



**HAL**  
open science

# Synthèse de nucléosides fluorescents originaux

Anissa Beghennou

► **To cite this version:**

Anissa Beghennou. Synthèse de nucléosides fluorescents originaux. Chimie organique. Sorbonne Université, 2021. Français. NNT: 2021SORUS322 . tel-03893421

**HAL Id: tel-03893421**

**<https://theses.hal.science/tel-03893421>**

Submitted on 11 Dec 2022

**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.

# Sorbonne Université

École doctorale 406 – Chimie Moléculaire Paris Centre

*Institut Parisien de Chimie Moléculaire / Équipe Chembio*

## **Synthèse de nucléosides fluorescents originaux**

Par Anissa Beghennou

Thèse de doctorat de Chimie Moléculaire

Dirigée par Dr. Candice Botuha

Présentée et soutenue publiquement le 10 décembre 2021

Devant un jury composé de :

Pr. Alain Burger	Professeur	Rapporteur
Pr. Sébastien Vidal	Professeur	Rapporteur
Dr. Julie Oble	Maitre de conférences-HDR	Examinatrice
Pr. Maité Sylla	Professeur	Examinatrice
Dr. Candice Botuha	Maitre de conférences-HDR	Directrice de thèse
Dr. Vincent Corcé	Maitre de conférences	Encadrant
Pr. Serge Thorimbert	Professeur	Invité



*A ma mère,*

*A mon père,*



# Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury, Pr. Alain Burger, Pr. Sébastien Vidal, Dr. Julie Oble et le Pr. Maité Sylla, pour l'intérêt qu'ils portent à ce projet en acceptant d'évaluer mon travail de thèse.

Je remercie le directeur de l'institut parisien de chimie moléculaire, Pr. Louis Fensterbank, et la directrice et le directeur de l'équipe Chembio, Dr. Michèle Salmain et le Pr. Serge Thorimbert, de m'avoir accueillie en tant que doctorante.

Je tiens à remercier l'ensemble des plateformes d'analyses pour leur travail remarquable, à savoir Claire Troufflard et Régina Maruchenko pour la RMN, Cédric Przybylski pour les analyses de masse et le trio Lise-Marie Chamoreau, Geoffrey Gontard et Jérémy Forte pour les analyses RX.

Je remercie chaleureusement ma directrice de thèse, Dr. Candice Botuha, et mon encadrant, Dr. Vincent Corcé, pour m'avoir permis de réaliser cette thèse, pour leur confiance et leur soutien. Je suis extrêmement reconnaissante pour l'ensemble des connaissances et compétences que vous avez sues me transmettre tout au long de cette thèse. Vous avez, chacun à votre manière, su m'encadrer et me pousser à maintenir mes efforts afin de mener à bien ce projet malgré les nombreux PCA qui ont perturbés cette dernière année et demie. J'ai apprécié travailler à vos côtés et j'en ressors grandi. Je vous remercie également pour cette bonne ambiance qui a rythmée ces 3 années (et 3 mois) de thèse.

Je remercie tout particulièrement le Pr. Serge Thorimbert, pour son regard un peu plus extérieur au projet mais qui fût très important. Force de propositions et de conseils avisés il a su m'aiguiller sur l'avancement de ce projet.

Je tiens également à remercier le Dr. Benoit Bertrand pour toutes ces conversations scientifiques et non-scientifiques que nous avons partagées au laboratoire, pour ses conseils d'ainé et pour le soutien dont il m'a fait part.

Je remercie le futur Dr. Robin Ramos avec qui j'ai commencé cette thèse. Merci pour toutes ces « pauses clope » enfin bol d'air pour ma part, qui ont rendues certaines journées plus agréables. Merci également pour ton initiation au #fluorescencefriday !

Un grand merci aux nouvelles recrues Elodie et Edwyn, qui ont apportées une vague de fraîcheur et de bonne humeur au laboratoire. Leur enthousiasme contagieux a su me redonner le sourire plus d'une fois. Je les remercie également pour tout le soutien dont ils m'ont fait part durant cette fin de thèse. Je leur souhaite d'accomplir une belle thèse.

Je remercie également Po Kai Ang pour ses encouragements et sa petite initiation au mandarin.

Mes remerciements vont également aux stagiaires, Anthony, Emma et Laura, pour leur implication dans mon projet de thèse. Vous avez su contribuer à ce travail avec sérieux et dans la bonne humeur.

Je remercie l'ensemble de l'équipe Chembio pour leur accueil au sein de l'équipe (avec mon caractère) et particulièrement Michèle et Nathalie pour ces pauses thé conviviales qui font du bien en fin de journée.

J'adresse maintenant mes remerciements à mes amis qui se sont intéressés à mon sujet de thèse et qui m'ont apporté leur soutien tout au long de ces 3 années. Je remercie plus particulièrement mes amis doctorants, Rémi, Marie, Maëva, Alexandra et Mélanie avec qui j'ai traversé cette aventure. De nos débuts de chimiste au grade de docteur, nous avons partagé tellement de moments de joie, de rigolade, de stress, de doute, d'insouciance, de fiesta, de danse, (de gueule de bois), de folie, de bêtise et d'amour ; merci pour tout ça !

Enfin je remercie profondément ma famille pour tous ces moments conviviaux passés ensemble qui sont si importants. Je vous remercie pour votre soutien, votre bienveillance et votre amour.

Je remercie mon frère et ma sœur d'être ce qu'ils sont, un soutien fraternel sans faille.

Papa, maman, merci d'avoir toujours été là pour moi, de m'avoir soutenue et fait part de vos expériences personnelles. Je vous suis infiniment reconnaissante de m'avoir inculquée vos valeurs.

# Synthèse de nucléosides fluorescents originaux

## Résumé

Les travaux présentés dans ce manuscrit de thèse décrivent la conception et l'étude de nucléosides fluorescents originaux pour la détection de processus biologiques. Dans un premier temps, la synthèse et la diversification du bicyclic 1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one sont présentées, démontrant l'intérêt de cette plateforme synthétique. Puis, une étude des propriétés photophysiques de ces structures a été menée afin d'évaluer leur potentiel en tant que nucléobases fluorescentes artificielles. La liaison de ces structures à un ribose a permis l'obtention des nucléosides fluorescents artificiels correspondant.

Dans un second temps, la structure hétérocyclique 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one a également été étudiée et a permis l'accès à une deuxième famille de nucléosides fluorescents.

**Mots-clés:** nucléosides fluorescents, nucléobases artificielles, hétérocycles, 1,6-naphthyridin-7-one, 1,2,4-triazole-pyridin-2-one

## Synthesis of new fluorescent nucleosides

### Abstract

The work presented in this manuscript describes the design and study of novel fluorescent nucleosides for the detection of biological processes. First, the synthesis and diversification of the 1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one bicyclic is presented, demonstrating the interest of this synthetic platform. Then, a study of the photophysical properties of these structures was conducted in order to evaluate their potential as artificial fluorescent nucleobases. The linkage of these structures to a ribose afforded the corresponding artificial fluorescent nucleosides.

In a second step, the heterocyclic structure 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one was also studied and allowed access to a second family of fluorescent nucleosides.

**Keywords:** fluorescent nucleosides, artificial nucleobases, heterocycles, 1,6-naphthyridin-7-one, 1,2,4-triazole-pyridin-2-one

# Table des matières

Remerciements .....	5
Résumé .....	7
Liste des abréviations.....	12
Chapitre 1 – Introduction.....	17
I. Les hétérocycles, atouts de la chimie médicinale.....	17
II. L’ADN et l’ARN : macromolécules majeures du système cellulaire.....	19
III. La fluorescence.....	24
A. Principes de fluorescence.....	24
1. L’absorption.....	26
2. L’émission.....	27
3. L’excitation .....	27
4. Le rendement quantique.....	27
5. La durée de vie .....	28
6. Le photoblanchiment .....	28
B. Mécanismes de type donneur-accepteur (« push-pull ») en fluorescence.....	29
1. Le transfert d’électron photoinduit .....	29
2. Le transfert de charge intramoléculaire.....	30
3. Le transfert d’énergie par résonance de fluorescence.....	31
4. Le transfert de proton intramoléculaire à l’état excité .....	32
C. La fluorescence au service de la biologie cellulaire .....	34
IV. Les nucléobases artificielles fluorescentes .....	37
A. État de l’art .....	37
B. Les différentes structures de nucléobases artificielles.....	42
C. Méthodes d’insertion des nucléosides et nucléotides au sein d’un oligonucléotide	49
D. Exemples d’applications des bases artificielles d’ADN et d’ARN .....	49
1. Le polymorphisme d’un seul nucléotide.....	49
2. Les interactions ADN-protéines.....	52
Conclusion .....	54
Chapitre 2 – Synthèse de nucléobases fluorescentes contenant un noyau naphthyridinone	59
.....	59
Introduction.....	59
I. Synthèse du cycle 1,6-naphthyridin-7-one .....	67
A. Introduction - méthodes générales de synthèse des 1,6-naphthyridinones.....	67

B.	Optimisation de la synthèse .....	69
C.	Diversification du bicyclic 1,6-naphthyridin-7-one .....	72
1.	Voie de synthèse du bicyclic 1,6-naphthyridin-7-one substitué en position 8 (groupement R <sup>1</sup> ) .....	73
2.	Voie de synthèse du bicyclic 1,6-naphthyridin-7-one substitué en position 4 (groupement R <sup>2</sup> ) .....	77
3.	Bilan de la diversification du cycle naphthyridinone .....	83
	Conclusion .....	84
	Chapitre 3 – Évaluation photophysique et biologique des naphthyridinones .....	87
I.	Propriétés photophysiques du bicyclic naphthyridinone .....	87
A.	Étude du cycle naphthyridinone .....	87
B.	Étude de la phényle naphthyridinone .....	92
1.	Étude du solvatochromisme .....	92
2.	Étude de l'influence du pH .....	95
C.	Calculs des rendements quantiques .....	99
II.	Étude biologique des naphthyridinones .....	104
	Conclusion .....	108
	Chapitre 4 – Synthèse d'un nucléoside fluorescent et vers son insertion dans un oligonucléotide .....	111
I.	Synthèse du nucléoside naphthyridinone .....	111
A.	1 <sup>ère</sup> stratégie : la synthèse du nucléoside naphthyridinone via un couplage de Heck .....	111
1.	Synthèse du ribal .....	114
2.	Couplage de Heck .....	116
B.	2 <sup>ème</sup> stratégie : Synthèse du nucléoside naphthyridinone par chimie de click .....	119
C.	3 <sup>ème</sup> stratégie : Synthèse du nucléoside naphthyridinone via une réaction click en tant qu'étape intermédiaire .....	124
D.	Bilan de la synthèse des nucléosides artificiels .....	131
II.	Propriétés spectroscopiques des nucléosides .....	132
A.	Spectre d'absorption des nucléosides .....	133
B.	Spectres d'émission des nucléosides .....	134
III.	Vers l'insertion de nucléosides fluorescents dans un oligonucléotide .....	135
A.	Les méthodes d'insertion d'un nucléoside ou nucléotide .....	136
1.	La synthèse supportée sur phase solide .....	136
2.	La voie enzymatique .....	139
3.	L'insertion post-synthétique .....	141
B.	Vers la transformation des nucléosides en nucléosides phosphoramidites .....	144

Conclusion .....	147
Chapitre 5 – Synthèse de nucléosides fluorescents contenant un noyau 1,2,4-triazole...	151
Introduction.....	151
I. Synthèse de 3-(3-phenyl-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1 <i>H</i> )-ones .....	154
II. Stratégies de synthèse de nucléosides 1,2,4-triazoles.....	157
A. Synthèses par <i>N</i> -glycosylation.....	157
B. Synthèse par substitution nucléophile S <sub>N</sub> 2.....	161
C. Synthèse via un mécanisme ANRORC.....	164
1. Synthèse du ribose hydrazine.....	165
2. Synthèse du nucléoside (3-(3-phenyl-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1 <i>H</i> )-one via un processus ANRORC .....	166
III. Propriétés photophysiques des 3-(3-phenyl-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1 <i>H</i> )-ones et de leur forme nucléoside .....	168
A. Absorbance et fluorescence des 3-(3-phenyl-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1 <i>H</i> )-ones .....	169
1. L'absorbance.....	170
2. La fluorescence.....	171
B. Absorbance et fluorescence des nucléosides 3-(3-phenyl-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1 <i>H</i> )-ones.....	172
1. L'absorbance.....	173
2. La fluorescence.....	174
Conclusion .....	176
Chapitre 6 – Synthèse d'hétérocycles azotés originaux .....	181
Introduction.....	181
I. Synthèse et mise au point des structures 5,8-dihydro-7 <i>H</i> -pyrano[4,3- <i>b</i> ]pyridin-7-ones .....	186
A. Méthode A.....	187
B. Méthode B.....	188
C. Méthode C.....	191
II. Vers la synthèse de structures semi-rigides .....	193
III. Exploration synthétique de la 7 <i>H</i> -pyrano[4,3- <i>b</i> ]pyridin-7-one .....	195
A. Travail préliminaire.....	195
B. Voie des oxydations .....	196
C. Via une cyclisation finale.....	198
Conclusion .....	204
Conclusion générale.....	209
Experimental section .....	215

Bibliographie.....	287
Annexes.....	297
Table des illustrations.....	299

## Liste des abréviations

2-AP: 2-aminopurine  
6-MAP: 6-méthylamino ptéridine  
3-MI: 3-Méthyle Isoxanthoptérine  
6-MI: 6-Méthyle Isoxanthoptérine  
A : adénine  
Abs : absorption  
ACE : 2'-*O*-bis(2-acétoxyethoxy)methyl orthoester  
ACN: acétonitrile  
ADN : acide désoxyribonucléique  
AIE : émission induite par agrégation  
APTS: acide *paratoluènesulfonique*  
ARN : acide ribonucléique  
ATP: adénosine triphosphate  
Bn : benzyle  
BnBr: bromure de benzyle  
BNPP : bis(*para*-nitrophenyl)phosphate  
BODIPY : boron dipyrromethene  
BPP: benzopyridopyrimidine  
C : cytosine  
CCM: chromatographie sur couche mince  
CTP: cytidine triphosphate  
CuAAC : Copper-catalyzed Alkyne Azide Cycloaddition  
DABCO : 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octane  
DAPI : 4',6-diamidino-2-phénylindole  
DBU : 1,8-diazabicycloundéc-7-ène  
DCM: dichlorométhane  
dC<sup>PPI</sup>:pyrimidopyrimidoindole  
DIPEA : diisopropyléthylamine  
DMAP: diméthylamino pteridine

DMF: N,N-diméthylformamide  
DMSO : diméthylsulfure  
DMTr: diméthoxytrityle  
dNTP: désoxy nucléotide triphosphate  
dppp : 1,3-bis(diphénylphosphino)propane  
EDTA : Éthylènediaminetétraacétique  
Em : émission  
éq. : équivalent  
ESI: ionisation electrospray  
ESIPT : excited state intramolecular proton transfer  
Ex : excitation  
FISH : fluorescence in situ hybridization  
FRET : fluorescence resonance energy transfer  
G : guanine  
GTP: guanosine triphosphate  
HOMO : highest occupied molecular orbital  
I : intensité  
ICT : intramolecular charge transfer  
IgE: immunoglobuline E  
LC-MS : chromatographie en phase liquide – spectrométrie de masse  
Lec : cellules électrochimiques électroluminescentes  
LiHMDS : lithium hexaméthylidisilazane  
LUMO : lowest unoccupied molecular orbital  
<sup>MD</sup>A : méthoxybenzodeazaadénine  
<sup>MD</sup>I: méthoxybenzodeazaionisine  
Mp: melting point  
MW : microwaves  
NBS : N-bromosuccinimide  
NMP : N-méthyl-2-pyrrolidinone  
NTP: nucléotide triphosphate  
PBS : phosphate buffered saline  
PCR: polymerase chain reaction

PDGF: platelet derived growth factor (facteur de croissance dérivé des plaquettes)

PET: photoinduced electron transfer

PNA : peptide nucleic acid

Pol $\theta$  : polymérase  $\theta$

T : thymine

t.a: température ambiante

TBS (ou TBDMS) : *tert*-butyldiméthylsilyle

tC : 1,3-diaza-2-oxophethiazine

THF : tétrahydrofurane

TMS: triméthylsilyle

TMSA: triméthylsilylacétylène

TMSOTf: triflate de triméthylsilyle

TPPTS: sel de trisodium tris(3-sulfophényl)phosphine)

Tol: toluole

TOM : triisopropylsilyloxyméthyle

TTP: thymidine triphosphate

RMN : résonance magnétique nucléaire

rt: room temperature

RX : rayon X

S<sub>N</sub>Ar : substitution nucléophile aromatique

U : uracile

UV : ultraviolet

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

# Chapitre 1 : Introduction



# Chapitre 1 – Introduction

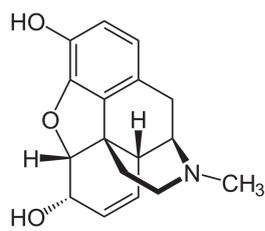
## I. Les hétérocycles, atouts de la chimie médicinale

La chimie hétérocyclique est un domaine d'intérêt majeur au sein de la chimie organique. En effet, de très nombreuses molécules naturelles ou synthétiques d'intérêt comportent des noyaux hétérocycliques ce qui suscite l'attention des chimistes mais aussi des biologistes.

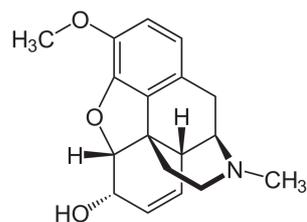
Un hétérocycle est par définition une structure cyclique composée d'au moins un hétéroatome qui n'est pas un carbone. Ces atomes sont le plus souvent de l'azote, de l'oxygène, du soufre ou encore du phosphore pour les hétérocycles simples.<sup>1</sup>

Nous allons donner ci-après plusieurs exemples de composés hétérocycliques d'intérêt comme illustration de l'importance de cette famille de molécules dans le monde du vivant.

Initialement, l'Homme a eu recours en premier lieu à une médecine naturelle issue de plantes. A l'époque, la phytothérapie était très utilisée sans même avoir conscience que ses bienfaits provenaient, en réalité, des principes actifs que contiennent les plantes. Principes actifs, qui sont aujourd'hui mieux connus et au sein desquels nous retrouvons différents hétérocycles. Le pavot somnifère (*Papaver somniferum*), plante ancestrale de la phytothérapie, produisant de l'opium, est une substance connue pour contenir une grande quantité de morphine et de codéine (Figure 1). Ces deux substances contenant un cycle tétrahydrofurane et N-méthylpipéridine sont très utilisées en médecine en tant qu'antalgique et analgésique.



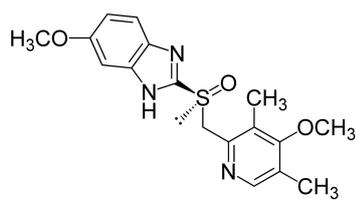
Morphine



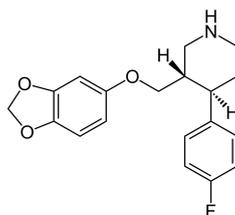
Codéine

Figure 1 Structures de la morphine et de la codéine

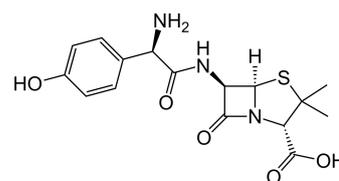
La plupart des principes actifs des médicaments les plus utilisés (65%) comportent un noyau hétérocyclique ce qui montre bien leur importance en chimie thérapeutique (Figure 2).<sup>2</sup>



L'omeprazole (anti-ulcéreux)



Paroxétine (anti-dépresseur)



L'amoxicilline (antibiotique)

Figure 2 Exemples de structures de principes actifs

Les possibilités de structure et de fonctionnalisation des hétérocycliques sont presque infinies ce qui en fait des cibles de choix pour les chimistes organiciens.

Un nombre important de molécules hétérocycliques constitue notre organisme et servent essentiellement à notre fonctionnement. On peut citer un des exemples phares, et qui est pour nous le plus important ici, l'acide désoxyribonucléique ou ADN.

## II. L'ADN et l'ARN : macromolécules majeures du système cellulaire

L'ADN est le support de notre information génétique et est propre à chacun. Il s'agit de la macromolécule la plus importante pour les êtres vivants car elle permet le développement, le fonctionnement mais aussi la reproduction du monde vivant.

L'ADN a été isolé et identifié pour la première fois en 1869 par F. Miescher.<sup>3</sup> Cette structure majeure a ensuite été élucidée par J. Watson, F. Crick et R. Franklin et a été publiée dans la revue Nature en 1953.<sup>4</sup> Elle est définie comme étant une hélice double brins antiparallèles (Figure 4a). En effet, l'ADN se compose de 2 brins qui s'enroulent entre eux autour d'un même axe et dans un sens opposé. Chaque brin est constitué d'un enchainement de monomères nommés nucléotides. Un nucléotide est composé d'une base hétérocyclique, appelée nucléobase, reliée à un ose, le désoxyribose, et un groupement phosphate en position 5' du désoxyribose. Les nucléotides sont reliés entre eux par le groupement phosphate en position 5' et l'hydroxyle en positions 3' du nucléotide adjacent formant ainsi un polynucléotide (Figure 4b).<sup>5</sup>



Figure 4a Structure hélicoïdale de l'ADN

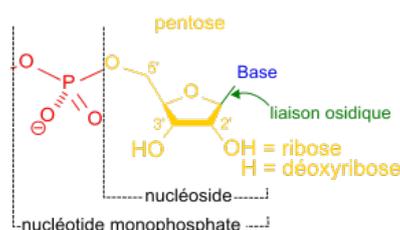


Figure 4b Structure d'un nucléoside et nucléotide

L'ADN est composé de 4 bases nucléiques : l'adénine, la guanine, la thymine et la cytosine. Leur nature varie selon la structure de la base nucléique (Figure 5). Les bases A et G correspondent à des hétérocycles de type purine alors que C et T correspondent à des hétérocycles de type pyrimidine.<sup>6</sup>

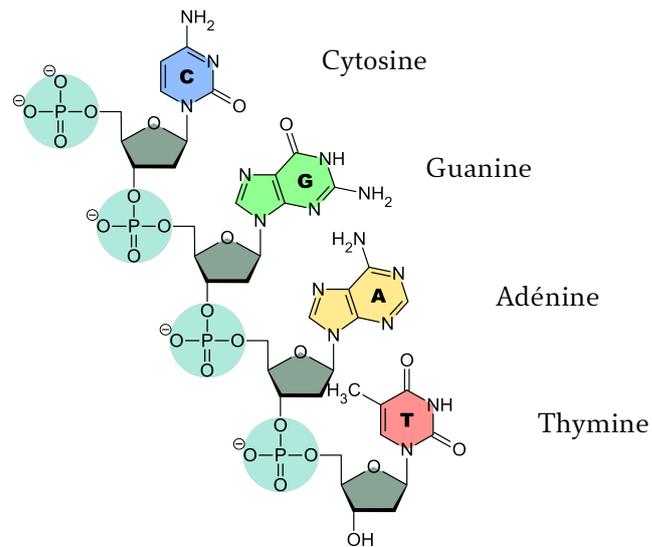


Figure 5 Structures des 4 bases de l'ADN

Les nucléobases s'apparient de façon spécifique en s'associant deux à deux par des liaisons hydrogène. Ce phénomène est appelé la complémentarité des bases.<sup>7</sup> La guanine se lie avec la cytosine à l'aide de 3 liaisons hydrogène alors que l'adénine et la thymine ne font intervenir que 2 liaisons hydrogène (Figure 6). L'utilisation exclusive de bases purines ou pyrimidines permet notamment une géométrie régulière de l'hélice.

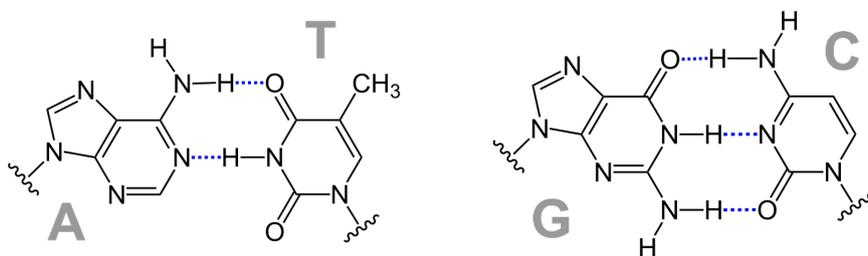


Figure 6 Appariement spécifique des bases nucléiques

L'enchaînement des nucléotides le long d'un brin d'ADN constitue la séquence de ce brin. Celle-ci est structurée en gènes qui sont exprimés à travers la transcription en acide ribonucléique ou ARN.

