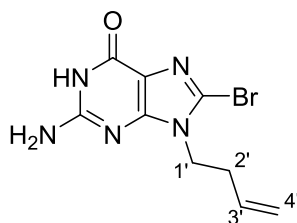
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.13 (s, 1H, NH), 12.93 (s, 1H, SH), 12.10 (s, 1H, NH), 11.78 (s, 1H, NH), 2.15 (s, 3H, CH₃).

Ikaunieks, M. and M. Madre, *Reinvestigation of the reaction of 8-bromoguanine derivatives with sodium thiosulfate*. J. Chem. Res., Synop., 2002(5): p. 226-227.

2.8 GENERAL PROTOCOL FOR 8-BROMOGUANINE ALKYLATION

To a suspension of **251** (0.50 g; 2.17 mmol) in dry DMF (8 mL), under argon, was added sodium hydride (0.16 g; 6.52 mmol). The resulted suspension was stirred at 70 °C for 30 min and then the alkylating agent (2.60 mmol) was added. The suspension was stirred for 24 h at 70 °C. The pH of the solution was adjusted to 7 with a saturated aqueous solution of ammonium chloride. The reaction crude material was purified as described for each compound.

2.8.1 Synthesis of **232c**



2-amino-8-bromo-9-(but-3-en-1-yl)- 9*H*-purin-6-ol

The white solid obtained was filtered off and washed with water to obtain the product as a white solid (0.11 g, 18%).

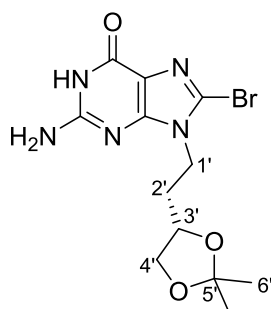
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.66 (s, 2H, NH), 5.76 (m, 1H, H₃), 5.05 – 4.97 (m, 2H, H₄), 3.99 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H₁), 2.45 (dd, *J* = 14.2, 6.9 Hz, 2H, H₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 155.6 (C₆), 153.9 (C₂), 152.4 (C₄), 134.1 (C₃), 120.6 (C₈), 117.7 (C₄'), 116.8 (C₅), 42.6 (C₁', CH₂), 33.0 (C₂', CH₂).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 285.0048; Found 286.0125 (M+H)⁺

Element Anal. Calcd for C₉H₁₀N₅OBr C 38.05, H 3.55, N 24.65; O 5.63, Br 28.12; Found C 37.87, H 3.77, N 24.60%.

2.8.2 Synthesis of 228c



(*S*)-2-amino-8-bromo-9-(2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethyl)-9*H*-purin-6-ol

The reaction crude material was suspended in methanol and the precipitate was eliminated by filtration. The solvent was evaporated and the reaction crude material was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂ 100 % to CH₂Cl₂/MeOH 8/2) (0.34 g, 43%).

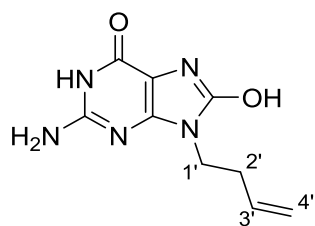
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.68 (s, 1H, NH), 6.57 (s, 2H, NH), 4.06 (m, 1H, H_{3'}), 4.03 – 3.95 (m, 2H, H_{1'}), 3.56 – 3.45 (m, 2H, H_{4'}), 2.00 – 1.78 (m, 2H, H_{2'}), 1.29 (s, 1H, H_{6'}), 1.23 (s, 3H, H_{6'}).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 156.3 (C₆), 154.1 (C₂), 153.0 (C₄), 121.9 (C₈), 117.2 (C₅), 108.9 (C_{5'}), 73.85 (C_{3'}), 68.8 (C_{4'}), 41.3 (C_{1'}), 33.2 (C_{2'}), 27.2 (C_{6'}), 25.8 (C_{6'}).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 357.0037; Found 358.0509 (M+H)⁺

Element Anal. Calcd for C₁₂H₁₆N₅O₃Br C 40.24, H 4.50, Br 22.31, N 19.55; O 13.40; Found C 40.24, H 4.49, N 19.53%.

2.8.3 Synthesis of 233a



2-amino-9-(but-3-en-1-yl)-9*H*-purine-6,8-diol

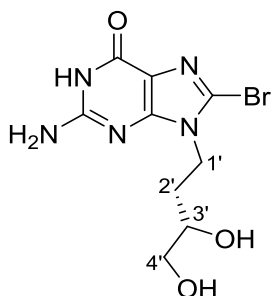
To a solution of **251** (0.50 g, 1.76 mmol) in acetic acid (20 mL), under argon, was added sodium acetate (1.44 g, 17.6 mmol). The resulted solution was heated to 120 °C and stirred overnight. After cooling, the pH was adjusted to 7 with a aqueous solution of 1 M of NaOH. The solid obtained was filtered off and washed with water to give the product as a white solid (0.27 g, 67%)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.56 (s, 1H, NH), 6.48 (s, 2H, NH₂), 6.37 (s, 1H, OH), 5.88 – 5.61 (m, 1H, H_{3'}), 5.11 – 4.88 (m, 2H, H_{4'}), 3.79 (t, J = 6.9 Hz, 1H, H_{1'}), 3.66 (t, J = 7.2 Hz, 1H, H_{1'}), 2.37 (m, 2H, H_{2'}).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 153.5 (C₆), 152.1 (C₂), 147.7 (C₄), 134.9 (C₃), 116.7 (C₄), 98.2 (C₅), 38.2 (C_{1'}), 33.7 (C_{2'})

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 221.0913; Found 222.0989 (M+H)⁺

2.8.4 Synthesis of 229c



(S)-4-(2-amino-8-bromo-6-hydroxy-9H-purin-9-yl)butane-1,2-diol

To a flask containing **268** (50 mg, 0.140 mmol) a 10% aqueous solution of HCl was added and the solution was stirred at room temperature for 8 h. The pH was adjusted to 7 with a aqueous solution of 1 M NaOH and the solvents were removed *in vacuo*. The reaction crude material was purified by reverse phase chromatography to give the product as white solid (27 mg, 61%).