L'ARN est le deuxième polynucléotide majeur des cellules vivantes (Figure 7). Sa composition est semblable à celle de l'ADN par la présence d'un ose, d'une nucléobase et d'une liaison phosphodiester entre chaque base. Cependant, il diffère par l'utilisation d'un ribose au lieu d'un désoxyribose pour l'ADN.<sup>8</sup> De plus, une des 4 bases d'ADN n'est pas retrouvée dans l'ARN. Il s'agit de la thymine qui est remplacée par l'uracile. L'ARN est

présent dans les cellules sous forme de simple brin et représente des segments plus courts de quelques centaines à quelques milliers de bases contre quelques millions pour l'ADN.

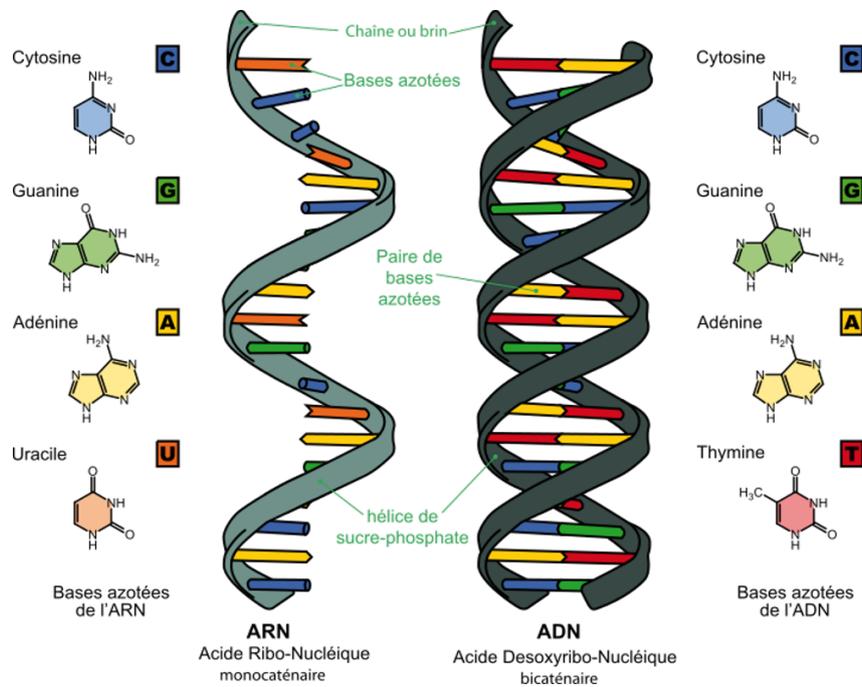


Figure 7 Comparaison entre la composition de l'ARN et de l'ADN

L'ARN est obtenu par transcription de l'ADN et correspond donc à une copie d'une région de l'ADN. Ces bouts d'ARN peuvent être non codants (ARN de transfert et ARN ribosomique) ou bien codants, il s'agit dans ce cas d'ARN messagers qui sont ensuite traduits en protéines par des ribosomes.

Sur le plan structural, la présence d'un atome d'oxygène sur la position 2' du ribose influence sa conformation. Cet hétérocycle à cinq atomes n'est pas plan, ce qui conduit à deux conformères principaux du sucre, appelés C2'-endo et C3'-endo. L'ARN comportant un atome d'oxygène en position 2' adopte alors la conformation C3'-endo de manière privilégiée.<sup>9</sup> A la différence de la conformation observée pour l'ADN, où le désoxyribose est en conformation C2'-endo (Figure 8).

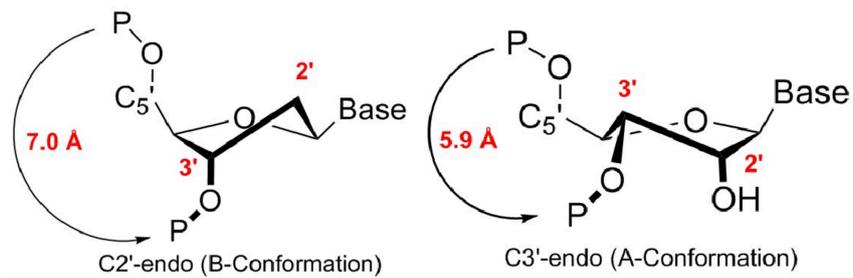


Figure 8 Conformations C2'-endo et C3'-endo

La présence de cet hydroxyle supplémentaire en position 2' apporte de la stabilité à la structure C3'-endo par rapport à la C2'-endo.

La double hélice d'ADN est, quant à elle, stabilisée essentiellement par deux forces : les liaisons hydrogène entre les nucléotides d'une part et les interactions d'empilement  $\pi$  des cycles aromatiques des bases nucléiques d'autre part.<sup>10</sup> De ce fait, plus un brin d'ADN est long plus il sera stable, en particulier si les séquences d'appariements G-C sont nombreuses car ces bases forment 3 liaisons hydrogène. Dans l'environnement aqueux de la cellule, les liaisons  $\pi$  conjuguées des bases s'alignent perpendiculairement à l'axe de l'hélice d'ADN afin de minimiser leurs interactions avec la couche de solvatation et ainsi minimiser leur enthalpie libre. Les nucléobases se retrouvent alors à l'intérieur de l'hélice et la partie osidique avec les liaisons phosphodiester sont vers l'extérieur des doubles brins.

Cette structure en double hélice forme ainsi un grand sillon (12 Å) et un petit sillon (6 Å) (Figure 9).<sup>11</sup> Ces sillons donnent accès à des sites de liaisons par interactions faibles au sein de l'ADN. Diverses molécules telles que les facteurs de transcription peuvent ainsi s'y lier spécifiquement afin de réguler la transcription des gènes par exemple.<sup>12</sup>

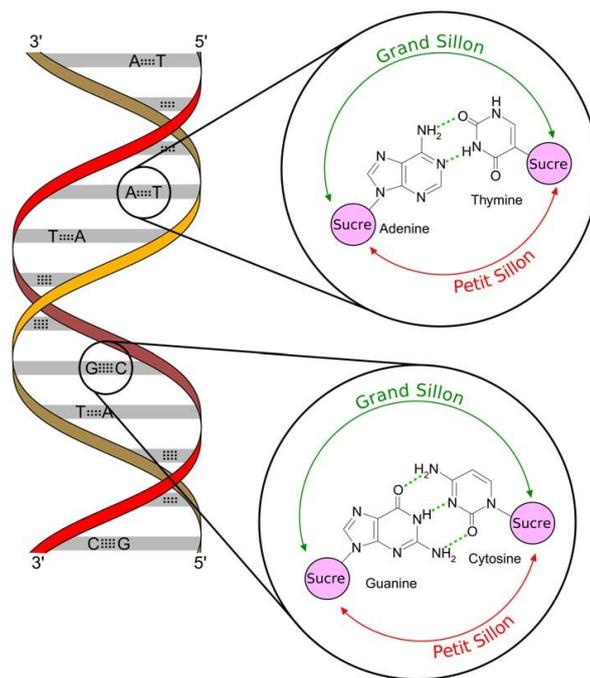


Figure 9 Représentation du grand sillon et du petit sillon de l'ADN

De nombreux travaux de recherche ont été menés sur ces deux macromolécules afin de mieux comprendre leur composition, leur structure, leur fonction et leur intérêt au sein de nos cellules. De nos jours, le fonctionnement de l'ADN et de l'ARN sont bien connus des chercheurs mais restent un enjeu important en science moléculaire. En effet, de nombreuses maladies sont issues de perturbations génétiques présentes dans l'ADN. De plus, l'ADN étant le garant de l'hérédité du génome humaine, il est d'autant plus important de comprendre l'ensemble des mécanismes dans lesquels ces molécules pourraient être impliquées. C'est pour cela qu'une recherche encore très active autour des molécules d'ADN et d'ARN est toujours d'actualité.

Afin d'apporter des outils supplémentaires aux biologistes dans l'études de ces macromolécules, des chimistes ont proposés d'élaborer des nucléobases fluorescentes. En effet, la fluorescence est un outil de détection puissant en biologie moléculaire. Il s'agit d'une technique d'analyse sensible, simple, direct et facile à mettre en œuvre.

L'utilisation de fluorophores pour la détection et le suivi de biomolécules du système cellulaire est commun et largement décrit. Cependant, le recours à l'accrochage de fluorophores pour une structure contrainte et particulière telle que l'ADN s'avère être limité. En effet, comme nous avons pu le voir précédemment, la structure de l'ADN est définie par plusieurs paramètres tels que l'usage du même sucre, de l'utilisation de seulement 4 bases nucléiques comprenant que 2 noyaux hétérocycliques, une taille et une

dimension bien précise de chaque élément, qui permettent d'obtenir une double hélice stable.

Nous proposons dans ce chapitre d'introduire les intérêts et les enjeux de développer des bases d'ADN et/ou d'ARN artificielles fluorescentes ainsi que de résumer les travaux qui ont déjà été réalisés jusqu'à présent dans ce domaine d'étude.

Nous allons dans un premier temps aborder la notion de fluorescence.

### III. La fluorescence

#### A. Principes de fluorescence

La fluorescence est un phénomène de photoluminescence qui se caractérise par une émission de lumière après absorption de photons.<sup>13</sup>

Une molécule est considérée comme fluorescente si elle a la capacité d'absorber un ou plusieurs photons et de les réémettre à une plus grande longueur d'onde.<sup>14</sup> Pour mieux comprendre ce phénomène nous pouvons nous appuyer sur le diagramme de Perrin-Jablonski (Figure 10).<sup>15,16</sup> Ce diagramme représente les états électroniques d'une molécule. L'état électronique fondamental est noté  $S_0$  et les états électroniques excités sont notés  $S_1$ ,  $S_2$  (pour les singulets) ou  $T_1$  (pour les triplets). Ces transitions reflètent les mouvements possibles des électrons lors d'une excitation radiative de la lumière. Ainsi, lorsqu'une molécule fluorescente est irradiée, elle absorbe un photon la faisant passer d'un état fondamental  $S_0$  à un état excité  $S_1$  ou  $S_2$ . Puis par relaxation, elle va pouvoir réémettre des photons à une longueur d'onde plus haute, lui permettant de retourner à un état énergétique plus faible. Cette différence entre la longueur d'onde d'excitation et la longueur d'onde d'émission est appelée déplacement de Stokes (Figure 11).<sup>17</sup> Plus cet écart est important moins les spectres d'absorption et d'émission auront de chance de se superposer et plus il sera aisé de travailler avec le fluorophore.

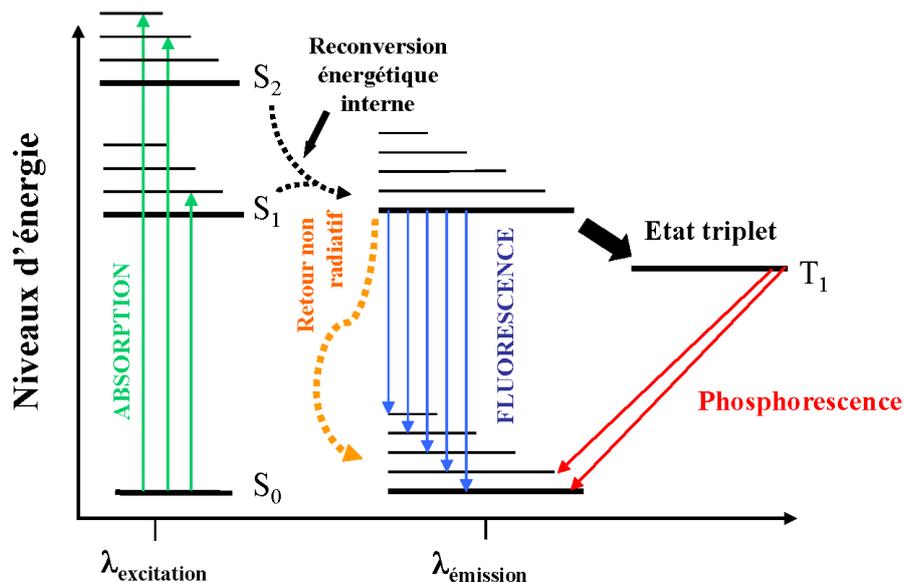


Figure 10 Diagramme de Perrin-Jablonski

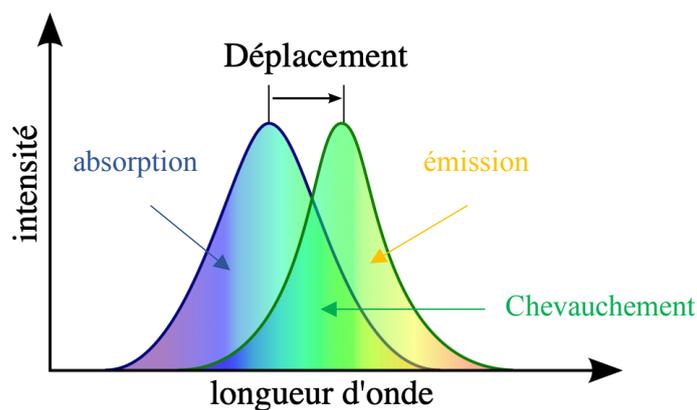


Figure 11 Déplacement de Stokes

Les propriétés photophysiques d'une molécule se caractérisent par plusieurs paramètres tels que la longueur d'onde d'absorption ( $\lambda_{\text{abs}}$ ), la longueur d'onde d'excitation ( $\lambda_{\text{ex}}$ ), la longueur d'onde d'émission ( $\lambda_{\text{em}}$ ), le coefficient d'absorption molaire ( $\epsilon$ ), le rendement quantique de fluorescence ( $\phi$ ) et la durée de vie de fluorescence ( $\tau$ ).

L'ensemble de ces paramètres est mesurable grâce à un spectromètre UV-visible et à un spectrofluorimètre. Ces appareils permettent d'enregistrer des spectres pour des longueurs d'onde allant de l'UV jusqu'au proche infra-rouge (Figure 12).

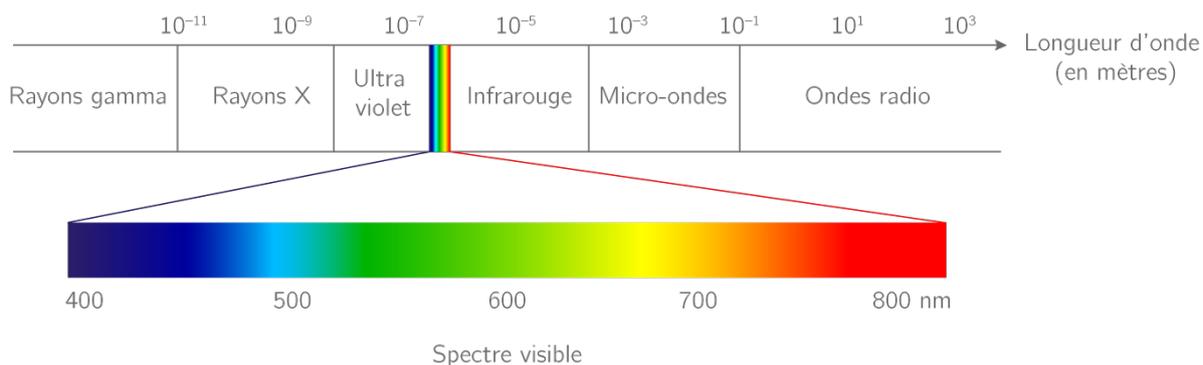


Figure 12 Gamme du spectre de la lumière visible

## 1. L'absorption

Le spectre d'absorption représente la quantité de lumière absorbée par l'échantillon en fonction de la longueur d'onde, donnant ainsi la gamme spectrale de la molécule étudiée. La mesure s'effectue sur une partie du spectre de la lumière blanche allant de l'UV jusqu'au visible et permet d'accéder à l'absorbance maximum  $A$ , et donc au  $\lambda_{\max}$  d'absorption. Cette valeur d'absorbance permet également d'obtenir le coefficient d'absorption molaire  $\varepsilon$  selon la loi de Beer-Lambert. Ce coefficient exprime l'efficacité avec laquelle une molécule absorbe la lumière dans un solvant donné.

$$A = \varepsilon \times l \times c$$

Avec  $A$  : l'absorbance

$\varepsilon$  : le coefficient d'absorption molaire en  $L^{-1} \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

$l$  : la longueur de la cuve en cm

$c$  : la concentration de l'échantillon en  $mol \cdot L^{-1}$

Le spectre d'absorption regroupe les longueurs d'onde d'excitation de toutes les formes d'un composé (conformère, tautomère).

## 2. L'émission

Le spectre d'émission est obtenu par relaxation de l'énergie absorbée par une molécule à l'état fondamental sous forme de lumière, c'est un processus radiatif. Le spectre d'émission reflète ainsi la distribution de la probabilité des diverses transitions à partir du plus bas niveau vibrationnel de  $S_1$  vers les divers niveaux vibrationnels de  $S_0$ . L'émission correspond à une longueur d'onde d'excitation définie. Une excitation de l'échantillon à la longueur d'onde d'absorption maximum donnera alors le spectre de fluorescence le plus intense.

Cependant, il existe des processus de désexcitation non radiatifs, qui correspondent à des mécanismes de relaxation non associés à une émission de photon, tels que la relaxation vibrationnelle, la conversion inter-système singulet-triplet, le transfert d'électron, la séparation de charges ou encore des réactions chimiques à l'état excité. Ainsi, la totalité de l'énergie absorbée n'est pas nécessairement réémise à 100% par de la lumière, ce qui engendre alors une intensité de fluorescence plus ou moins importante selon les processus de désexcitation de la molécule.

## 3. L'excitation

Bien que semblable au spectre d'absorption, le spectre d'excitation montre quant à lui, une seule forme du composé. De ce fait, si le spectre d'émission comporte plusieurs bandes émettrices alors il est possible de savoir si elles proviennent d'une seule ou de plusieurs formes de la molécule.

## 4. Le rendement quantique

L'un des paramètres importants est le rendement quantique de fluorescence. Il permet d'évaluer la capacité d'une molécule à émettre des photons par fluorescence et ainsi connaître son potentiel en tant que sonde fluorescente.

Le rendement quantique correspond au nombre de photons émis divisé par le nombre de photons absorbés. Sa valeur est comprise entre 0 et 1 avec un maximum de désexcitation radiatif lorsqu'elle vaut 1. Autrement dit, plus le rendement quantique d'un fluorophore

est proche de 1 plus son émission est efficace. Le rendement quantique rend compte de la compétition entre les différents types de processus de désexcitation, radiatifs et non radiatifs. Pour déterminer ce paramètre de manière absolue, un spectrofluorimètre équipé d'une sphère d'intégration est nécessaire. Cependant, toutes les équipes de recherche ne sont pas dotées de ce type d'appareil onéreux. Des chimistes ont ainsi mis au point une méthode afin de mesurer le rendement quantique de manière relative. Pour cela, le rendement quantique de fluorescence du composé étudié est évalué par rapport à un composé de référence ayant un rendement quantique connu et caractérisé dans la littérature.<sup>18</sup> Afin de minimiser les incertitudes de mesure le composé de référence est choisi en fonction de la gamme d'émission du composé à caractériser, c'est-à-dire que les deux composés doivent émettre dans des longueurs d'onde semblables.

## 5. La durée de vie

La durée de vie de fluorescence représente le temps durant lequel la molécule reste à l'état excité, c'est-à-dire le temps que la molécule met à passer de l'état excité à l'état fondamental. Pour une fluorescence classique de composés organiques, la durée de vie de fluorescence est de l'ordre de la nanoseconde. Le temps de vie de fluorescence permet de donner des informations complémentaires aux mesures standard de déplacement et d'intensité de fluorescence.

## 6. Le photoblanchiment

Lors des mesures de fluorescence de composés, un photoblanchiment peut être observé. Ce phénomène correspond à une diminution ou extinction complète de la fluorescence après une excitation prolongée. En effet, le fluorophore peut être engagé, à l'état excité, dans des réactions photochimiques avec le dioxygène par exemple, formant ainsi des radicaux libres au lieu de réémettre les photons absorbés. Ce processus non radiatif entraîne donc une diminution de l'émission de fluorescence du composé. Ce phénomène

peut alors être une limite d'utilisation d'une molécule en tant que sonde fluorescente notamment dans le cadre de la microscopie à fluorescence.

L'ensemble de ces paramètres permet une évaluation globale d'un fluorophore, en fonction de l'objectif et de l'intérêt de son utilisation. Néanmoins, d'autres caractéristiques peuvent être pris en compte pour évaluer un fluorophore et notamment son éligibilité à certains mécanismes de fluorescence pouvant augmenter son intérêt d'utilisation. En effet, la composition structurale de certaines molécules permet un phénomène électronique nommé effet « push-pull ». Ce terme repose sur la présence, au sein de la molécule, d'une fonction possédant un effet électronique donneur (effet mésomère donneur ou charge négative) et d'une fonction possédant un effet électronique accepteur (effet mésomère attracteur, lacune électronique ou charge positive). Cette opposition électronique des deux fonctions peut engendrer un déplacement des électrons de la fonction donneuse vers la fonction attractive à travers plusieurs mécanismes.

## B. Mécanismes de type donneur-accepteur (« push-pull ») en fluorescence

Nous allons voir ici les 4 mécanismes principaux de type donneur-accepteur ; le PET (Photo-induced Electron Transfer), Le ICT (Excited-state Intramolecular Charge Transfer), le FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) et l'ESIPT (Excited State Intramolecular Proton Transfer).

### 1. Le transfert d'électron photoinduit

Le transfert d'électron photoinduit (PET) est issu d'une désexcitation d'un électron par un transfert d'électron photo-induit via un processus d'oxydo-réduction. Ce phénomène est réalisable pour des sondes fluorescentes composées généralement de 3 parties ; le fluorophore, un site de reconnaissance et une chaîne reliant les deux parties. Le site de reconnaissance possède plusieurs potentiels d'oxydation et peut alors agir en tant que

donneur ou accepteur d'électron.<sup>19</sup> Il existe deux types de transfert d'électron photoinduit, le PET et le PET inversé. Généralement, l'état électronique  $S_0$  correspond à l'orbitale HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) et l'état  $S_1$  correspond à l'orbitale LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital). Lorsque les orbitales HOMO (état  $S_0$ ) et LUMO (état  $S_1$ ) du fluorophore sont plus basses en énergie que celles du site de reconnaissance alors un transfert d'électron peut se faire du site de reconnaissance vers le fluorophore, ce qui engendre une inhibition de la fluorescence. Cela correspond au PET. Dans le cas contraire, le transfert d'électron se fait du fluorophore vers le site de reconnaissance ce qui aboutit à une émission de fluorescence, correspondant au PET inversé (Figure 13). En d'autres termes, lors d'un phénomène de PET une extinction de fluorescence est observée, nommé « système on-off » alors que pour le PET inversé se caractérise par une apparition de fluorescence, nommé « système off-on ».

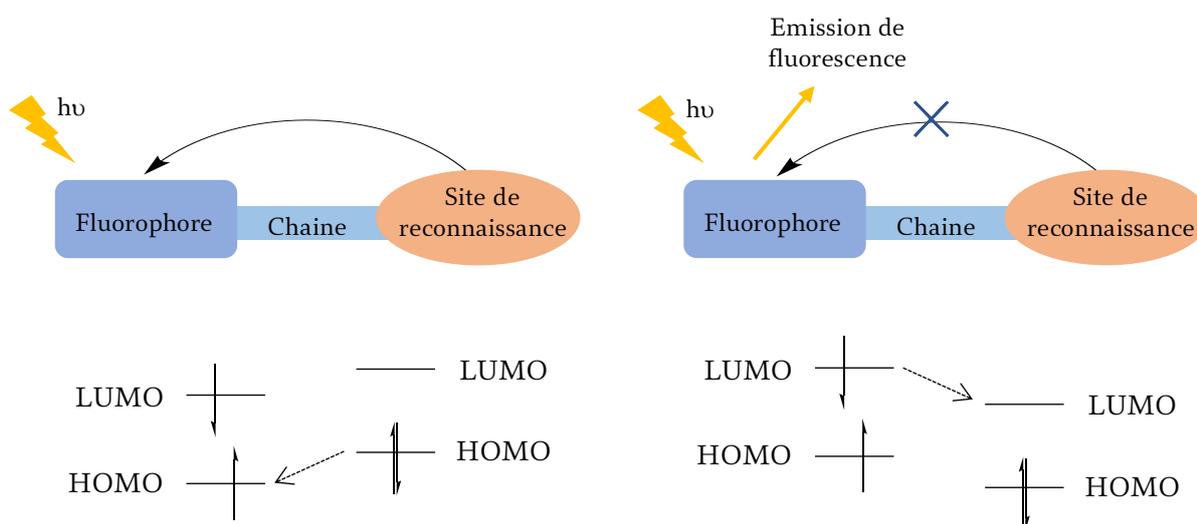


Figure 13 Représentation des mécanismes de PET et PET inverse

## 2. Le transfert de charge intramoléculaire

Le transfert de charge intramoléculaire (ICT), implique la présence de deux fonctions chimiques dont une avec un effet électro-donneur et une avec un effet électro-accepteur. L'énergie du transfert de charge dépend ainsi des capacités donneuses et acceptrices des deux groupements.<sup>20</sup> Lors de l'excitation du fluorophore un transfert de charge s'opère entre l'entité donneuse et l'entité acceptrice engendrant une augmentation du moment

dipolaire. Ceci explique la variation du déplacement de Stokes qui est lui-même dépendant de la polarité du solvant ainsi que du microenvironnement de la molécule.

### 3. Le transfert d'énergie par résonance de fluorescence

Le transfert d'énergie par résonance de fluorescence (FRET), est défini comme un transfert d'énergie non radiatif résultant d'une interaction dipôle-dipôle entre deux molécules, une donneuse et une acceptrice d'énergie.<sup>21</sup> Ce transfert n'est possible que si les conditions établies par Förster sont respectées.<sup>22</sup> Pour cela, il est nécessaire que le spectre d'émission de la molécule donneuse recouvre au moins partiellement le spectre d'absorption de la molécule acceptrice (Figure 14).

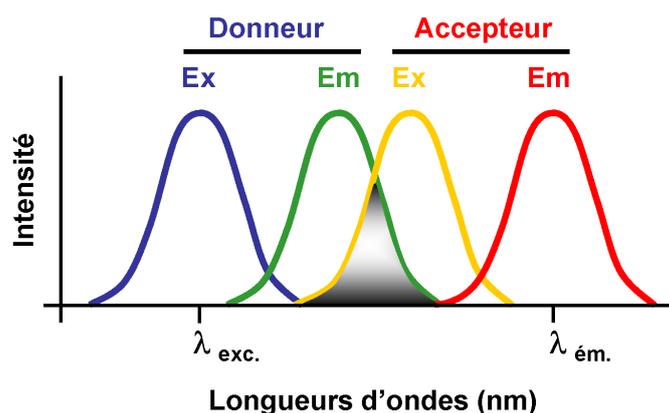


Figure 14 Recouvrement du spectre d'émission du donneur et du spectre d'absorption de l'accepteur

Une certaine distance entre les deux molécules doit également être respectée. Cette distance correspond au rayon de Förster noté  $R_0$ , et est défini comme la distance donneur-accepteur pour laquelle le transfert d'énergie non radiatif sur l'accepteur est égal à 50% (Figure 15).



Figure 15 Conditions de distance entre les fluorophores pour réaliser du FRET

Pour obtenir un phénomène de FRET efficace et exploitable un recouvrement minimum de 30% est nécessaire entre le spectre d'émission du donneur et le spectre d'absorption de l'accepteur (Figure 14).<sup>23</sup> De plus, la distance entre les deux molécules doit être inférieure ou égale à  $R_0$  ce qui correspond à une distance généralement comprise entre 1 et 10 nm (Figure 16).<sup>24,25</sup>

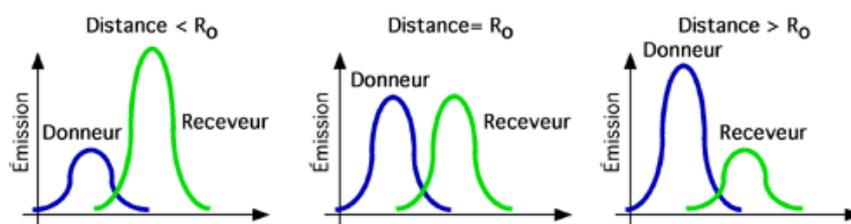


Figure 16 Influence de la distance par rapport à  $R_0$  sur l'émission du receveur

#### 4. Le transfert de proton intramoléculaire à l'état excité

Le transfert de proton intramoléculaire à l'état excité (ESIPT) décrit pour la première fois par Weller<sup>26</sup> correspond à une relaxation du fluorophore par transfert d'un proton qui s'effectue par tautomérisation. Ce processus est donc possible lorsque le fluorophore comporte un proton acide, souvent des groupements hydroxyles ou amino (représentant l'entité donneuse), conjuguée à un hétéroatome possédant un doublet non liant basique, jouant le rôle d'accepteur de proton.<sup>27</sup> Il s'agit d'un processus photochimique à 4 niveaux d'énergie. Les fluorophores présentant un phénomène d'ESIPT sont sous la forme énol (E) à l'état fondamental. A l'état excité, la forme énol excitée ( $E^*$ ) tautomérise en forme cétone excitée ( $K^*$ ). Enfin, le retour à l'état fondamental (K) s'accompagne d'une émission de

fluorescence et le retour à la forme énol (K)→(E) se fait par transfert inverse de proton, selon un processus non radiatif (Figure 17).

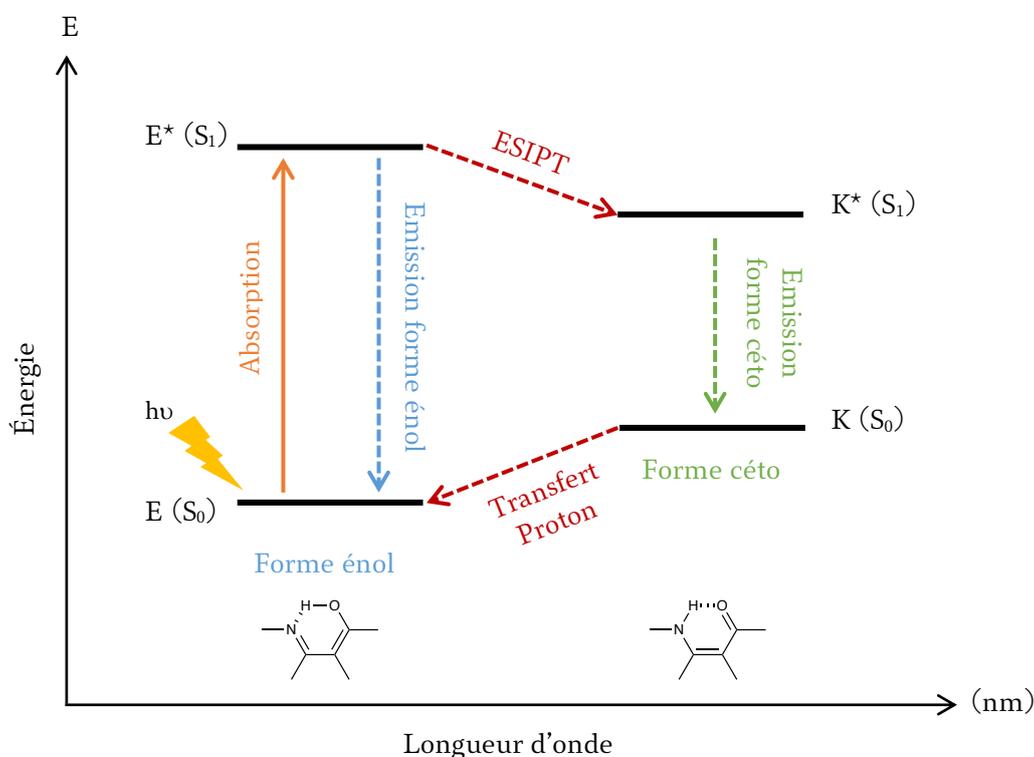


Figure 17 Représentation schématique du phénomène d'ESIPT

La possibilité d'obtenir un large déplacement de Stokes (~200 nm) constitue l'avantage majeur de ce phénomène.<sup>28</sup>

Néanmoins, le phénomène d'ESIPT est connu pour être perturbé par l'environnement de la molécule et notamment par le solvant, le pH du milieu ou bien la présence d'ions. En effet, ce mécanisme de transfert de proton peut être inhibé en milieu protique par le biais d'interactions avec le solvant, favorisant ainsi l'émission de la forme énol. A l'inverse, avec un solvant aprotique l'émission des deux formes sera visible avec généralement une prédominance pour l'émission provenant de la forme céto. Le pH du milieu joue également un rôle important lors du phénomène ESIPT puisqu'une protonation ou une déprotonation du fluorophore devient possible selon les conditions utilisées, engendrant une exacerbation de la fluorescence.<sup>29</sup> Le phénomène d'ESIPT peut également être perturbé lors de la présence de cation ou d'anion métalliques dans le milieu, ce qui constitue un avantage pour la mise au point de fluorophores détecteurs d'ions.<sup>30</sup>

Les sondes fluorescentes possédant un mécanisme d'ESIPT sont sélectives et sensibles à leur environnement, elles sont par conséquent des outils d'analyse très appréciés. Cependant, ce type de sondes possèdent des rendements quantiques peu élevés car lors du processus d'ESIPT, la dernière étape de retour à l'état fondamental par transfert inverse de proton est un processus non radiatif. Malgré tout, une amélioration du rendement quantique est possible en couplant l'ESIPT au mécanisme d'ICT.<sup>31</sup>

Les études de fluorescence présentent l'avantage d'être très sensibles et permettent d'effectuer des expériences à des concentrations faibles de l'ordre du nanomolaire. Les propriétés de fluorescence d'un composé varient avec le milieu car elles sont dépendantes des états électroniques des molécules. Ainsi, toute interaction physique influençant les transitions électroniques aura un effet sur la fluorescence comme par exemple, la variation du pH<sup>32</sup>, la polarité du solvant<sup>33,34</sup>, ou encore des interactions intermoléculaires.

Ces propriétés font de la fluorescence une technique de choix en biologie pour l'étude des structures<sup>35</sup> et pour la compréhension des mécanismes au niveau cellulaire<sup>36</sup> mais elle est également très utilisée en chimie pour étudier et comprendre les interactions entre molécules.<sup>37,38</sup>

### C. La fluorescence au service de la biologie cellulaire

Il existe de nombreuses familles de sondes fluorescentes organiques.<sup>39</sup> Les petites molécules telles que les cyanines, les rhodamines, les BODIPY ou encore la fluorescéine sont devenues des références dans ce domaine (Figure 18).<sup>40</sup>

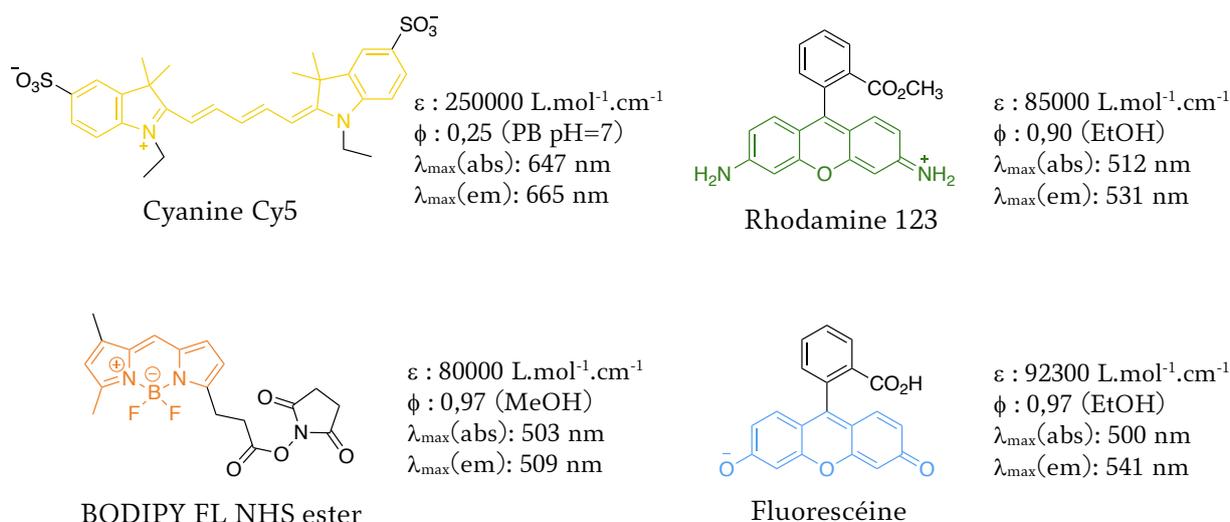


Figure 18 Exemples des différentes sondes organiques fluorescentes existantes

Ces molécules ont toutes des intérêts différents et permettent des détections particulières.<sup>41</sup> Les rhodamines sont notamment utilisées pour la détection d'ions tels que  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ou de radicaux libres comme  $\text{HO}\cdot$ .<sup>42</sup> Divers substituants peuvent être introduits sur ces structures permettant ainsi d'améliorer leurs propriétés photophysiques.<sup>43</sup> Ces molécules sont également utilisées dans le marquage de protéines par liaison covalente à des acides aminés.<sup>44</sup> La fluorescéine est connue pour son rendement quantique très élevé ainsi que sa solubilité dans l'eau ( $\phi : 0,79 \text{ (NaOH } 0,1 \text{ M)}$ ).<sup>45</sup> Elle est également sensible au pH avec différentes formes prototropiques.<sup>46</sup>

Les BODIPY sont des molécules stables dans de nombreux solvants avec une charge globale neutre. Les BODIPY sont des fluorophores particulièrement attractifs car ils possèdent une grande diversité structurale. Ils sont utilisés généralement pour l'étude d'interactions protéine-protéine et le marquage de biomolécules.<sup>47</sup>

Les familles de fluorophore de type cyanines sont photo-stables et présentent une bonne hydrosolubilité. Ces composés sont utilisés dans le marquage de protéines ainsi que de l'ADN.<sup>48,49</sup>

Le DAPI (Di Amino Phenyl Indol) est un autre fluorophore ciblant l'ADN (Figure 19).<sup>50</sup> Ce fluorophore émet dans le bleu avec un  $\lambda_{\text{max}}$  d'émission à 456 nm en se liant spécifiquement aux bases A et T de l'ADN.<sup>51,52</sup>

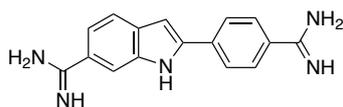


Figure 19 Structure du DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole)

Le DAPI est notamment utilisé lors de la technique d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) consistant à colorer les chromosomes.<sup>53</sup> Cette stratégie permet de repérer des séquences spécifiques d'ADN ou la localisation spécifique de gènes sur les chromosomes grâce à l'insertion de la séquence étudiée, nommée séquence hybride, sur laquelle est accrochée un fluorophore. Cette technique a révolutionné la cytogénétique à la fin des années 90. Cependant, ce domaine a pris une tout autre ampleur après le séquençage complet du génome humain (en 2003) et l'arrivée des puces à ADN dans les années 2010, offrant une exploration génétique très précise à grande échelle. En effet, sur des plaques de verre nommées « puces » des milliers de séquences d'intérêt peuvent y être déposées. Cette technique est très efficace dans la détection de mutations ou délétions génétiques. Ces différentes techniques basées sur la fluorescence sont très utiles en génétique et permettent de détecter des gènes altérés chez un patient afin de poser un diagnostic médical mais ne permettent pas une compréhension exacte des processus biologiques mis en cause. Si une étude plus précise de l'ADN est souhaitée afin notamment de mieux comprendre les interactions ADN-protéines ou encore de sonder des parties spécifiques comme par exemple un ARNmessenger, alors l'utilisation de fluorophores classiques n'est plus la technique de choix.<sup>54,55,56</sup> C'est ainsi que les chercheurs sont en quête de trouver de nouveaux outils toujours plus sensibles et plus spécifiques permettant d'étudier l'ADN et leurs interactions avec leur microenvironnement.<sup>57</sup>

C'est dans cette optique que des nucléobases artificielles fluorescentes ont été mises au point afin de mimer au mieux les nucléosides naturels. L'intérêt majeur d'utiliser ces structures est de minimiser les perturbations stériques que peuvent engendrer des fluorophores volumineux tels que ceux vu précédemment et ainsi observer l'ADN et l'ARN dans leur conformation biologique naturelle.

Pour une utilisation adaptée au milieu cellulaire, il est préférable d'obtenir des bases fluorescentes qui absorbent dans le visible et qui émettent au-delà des longueurs d'onde correspondant au bleu (450 - 490 nm). Cela permet d'éviter les zones d'autofluorescence

de certains organites de la cellule. De plus ces rayons, de haute énergie, sont assez cytotoxiques pour le milieu cellulaire dans des conditions *in vivo*. L'idéal étant de pouvoir accéder à des fluorophores émettant vers le proche infra-rouge. Des nucléobases sensibles à leur microenvironnement sont actuellement recherchées. Enfin, des rendements quantiques relativement élevés sont appréciés pour une meilleure détection de la fluorescence notamment une fois incorporer dans un oligonucléotide puisque les bases voisines ont tendance à diminuer la fluorescence du fluorophore.<sup>58</sup>

## IV. Les nucléobases artificielles fluorescentes

### A. État de l'art

L'étude et la conception de nucléobases fluorescentes ont débuté dans les années 1970 avec la première publication de Stryer concernant l'étude de la 2-aminopurine (2-AP), la formycin et la 2,6-diaminopurine, en tant que nucléobases fluorescentes.<sup>59</sup> Ces trois molécules sont des dérivés de l'adénine, une base nucléique naturelle. Elles se différencient par l'ajout ou le déplacement d'une ou de deux fonctions amines (Figure 20).

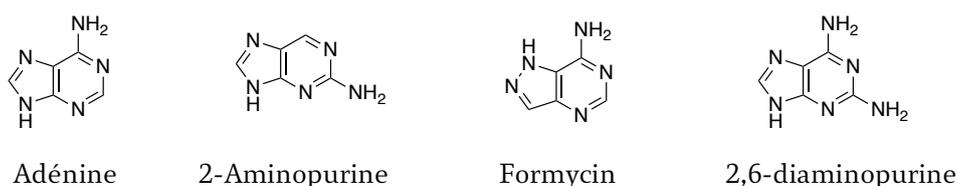


Figure 20 Premières nucléobases fluorescentes dérivées de l'adénine.

La 2-AP possède une longueur d'onde d'absorption maximale  $\lambda_{\text{abs}}$  située à 340 nm et une longueur d'émission maximale  $\lambda_{\text{em}}$  située à 370 nm dans du tampon phosphate à 0,01 M pour un pH = 7 à 25° C. Le rendement quantique de la 2-AP sous forme de nucléoside est évalué à 0,68, alors que les formes nucléosidiques de la formycin et de la 2,6-diamonipurine enregistrent un rendement quantique respectivement de 0,001 et 0,006. De plus, la 2-AP est sensible à son environnement et dépendante du pH. Une perte totale de son émission

de fluorescence est observée à pH= 1 ainsi que pour un pH= 12. Le  $\lambda_{\max}$  d'émission passe de 383 nm à 370 nm avec une augmentation progressive de l'intensité de fluorescence lorsque le pH passe de 2 à 4. Le calcul du pKa à l'état excité du 2-AP-ribonucléoside donne les valeurs de 3,7 et 12. Ainsi, la meilleure émission spectrale est obtenue lorsque la molécule est sous forme neutre.

La 2-aminopurine a ensuite été très étudiée pour ses propriétés de fluorescence et est devenue une référence dans le domaine des nucléobases fluorescentes.

Sowers et al<sup>60</sup>, se sont eux intéressés aux appariements la 2-aminopurine avec les bases d'ADN naturelles et ont montré qu'elle s'apparie préférentiellement avec la thymine. Cependant, leur étude montre également que la 2-AP peut former un nombre important de mésappariements avec la cytosine. Seulement, d'après les calculs thermodynamiques de Law et al<sup>61</sup> la stabilité du duplex AP-T est significativement plus importante que l'appariement AP-C. Cette observation peut s'expliquer par le fait que l'insertion des nucléotides par les ADN polymérases est influencée par la stabilité des appariements créés ce qui maintient une formation préférentielle pour l'appariement AP-T.

La 2-AP montre un rendement quantique important de 0,68 en milieu tamponné neutre mais cette capacité émettrice est fortement impactée par les bases voisines lors de son introduction dans une séquence nucléique ce qui limite son utilisation.

Suite à ces premiers travaux sur les nucléobases artificielles, ce n'est qu'à partir de la fin des années 1990 que l'intérêt pour ces bases d'ADN fluorescentes réapparaît avec les travaux de Hawkins et al<sup>62</sup> qui proposent l'utilisation de noyau pteridine en tant que nucléobase fluorescente. Des travaux sur des analogues de la guanine qu'il nomme 3-MI et 6-MI (Méthyle Isoxanthoptérine) ainsi que des analogues de l'adénine nommées DMAP et 6-MAP (diméthylamino ptéridine et méthylamino ptéridine) ont été menés (Figure 21).<sup>63</sup>

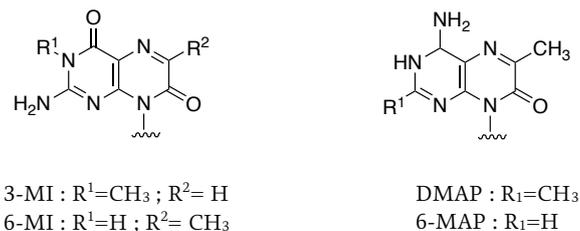


Figure 21 Analogues fluorescents de la guanine (3-MI et 6-MI) et de l'adénine (DMAP et 6-MAP)

Ces analogues révèlent des propriétés spectrales avec un  $\lambda_{\max}$  d'absorption autour de 250 nm pour la 3-MI, la DMAP et la 6-MAP et de 340 nm pour la 6-MI et un  $\lambda_{\max}$  d'émission de fluorescence à 430 nm pour les 4 dérivés pour des mesures effectuées dans un tampon Tris à pH= 7,5. Leur rendement quantique sont compris entre 0,39 et 0,88, la plus petite valeur correspondant au 6-MAP et la valeur la plus importante au 3-MI, ce qui en fait des molécules adéquates pour une utilisation en tant que sonde fluorescente.

En effet, ces pteridines fluorescentes ont été utilisées dans le cadre de différentes recherches comme dans l'étude de la liaison de HU à l'ADN. Cette une protéine de liaison à l'ADN de type histone participe notamment à la réplication et à la transcription de l'ADN chez *Escherichia coli*.<sup>64</sup>

La nucléobase fluorescente 6-MI a par exemple été utilisée dans l'évaluation du mécanisme d'activation du filament de la nucléoprotéine RecA, une protéine jouant un rôle crucial dans la réparation de l'ADN par recombinaison.<sup>65</sup> Puis, d'autres applications de détection de ces dérivés pteridines ont été étudiées au cours des années 2000.<sup>66,67,68,69</sup>

C'est à partir de ces années 2000 qu'une émergence rapide de nombreuses nucléobases fluorescentes est apparue dans la littérature, notamment grâce au travail des chercheurs Saito, Okamoto, Wilhelmsson<sup>70</sup> ou encore Kool<sup>71</sup>.