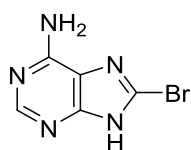
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.79 (s, 2H, NH), 4.77 (s, 1H, OH), 4.57 (s, 1H, OH), 4.11-4.04 (m, 1H, H_{4'}), 3.99-3.92 (m, 1H, H_{4'}), 3.43 (m, 2H, H_{1'}), 3.22 (m, 1H, H_{3'}), 1.96 – 1.79 (m, 1H, H_{2'}), 1.61-1.54 (m, 1H, H_{2'}).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 156.4 (C₆), 154.1 (C₂), 152.7 (C₄), 121.2 (C₈), 116.7 (C₅), 68.8 (C_{3'}), 65.8 (C_{4'}), 41.2 (C_{1'}), 33.5 (C_{2'}).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 317.2124; Found 318.0196 (M+H)⁺

Element Anal. Calcd for C₉H₁₂N₅O₃Br C 34.30, H 4.61, N 20.00; O 18.28, Br 22.82, ·CH₃OH; Found C 34.09, H 4.12, N 20.56%.

2.9 SYNTHESIS OF 227A



8- bromoadénine

To adenine (5.00 g, 37.0 mmol), Br₂ (15 mL, 290mmol) was slowly added and the system was stoppered and stirred for 3 h. The excess of Br₂ was evaporated overnight. The mixture was cool to 0 °C and water (50 mL) was added. A 35% aqueous solution of amonia was added until complete dissolution of the solid residue. The pH was adjusted to 7 with acetic acid and the yellow/orange precipitated obtained was filtered off and suspended in boiling water. The precipitate was filtered and washed sequentially with water, acetone and diethyl ether to give the product as a yellowish solid (5.47 g, 68%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.10 (s, 1H, H₂), 7.41 (s, 2H, NH).

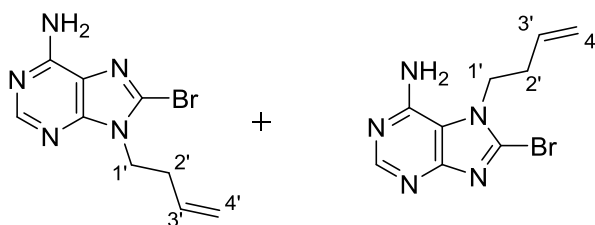
HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 212.9650; Found 213.9728 (M+H)⁺

Bang, E.-K., *et al.*, *A Self-Complementary Nucleoside: Synthesis, Solid-State Structure, and Fluorescence Behavior*. Chemistry – An Asian Journal, 2011. 6(8): p. 2048-2054.

2.10 GENERAL PROTOCOL FOR 8-BROMOADENINE ALKYLATION

To a suspension of **250** (0.50 g, 2.34 mmol) in dry DMF (10 mL) under argon, was added potassium carbonate (0.45 g, 3.27 mmol). The resulted suspension was stirred at 50°C until homogenization, and then **239** (0.38 g, 2.80 mmol) was added. The solution was stirred for 24 h at 50 °C. The pH of the solution was adjusted to 7 with an aqueous saturated solution of ammonium chloride. The reaction crude material was purified as described for each compound.

2.10.1 Compounds of **232a** and **232b**

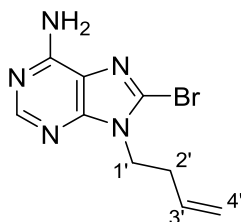


Synthesis of 8-bromo-9-(but-3-en-1-yl)-9*H*-purin-6-amine and 8-bromo-7-(but-3-en-1-yl)-7*H*-purin-6-amine

The solvent was removed in *vacuo* and the reaction crude material was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂ 100% to CH₂Cl₂/MeOH 8/2). The products were obtained as yellow solids (0.44 g, 70%).

Lambertucci, C., *et al.*, 8-Bromo-9-alkyl adenine derivatives as tools for developing new adenosine A2A and A2B receptors ligands. *Bioorg. Med. Chem.*, 2009. **17**(7): p. 2812-2822.

2.10.1.1 Compound 232a



8-bromo-9-(but-3-en-1-yl)-9H-purin-6-amine

The product was separated by flash chromatography (CH₂Cl₂ 100% to CH₂Cl₂/MeOH 8/2) and obtained as a yellow solid

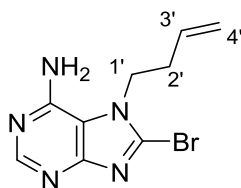
Yield: 0.21 g, 33%

¹H NMR (400 MHz, DMSO- *d*₆) δ : 8.13 (s, 1H, H₂), 7.36 (s, 2H, NH), 5.90 – 5.64 (m, 1H, H₃), 5.00 – 4.98 (m, 1H, H₄'), 4.95 (d, J = 1.1 Hz, 1H, H₄'), 4.20 (t, J = 7.0 Hz, 2H, H₁'), 2.58 – 2.51 (m, 2H, H₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO- *d*₆) δ : 154.7 (C₆), 152.8 (C₂), 150.7 (C₄), 134.2 (C₃'), 126.3 (C₈), 119.0 (C₅), 117.7 (C₄'), 43.0 (C₁'), 33.1 (C₂).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 269.0099; Found 270.0176 (M+H)⁺

Element Anal. Calcd for C₉H₁₀N₅Br C 40.32, H 3.76, N 26.12; Br 29.80; Found C 40.30, H 3.91, N 26.13%.

2.10.1.2 Compound 232b

8-bromo-7-(but-3-en-1-yl)-7H-purin-6-amine

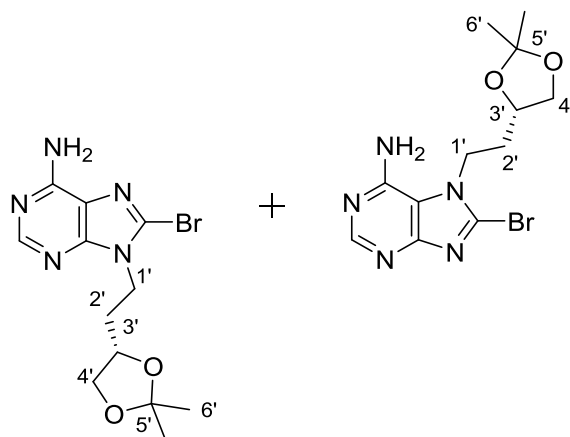
The product was separated by flash chromatography (CH₂Cl₂ 100% to CH₂Cl₂/MeOH 8/2) and obtained as a yellow solid.

Yield: 0.21 g, 33%

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.30 (s, 1H, H₂), 8.14 (s, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, NH), 5.90 – 5.64 (m, 1H, H₃), 5.02 – 4.94 (m, 2H, H₄), 4.32 (t, J = 6.9 Hz, 2H, H₁), 2.62 (q, J = 6.9 Hz, 1H, H₂).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 153.6 (C₆), 149.7 (C₄), 143.9 (C₂), 139.3 (C₈), 134.1 (C₃), 121.5 (C₅), 118.0 (C_{4'}), 48.35 (C_{1'}), 32.60 (C_{2'}).

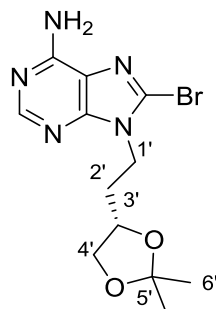
HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 269.0099; Found 270.0176 (M+H)⁺

2.10.2 Compounds 228a and 228b

Synthesis of (S)-8-bromo-9-(2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethyl)-9*H*-purin-6-amine and (S)-8-bromo-7-(2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethyl)-7*H*-purin-6-amine

The solvent was removed *in vacuo* and the two products were separated by flash chromatography (CH₂Cl₂ 100% to CH₂Cl₂/MeOH 8/2). The products were obtained as white solids (0.74 g, 92%).

2.10.2.1 Compound 228a



(S)-8-bromo-9-(2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethyl)-9H-purin-6-amine

The product was separated by flash chromatography (CH₂Cl₂ 100% to CH₂Cl₂/MeOH 8/2) and obtained as a white solid.

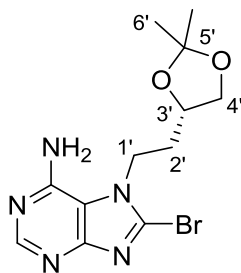
Yield: 0.44 g, 55%

¹H NMR (400 MHz, DMSO- *d*₆) δ : 8.33 (s, 1H, H₂), 7.32 (s, 2H, NH), 4.38-4.27 (m, 2H, H_{1'}), 4.11 – 4.05 (m, 1H, H_{3'}), 3.98 (dd, J = 8.0, 6.1 Hz, 1H, H_{4'}), 3.49 (dd, J = 8.0, 6.6 Hz, 1H, H_{4'}), 2.18 – 2.02 (m, 2H, H_{2'}), 1.28 (s, 3H, H_{6'}), 1.23 (s, 3H, H_{6'}).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.28 (s, 1H, H₂), 6.35 (s, 2H, NH), 4.33 (dd, J = 14.4, 6.6 Hz, 2H, H_{1'}), 4.16-4.10 (m, 1H, H_{3'}), 4.03 (dd, J = 8.0, 6.1 Hz, 1H, H_{4'}), 3.55 (dd, J = 8.0, 6.6 Hz, 1H, H_{4'}), 2.09-2.04 (m, 2H, H_{2'}), 1.39 (s, 3H, H_{6'}), 1.30 (s, 3H, H_{6'}).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 154.6 (C₆), 153.2 (CH, C₂), 151.4 (C₄), 127.4 (C₈), 120.1 (C₅), 109.5 (C_{5'}), 73.3 (CH, C_{3'}), 69.1 (CH₂, C_{4'}), 41.8 (CH₂, C_{1'}), 33.6 (CH₂, C_{2'}), 27.1 (CH₃, C_{6'}), 25.6 (CH₃, C_{6'}).

2.10.2.2 Compound 228b



(S)-8-bromo-7-(2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethyl)-7H-purin-6-amine

The product was separated by flash chromatography (CH₂Cl₂ 100% to CH₂Cl₂/MeOH 8/2) and obtained as a white solid.

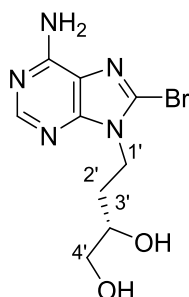
Yield: 0.29 g, 37%

¹H NMR (400 MHz, DMSO- *d*₆) δ : 8.13 (s, 1H, H₂), 7.37 (s, 2H, NH), 4.26 – 4.14 (m, 2H, H_{1'}), 4.13 – 4.05 (m, 1H, H_{3'}), 3.98 (dd, J = 8.0, 6.1 Hz, 1H, H_{4'}), 3.49 (dd, J = 8.0, 6.6 Hz, 1H, H_{4'}), 2.07 – 1.88 (m, 2H, H_{2'}), 1.30 (s, 3H, H_{6'}), 1.23 (s, 3H, H_{6'}).