L'équipe de I. Saito a proposé le BPP (Benzopyridopyrimidine) comme nucléoside fluorescent permettant de localiser les sites spécifiques des bases purines A et G. Lorsque le nucléoside artificiel BPP est apparié avec les bases purines, une forte diminution de la fluorescence est observée, et est même quasiment éteinte lorsque l'appariement s'effectue avec une guanine (Figure 22a).<sup>72</sup> Les auteurs ont également mis au point deux autres bases fluorescentes discriminantes, les nucléosides <sup>MD</sup>A (methoxybenzodeazaadénine) et <sup>MD</sup>I (methoxybenzodeazainosine). Ces nucléosides fluorescent uniquement lors de leur appariement aux bases pyrimidiques cytosine (C) ou thymine (T) (Figure 22b).<sup>73,74</sup>

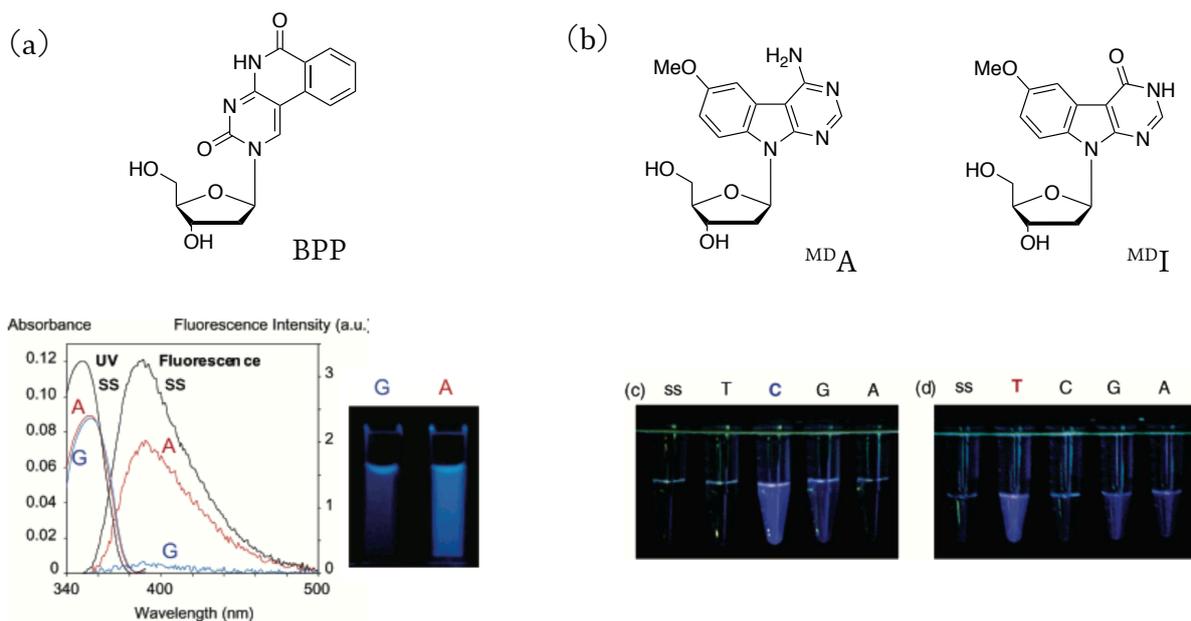


Figure 22 Nucléosides fluorescents BPP (a) <sup>MD A</sup> et <sup>MD I</sup> (b) mis au point par l'équipe de Saito

L'équipe de M. L. Wilhelmsson a mis au point un analogue tricyclique de la cytosine, la 1,3-diaza-2-oxophenothiazine nommée tC (Figure 23). Cet analogue montre une discrimination efficace des bases A et G et révèle des propriétés photophysiques intéressantes puisqu'un rendement quantique modeste autour de 0,2 est observé en solution tamponnée neutre mais qui est conservé lors de son incorporation dans une chaîne double brins ADN ou ANP (ANP = Acide Nucléique Peptidique, ce type de chaîne permet de modéliser un brin d'ADN).<sup>75</sup> En effet, une diminution du rendement quantique lors de l'insertion du nucléoside dans un brin d'ADN est un problème récurrent rencontré par les chercheurs. Ici, tC conserve son rendement quantique une fois inséré dans un brin modèle. Les auteurs ont également mis en évidence que la nucléobase tC agissait en tant qu'entité donneuse dans un mécanisme de FRET face à un motif rhodamine accepteur.<sup>76</sup>

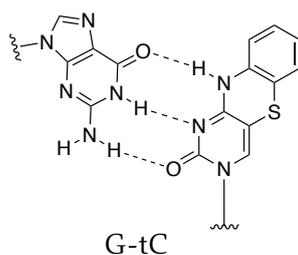


Figure 23 Exemple d'appariement du nucléoside fluorescent tC avec une base guanine

L'équipe de E. T. Kool, a quant à elle, développé un tout autre modèle de bases artificielles correspondant à des structures polycycliques aromatiques hydrocarbonées (Figure 24).<sup>77,78</sup> Bien que ne pouvant pas se lier avec les bases nucléiques via des liaisons hydrogène, ces bases artificielles polycycliques de type pyrène peuvent tout de même être insérées dans un brin modèle d'ADN par une ADN polymérase. Ces recherches ont notamment permis d'utiliser cette base artificielle dans la détection de sites abasiques de l'ADN, lésion la plus courante d'endommagement de l'ADN *in vivo*.<sup>79</sup>

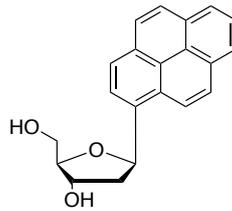


Figure 24 Nucléoside artificiel polycyclique de type pyrène

Une étude de dénaturation thermique d'un double brin d'ADN de 7 nucléotides contenant une base artificielle correspondant à différents motifs aromatiques a ensuite été menée.<sup>80</sup> L'introduction de ces motifs artificiels induit une variation de la valeur de la  $T_m$  (température de dénaturation, correspond à la température à laquelle 50% de double brin d'ADN est dénaturé ou dissocié) de 41,7° C à 64,1° C en fonction du cycle introduit (Tableau 1).

Double brin étudié : 5'(dXCGCGCG)3'

Conditions : 5  $\mu$ M ADN + 1 M de NaCl dans une solution Na-phosphate à 10 mM

X	T <sub>m</sub> (° C)	ΔT <sub>m</sub> (° C)
/	41,7	/
Cytosine	46,2	4,5
Thymine	48,1	6,4
Guanine	51,5	9,8
Adénine	51,6	9,9
Pyrrôle	46,6	4,9
Benzène	48,3	7,3
Triméthylbenzène	51,4	9,7
Difluorotoluène	54,4	13,4
4-méthylindole	54,6	13,6
5-nitroindole	60,6	18,9
Naphtalène	56,2	15,2
Phénanthrène	57,3	16,3
Pyrrène	64,1	23,1

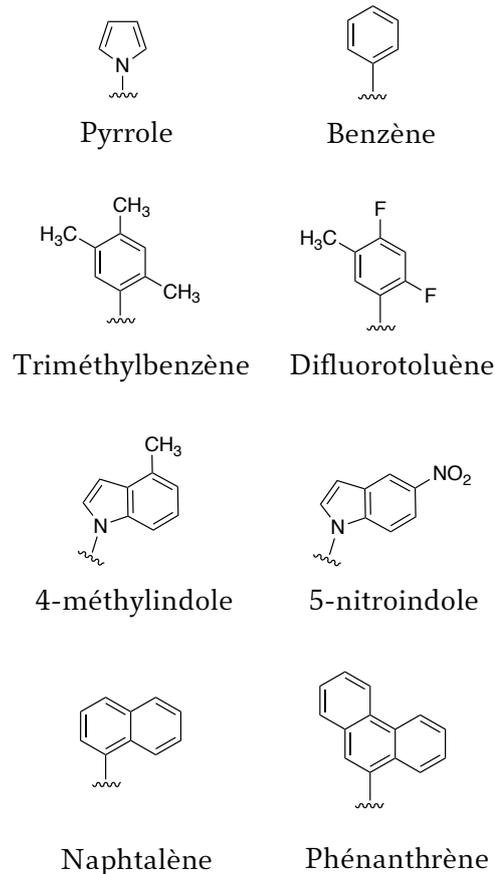


Tableau 1 Étude de T<sub>m</sub> en fonction de la nucléobase X dans une séquence d'ADN donnée

D'une façon générale, plus la structure cyclique est conjuguée et/ou substituée, plus la température de fusion de la séquence augmente.

L'ensemble de ces études a permis de contribuer de manière importante au développement de nucléobases fluorescentes ce qui a rendu possible la commercialisation d'un certain nombre d'entre elles comme, la pyrène-dU, la pyrrolo C ou encore la tC°.

## B. Les différentes structures de nucléobases artificielles

Toutes ces nucléobases artificielles sont scindées en 2 catégories ; les bases dites canoniques, dont la structure reste proche des bases purines et pyrimidines mais surtout permettant au minimum 2 appariements de type Watson-Crick en formant des liaisons

hydrogène avec une base complémentaire. *A contrario* les bases non canoniques ne respectent pas ces contraintes de structure et de complémentarité.<sup>58</sup>

Les bases canoniques peuvent être divisées en 3 sous catégories qui sont ; les bases isomorphiques, les bases prolongées et les bases étendues.

Les bases isomorphiques sont les structures les plus proches des bases naturelles et leur diversification se fait sur le squelette principal de la molécule.

Les bases prolongées, correspondent aux molécules possédant une liaison ou une chaîne carbonée au bout de laquelle se trouve une structure conjuguée.

Enfin, les bases étendues sont celles dont le cycle principal est étendu par d'autres cycles conjugués.

Ces diversifications ont pour but d'étendre la conjugaison du système  $\pi$  afin de moduler les propriétés photophysiques des molécules.

Parmi les bases canoniques, nous pouvons illustrer quelques exemples possédant un noyau de type purine (Figure 25). Les analogues de purine sont la catégorie de nucléobases artificielles la plus étudiée. Les modifications les plus fréquemment rencontrées sont effectuées sur les positions 7 et 8 et concerne la partie imidazole. Les positions 1, 2 et 6 sont quant à elles très peu modifiées car elles correspondent aux positions formant les liaisons hydrogène essentielles à l'appariement des bases. Cependant, il est possible de retrouver un certain nombre d'exemples avec une élongation au niveau de la position 2 du cycle purine.

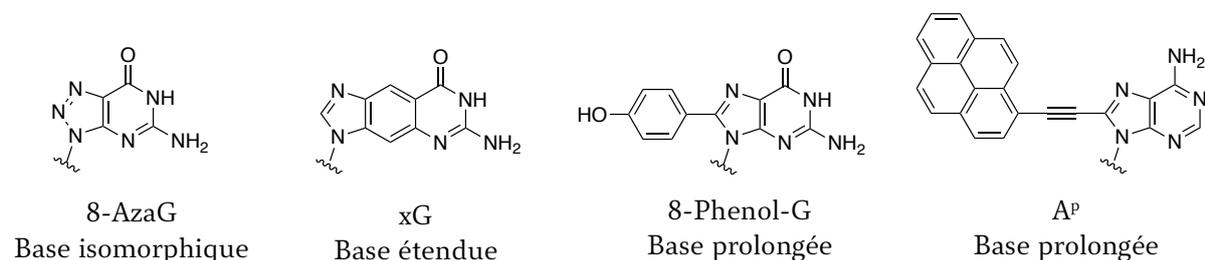


Figure 25 Exemples de nucléobases artificielles fluorescentes analogues des bases purines

Des analogues des bases pyrimidiques sont également décrits mais comportent moins de modifications structurales que les analogues de bases purines du fait de leur structure

monocyclique. La diversification se trouve principalement sur les positions 4, 5, 6 car les positions 2 et 3 sont nécessaires à l'appariement des bases. (Figure 26)

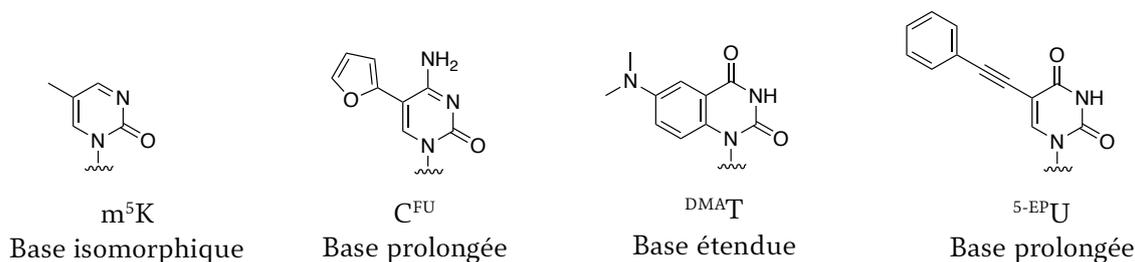


Figure 26 Exemples de nucléobases artificielles fluorescentes analogues de bases pyrimidines

Ces structures sont donc contraintes à deux règles essentielles, une structure proche des bases purines ou pyrimidines ainsi que la capacité de former des liaisons hydrogène. Cela restreint les possibilités de modifications structurales et rend ainsi difficile la modulation de manière importante des propriétés photophysiques de ces molécules. En revanche, ces structures gardent l'avantage d'être semblables aux bases nucléiques naturelles et engendrent alors un minimum de perturbation stérique et peuvent ainsi être plus facilement reconnues par voie enzymatique.

Les bases non canoniques appartiennent à la deuxième catégorie de nucléobases artificielles. Ces structures sont généralement des systèmes polycycliques très conjugués. (Figure 27) Ces bases artificielles n'ont pas la possibilité de former des liaisons hydrogène mais émettent des signaux fluorescents par effet d'empilement  $\pi$ .

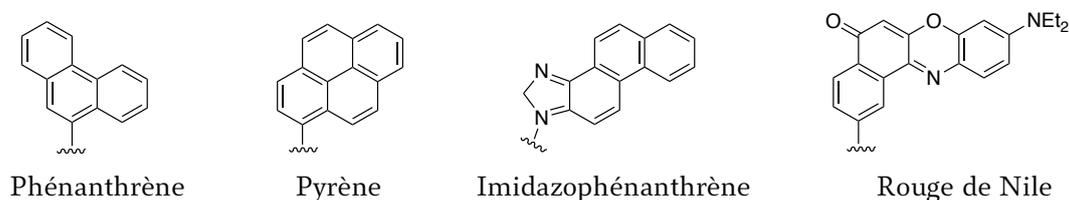


Figure 27 Exemples de nucléobases artificielles fluorescentes non canoniques

Ces structures offrent une modulation importante des propriétés spectrales. En effet, ces molécules très conjuguées permettent d'atteindre des longueurs d'onde d'émission plus élevées que les bases canoniques. Cependant, ces bases ont certaines limites puisqu'elles

engendrent plus de perturbations de la double hélice du fait de leur structure imposante. Elles seront ainsi de moins bons substrats pour les polymérases lors de la réplication.<sup>81</sup>

L'équipe de Y. Tor a concentré ses recherches sur le développement de bases artificielles isomorphiques, avec notamment le développement d'un dérivé thieno[3,4-*d*]-pyrimidine analogue de l'uracile. Leurs études ont montré que cet analogue présentait une longueur d'onde maximale d'absorption  $\lambda_{\text{abs}}$  de 304 nm et une longueur d'onde maximale d'émission  $\lambda_{\text{em}}$  de 412 nm, associé à un rendement quantique de fluorescence de 0,48 dans l'eau. L'insertion de cette base artificielle dans un oligonucléotide ARN est réalisable grâce à l'utilisation de la T7 ARN polymérase. Le nucléoside fluorescent mis au point permettrait la détection de mésappariement avec les cytosines.<sup>82</sup>

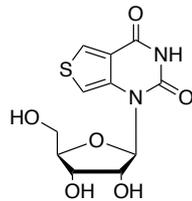


Figure 28 Structure de la thieno[3,4-*d*]-pyrimidine analogue uracile développé par l'équipe de Tor

Par la suite, ce travail a permis d'étudier l'activité enzymatique de certaines protéines toxiques qui inactivent les ribosomes par l'émission d'un signal fluorescent lors de la détection d'un site abasique.<sup>83</sup>

De cette première structure, des analogues des 4 bases nucléiques de l'ARN ont pu être synthétisés. Les différentes propriétés photophysiques (valeurs données pour des mesures dans l'eau) sont regroupés dans la figure 28.<sup>84</sup>

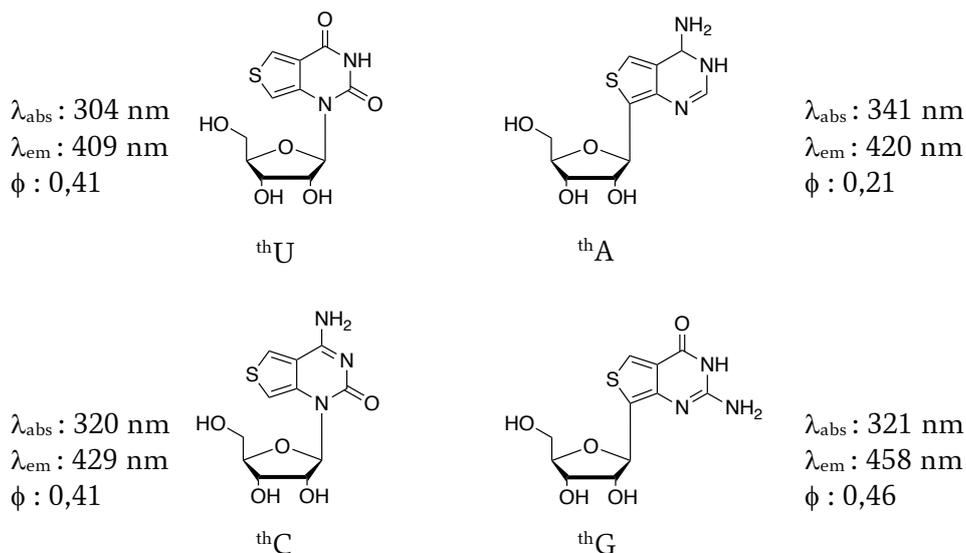


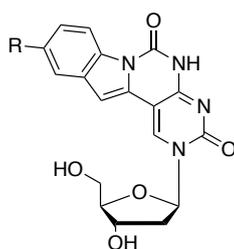
Figure 29 Nucléosides d'ARN fluorescents développés par l'équipe de Y. Tor

Lors de ces études, les auteurs ont ainsi mis en évidence que l'analogue ARN de G,  $\text{thG}$ , émettait dans des longueurs d'onde de plus basse énergie tout en conservant un bon rendement quantique. En effet, lorsqu'une utilisation de la fluorescence en milieu cellulaire est souhaitée, nous rappelons qu'il est préférable d'obtenir des longueurs d'onde qui s'approchent de l'infra-rouge.

Pour remédier à cela, des systèmes plus étendus et plus conjugués ainsi que l'incorporation d'hétéroatomes peuvent permettre d'atteindre des longueurs d'onde déplacées vers le rouge.

Le développement de nucléobases fluorescentes possédant un système conjugué étendu a suscité beaucoup d'intérêt. En effet, cette catégorie de molécules possède les caractéristiques des bases naturelles permettant un appariement avec des bases complémentaires mais également une élongation du squelette principal afin d'augmenter la conjugaison du système  $\pi$ .

L'équipe de Sekine a proposé une nucléobase de type étendu avec le dérivé nucléoside pyrimidopyrimidoindole  $\text{dC}^{\text{PPI}}$  et a étudié la modulation de ses propriétés spectrales par l'introduction de différents groupements fonctionnels (R) sur la structure.<sup>85</sup>



R = H, OMe, SMe, F, CN, NMe<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>Me

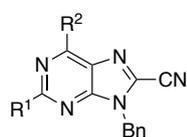
Figure 30 Structure de la 10-(2-Deoxy-β-D-ribofuranosyl)pyrimido[4',5':4,5]pyrimido[1,6-a] indole-6,9(7H)-dione), dC<sup>PPi</sup>

L'étude démontre que l'introduction de groupements électro-donneurs ou électro-attracteurs affecte légèrement les longueurs d'onde maximales d'émission et très peu les longueurs d'onde maximales d'absorption. En revanche, les déplacements de Stokes sont plutôt très satisfaisants (135 nm environ) quel que soit la nature du substituant. Toutefois, les rendements quantiques obtenus sont tous inférieurs à 0,1 ce qui correspond à une fluorescence assez faible.

L'effet du solvant sur les longueurs d'onde d'absorption, d'émission mais également sur le rendement quantique a aussi été étudié. L'utilisation de différents solvants engendre de légères modulations des longueurs d'onde maximales d'absorption et d'émission. En revanche, un fort impact sur le rendement quantique de fluorescence est observé. En effet, les solvants organiques aprotiques polaires dont la constante diélectrique est élevée (DMF et DMSO) permettent d'obtenir des rendements quantiques bien supérieurs que ceux obtenus dans l'eau.

Les effets électroniques de type donneur-accepteur vu précédemment peuvent également influencer les propriétés photophysiques des molécules. L'équipe de Castellano s'est penchée sur ce phénomène de fluorescence en étudiant différents composés de type purine.<sup>86,87</sup> Pour ce faire, des nucléobases comportant une fonction ayant un effet électronique inducteur attracteur -I et/ou mésomère attracteur -M ont été élaborées. Ces structures ont ensuite été substituées avec des groupements R<sup>1</sup> et R<sup>2</sup> de type donneur. L'enregistrement des spectres d'absorption et d'émission ainsi que les rendements quantiques ont permis d'évaluer l'influence de l'effet donneur-accepteur sur les propriétés photophysiques des dérivés. Nous allons détailler ici un de leur composé à titre d'exemple. Sur la structure proposée, la fonction cyano en position 8 est identifiée comme le groupement attracteur. L'ensemble des groupements donneurs R<sup>1</sup> et R<sup>2</sup> (sauf R<sup>2</sup>=H) sont

situés sur les positions 2 et 6. Un total de 5 dérivés nommés de A à E a ainsi été préparé (Figure 31).



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
A	NH <sub>2</sub>	H
B	NHCH <sub>3</sub>	H
C	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
D	NH <sub>2</sub>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
E	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>

Figure 31 Diversification de l'analogue purine mise au point par l'équipe de Castellano

Les spectres d'absorption, d'émission et le rendement quantique ont été enregistrés pour chaque dérivé A-E dans le dichlorométhane. Il s'est avéré que l'insertion de groupements donneurs a pour effet un déplacement des longueurs d'onde d'émission de fluorescence vers le rouge mais également d'augmenter considérablement le rendement quantique des dérivés. Enfin, l'effet donneur-accepteur a aussi permis de favoriser un déplacement de Stokes plus important, ce qui est un atout significatif.

De nombreux autres chercheurs ont contribué au développement et à l'étude de nucléobases fluorescentes.<sup>88</sup> Comme nous avons pu le voir précédemment, il existe différentes façons d'obtenir une base artificielle fluorescente. Soit en substituant directement une base naturelle afin de la rendre fluorescente grâce à l'ajout de conjugaison, soit en élaborant une structure cyclique conjuguée fluorescente qui est ensuite accrochée à un sucre ribose ou désoxyribose afin d'aboutir au nucléoside correspondant. Enfin, ses nucléosides sont généralement insérés dans un brin d'ADN ou d'ARN modèle, appelé oligonucléotide, afin d'étudier divers processus biologiques.

## C. Méthodes d'insertion des nucléosides et nucléotides au sein d'un oligonucléotide

Il existe 3 méthodes principales permettant d'insérer une base artificielle dans un oligonucléotide ; par synthèse supportée sur phase solide,<sup>89,90</sup> par voie enzymatique<sup>91,92,93,94</sup> ou par modification post-synthétique.<sup>95</sup> Ces méthodes seront plus amplement détaillées dans le chapitre 4. Dans notre cas de figure, elles permettent toutes les trois d'aboutir à un oligonucléotide contenant une base fluorescente.

Lorsque ces oligonucléotides sont réalisés, il est ensuite possible de sonder des parties très spécifiques de l'ADN. Comme nous avons pu le voir à travers différents exemples, ces nucléobases artificielles fluorescentes offrent un potentiel très important dans la recherche et la mise en évidence de processus biologiques.

Parmi les différentes possibilités d'application, deux utilisations sont fréquemment étudiées ; la détection de polymorphisme d'un seul nucléotide et les interactions ADN-protéines.

## D. Exemples d'applications des bases artificielles d'ADN et d'ARN

### 1. Le polymorphisme d'un seul nucléotide

Le polymorphisme d'un seul nucléotide est une variation d'une seule paire de base dans une séquence d'ADN. Il s'agit de la variation génétique la plus fréquente et représente 90% de l'ensemble des variations génétiques chez l'humain. Selon leur position sur les séquences touchées, les polymorphismes peuvent être plus ou moins important pouvant aller jusqu'au développement de maladies graves telles que la drépanocytose, la mucoviscidose ou encore un risque plus élevé de développer la maladie d'Alzheimer.<sup>96,97,98</sup> A l'aide des nucléosides fluorescents nous avons pu voir qu'il était possible d'obtenir des bases discriminantes. Ces bases sont spécifiques d'une ou de deux bases naturelles permettant par complémentarité d'identifier la base se trouvant sur le brin à étudier. Cette détection peut se faire par diminution ou augmentation de la fluorescence. Généralement,

le fluorophore est positionné sur le brin d'ADN modèle au niveau de la base à détecter du brin complémentaire étudié. Lorsque le brin modèle comportant le fluorophore s'apparie au brin étudié alors deux solutions sont possibles, soit l'appariement provoque une extinction de fluorescence, ce qui indique que si la fluorescence est conservée il s'agit d'un mésappariement de la base (Figure 32).<sup>99</sup> Soit à l'inverse l'appariement provoque un changement de longueur d'onde d'émission de fluorescence ou une intensité plus élevée.<sup>54</sup>

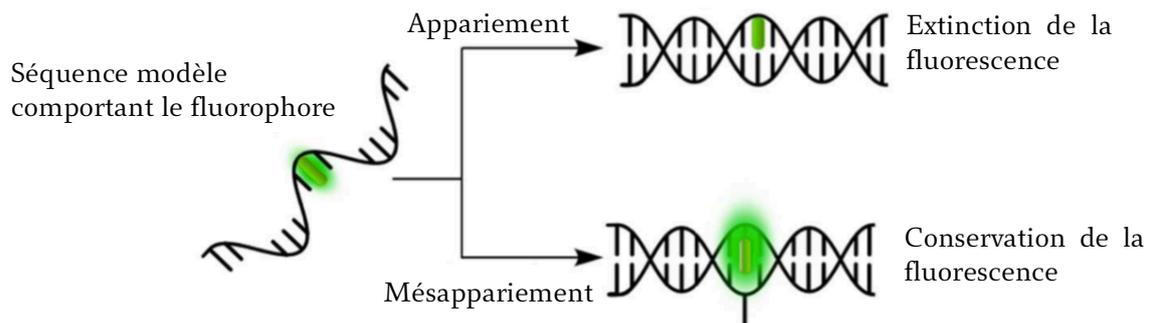


Figure 32 Exemple de détection de polymorphisme d'un seul nucléotide grâce aux nucléosides fluorescents

La méthode du « molecular beacon » pourrait facilement être utilisée pour ce type de détection. Cette technique consiste à cibler des fragments spécifiques d'ADN à étudier. Pour cela, un oligonucléotide d'une vingtaine de bases est généré comprenant à l'intérieur la séquence complémentaire de la cible d'intérêt à identifier. Les deux extrémités sont généralement un enchainement de 2 bases, représentant la tige, et vont s'apparier entre elles permettant une conformation de la structure en épingle à cheveux (hairpin) (Figure 33).