2.11 GENERAL PROTOCOL FOR THE DIOXALANE DEPROTECTION

The mixture of **269** and **270** isomers (0.18 g, 0.514 mmol) was dissolved in dichloromethane (8 mL) then trifluoroacetic acid (8 mL) was added dropwise. The reaction mixture was stirred for 5 h. The solvents were removed and the residue was suspended in aqueous 1 M NaOH until pH 7. The solvents were removed in *vacuo* and the residue was purified by reverse phase chromatography. (0.13 g, 84%)

2.11.1 Compound 229a



(S)-4-(6-amino-8-bromo-9H-purin-9-yl)butane-1,2-diol

Yield: 78 mg, 50%

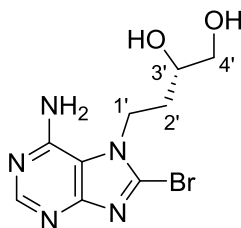
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.29 (s, 1H, H₂), 8.13 (s, 1H, NH), 7.98 (s, 1H, NH), 4.80 (d, J = 5.0 Hz, 1H, OH), 4.57 (t, J = 5.6 Hz, 1H, OH), 4.38 (ddd, J = 13.3, 7.9, 5.3 Hz, 1H, H_{1'}), 4.34 – 4.24 (m, 1H, H_{1'}), 3.43 – 3.36 (m, 1H, H_{3'}), 3.31 (m, 1H, H_{4'}), 3.27 – 3.18 (m, 1H, H_{4'}), 2.08 (m, 1H, H_{2'}), 1.81 – 1.66 (m, 1H, H_{2'}).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 153.9 (C₆), 150.2 (C₄), 144.7 (C₂), 139.7 (C₈), 121.8 (C₅), 68.8 (C_{3'}), 65.8 (C_{4'}), 47.5 (C_{1'}), 32.9 (C_{2'}).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 301.0174; Found 302.0250 (M+H)⁺

Element Anal. Calcd for C₉H₁₂N₅O₂Br C 33.77, H 4.41, N 21.88, O 14.99; Br 24.96; H₂O; Found C 33.25, H 4.78, N 21.87%.

2.11.2 Compound 229b



(S)-4-(6-amino-8-bromo-7H-purin-7-yl)butane-1,2-diol

Yield: 53 mg, 34%

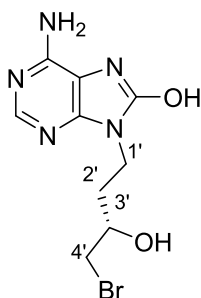
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.13 (s, 1H, H₂), 7.36 (s, 2H, NH), 4.75 (d, J = 5.0 Hz, 1H, OH), 4.57 (t, J = 5.6 Hz, 1H, OH), 4.30 – 4.23 (m, 1H, H_{1'}), 4.22 – 4.12 (m, 1H, H_{1'}), 3.49-3.43 (m, 1H, H_{3'}), 3.40 – 3.36 (m, 1H, H_{4'}), 3.25 – 3.19 (m, 1H, H_{4'}), 2.01 – 1.93 (m, 1H, H_{2'}), 1.70 – 1.62 (m, 1H, H_{2'}).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 154.9 (C₆), 153.1 (C₂), 151.0 (C₄), 127.2 (C₈), 119.3 (C₅), 69.0 (C_{3'}), 65.7 (C_{4'}), 41.8 (C_{1'}), 33.5 (C_{2'}).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 301.0174; Found 302.0250 (M+H)⁺

Element Anal. Calcd for C₉H₁₂N₅O₂Br C 33.77, H 4.41, N 21.88, O 14.99; Br 24.96, H₂O; Found C 34.20, H 4.27, N 22.37%.

2.12 SYNTHESIS OF 254



(S)-6-amino-9-(4-bromo-3-hydroxybutyl)-9H-purin-8-ol

To a solution containing **269** (44 mg, 0.146 mmol) in dry DMF (1 mL) under argon, was added NaH (21 mg, 0.728 mmol). The resulted suspension was stirred at room temperature for 24 h. The pH of the solution was adjusted to 7 with a saturated solution of ammonium chloride and the solvents were removed *in vacuo*. The crude reaction was purified by reverse phase chromatography. A white solid was obtained (7 mg 16%).

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.15 (s, 1H, OH), 8.02 (s, 1H, H₂), 6.41 (s, 2H, NH), 5.24 (d, J = 5.1 Hz, 1H, OH), 3.87 (ddd, J = 14.2, 8.2, 6.1 Hz, 1H, H_{1'}), 3.83 – 3.72 (m, 1H, H_{1'}), 3.71 – 3.62 (m, 1H, H_{3'}), 3.48 (dd, J = 5.1, 2.1 Hz, 2H, H_{4'}), 1.94 (ddd, J = 12.0, 7.3, 3.8 Hz, 1H, H_{2'}), 1.74 (dtd, J = 14.2, 8.3, 6.2 Hz, 1H, H_{2'}).

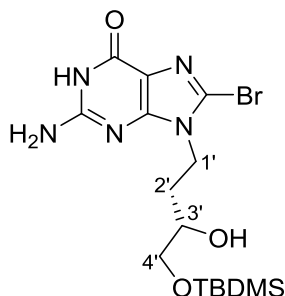
¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 152.7 (C₆), 151.5 (C₂), 147.9 (C₄), 147.0 (C₈), 103.5 (C₅), 67.9 (C_{3'}), 40.2 (C_{4'}), 36.9 (C_{1'}), 33.9 (C_{2'}).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 301.0174; Found 302.0247 (M+H)⁺

2.13 GENERAL PROTOCOL FOR THE PROTECTION

To a solution containing the purine base (**232a**, **232b**, **232c**, **257a** or **257b**) (0.331 mmol) in dry DMF (4 mL) under argon, was added imidazole (90 mg, 1.32 mmol). The resulted suspension was stirred until homogenization, then *tert*-butyldimethylsilyl chloride (0.10 g, 0.663 mmol) was added and the reaction mixture was stirred for 24 h. The reaction mixture was poured into cold water and the precipitate was filtered. The precipitate was purified by flash chromatography.