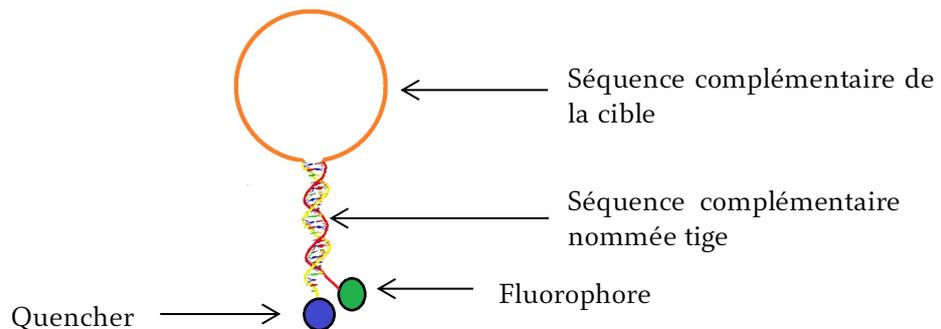


Figure 33 Description de l'épingle à cheveux (Hairpin) utilisée dans la technique du molecular beacon

Lorsque l'oligonucléotide en conformation épingle à cheveu est mis en solution, il n'émet pas de fluorescence. En revanche, lorsque la séquence à détecter est trouvée, alors l'oligonucléotide va s'ouvrir pour s'apparier à sa séquence complémentaire et ainsi émettre un signal de fluorescence (Figure 34).

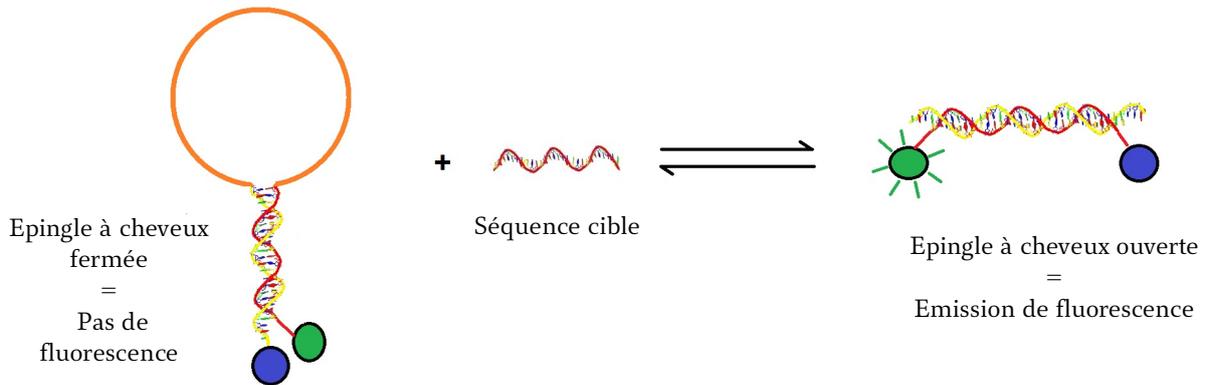


Figure 34 Description de la technique du molecular beacon

Actuellement cette technique est utilisée avec un fluorophore et un désactivateur aux deux extrémités de l'oligonucléotide. Si un nucléoside fluorescent est utilisé, celui-ci pourrait directement être intégré dans la séquence modèle et permettrait une émission de fluorescence lors de l'appariement au brin complémentaire étudié, comme proposé par Hwang et al<sup>100</sup> (Figure 40).<sup>99</sup>

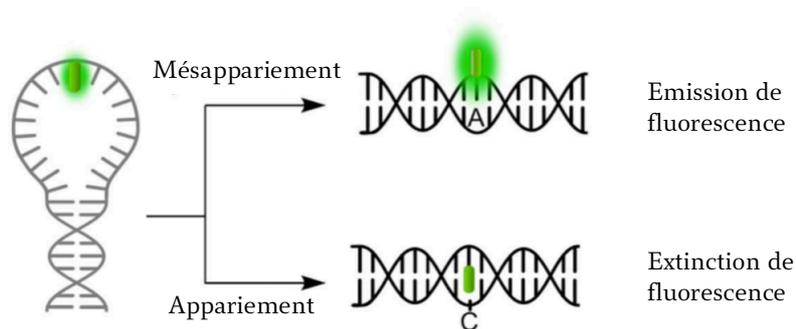


Figure 35 Exemple de l'utilisation de la technique du molecular beacon avec un nucléoside fluorescent

Les bases fluorescentes discriminantes offriraient un fort potentiel de spécificité pour ce type de technique et permettraient de révolutionner les techniques de révélation de l'ADN en biologie moléculaire notamment les techniques de PCR (réaction de polymérisation en chaîne).<sup>101</sup>

## 2. Les interactions ADN-protéines

Les interactions ADN-protéines sont un centre d'intérêt crucial en biologie. Leur étude permet notamment la compréhension de l'activité de certaines enzymes puisqu'elles découpent de manière spécifique l'ADN.

Dans ce cadre, l'emploi de nucléosides fluorescents pourraient fortement améliorer la technique de signalisation par les aptamères.<sup>102</sup> Un aptamère est un oligonucléotide simple brin (ADN ou ARN) qui est capable de se fixer de manière spécifique à un ligand tels que les protéines. Le principe ici est de mettre en évidence la liaison entre l'aptamère et sa cible, en fonction de l'émission de fluorescence du nucléoside artificiel. De manière générale, lorsque l'aptamère se lie à sa cible cela entraîne une modification de la structure de l'oligonucléotide. Cette modification affecte l'émission de fluorescence et le rendement quantique.

Katilius et al, ont publié des résultats encourageant dans ce domaine. En effet, la liaison de 3 protéines, la thrombine, la PDGF et l'IgE, à des aptamères spécifiques a été étudiée en utilisant la 2-aminopurine (2-AP), la 6-MAP et la 3-MI à l'intérieur de ces séquences. Lorsque l'aptamère se fixe à la protéine cible, les propriétés de fluorescence sont modulées engendrant un gain de fluorescence.<sup>103</sup>

Li et al ont eux aussi évalué l'utilisation d'un nucléoside fluorescent au sein d'aptamères pour étudier leur liaison à différentes protéines.<sup>104</sup> Pour cela, la nucléobase fluorescente pyrrolo-dC a été mise en présence de la PDGF, de la thrombine ou encore de l'ATP. Dans ce cas, l'émission d'un signal fluorescent a également pu être observé lors de la fixation de l'aptamère à sa cible.

La mise en évidence de liaisons ADN-protéines est fondamentale afin de comprendre les interactions de l'ADN avec son environnement ainsi que la conformation qu'il peut

adopter. C'est pour cela que l'apport de sondes fluorescentes non perturbatrices telles que les nucléosides fluorescents est primordial dans ce domaine de recherche.

## Conclusion

D'énormes progrès ont été réalisés concernant le développement de nucléosides fluorescents artificiels au cours de ces 20 dernières années. Toutes ces recherches ont permis de mettre au point des outils puissants, précis et spécifiques afin de comprendre divers processus biologiques impliquant l'ADN ou l'ARN. Nous comptons à ce jour de nombreuses nucléobases fluorescentes commerciales. Seulement, un certain nombre de défis sont encore à surmonter et nécessitent de continuer cet effort de développement. En effet, il est encore difficile de trouver des analogues artificiels de nucléobases satisfaisant l'ensemble des critères importants pour une utilisation optimale. Les critères importants sont : une émission de fluorescence à des longueurs d'onde atteignant le proche-infrarouge, un rendement quantique élevé sans perturber l'hélice d'ADN tout en maintenant son intensité de fluorescence une fois inséré dans un oligonucléotide. Un réel besoin de nucléosides fluorescents sensibles à leur environnement permettant de sonder la conformation et les interactions de l'ADN avec son milieu est également existant. Enfin, le développement de ces nucléosides artificiels pour des applications *in cellulo* et *in vivo* permettrait une avancée considérable en recherche biomédicale et en biologie cellulaire. C'est ainsi que notre équipe a pour ambition de concevoir des nucléosides fluorescents satisfaisant le maximum de critères, à partir de structures hétérocycliques originales. Ceci avec l'objectif de générer des voies de synthèses les plus efficaces possibles, c'est-à-dire, à partir de substrats simples, peu coûteux, ainsi qu'un nombre d'étapes réduit. C'est à travers ce premier travail exploratoire dans ce domaine que nous visons à développer deux catégories de nucléosides fluorescents aux propriétés et caractéristiques différentes. La première nucléobase correspond à un noyau naphthyridinone dont les travaux sont résumés dans les chapitres 2, 3 et 4. La deuxième nucléobase est quant à elle issue d'un noyau 1,2,4-triazolique et fait l'objet du chapitre 5 (Figure 36).

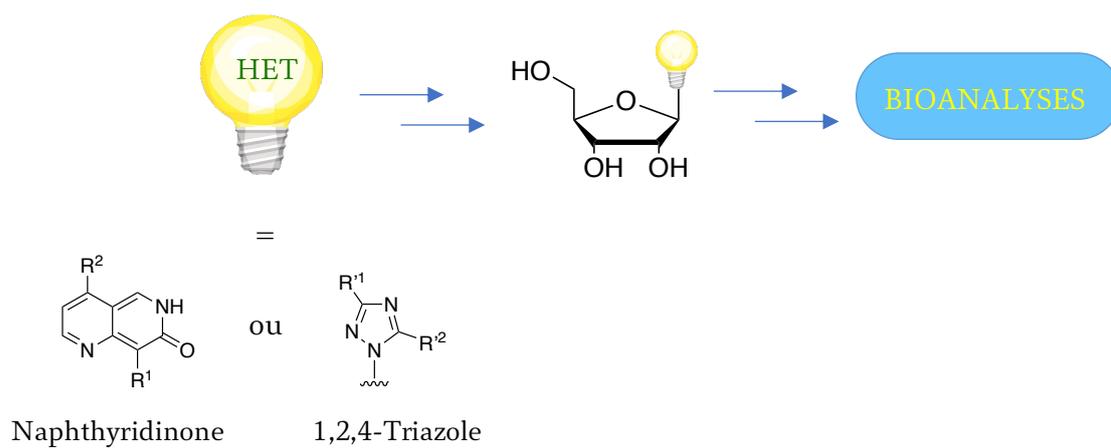


Figure 36 Idée générale de la conception de nucléosides fluorescents à partir d'une structure naphthyridinone ou triazole



## Chapitre 2 : Synthèse de nucléobases fluorescentes contenant un noyau naphthyridinone



## Chapitre 2 – Synthèse de nucléobases fluorescentes contenant un noyau naphthyridinone

### Introduction

Les naphthyridines sont des bicycles azotés issues de la fusion de deux cycles pyridine joints entre eux par deux atomes de carbone. Chacun des deux cycles comprend un seul atome d'azote.<sup>105</sup> Le premier cycle naphthyridine, la 1,8-naphthyridine, fût réalisée par A. Reissert en 1893 et les a nommé ainsi.<sup>106</sup> Depuis, cet hétérobicyclic aromatique est très largement étudié et utilisé pour de nombreux intérêts en chimie médicinale.<sup>107,108,109</sup> Il existe 6 isomères de la naphthyridine en fonction de la position des deux atomes d'azote (Figure 37).

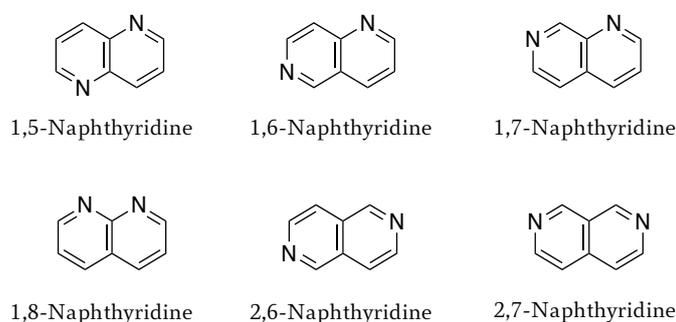


Figure 37 Les différents isomères du cycle naphthyridine

Parmi toutes ces structures, les 1,8-naphthyridines sont les dérivés les plus synthétisés. En effet, suite à la découverte des propriétés antibactériennes de l'acide nalidixique (un acide organique obtenu à partir d'un dérivé 1,8-naphthyridinol) par G. Leshner et al.<sup>110</sup> la synthèse des 1,8-naphthyridines a fortement été mise en avant. Depuis, ces composés ont montré de très nombreuses applications en biologie telles que des propriétés anticancéreuses, anti-inflammatoires, anti-hypertensives ou encore anticonvulsives (Figure 38).<sup>111</sup>

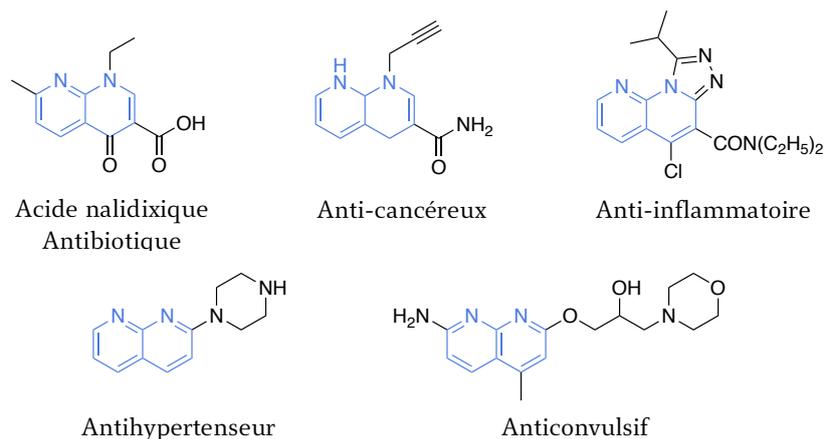


Figure 38 Exemples de molécules thérapeutiques présentant un cycle 1,8-naphthyridine

L'isomère 1,6-naphthyridine est aussi très étudié pour ces propriétés biologiques.<sup>112</sup> Par exemple, l'aaptamine et l'isoaaptamine, des molécules issues d'une éponge marine nommée *Aaptos aaptos* sont des structures connues comportant le squelette 1,6-naphthyridine (Figure 39). Ces molécules ont été identifiées comme de potentiels antagonistes des récepteurs adrénrgiques et sont de potentiels anticancéreux.<sup>113</sup> D'autres dérivés de l'aaptamine ont ainsi vu le jour présentant notamment des propriétés anti-microbiennes.<sup>114</sup>

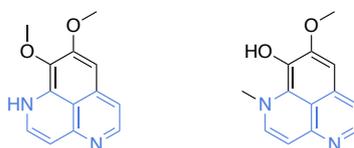


Figure 39 Structures de l'aaptamine et de l'isoaaptamine

Plus largement, la structure 1,6-naphthyridine est retrouvée dans un bon nombre de molécules ayant des propriétés anticancéreuses<sup>115,116</sup>, anti-virales<sup>117</sup>, anti-asthmatiques<sup>118</sup>, anticonvulsives<sup>119</sup> et analgésiques<sup>120</sup> (Figure 40).

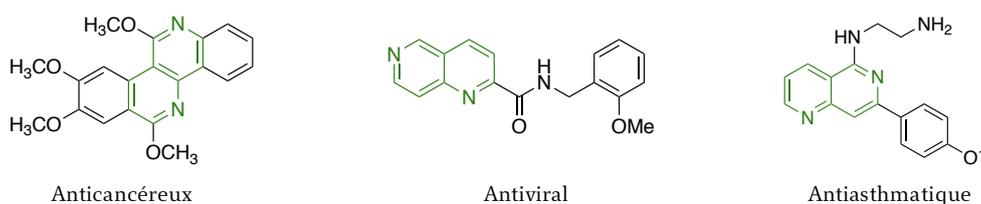


Figure 40 Exemples de molécules bioactives comprenant un squelette 1,6-naphthyridine

L'équipe de Y. Q. Long a aussi proposé le repositionnement d'une molécule antivirale en tant qu'agent anticancéreux par modification de structure. En effet, la présence d'une fonction alcool en position 8 conduit à une molécule antivirale, alors que substituée sur cette même position par une amine secondaire la molécule présente des propriétés anti-cancéreuses (Figure 41).<sup>121</sup>

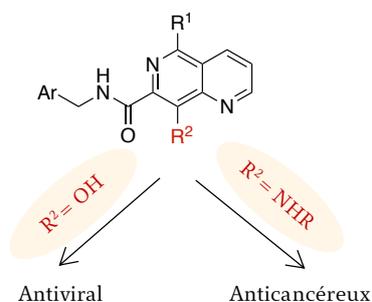


Figure 41 Changement de propriété biologique de la naphthyridine proposée par Zeng et al. en fonction du groupement R<sup>2</sup>

Les structures naphthyridines ont aussi trouvé une utilité en tant que sondes fluorescentes. Les propriétés photophysiques de certains analogues ont été étudiées notamment par la formation de complexes avec des métaux<sup>122,123,124,125</sup> ou encore associés à des motifs glucopyranoses.<sup>126</sup>

Ces quelques exemples permettent de comprendre tout l'intérêt et les enjeux de ce bicyclic azoté autorisant une importante diversification et ainsi une multitude d'applications.

De ce cycle naphthyridine en découle les naphthyridinones. Ces structures sont similaires aux naphthyridines mais possèdent une fonction carbonyles sur l'un des cycles azotés. Comme pour les naphthyridines, plusieurs isomères de structure sont possibles en fonction de la position des atomes d'azote, auxquels s'ajoutent des isomères selon la position de la fonction carbonyle.

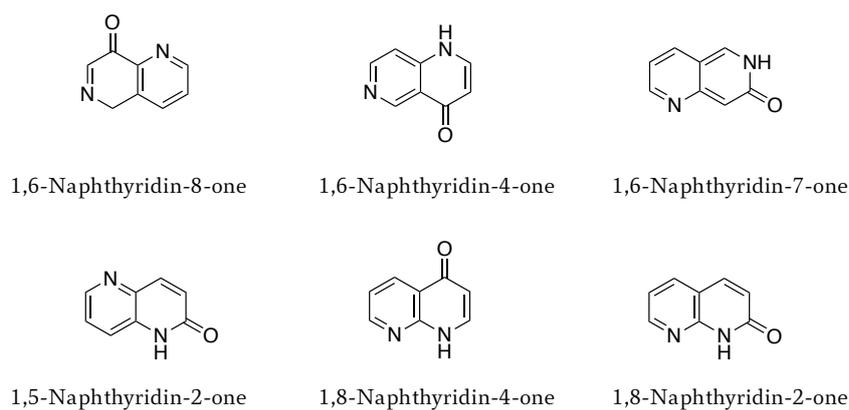


Figure 42 Exemples de bicycles naphthyridinones

De par l'ajout de cette fonction supplémentaire, un équilibre tautomère lactame-lactime est alors possible pour certains isomères (Figure 43). En effet, l'introduction d'une fonction carbonyle en position 2 ou 6 permet un tel équilibre.

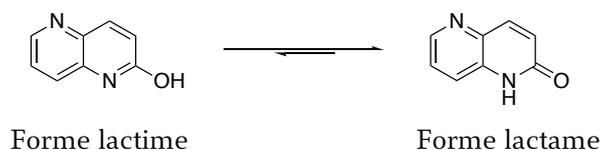


Figure 43 Équilibre lactame-lactime de certaines naphthyridinones

De nombreuses applications en biologie leur sont également attribuées. Certains isomères de naphthyridinones de type 1,5 et 1,6 sont reconnus pour leurs propriétés anti-rétrovirales et ainsi utilisées en tant qu'inhibiteurs de l'intégrase impliquée dans la réplication du VIH (Figure 44).<sup>127,128,129</sup>

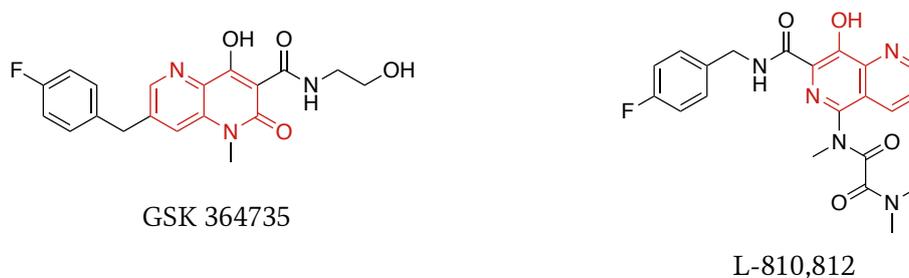


Figure 44 Molécules étudiées comme anti-intégrase du VIH

Les 1,8-naphthyridinones et leurs formes tautomères sont également étudiées pour leurs propriétés anti-hypertensives ou anti-cancéreuses (Figure 45).<sup>130</sup>



Figure 45 Exemples de structures 1,8-naphthyridinones d'intérêt biologique

Très récemment, l'équipe de Wang et al.<sup>131</sup> a évalué un dérivé 1,6-naphthyridin-4-one en tant qu'inhibiteur de MET, un récepteur membranaire à dépendance, impliqué dans l'équilibre cellulaire (Figure 46).

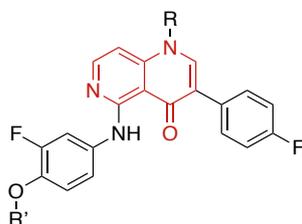


Figure 46 Structure d'un dérivé de la 1,6-naphthyridin-4-one proposée en tant qu'inhibiteur de MET

Là encore nous nous rendons compte que l'analogue naphthyridinone est lui aussi très étudié et semble être très prometteur.

Dans le cadre de notre travail sur la synthèse de nucléobases originales, nous nous sommes intéressés en particulier au bicyclic 1,6-naphthyridin-7-one (Figure 47), isomère encore très peu décrit et possédant également un bon potentiel biologique comme évoqué ci-dessus.

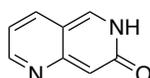


Figure 47 Structure de la 1,6-naphthyridin-7-one étudiée

Pour replacer ce travail dans son contexte, il faut remonter quelques années en arrière. Notre équipe s'est intéressée à une liste de nouveaux hétérocycles originaux encore jamais synthétisés nommés « Rings of the future ».<sup>132</sup> Cette liste a été proposée par le chimiste théoricien William Pitt à l'issue d'une étude *in-silico*.<sup>133</sup> Selon ses travaux, ces bicyclics

originaux permettraient de renouveler et de diversifier les structures hétérocycliques présentes en chimie médicinale.

Un précédent doctorant de l'équipe, Kevin Passador, a ainsi travaillé sur la mise au point de la synthèse de la pyrano-pyridin-3-one, mais aussi de ses isomères de structure. C'est au cours de cette étude que l'isomère 1,6-naphthyridin-7-one a été observé et synthétisé pour la première fois. En effet, c'est lors de l'étape finale de cyclisation par traitement en milieu acide du composé 2-(3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridin-2-yl)-2-phenylacétonitrile **3**, que le bicyclic naphthyridinone a été obtenu avec un rendement de 10% (Schéma 1).

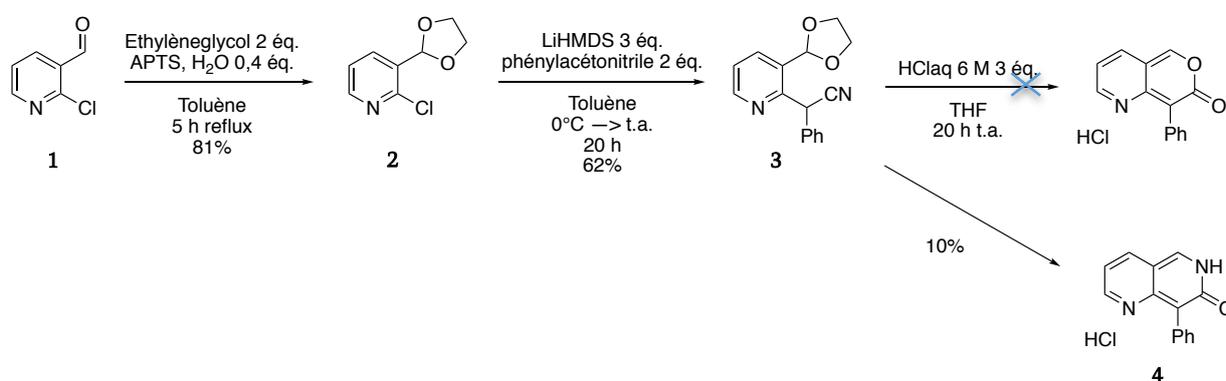


Schéma 1 Tentative de synthèse de la pyrano-pyridin-3-one

Cette molécule peu connue dans la littérature, s'est révélée être fluorescente et ses propriétés photophysiques n'avaient jusque-là pas encore été exploitées.

En revanche, les isoquinolinones, analogues structuraux des naphthyridinones comportant un noyau benzénique à la place d'une des pyridines, ont été plus étudiées et représentent une classe de composés actifs en chimie médicinale.<sup>134,135,136</sup> Cette plateforme synthétique fonctionnalisable a un fort intérêt dans le domaine de la biologie.<sup>137,138,139</sup> Comme pour les naphthyridinones, ces analogues benzéniques présentent un équilibre tautomérique lactame-lactime.