2.13.1 Compound 289c (guanine)



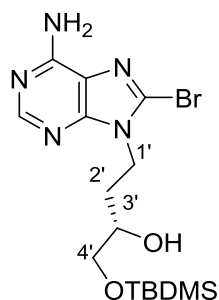
(*S*)-2-amino-8-bromo-9-(4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-3-hydroxybutyl)-9*H*-purin-6-ol

Yield: 49 mg, 34%

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.65 (s, 1H, NH), 6.55 (s, 2H, NH), 4.79 (s, 1H, OH), 4.08 (td, *J* = 8.9, 4.4 Hz, 1H, H_{1'}), 4.03 – 3.92 (m, 1H, H_{1'}), 3.53 (dd, *J* = 9.7, 4.9 Hz, 1H, H_{4'}), 3.44 (m, 2H, H_{4'} and H_{3'}), 2.00 – 1.89 (m, 1H, H_{2'}), 1.58 (dt, *J* = 9.4, 4.3 Hz, 1H, H_{2'}), 0.82 (s, 9H, C-CH₃), 0.00 (s, 3H, Si-CH₃), -0.01 (s, 3H, Si-CH₃).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 155.6 (C₆), 153.8 (C₂), 152.3 (C₄), 120.6 (C₈), 116.8 (C₅), 68.3 (C_{3'}), 67.0 (C_{4'}), 40.9 (C_{1'}), 33.1 (C_{2'}), 25.8 (CH₃), 17.9 (Si-C), -5.4 (CH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 431.0988; Found 432.1060 (M+H)⁺

2.13.2 Compound 289a (adenine N9)

(S)-4-(6-amino-8-bromo-9H-purin-9-yl)-1-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)butan-2-ol

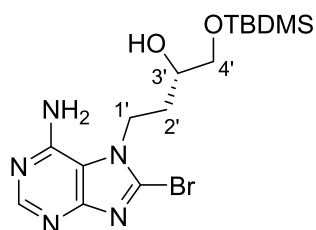
Yield: 0.11 g, 79%

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.07 (s, 1H, H₂), 4.53 (dd, J = 7.8, 4.9 Hz, 2H, H_{1'}), 3.84 (s, 1H, OH), 3.58 (dd, J = 9.1, 3.4 Hz, 1H, H_{4'}), 3.55 – 3.42 (m, 2H, H_{4'} and H_{3'}), 2.23 (ddd, J = 14.0, 8.1, 5.9 Hz, 1H, H_{2'}), 1.93 – 1.82 (m, 1H, H_{2'}), 0.86 (s, 9H, C-CH₃), 0.03 (s, 6H, Si-CH₃).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 153.1 (C₆), 150.7 (C₄), 143.0 (C₂), 141.6 (C₈), 122.3 (C₅), 68.0 (C_{3'}), 67.0 (C_{4'}), 47.5 (C_{1'}), 32.2 (C_{2'}), 25.9 (C-CH₃), 18.3 (Si-C), -5.4 (C-CH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 417.1019; Found 418.1090 (M+H)⁺

2.13.3 Compound 289b (adenine N7)



(S)-4-(6-amino-8-bromo-7H-purin-7-yl)-1-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)butan-2-ol

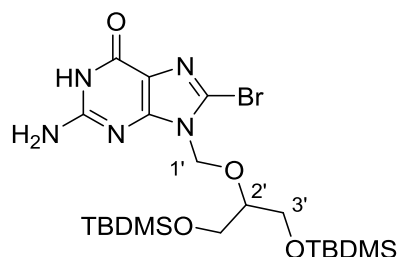
Yield: 0.11 g 79%

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.29 (s, 1H, H₂), 6.03 (s, 2H, NH), 4.50-4.43 (m, 1H, H_{1'}), 4.36-4.30 (m, 1H, H_{1'}), 3.95 (s, 1H, OH), 3.60 – 3.44 (m, 3H, H_{4'} and H_{3'}), 2.07 – 1.94 (m, 1H, H_{2'}), 1.84 (ddd, J = 14.1, 9.1, 5.1 Hz, 1H, H_{2'}), 0.86 (s, 9H, C-CH₃), 0.04 (s, 3H, Si-CH₃), 0.02 (s, 3H, Si-CH₃).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 154.4 (C₆), 153.2 (C₂), 151.6 (C₄), 127.7 (C₈), 119.9 (C₅), 68.3 (C₃), 67.0 (C_{4'}), 41.5 (C_{1'}), 33.2 (C_{2'}), 26.0 (C-CH₃), 18.4 (Si-C), -5.51 (C-CH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 417.1019; Found 418.1090 (M+H)⁺

2.13.4 Compound 285a



(2-amino-8-bromo-9-(((2,2,3,3,9,9,10,10-octamethyl-4,8-dioxa-3,9-disilaundecan-6-yl)oxy)methyl)-9*H*-purin-6-ol

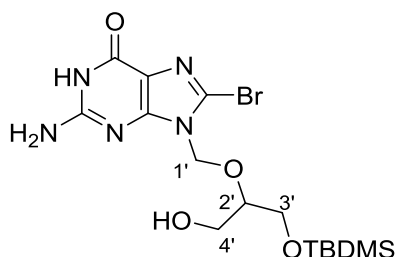
Yield: 0.18 g, 98%

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.71 (s, 1H, OH), 6.54 (s, 2H, NH), 5.37 (s, 2H, H_{1'}), 3.73 – 3.66 (m, 1H, H_{2'}), 3.59 (dd, *J* = 10.8, 4.8 Hz, 2H, H_{3'}), 3.46 (dd, *J* = 10.7, 5.7 Hz, 2H, H_{3'}), 0.81 (s, 18H, C-CH₃), -0.03 (s, 6H, Si-CH₃), -0.04 (s, 6H, Si-CH₃).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 155.5 (C₆), 154.1 (C₂), 152.6 (C₄), 120.7 (C₈), 116.7 (C₅), 80.3 (C_{2'}), 72.1 (C_{1'}), 62.0 (C_{3'}), 25.7 (Si-C-CH₃), 17.9 (Si-C), -2.8 (Si-CH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 563.1802; Found 564.1857 (M+H)⁺

2.13.5 Compound 289c



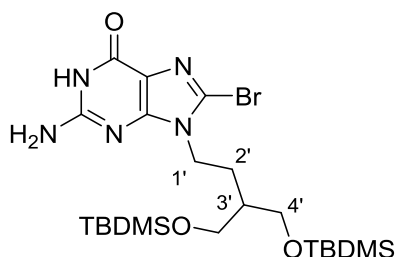
2-amino-8-bromo-9-(((1-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-3-hydroxypropan-2-yl)oxy)methyl)-1,9-dihydro-6H-purin-6-one

Yield: 0.49 g, 33%

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.71 (s, 1H, NH), 6.57 (s, 2H, NH₂), 5.39 (s, 2H, H_{1'}), 4.69 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H, OH), 3.69 – 3.64 (m, 1H, H₂), 3.59–3.54 (m, 1H, H_{4'}), 3.48–3.36 (m, 3H, H_{3'} et H_{4'}), 0.79 (s, 9H, C-CH₃), -0.05 (s, 3H, Si-CH₃), -0.7 (s, 3H, Si-CH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 449.0917; Found 450.0989 (M+H)⁺

2.13.6 Compound 285b



(2-amino-8-bromo-9-(4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-3-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)butyl)-9*H*-purin-6-ol

Yield: 0.17 g, 93%

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.96 (s, 1H, NH), 6.15 (s, 2H, NH₂), 4.09 (t, J = 8.0 Hz, 2H, H_{1'}), 3.66-3.59 (m, 4H, H_{4'}), 1.82-1.77 (m, 2H, H_{2'}), 1.73-1.66 (m, 1H, H_{3'}), 0.89 (s, 18H, C-CH₃), 0.05 (s, 12H, Si-CH₃).

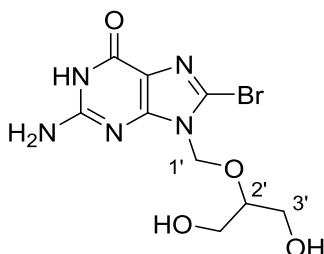
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 157.9 (C₆), 153.8 (C₂), 153.1 (C₄), 122.3 (C₈), 117.5 (C₅), 62.8 (C_{4'}), 42.9 (C_{1'}), 41.5 (C_{3'}), 28.3 (C_{2'}), 26.1 (Si-C-CH₃), 18.4 (Si-C), -5.3 (Si-CH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 561.1989; Found 562.2060 (M+H)⁺

2.14 GENERAL PROTOCOL FOR THE BROMINATION OF GANCICLOVIR (GCV) AND PENCICLOVIR (PCV)

The purine base (GCV or PCV) (3.95 mmol) was suspended in water (50 mL). Under vigorous stirring, an aqueous solution of Br₂ (5.86 mmol) was added in three equal portions in a period of 30 min. The mixture became homogeneous, and then a precipitate formed. After addition the mixture was stirred at room temperature for additional 30 min. The solid was filtered, washed with water (2 × 5 mL) and acetone (5 mL), and dried under vacuum to give an off-white solid in both cases.

2.14.1 Compound 255a



8-bromoganciclovir

Yield: 0.88 g 67%

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.73 (s, 1H, NH), 6.61 (s, 2H, NH₂), 5.39 (s, 2H, H_{1'}), 4.61 (bzs, 2H, OH), 3.63 – 3.55 (m, 1H, H_{2'}), 3.43 (dd, J = 11.2, 4.7 Hz, 2H, H_{3'}), 3.28 (dd, J = 11.2, 5.8 Hz, 2H, H_{3'}).

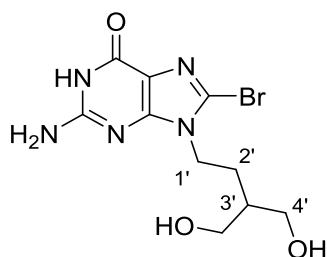
¹³C NMR (100MHz, DMSO-*d*₆) δ : 155.6 (C₆), 154.1 (C₂), 152.7 (C₄), 120.9 (C₈), 116.6 (C₅), 80.7 (C_{2'}), 72.0 (C_{1'}), 60.8 (C_{3'}).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 333.0073; Found 334.0143 (M+H)⁺

Element Anal. Calcd for C₉H₁₂N₅O₄Br C 30.70, H 4.01, N 19.89, O 22.72; Br 22.69; Found C 30.31, H 4.07, N 19.81%.

Zheng, Q.-H., *et al.*, Synthesis of 8-Methoxypenciclovir and 8-Methoxyganciclovir through Methyl Triflate, a New Potential Approach to Label Penciclovir and Ganciclovir with Carbon-11. *Synthesis*, 2003. 2003(18): p. 2785-2794.

2.14.2 Compound 255b



8-bromopenciclovir

Yield: 1.2 g, 92%

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 10.63 (s, 1H, NH), 6.55 (s, 2H, NH₂), 3.98 (t, J = 6.0 Hz, 2H, H_{1'}), 3.44 (dd, J = 10.6, 5.8 Hz, 2H, H_{4'}), 3.35 (dd, J = 10.6, 5.5 Hz, 2H, H_{4'}), 1.68-1.63 (m, 2H, H_{2'}), 1.54 – 1.44 (m, 1H, H_{3'}).

$^{13}\text{C NMR}$ (100MHz, DMSO- d_6) δ : 155.7 (C₆), 153.9 (C₂), 152.4 (C₄), 120.7 (C₈), 116.9 (C₅), 61.4 (C_{4'}), 42.2 (C_{1'}), 41.0 (C_{3'}), 28.4 (C_{2'}).