Les 3-hydroxyisoquinolinones ont en outre été étudiées pour leurs propriétés photophysiques (Figure 48).<sup>140,141,142,143,144,145</sup>

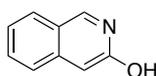


Figure 48 Structure de la 3-hydroxyisoquinolinone

En effet, l'équipe de Pinjeiro et al<sup>146</sup> a notamment mené une étude synthétique et photophysique sur la 4-(pyridin-2-yl)-isoquinolin-3-ol (Figure 49).

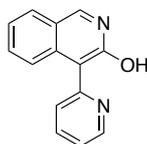


Figure 49 Structure de la 4-(pyridin-2-yl)-isoquinolin-3-ol

Il en ressort que cette structure possède une émission de fluorescence dépendante du solvant (solvatochromisme) ainsi qu'au pH du milieu (acidochromisme). Ceci lui confère des propriétés de fluorescence adaptées pour des applications en tant que sondes dans des milieux aussi bien aqueux qu'organiques.

Li et al.<sup>147</sup> ont quant à eux étudié l'effet et la position de l'atome d'azote sur le cycle benzénique de la 2-méthyl-1,4-diphénylisoquinolin-3(2*H*)-one (Figure 50). Ils ont ainsi comparé les propriétés photophysiques de la diphénylisoquinolinone avec celles de la 2,6-naphthyridin-3-one et de la 2,7-naphthyridin-3-one. Ils ont également étudié leur capacité à interagir avec des petits cations.

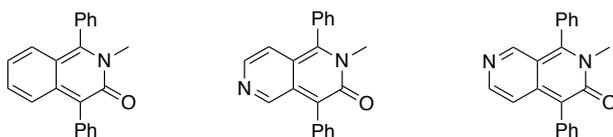


Figure 50 Dérivés diphénylisoquinolinone, 2,6-naphthyridin-3-one et 2,7-naphthyridin-3-one (de gauche à droite)

Les auteurs ont alors remarqué des propriétés spectrales différentes entre les composés bi-azotés et le composé isoquinolinone. Ils ont aussi montré qu'il existait une certaine différence entre l'isomère 2,6 et 2,7-naphthyridin-3-one notamment en présence d'ions  $Fe^{3+}$ . Nous comprenons ainsi que l'atome d'azote mais également sa position sur le cycle pyridine influence les propriétés photophysiques de la plateforme naphthyridinone. Il est donc intéressant d'évaluer tous les isomères disponibles de cette plateforme.

L'ensemble de tous les éléments abordés dans cette introduction nous a amené à considérer la plateforme 1,6-naphthyridinone comme particulièrement prometteuse.

Dans une optique novatrice, nous avons voulu l'utiliser pour la conception de nucléobases fluorescentes originales. En effet, les naphthyridinones possèdent plusieurs critères nécessaires à leur potentielle utilisation en tant que nucléobases fluorescentes artificielles : la structure bicyclique doublement azotée comporte un groupement carbonyle exocyclique qui permettrait d'effectuer des interactions avec les bases naturelles d'ADN *via* des liaisons hydrogènes. Les propriétés photophysiques, dont les premières mesures se sont avérées encourageantes, pourraient être mises à profit pour sonder le microenvironnement de l'ADN et réaliser la détection de séquences définies.

Nous allons aborder dans ce chapitre l'ensemble du travail synthétique qui a été mis en œuvre afin d'obtenir la plateforme 1,6-naphthyridin-7-one. Puis, le chapitre 3 concernera la caractérisation de ses propriétés photophysiques, en vue de son utilisation en tant que nucléoside artificiel fluorescent que nous verrons dans le chapitre 4.

# I. Synthèse du cycle 1,6-naphthyridin-7-one

## A. Introduction - méthodes générales de synthèse des 1,6-naphthyridinones

Quelques synthèses ont été décrites dans la littérature concernant la préparation des 1,6-naphthyridin-4-ones et les 1,6-naphthyridin-8-ones mais peu concernent la synthèse des 1,6-naphthyridin-7-ones. Celles-ci sont généralement préparées par l'intermédiaire de la synthèse primaire de 1,6-naphthyridines obtenues par plusieurs méthodes : <sup>105</sup>

- Par condensation de plusieurs composés aliphatiques.
- Par cyclisation d'un substrat pyridine seul ou avec un ou plusieurs synthons
- A partir d'autres substrats hétérocycliques par dégradation ou réarrangement.

Pour montrer quelques exemples, H. Junek et al.<sup>148</sup> ont proposé la condensation du benzoyl-2-diméthylaminoéthylène avec deux molécules de malononitrile, en présence de HCl concentré à chaud pendant quelques minutes, afin d'aboutir au cycle 1,6-naphthyridine-8-carboxamide correspondant (Schéma 2).

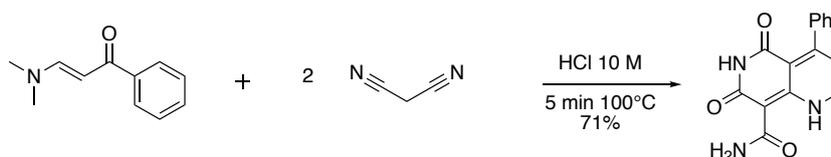


Schéma 2 Exemple de réaction de condensation aboutissant au bicyclic 1,6-naphthyridine

A. Straub et al.<sup>149</sup> ont mis au point la synthèse d'un dérivé 1,6-naphthyridine à partir d'un motif pyridine. Ils proposent la cyclisation de la 4-*tert*-butyramido-3-(3,3-diéthoxy-2-hydroxy-2-phénylpropyl amino)pyridine par traitement avec de l'acide sulfurique à froid pendant 2 heures puis à chaud pendant 2 heures. Cette étape est suivie d'une aromatisation de la molécule par l'utilisation de 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undéc-7-ène (DBU) dans du dioxane à reflux pendant 6 heures permettant le départ de 2 molécules d'eau (Schéma 3).

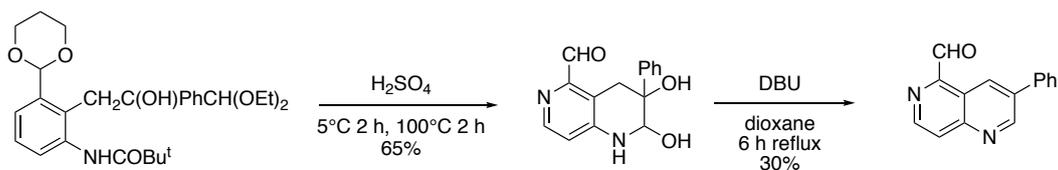


Schéma 3 Exemple de formation du bicyclic 1,6-naphthyridine par cyclisation d'un motif pyridine

C. S. Giam et al.<sup>150</sup> ont développé la synthèse de la plateforme 1,6-naphthyridine non substituée à partir de la 5*H*-cyclopent[*b*]pyridine par ozonolyse dans le méthanol à  $-78^{\circ}\text{C}$ . Cette étape est poursuivie par un ajout de diazote et d'une solution d'hydrogencarbonate de sodium. Enfin, un ajout de diméthylsulfure pendant 6 heures à température ambiante et d'une solution aqueuse d'ammoniaque pendant 6 heures supplémentaires permettront d'aboutir aux 2 isomères, 1,6 et 1,7-naphthyridines (Schéma 4).

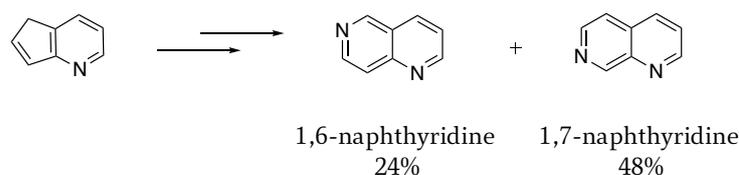


Schéma 4 Formation de 2 isomères de naphthyridine à partir de la cyclopentapyridine

En revanche, on constate ici que l'isomère 1,7 se forme préférentiellement et représente 48% du mélange contre 24% pour l'isomère 1,6.

D'autres méthodes permettent la synthèse des 1,6-naphthyridinones, notamment par hydrolyse d'halogéno-1,6-naphthyridines comme proposé par Singh et al.<sup>151</sup> La mise en présence de la 2-chloro-5-dichlorométhyl-1,6-naphthyridine dans du HCl à 6 M leur a permis d'obtenir la 5-dichlorométhyl-1,6-naphthyridin-2(1*H*)-one en moins de 2 heures avec un rendement de 67% (Schéma 5).

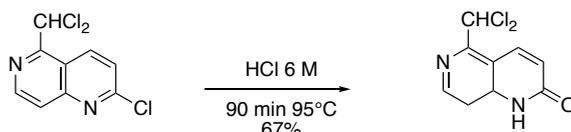


Schéma 5 Exemple de synthèse d'un dérivé 1,6-naphthyridinone

Il est également possible de trouver d'autres exemples provenant de dérivés amine, alcoxy ou encore *N*-oxyde naphthyridines comme présenté ci-dessous (Schéma 6).

En effet, Wozniak et al.<sup>152</sup> ont transformé la 2-amino-1,6-naphthyridine en 1,6-naphthyridin-2(1*H*)-one en présence d'acide sulfurique à reflux pendant plusieurs heures. Kobayashi et al.<sup>153</sup> ont montré la possibilité d'obtenir la 1,6-naphthyridin-2(1*H*)-one à partir de la 2-méthoxy-1,6-naphthyridine après 8 heures de réaction par l'utilisation de HCl concentré à chaud en tube scellé. Enfin, le même groupe de recherche a synthétisé cette même naphthyridinone à partir du dérivé *N*-oxyde correspondant en utilisant de l'anhydride acétique à chaud pendant 3 heures en tube scellé.<sup>154</sup>

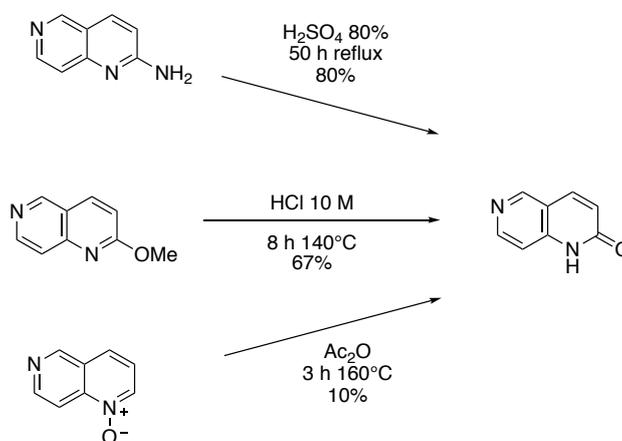


Schéma 6 Exemples de synthèses permettant l'obtention de la 1,6-naphthyridinone à partir de dérivés 1,6-naphthyridines

Cependant, l'ensemble de ces exemples nécessitent l'obtention au préalable du bicyclic 1,6-naphthyridine. Nous proposons dans ce chapitre, une méthode simple et efficace pour obtenir directement des dérivés 1,6-naphthyridinones sans passer par leurs intermédiaires naphthyridines.

## B. Optimisation de la synthèse

Comme exposé lors de l'introduction de ce chapitre, c'est au cours de l'étude de la première synthèse du bicyclic pyrano-pyridin-3-one que l'isomère 1,6-naphthyridin-7-one fût synthétisé de manière fortuite. La cyclisation du composé 2-(3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridin-2-yl)-2-phénylacétonitrile en milieu acide a permis d'obtenir le bicyclic naphthyridinone

avec un rendement de 10%. Nous avons alors repris ce travail afin d'optimiser cette stratégie et d'obtenir le bicyclic naphthyridinone fonctionnalisé avec un bon rendement.

L'utilisation d'une pyridine en tant que molécule de départ pourrait nous permettre d'envisager d'autres points de fonctionnalisation, notamment au niveau des positions 4 et 6 qui sont les positions les plus réactives de cet hétérocycle vis-à-vis des substitutions nucléophiles.

Le premier motif 1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one **4** synthétisé comporte un substituant phényle en position 8. Cette molécule nous servira de référence tout au long de ce chapitre (Schéma 7).

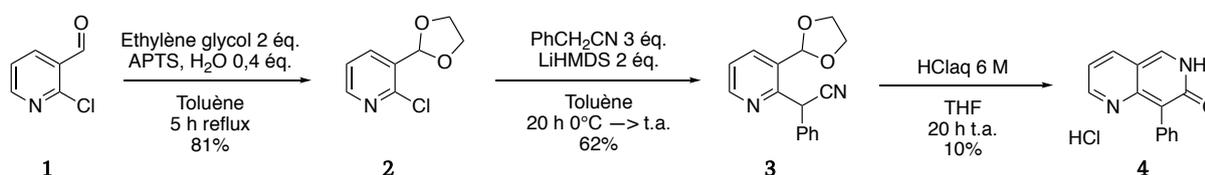
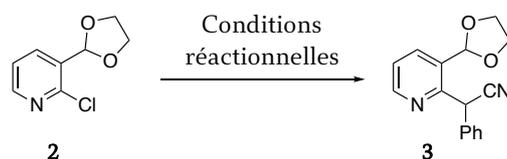


Schéma 7 Synthèse initiale de la phénylnaphthyridone

La première étape de cette synthèse consiste à protéger l'aldéhyde **1** sous forme d'acétal cyclique **2**. Cette réaction est réalisée dans des conditions classiques avec de l'éthylène glycol, de l'acide *para*-toluène sulfonique (APTS), dans du toluène à reflux, à l'aide d'un montage Dean-Stark pour éliminer l'eau formée.

La seconde étape correspond à une substitution nucléophile aromatique ( $S_NAr$ ) de la 2-chloropyridine **2** par l'anion du phénylacétonitrile. Cette étape était initialement réalisée en présence de 3 équivalents de phénylacétonitrile, de 2 équivalents d'hexaméthylidisilamidure de lithium (LiHMDS), dans du toluène à température ambiante et permettait l'obtention du produit de  $S_NAr$  avec un rendement de 62% après 20 heures. Cette étape a par la suite fait l'objet d'une optimisation des conditions réactionnelles afin de diminuer le temps de réaction, et de s'affranchir de l'utilisation de base lithiée qui nécessite une utilisation à basse température. Nous avons alors choisi d'utiliser de l'hydrure de sodium (NaH) en tant que base forte dans cette synthèse. De cette façon, nous pouvons avoir recours au chauffage ce qui devrait nous permettre d'accéder à plus de diversité chimique par l'utilisation de dérivés nitriles variés. Ces nouvelles conditions nous ont

permis d'obtenir le produit de substitution **3** en 3 heures de réaction à reflux avec un rendement de 70% en utilisant un excès de NaH et 2 équivalents de substrat phénylacétonitrile. Nous avons ensuite diminué les quantités de réactifs au strict minimum et c'est ainsi que nous obtenons les meilleures conditions réactionnelles avec un rendement en produit attendu de 80% (Tableau 2).



Conditions réactionnelles	LiHMDS (3 éq.) Substrat (2 éq.)	NaH (5 éq.) Substrat (2 éq.)	NaH (2 éq.) Substrat (1 éq.)
Rendements	62%	70%	80%

Tableau 2 Conditions d'optimisation de l'étape de SNAr

La fin de la séquence réactionnelle correspond à une cyclisation en milieu acide qui permet d'aboutir au bicyclic azoté en une seule étape, sous la forme d'un chlorhydrate. Nous procédons à une cyclisation en présence d'HCl aqueux dans du THF à température ambiante pendant une nuit. Dans ces conditions, nous observons dans un premier temps la déprotection de l'acétal, suivie de l'hydrolyse ménagée de la fonction nitrile en carboxamide qui peut alors réagir par addition nucléophile sur l'aldéhyde. Enfin, le composé aromatique est obtenu par élimination d'une molécule d'eau (Schéma 9). La molécule finale a été observée et isolée pour la première fois avec 10% rendement en utilisant une solution de HClaq à 6 M. C'est en forçant un peu les conditions et en utilisant du HClaq à 12 M que nous sommes parvenus à obtenir une conversion totale en faveur de la 1,6-naphthyridin-7-one (Schéma 8).

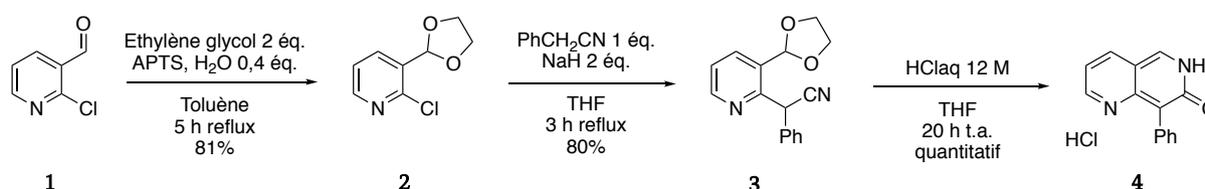


Schéma 8 Synthèse optimisée de la 8-phénylnaphthyridinone

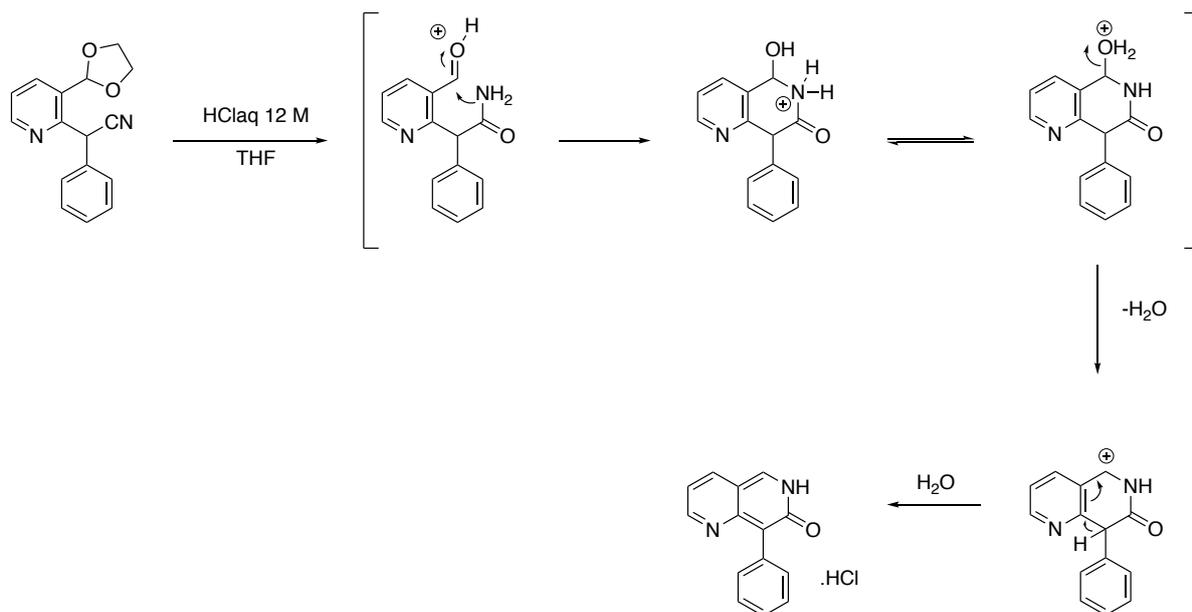


Schéma 9 Mécanisme de cyclisation de la naphthyridinone

Nous avons obtenu la structure RX du composé 8-phényl-1,6-naphthyridin-7-one sous forme de chlorhydrate confirmant définitivement la structure de la molécule (Figure 51).

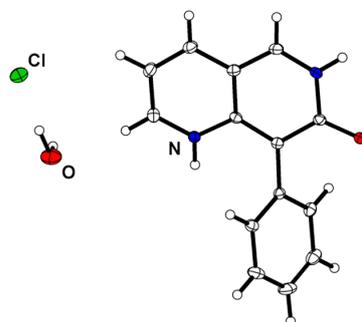


Figure 51 Structure RX de la 8-phényl-1,6-naphthyridin-7-one

### C. Diversification du bicycle 1,6-naphthyridin-7-one

A l'issue de ce premier travail d'optimisation, notre objectif a été de mettre au point l'exemplification et d'accéder à des dérivés naphthyridinones comportant des groupements de nature électronique variée dans le but d'étudier et de moduler leurs propriétés spectroscopiques.

Nous avons alors identifié deux points de diversification privilégiés (Figure 52). Le premier, nommé R<sup>1</sup>, découle directement de la façon d'obtenir le bicyclic naphthyridinone. L'utilisation de dérivés aryles acétonitriles nous permettrons l'insertion de divers groupements en position 8 de la pyridone. Le deuxième est issu de la réactivité favorable de la position 4 du cycle pyridine et sera nommé R<sup>2</sup>.

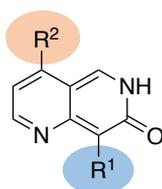


Figure 52 Points de diversification R<sup>1</sup> et R<sup>2</sup> de la plateforme naphthyridinone

### 1. Voie de synthèse du bicyclic 1,6-naphthyridin-7-one substitué en position 8 (groupe R<sup>1</sup>)

Nous avons choisi, dans un premier temps, de fonctionnaliser le cycle naphthyridinone par des groupements aromatiques et hétéroaromatiques grâce à l'insertion de différents substrats aryles acétonitriles lors de l'étape de S<sub>N</sub>Ar sur la chloropyridine **1**.

Avant cela, certains précurseurs aryles acétonitriles ont dû être préalablement synthétisés (Schéma 10). Il s'agit des motifs 4-méthylphényle et 4-éthynylphényle qui n'étaient pas à disposition au laboratoire. Le 4-méthylphényle acétonitrile est obtenu par une réaction de substitution nucléophile à partir du bromure de 4-méthylbenzyle en présence de cyanure de potassium à chaud. Le 4-éthynylphényle est quant à lui obtenu par un couplage de Sonogashira entre le 4-bromophénylacétonitrile et l'éthynyltriméthylsilane. La fonction éthynyle sera déprotégée directement dans les conditions de S<sub>N</sub>Ar lors de l'étape suivante.

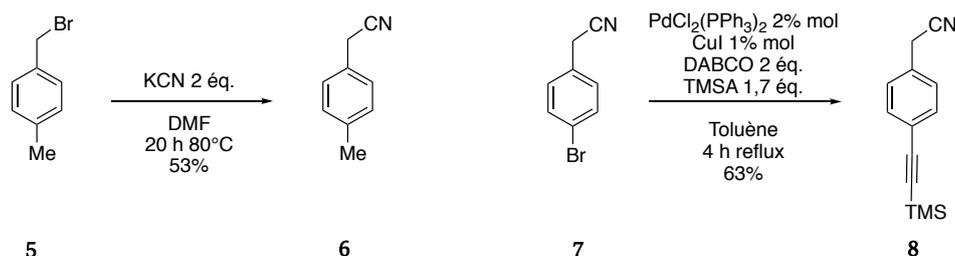


Schéma 10 Substrats acétonitriles préalablement synthétisés

Lors de l'exemplification, les conditions réactionnelles de l'étape de  $S_NAr$  ont dû être réajustées afin de pouvoir obtenir une méthode générale et efficace pour l'ensemble des dérivés choisis. Ainsi, 3 équivalents de NaH au lieu de 2, et 2 équivalents de substrats acétonitrile au lieu de 1 sont nécessaires pour réaliser l'étape de substitution pour l'ensemble des substrats aryles acétonitriles comme présenté ci-dessous (Schéma 11).

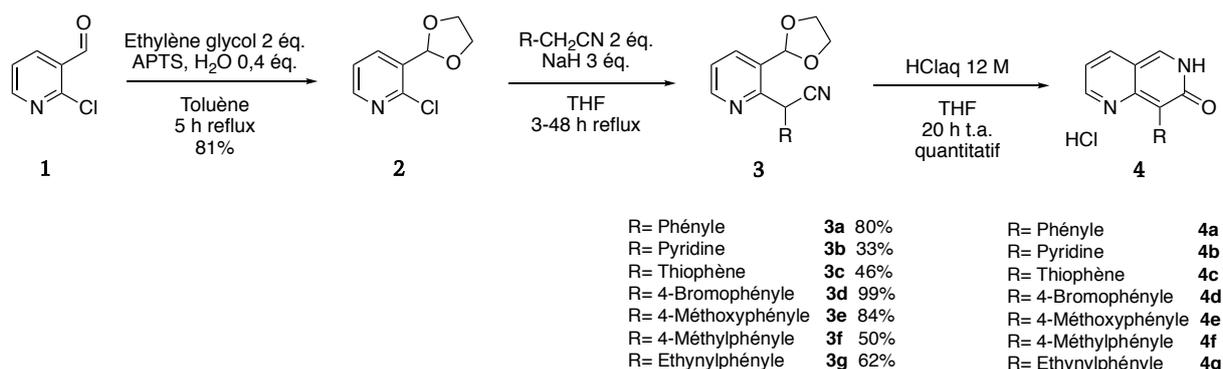


Schéma 11 Synthèse générale des 8-arylnaphthyridinones

Grâce à cette stratégie, différents produits de  $S_NAr$  ont pu être obtenus avec une bonne diversité structurale. Des fonctions aromatiques substituées en position *para* du phényle par des groupements électro-donneurs tels que Me, OMe, éthynyle ont été introduits avec succès en 24 à 48 heures, avec des rendements allant de 50 à 84%. Le produit substitué par le 4-bromophényle a lui été obtenu avec un rendement de 99% et permettrait également d'introduire un point de fonctionnalisation supplémentaire pour d'éventuels couplages carbone-carbone. Malgré des rendements plus faibles, nous avons aussi montré que des fonctions hétéroaromatiques telles que la 2-pyridine ou la 2-thiophène pouvaient être introduites en 4 à 20 heures.

En revanche, certains dérivés n'ont pas pu être obtenus. Les composés 4-trifluorophénylacétonitrile, phénylsulfonylacétonitrile et (1-imidazolyl)acétonitrile n'ont

pas pu être synthétisés, et ce malgré la modification des conditions réactionnelles avec notamment un temps de réaction plus long mais aussi un changement de substrat par la 2-fluoropyridine au lieu de la 2-chloropyridine (Figure 53).

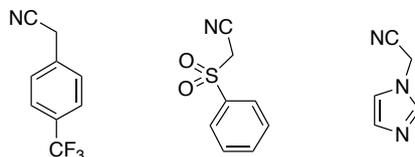


Figure 53 Substrats acétonitriles n'ayant pas fonctionné

Ici, nous nous heurtons directement au problème de réactivité des substrats engagés. Lors de la réaction de  $S_NAr$ , la première étape consiste à former un anion, par déprotonation d'un hydrogène en alpha de la fonction nitrile, qui deviendra l'espèce nucléophile. Pour la suite, la cinétique de l'addition nucléophile sera directement dépendante de la nucléophilie de cette espèce anionique. En effet, une espèce anionique trop stabilisée par effet -I et/ou -M serait moins réactive lors de l'addition nucléophile sur la chloropyridine. A l'inverse, une espèce anionique peu stabilisée par effet +I et/ou +M serait plus difficile à former, car moins stable, mais plus réactive et conduirait à la formation du produit désiré. Il faut donc trouver le bon équilibre au niveau des effets électroniques des substrats afin qu'ils puissent conduire aux produits de réaction souhaité. Nous supposons une stabilité trop importante des anions des motifs phénylesulfonyle, imidazole et trifluorophényle acétonitrile.

Enfin, concernant la dernière étape de la synthèse des motifs naphthyridinones, la cyclisation s'avère être quantitative pour l'ensemble des composés **4a-4g** (Schéma 11).

Dans un deuxième temps, nous avons tenté de tirer profit de la présence de l'atome de brome sur le dérivé 4-bromophényle naphthyridinone **4d** pour post-fonctionnaliser la molécule. Ceci nous permettrait d'augmenter la conjugaison du système et ainsi obtenir plus de diversité structurale, toujours dans le but de moduler les propriétés photophysiques.

Pour cela, nous avons engagé le composé 4-bromophényle naphthyridinone dans un couplage de Sonogashira de façon à y introduire les motifs 4-éthynylanisole et 4-éthynyl-*N,N*-diméthylaniline (Schéma 12).

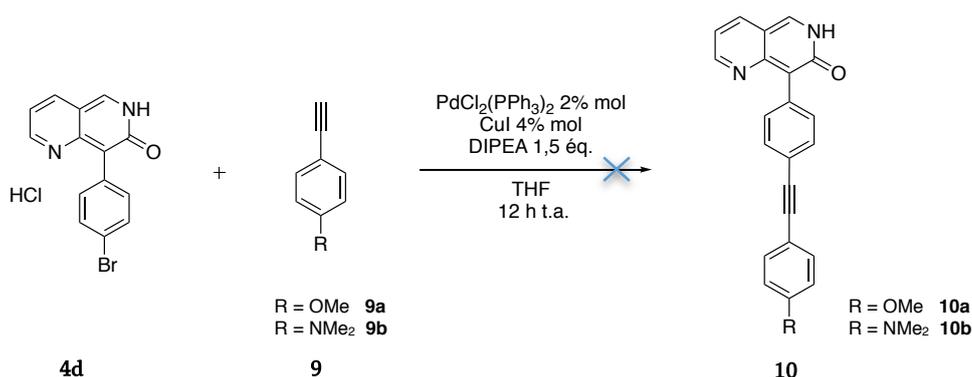


Schéma 12 Tentatives d'élongation des structures naphthyridinones par couplage de Sonogashira

Ces essais ont été réalisés en présence de 2% molaire de  $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ , 4% de  $\text{CuI}$ , 1,5 équivalents de diisopropyléthylamine (DIPEA), et 1 équivalent de substrat éthyne dans du THF. Aucun produit de couplage n'a été obtenu à l'issue des réactions. Nous avons alors supposé que la forme chlorhydrate de la molécule de départ pouvait être responsable de cette non réactivité.

Nous avons tenté de neutraliser la molécule avant de l'engager dans l'étape de couplage de Sonogashira. Pour cela, nous avons opéré de différentes façons ; par extraction avec une solution aqueuse basique, par neutralisation avec du  $\text{NaOH}$  en quantité stœchiométrique puis par extraction liquide-liquide, ou encore à l'aide d'une colonne d'alumine basique. Ces essais n'ont pas permis d'isoler la molécule sous forme neutre de manière efficace. Nous pouvons noter ici qu'une non miscibilité importante de l'hétérocycle dans les solvants organiques a été observée durant ces manipulations.

Afin de pallier ce problème, nous avons alors engagé le produit de  $\text{S}_\text{N}\text{Ar}$  **3d** dans une réaction de Sonogashira en utilisant les conditions réactionnelles précédentes. (Schéma 13) Malheureusement, cette étape de couplage n'a pas été concluante, nous retrouvons essentiellement les produits de départ n'ayant pas réagi.

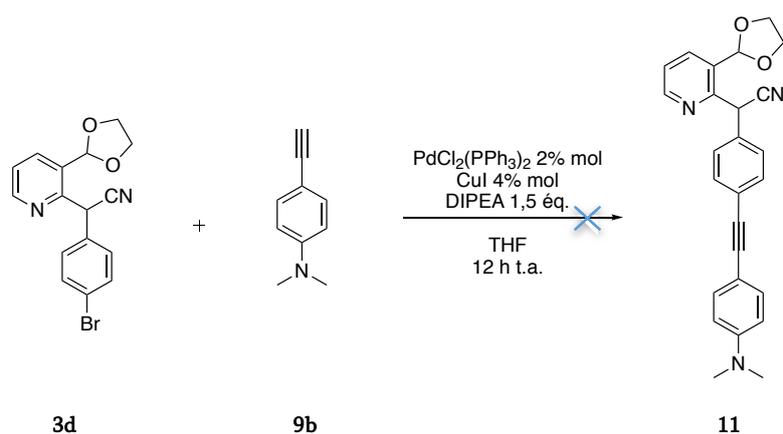


Schéma 13 Essai de couplage de Sonogashira sur la forme ouverte

Pour conclure, ce travail d'exemplification sur la position 8 nous a permis d'obtenir 7 molécules fonctionnalisées par un groupement aromatique ou hétéroaromatique avec des rendements de 30 à 99% en trois étapes à partir de composés commerciaux (Figure 54).

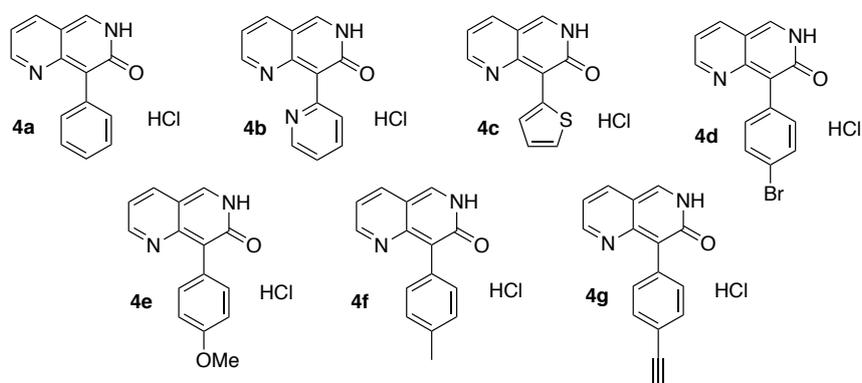
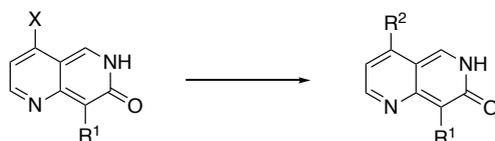


Figure 54 Exemplification de R<sup>1</sup> des naphthyridinones

## 2. Voie de synthèse du bicycle 1,6-naphthyridin-7-one substitué en position 4 (groupement R<sup>2</sup>)

Nous nous sommes ensuite intéressés à la fonctionnalisation de la partie pyridine du bicycle naphthyridinone. Grâce à la présence d'un halogène en position 4 nous pensions

pouvoir effectuer des couplages carbone-carbone qui nous permettraient de diversifier la molécule par des groupements aromatiques sur le même principe que vu précédemment.



X= Br ou I

Schéma 14 Introduction envisagée du groupement R<sup>2</sup>

Pour cela, nous avons choisi de débiter la synthèse avec un composé dihalogéné, la 2,4-dibromo-3-pyridinecarboxaldéhyde. La séquence réactionnelle débute par la formation de l'acétal dibromé **13** dans les conditions décrites précédemment avec un rendement de 93%. Lors de l'étape suivante de S<sub>N</sub>Ar nous avons constaté une compétition entre les positions halogénées 2 et 4 aboutissant à la formation de deux produits en proportion 1:1 (Schéma 15). Ce mélange d'isomères de position est difficilement séparable, ce qui a compromis l'obtention du produit désiré (substitué en 2) en bonne quantité.

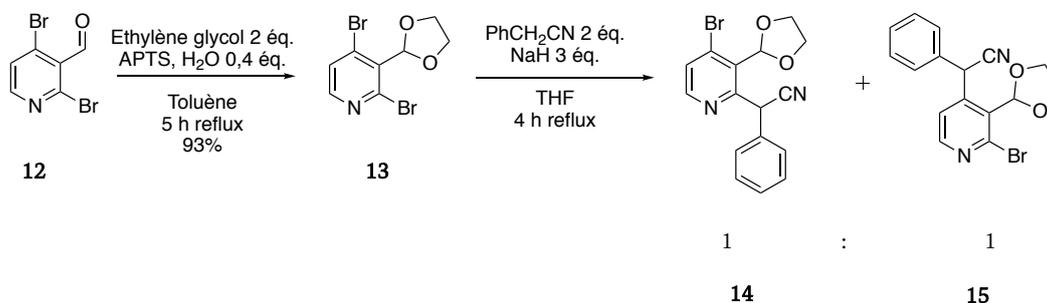


Schéma 15 Synthèse de la 4-bromo-8-phénylnaphthyridinone à partir de la 2,3-dibromo-3-pyridinecarboxaldéhyde

Dans le but de mieux discriminer ces deux positions réactives lors de la substitution, nous avons débuté notre synthèse avec la 2-chloro-4-iodo-3-pyridinecarboxaldéhyde **16** en espérant une substitution privilégiée de l'atome de chlore, meilleur groupe partant que l'iode pour cette étape d'S<sub>N</sub>Ar (Schéma 16).

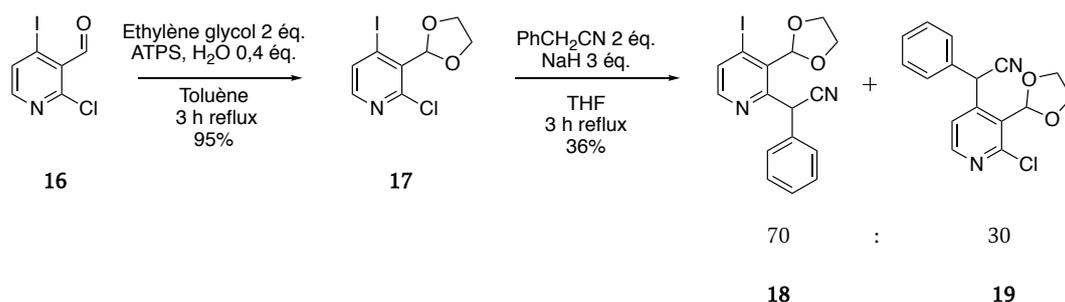


Schéma 16 Synthèse de la 4-iodo-8-phénylnaphthyridinone à partir de la 2-chloro-4-iodo-3-pyridinecarboxaldéhyde

A partir de **17**, nous avons obtenu un mélange de produits **18** et **19** en proportion 70/30, en faveur de l'isomère désiré. Le produit **18** résultant de la substitution en position 2, a été séparé et purifié du mélange. Nous avons engagé l'intermédiaire **18** dans la réaction de cyclisation dans les mêmes conditions que précédemment (Schéma 17).

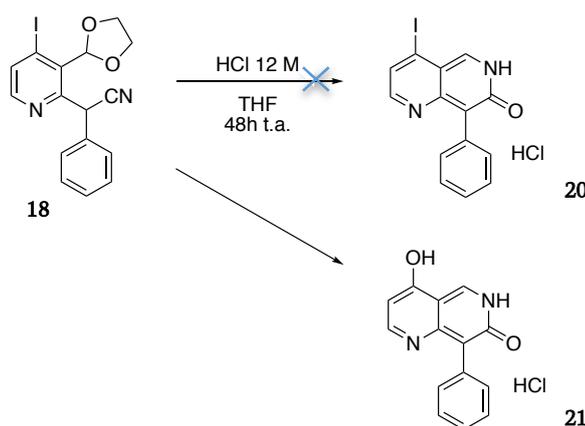


Schéma 17 Étape de cyclisation du composé 18

Lors de cette cyclisation en milieu acide, de manière surprenante, nous n'avons pas obtenu le produit bicyclique iodé **20** mais le produit comportant un groupement hydroxyle en position 4 du noyau pyridine. Nous supposons que dans les conditions acides employées, le noyau pyridine est protoné et activé pour l'attaque d'une molécule d'eau sur le carbone portant l'atome d'iode. La molécule observée serait plutôt la forme céto, c'est-à-dire la forme 4,7-naphthyridinedione plus stable que la forme 4-hydroxynaphthyridinone comme représentée dans l'équilibre ci-dessous (Schéma 18).

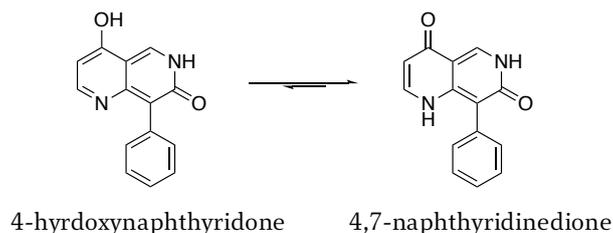


Schéma 18 Équilibre pyridol/pyridone

Nous avons donc réalisé des essais de couplage sur le précurseur **18** de la naphthyridinone. Pour se faire, un couplage Stille a été initié afin d'introduire des groupements aromatiques en position 4 du noyau pyridine (Figure 55).

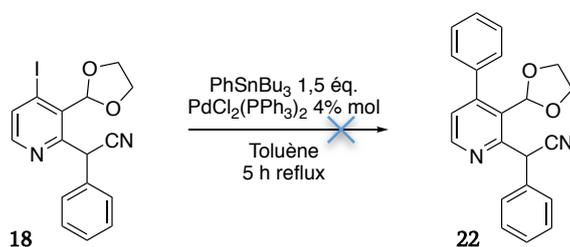


Figure 55 Essais du couplage palladié de Stille sur l'intermédiaire naphthyridinone ouvert

Malheureusement, dans ces conditions, aucun produit de couplage n'a été observé. Nous notons ici que la présence de la fonction nitrile pourrait complexer le palladium et ainsi empêcher l'addition oxydante.

Au terme de cet essais nous avons décidé de réaliser un couplage de Suzuki sur l'intermédiaire acétal **17** mais aussi directement sur la 2-chloro-4-iodo-3-pyridine carboxaldéhyde de départ **16** (Schéma 19). L'intérêt de procéder au couplage en amont de la  $S_NAr$  est de ne plus avoir de compétition entre l'iode et le chlore lors de cette étape, l'iode étant plus réactif qu'un atome de chlore lors d'un couplage palladié.

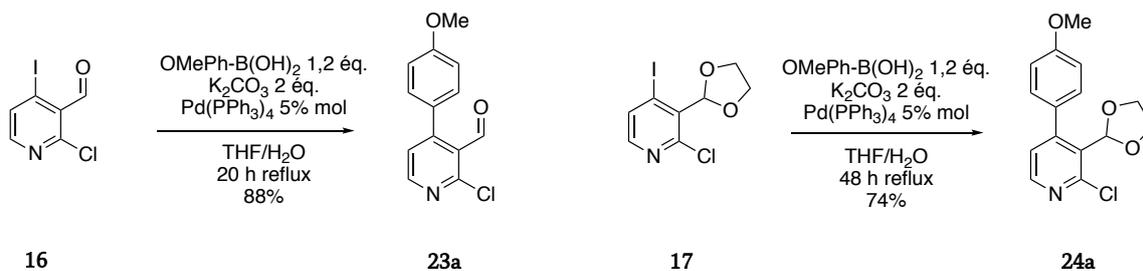


Schéma 19 Essais de couplage de Suzuki

Dans les deux cas de figure, les produits de couplage attendus ont pu être obtenus, en 20 heures à partir de la forme non protégée (aldéhyde) et avec un rendement de 88 % et sur une durée de 48 heures à partir de la forme acétale avec un rendement de 74 %.

Cette différence de réactivité et le temps de réaction moins long pour l'essai avec la 4-iodo-2-chloropyridine carboxaldéhyde peut s'expliquer par l'effet électronique attracteur de l'aldéhyde qui favorise l'insertion du palladium.

De cette façon, la diversification de notre système pour la modification du groupement R<sup>2</sup> par couplage de Suzuki intervient dès la 1<sup>ère</sup> étape de la synthèse.

Dans le but d'apporter d'une part de la conjugaison mais d'autre part des effets électroniques différents sur notre bicyclic naphthyridinone, nous avons choisis d'introduire les motifs phényle, 4-méthoxyphényle, 4-trifluorophényle et 4-cyanophényle comme groupements R<sup>2</sup>.

Les différents motifs aromatiques substitués ont été introduits par couplage de Suzuki, en présence des acides boroniques correspondants, de 2 équivalents de carbonate de potassium, de 5 % molaire de Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> dans un mélange eau / tétrahydrofurane au reflux (Schéma 20). Les produits de couplage ont pu être isolés avec des rendements allant de 17 à 88%.

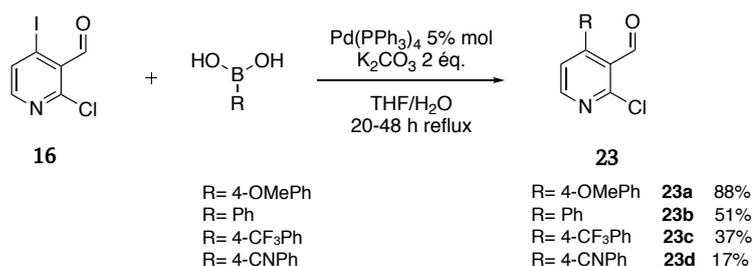


Schéma 20 Couplage de Suzuki sur la 4-iodopyridine

La fonction aldéhyde a ensuite été protégée sous forme d'un acétal cyclique en utilisant les conditions mises au point précédemment (Schéma 21). Les différentes pyridines **24** ont ainsi pu être obtenues avec des rendements modestes compris entre 51 et 60%.

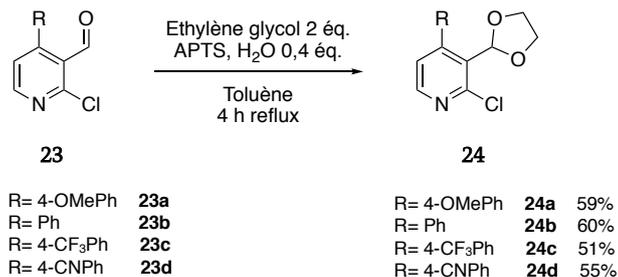


Schéma 21 Protection des pyridines sous forme d'acétal

La suite de la séquence réactionnelle a été menée selon les conditions précédemment décrites en présence de phénylacétonitrile et de NaH pour la réaction de S<sub>N</sub>Ar (Schéma 22). Après 48 heures de reflux, les différents produits de substitution ont pu être isolés avec des rendements allant de 27% pour le dérivé phényle **25b** à 64 % pour le dérivé 4-cyanophényle **25d**.

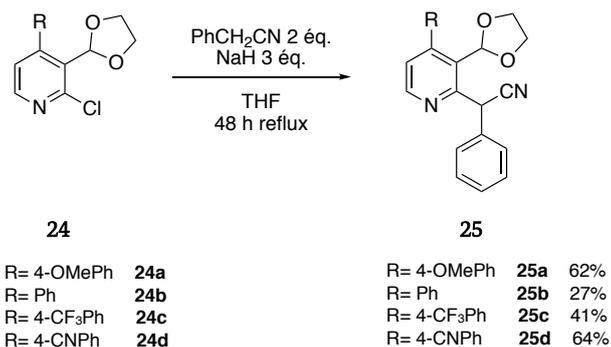


Schéma 22 Réaction de S<sub>N</sub>Ar sur les pyridines protégées

Les naphthyridinones fonctionnalisées attendues ont finalement pu être obtenues avec de bons rendements après l'étape de cyclisation en milieu acide (Schéma 23).

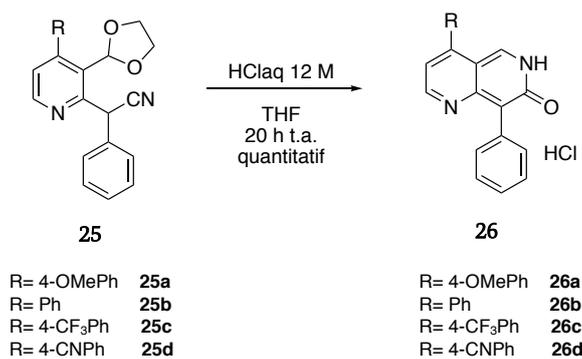


Schéma 23 Obtention des naphthyridinones substituées en position 4

### 3. Bilan de la diversification du cycle naphthyridinone

A l'issue de ce deuxième travail de synthèse sur la plateforme naphthyridinone, nous parvenons à obtenir une librairie de 11 composés diversement substitués (Figure 56). Des groupements de type donneur et accepteur ont ainsi pu être insérés sur les positions 4 et 8 du bicyclic naphthyridinone.

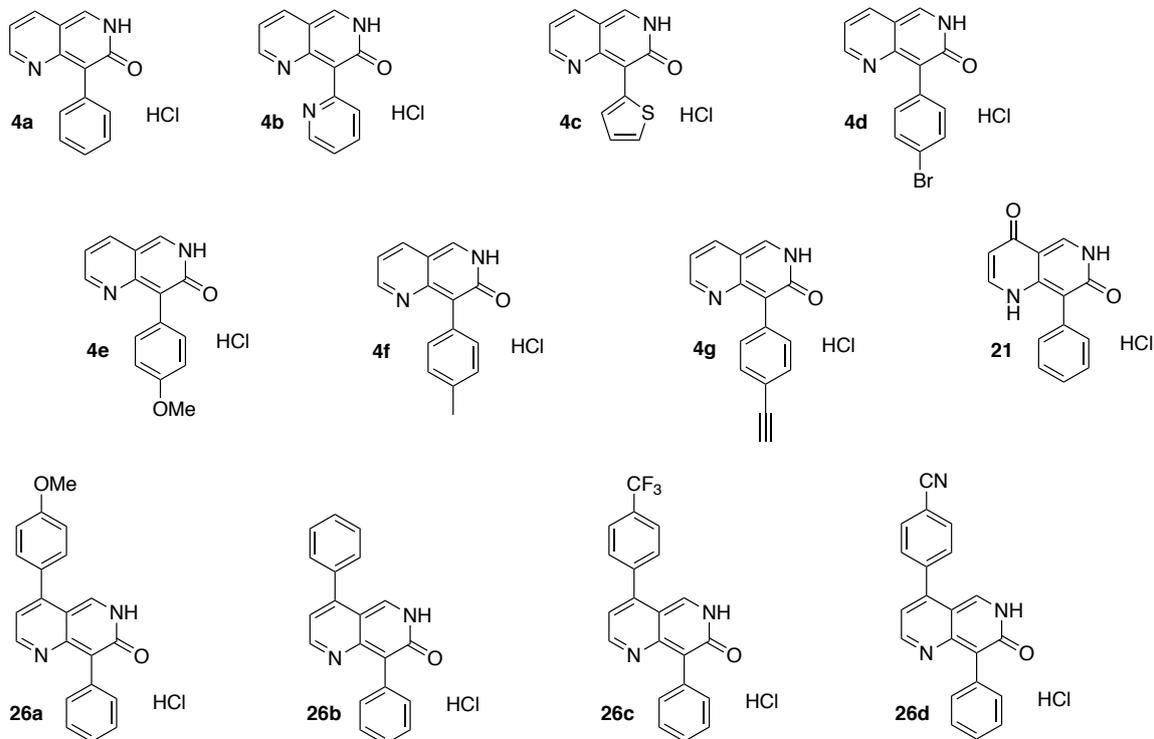


Figure 56 Ensemble des dérivés naphthyridinones obtenus

## Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons présenté le potentiel qu'offre le bicyclic 1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one en détaillant nos travaux concernant sa synthèse et sa fonctionnalisation. Malgré plusieurs difficultés synthétiques, nous avons réussi à établir une stratégie de synthèse courte et efficace de naphthyridinones originales grâce à des réactions simples à mettre en œuvre. Un panel de molécules a ainsi été obtenu avec une bonne diversité structurale, ce qui nous permet d'envisager une étude complète de la relation structure-propriétés photophysiques et de leur utilisation future en tant que nucléobases pour l'élaboration de nucléosides fluorescents.