HRMS (ESI⁺) m/z Calcd 331.0280; Found 332.0349 (M+H)⁺

Element Anal. Calcd for C₁₀H₁₄N₅O₃Br C 36.16, H 4.25, N 21.08, O 10.59; Br 24.06; Found C 36.28, H 4.38, N 21.28%.

2.15 GENERAL PROTOCOL FOR CYCLIZATION OF GCV AND PCV

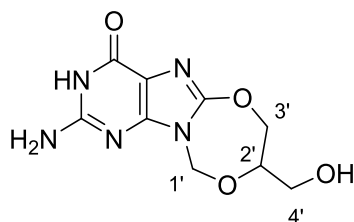
2.15.1 Protocol 1

The purine base (**278** or **279**) (0.299 mmol) was dissolved in dry DMSO (1mL) and treated with 60% NaH oil/dispersion (29 mg 1.19 mmol). The solution was heated at 65 °C for 18 h. The reaction crude was precipitated in dichloromethane and stirred overnight. The solid was filtered, washed with dichloromethane, dried and then suspended into a minimum of water. The pH was adjusted to 7 with a solution of ammonium chloride and the product was crystallized in water.

2.15.2 Protocol 2

The purine base (**278** or **279**) (0.299 mmol) was dissolved in dry DMSO (0.8 mL) and treated with 60% NaH oil/dispersion (29 mg, 1.19 mmol). The solution was stirred for 1 h at 65 °C under microwave 200 W (CM Discover® SP) irradiation. The reaction crude was precipitated in dichloromethane and stirred overnight. The solid was filtered, washed with dichloromethane, dried and then suspended in water. The pH was adjusted to 7 with a solution of ammonium chloride and the product was crystallized in water.

2.15.2.1 Compound 256a



2-amino-8-(hydroxymethyl)-7,8-dihydro-10*H*-[1,5,3]dioxazepino[3,2-*e*]purin-4-ol)

Protocol 1 Yield: 38 mg, 50%

Protocol 2 Yield: 70 mg, 93%

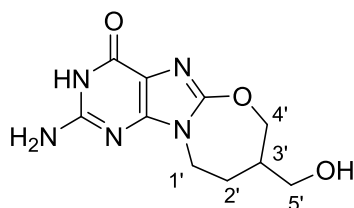
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.55 (s, 1H, OH), 6.44 (s, 2H, NH), 5.55 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H, H_{1'}), 5.19 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H_{1'}), 4.97 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, OH), 4.48 (dd, *J* = 12.8, 1.4 Hz, 1H, H_{3'}), 4.02 (dd, *J* = 8.7, 4.6 Hz, 1H, H_{2'}), 3.80 (dd, *J* = 12.8, 9.3 Hz, 1H, H_{3'}), 3.55 (dt, *J* = 10.7, 5.2 Hz, 1H, H_{4'}), 3.45 (dt, *J* = 11.5, 5.8 Hz, 1H, H_{4'}).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 156.0 (C₆), 153.7 (C₂), 152.0 (C₄), 148.9 (C₅), 110.8 (C₈), 83.3 (C_{2'}), 74.5 (C_{3'}), 72.0 (C_{1'}), 60.2 (C_{4'}).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 253.0811; Found 254.0881 (M+H)⁺

Element Anal. Calcd for C₉H₁₁N₅O₄·H₂O: C 39.85, H 4.83, N 25.82, O 29.49; Found C 40.09, H 4.41, N 25.13%.

2.15.2.2 Compound 256b



2-amino-8-(hydroxymethyl)-7,8,9,10-tetrahydro-[1,3]oxazepino[3,2-e]purin-4-ol)

Protocol 1 Yield: 34 mg, 45%

Protocol 2 Yield: 56 mg, 74%

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.47 (s, 1H, NH), 6.33 (s, 2H, NH₂), 4.75 (t, J = 4.9 Hz, 1H, OH), 4.34 (d, J = 11.6 Hz, 1H, H_{4'}), 4.15 (dd, J = 13.3, 5.4 Hz, 1H, H_{1'}), 3.83 – 3.74 (m, 1H, H_{5'}), 3.72 – 3.62 (m, 1H, H_{5'}), 3.41 – 3.38 (m, 3H, H_{1'} and H_{4'}), 2.12 (m, 1H, H_{3'}), 1.95 (m, 1H, H_{2'}), 1.50 (m, 1H, H_{2'}).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 156.1 (C₆), 153.3 (C₂), 153.0 (C₄), 149.6 (C₅), 110.8 (C₈), 74.7 (C_{4'}), 61.2 (C_{5'}), 43.3 (C_{3'}), 38.9 (C_{1'}), 28.6 (C_{2'}).

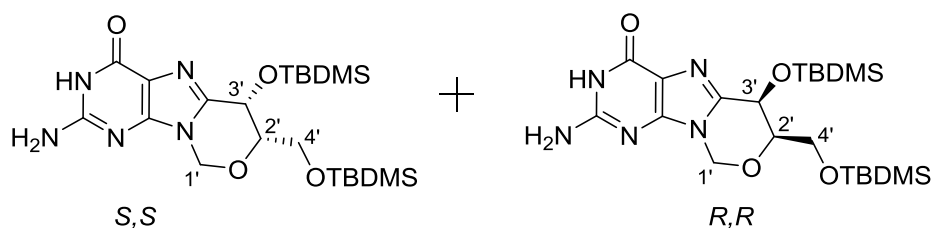
HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 251.1018; Found 252.1091 (M+H)⁺

Element Anal. Calcd for C₁₀H₁₃N₅O₄ C 41.32, H 5.67, N 21.90, O 20.01, ·HCl, ·CH₃OH; Found C 41.39, H 5.24, N 22.18%.

2.16 GENERAL PROTOCOL FOR RADICAL CYCLIZATION

The purine base (**314** or **315**) (0.178 mmol) was added into dry acetonitrile freshly distilled (20 mL), previously flushed with argon for 40 min. The mixture was refluxed under argon, and then AIBN (70 mg, 0.427 mmol) and tributyltin hydride (0.124 g, 0.427 mmol) were added then the reaction mixture was refluxed for 12 h. After cooling, the solvents were removed *in vacuo* and the crude material was purified by column chromatography on silica gel (cyclohexane/ethyl acetate/methanol 2/7/1) to give a white solid in both cases.

2.16.1 Compound 286a



(2-amino-6-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-7-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-6,7-dihydro-9*H*-[1,3]oxazino[3,4-*e*]purin-4-ol)

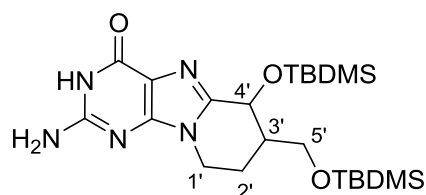
Yield: 11 mg, 13%

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.61 (s, 1H, OH), 6.50 (s, 2H, NH), 5.63 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H_{1'}), 5.31 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H_{1'}), 4.77 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, H_{3'}), 3.95 - 3.90 (m, 1H, H_{2'}), 3.89 - 3.79 (m, 2H, H_{4'}), 0.89 (s, 9H, C-CH₃), 0.83 (s, 9H, C-CH₃), 0.20 (s, 3H, Si-CH₃), 0.08 (s, 6H, Si-CH₃), -0.06 (s, 3H, Si-CH₃).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 156.7 (C₆), 153.8 (C₂), 149.1 (C₄), 142.4 (C₅), 115.8 (C₈), 79.3 (C_{2'}), 74.6 (C_{1'}), 63.3 (C_{3'}), 61.7 (C_{4'}), 25.8 (C-CH₃), 25.7 (C-CH₃), 18.0 (Si-C), 17.9 (Si-C), -4.2 (Si-CH₃), -5.31 (Si-CH₃), -5.33 (Si-CH₃), -5.4 (Si-CH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 481.2541; Found 482.2611 (M+H)⁺

2.16.2 Compound 286b



2-amino-6-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-7-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-6,7,8,9-tetrahydropyrido[1,2-*e*]purin-4-ol

Yield: 18 mg 21%

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 11.97 (s, 1H, OH), 6.23 (s, 2H, NH₂), 4.96 (d, J = 1.1 Hz, 1H, H_{4'}), 4.20 (dd, J = 12.3, 6.2 Hz, 1H, H_{1'}), 3.80 (dd, J = 9.8, 7.8 Hz, 1H, H_{5'}), 3.74 (td, J = 12.3, 5.7 Hz, 1H, H_{1'}), 3.63 (dd, J = 9.8, 6.7 Hz, 1H, H_{5'}), 2.22 – 2.12 (m, 1H, H₂), 2.04 – 1.97 (m, 1H, H₃), 1.87 (m, 1H, H₂), 0.91 (s, 9H, C-CH₃), 0.81 (s, 6H, Si-CH₃), 0.20 (s, 3H, Si-CH₃), 0.07 (s, 6H, Si-C-CH₃), -0.09 (s, 3H, Si-CH₃).

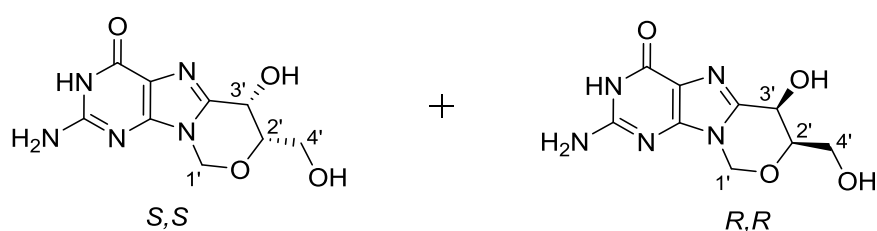
¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ : 159.4 (C₆), 153.6 (C₂), 152.1 (C₄), 147.7 (C₈), 116.3 (C₅), 63.7 (C_{4'}), 63.3 (C_{5'}), 42.5 (C_{3'}), 41.5 (C_{1'}), 29.8 (C_{2'}), 26.1 (C-CH₃), 25.9 (C-CH₃), 18.7 (Si-C), 18.4 (Si-C), -4.3 (Si-CH₃), -4.9 (Si-CH₃), -5.1 (Si-CH₃), -5.2 (Si-CH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 479.2748; Found 480.2825 (M+H)⁺

2.17 GENERAL PROTOCOL FOR DEPROTECTION OF TBDMS

The protected compound (**317** or **318**) (0.125 mmol) was added into 3 mL of the mixture THF:TFA:H₂O (4:1:1) at 0 °C. The mixture was stirred for 7 h and then it was neutralized with a saturated aqueous NaHCO₃. The solvents were removed *in vacuo* and the crude was purified by reverse phase chromatography.

2.17.1 Compound 287a



2-amino-7-(hydroxymethyl)-6,7-dihydro-9H-[3,4-e]purine-4,6-diol

Yield 17 mg 54%

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.64 (s, 1H, OH), 6.54 (s, 2H, NH₂), 5.66 (d, J = 6.3 Hz, 1H, OH), 5.56 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H_{1'}), 5.29 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H_{1'}), 4.83 (t, J = 5.5 Hz, 1H, OH), 4.54 (dd, J = 5.5, 1.9 Hz, 1H, H_{3'}), 3.85 - 3.83 (m, H_{2'}), 3.71 - 3.62 (m, 2H, H_{4'}).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 156.8 (C₆), 154.0 (C₂), 149.2 (C₄), 143.7 (C₅), 115.8 (C₈), 80.2 (C_{2'}), 74.6 (C_{1'}), 61.4 (C_{3'}), 60.0 (C_{4'})

HRMS (ESI⁺) *m/z* Calcd 253.0811; Found 254.0885 (M+H)⁺