## Chapitre 3 : Évaluation photophysique et biologique des naphthyridinones



## Chapitre 3 – Évaluation photophysique et biologique des naphthyridinones

Comme nous l'avons présenté dans le chapitre d'introduction, la fluorescence des bases nucléiques artificielles provient de la nucléobase, qui est ici un hétérocycle fluorescent.

Au cours du chapitre 2, nous avons détaillé notre travail de synthèse visant à diversifier la plateforme naphthyridinone afin de moduler ses propriétés de fluorescence.

Notre prochain objectif est d'évaluer leurs propriétés de fluorescence mais également leur profil biologique en contrôlant leur cytotoxicité, en vue de leur application future.

### I. Propriétés photophysiques du bicycle naphthyridinone

#### A. Étude du cycle naphthyridinone

Après la synthèse de cet ensemble de molécules (Figure 57) nous nous sommes intéressés à leurs propriétés photophysiques. Nous avons commencé cette étude par enregistrer les spectres d'absorption et d'émission de fluorescence des naphthyridinones synthétisées.

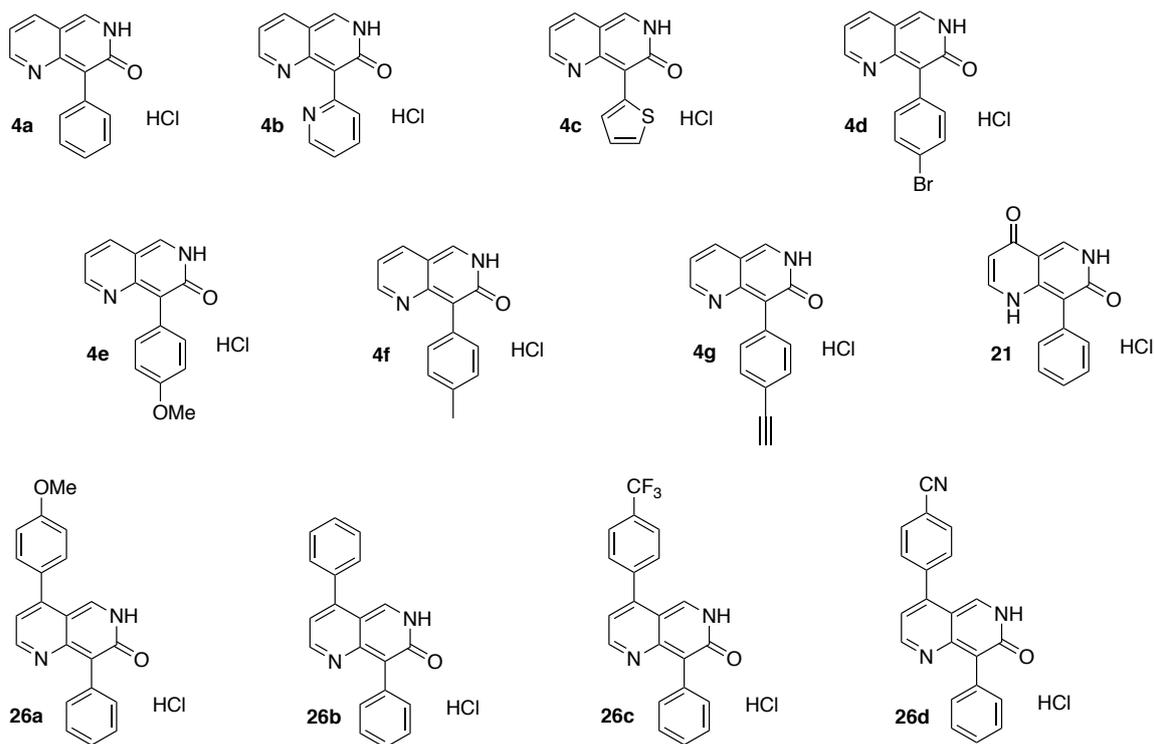


Figure 57 Ensemble des molécules étudiées pour leur propriétés spectroscopiques

Pour cela, une solution stock de chaque composé a été réalisée dans le DMSO, puis toutes les mesures d'absorbance ont été réalisées avec des solutions à une concentration de  $1.10^{-4}$  M dans du tampon phosphate (pH 7,4, Phosphate Buffered Saline, PBS) 1X (Figure 58).

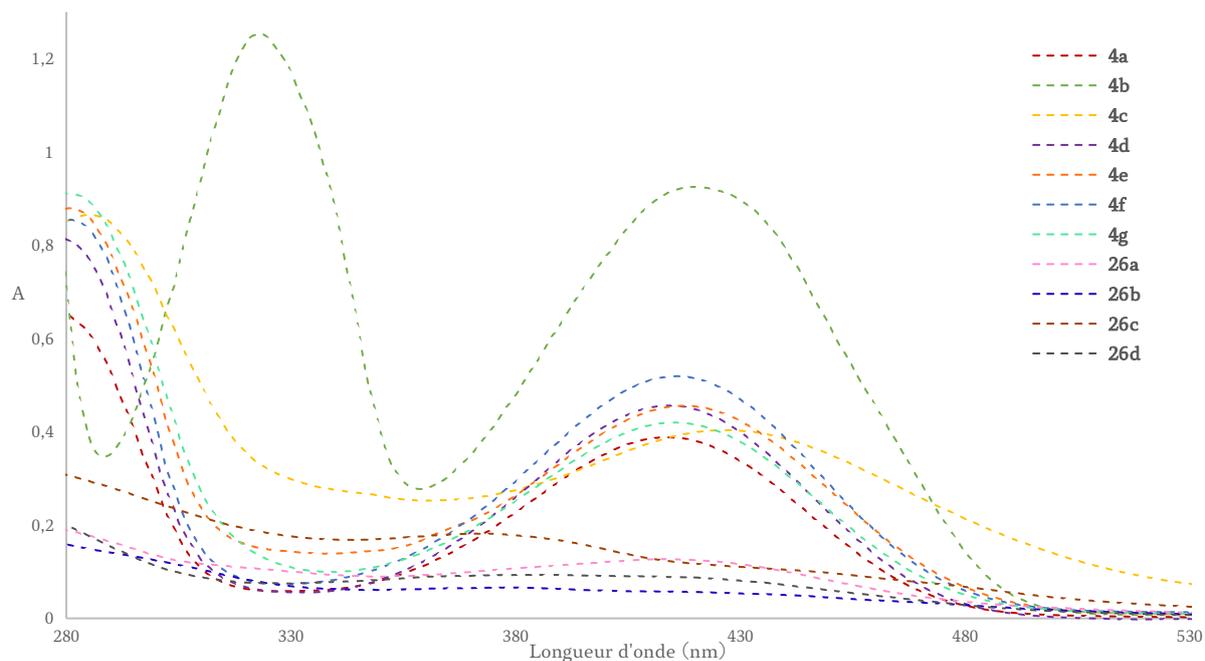


Figure 58 Spectres d'absorption des naphthyridinones pour une concentration de  $10^{-4}$  M dans le PBS 1X

Nous pouvons constater que tous les composés absorbent dans le visible et que l'allure des courbes est globalement similaire, de par la valeur de la longueur d'onde du maximum d'absorption à environ 415 nm mais aussi de par leur absorbance. La seule exception correspond au spectre d'absorption du composé comportant un motif pyridine (**4b**). En effet, l'absorbance de cette molécule dans l'UV visible (avec un coefficient d'absorption molaire de  $8127 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) est bien plus importante que les autres molécules et de plus possède deux bandes d'absorption, à 325 nm et 420 nm. Nous pensons que l'absorption à 325 nm, déplacée vers le bleu, pourrait provenir d'une conformation supplémentaire de la molécule où l'atome d'azote de la pyridine forme une liaison hydrogène avec le groupe hydroxyle du cycle pyridol (Figure 59). En effet, comme nous avons pu le voir dans l'introduction du chapitre 2, les naphthyridinones sont en équilibre tautomérique avec leur forme naphthyridinol.

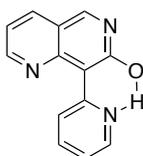


Figure 59 Liaison intramoléculaire entre l'atome d'azote et le proton de l'hydroxyle

Concernant l'émission de fluorescence, les solutions ont toutes été réalisées dans du PBS 1X à une concentration de  $1.10^{-5}$  M (Figure 60). Les spectres d'émission sont obtenus par excitation de l'échantillon au maximum d'absorption de chacune des molécules, c'est-à-dire autour de 415 nm (Tableau 3).

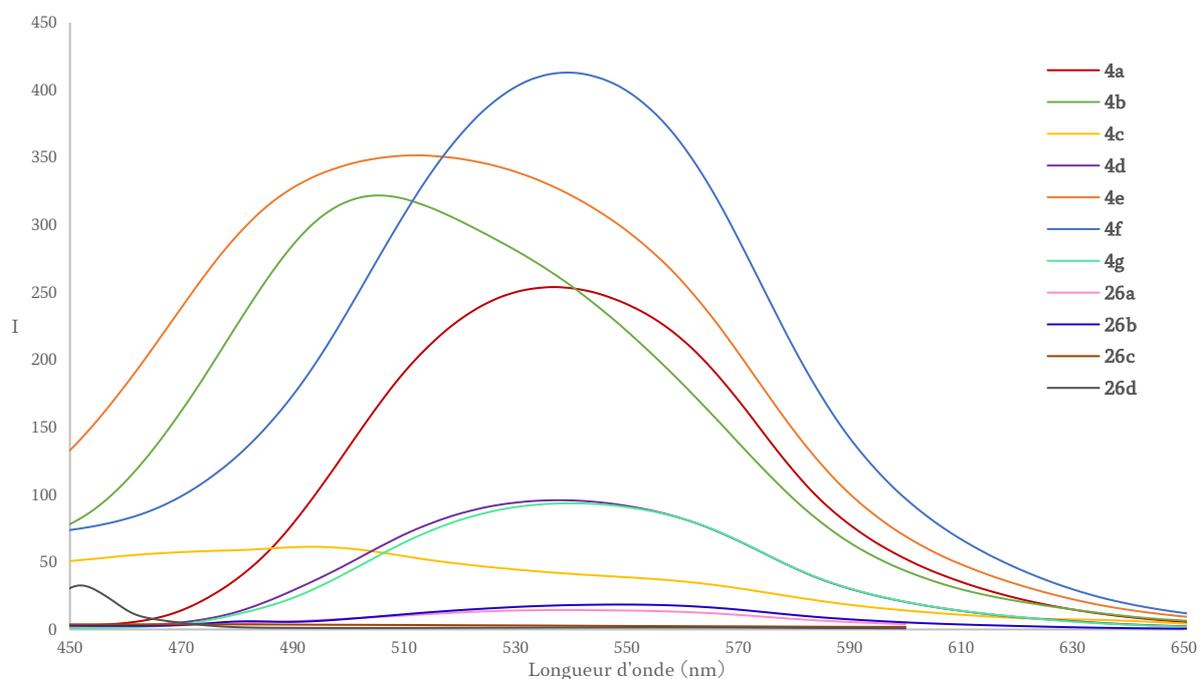


Figure 60 Spectre d'émission de fluorescence des naphthyridinones pour une concentration de  $10^{-5}$  M dans le PBS 1X

Lors de l'analyse des spectres, nous pouvons noter cette fois un peu plus de variations dans les mesures obtenues. Les composés comportant un groupement phényle (**4a**), 4-bromophényle (**4d**), 4-méthylphényle (**4f**) et 4-éthynylphényle (**4g**) ont le même maximum d'émission à 540 nm mais avec une intensité variable. Il semblerait alors que la nature des substituants en position *para* du phényle n'impactent pas la longueur d'onde d'émission.

En revanche, un effet hypsochrome est observé pour le composé substitué par un groupement pyridine (**4b**) ( $\Delta = 40$  nm) (pour l'excitation de la bande à 420 nm) et le motif 4-méthoxyphényle (**4e**) ( $\Delta = 27$  nm). Concernant le motif thiophène une faible fluorescence est observée. Enfin, pour les molécules substituées en position 4 et 8 de naphthyridinone (**26a-d**), nous constatons que l'augmentation de la conjugaison ainsi que l'apport d'effets électroniques différents n'impactent pas la longueur d'onde d'émission. Enfin, des déplacements de Stokes assez importants sont obtenus pour la plupart des composés allant jusqu'à 164 nm (Tableau 1).

L'ensemble des mesures spectroscopiques des molécules étudiées est rassemblé dans le tableau ci-dessous (Tableau 3).

Composé	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)	Déplacement de Stokes (nm)	$\epsilon$ (L.mol <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> )
<b>4a</b>	414	537	123	4441
<b>4b</b>	323 et 420	508 (abs 420 nm)	88	11183 et 8127
<b>4c</b>	427	493	66	3650
<b>4d</b>	414	538	124	4493
<b>4e</b>	417	513	96	4493
<b>4f</b>	415	539	45	5070
<b>4g</b>	416	540	124	4131
<b>26a</b>	413	548	132	1270
<b>26b</b>	374	538	164	658
<b>26c</b>	373	410	37	1817
<b>26d</b>	403	555	152	909
<b>21</b>	364	460	96	6071

Tableau 3 Récapitulatif des propriétés spectroscopiques des naphthyridones étudiées pour une concentration de  $1.10^{-4}$  M pour l'absorption et  $1.10^{-5}$  M pour l'émission dans le PBS

## B. Étude de la phényle naphthyridinone

L'étude photophysique s'est poursuivie par une analyse plus approfondie du composé phényle naphthyridinone **4a** qui sera notre composé modèle (Figure 61).

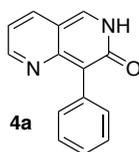


Figure 61 Molécule modèle de l'étude

Nous avons analysé la fluorescence et l'absorbance de ce dérivé dans diverses conditions en faisant varier les solvants, le pH, et les solutions tampons.

### 1. Étude du solvatochromisme

Les spectres d'absorption de **4a** dans différents solvants sont présentés sur ce graphique (Figure 62). Ils sont enregistrés pour des solutions à  $1 \cdot 10^{-4}$  M avec 1% de DMSO.

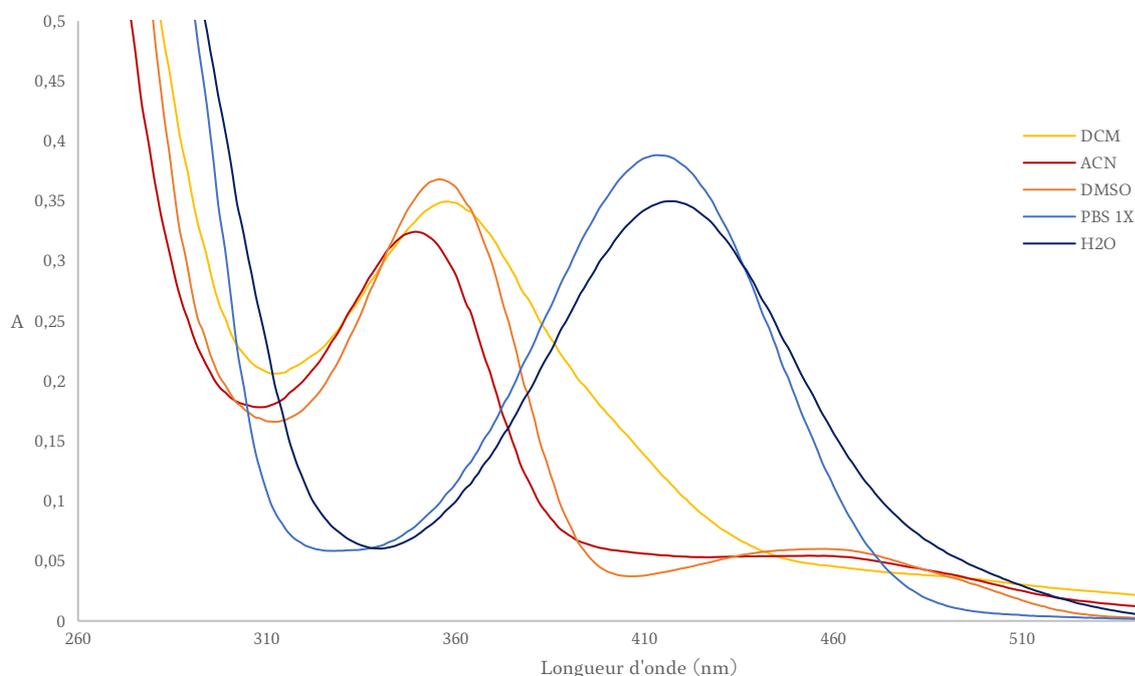


Figure 62 Spectres d'absorption de **4a** en fonction du solvant pour une concentration de  $10^{-4}$  M

Nous constatons que les spectres d'absorbance diffèrent selon la nature du solvant (protique ou aprotique). Ainsi dans les solvants aprotiques polaires de type DMSO, ACN

ou apolaire de type DCM, nous observons un maximum d'absorption à 355 nm alors que dans l'eau et le PBS, nous observons un effet bathochrome avec un déplacement du maximum d'absorption situé dans le visible à 415 nm. Ceci est une bonne chose dans notre cas d'étude puisque le milieu biologique est principalement composé d'eau.

Nous avons ensuite étudié la fluorescence de la molécule dans ces mêmes solvants (Figure 63).

Les émissions de fluorescence reportées ci-dessous correspondent à une excitation au maximum d'absorption pour chacun des cas.

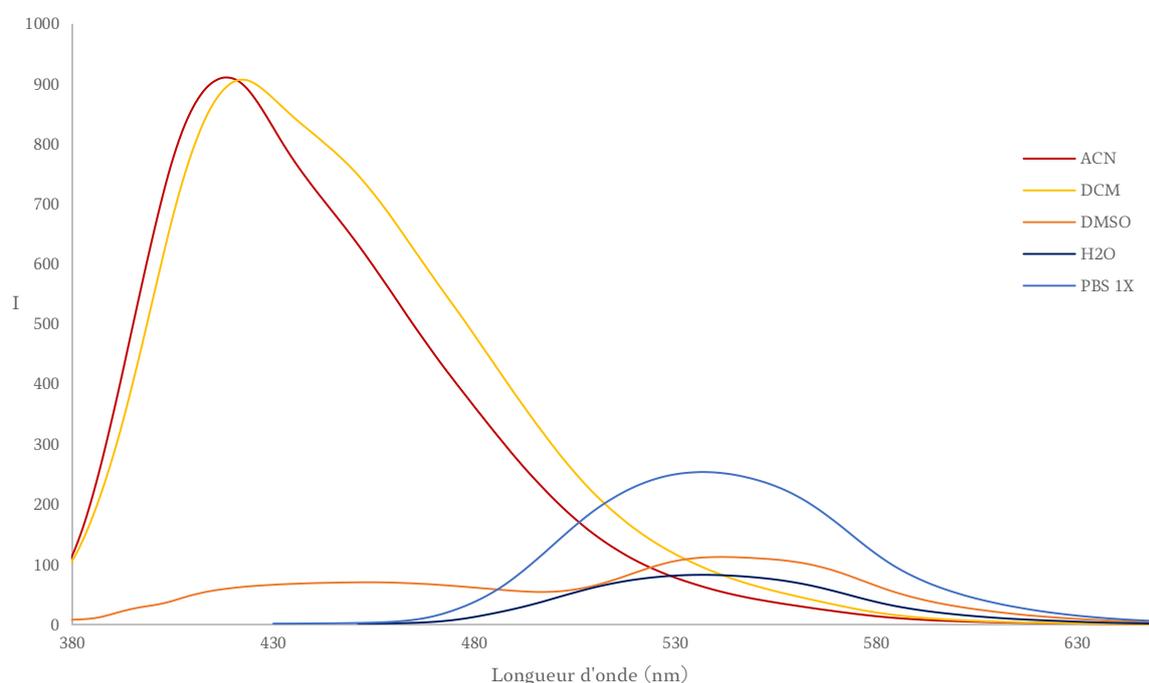


Figure 63 Spectres d'émission de fluorescence de **4a** en fonction du solvant pour une concentration de  $10^{-5}$  M

Sur ces spectres, deux tendances d'émission de fluorescence sont observées selon le solvant utilisé. Dans les solvants aprotiques, DCM et ACN, un maximum d'émission proche de 420 nm est obtenu. Dans les solvants protiques comme le PBS et l'eau, un effet bathochrome du maximum d'émission est observé avec une longueur d'onde avec un maximum à 540 nm. Nous observons également que l'intensité de fluorescence dans les solvants de type DCM et ACN est bien plus importante que dans les solvants protiques, PBS et eau. En revanche, pour le DMSO nous constatons une émission duale avec une première bande émissive à 449 nm et une deuxième à 547 nm. Cette double émission est également présente dans l'éthanol et le méthanol (Figure 64).

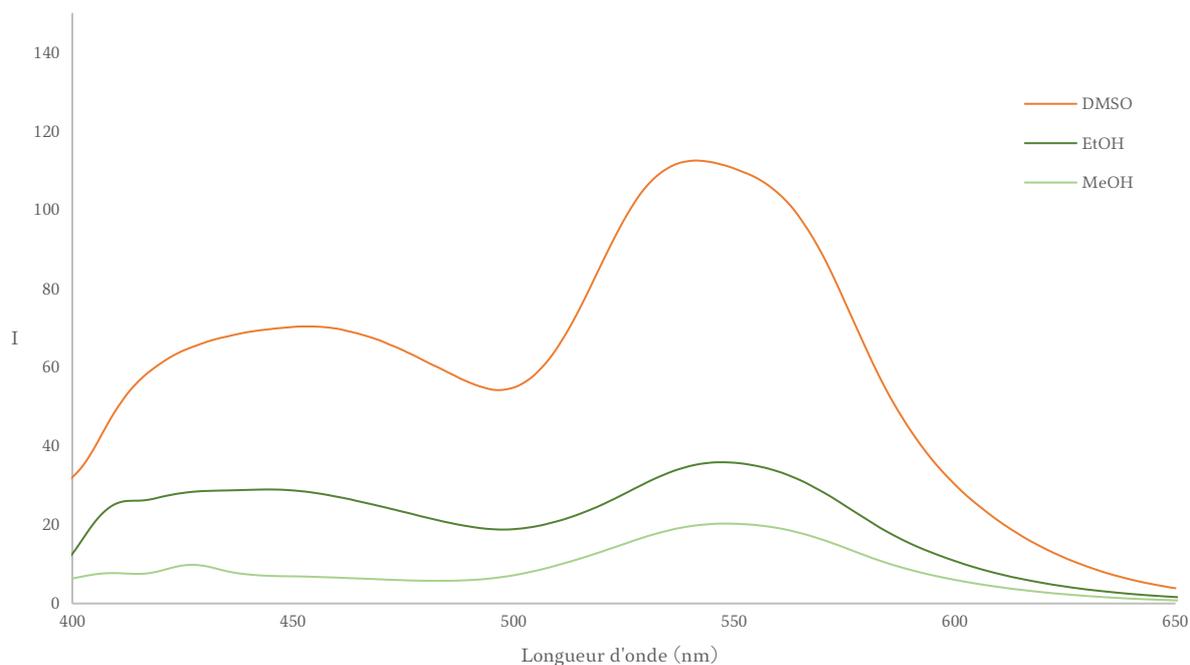


Figure 64 Spectres d'émission de **4a** dans les solvants polaires DMSO, EtOH et MeOH

D'après la littérature ce solvatochromisme est déjà connu pour le cycle isoquinolinone.<sup>143</sup> En effet, ce phénomène est lié à l'équilibre tautomère possible du cycle pyridone présente sur la molécule (Figure 65). Il est ainsi possible d'observer plutôt la forme lactame (1<sup>ère</sup> bande d'absorption) ou lactime (2<sup>ème</sup> bande d'absorption) en fonction du solvant. Il s'avère que dans les solvants organiques de types alcools, solvant protique polaire, un mélange des deux formes existe donnant ainsi cette double émission.<sup>146</sup> Dans notre cas de figure, nous constatons que le DMSO suit la même tendance que les solvants alcooliques.

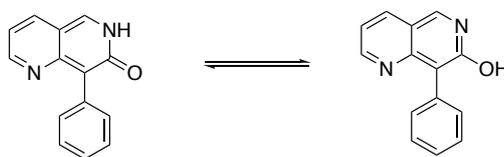


Figure 65 Équilibre lactame/lactime

## 2. Étude de l'influence du pH

La présence d'une partie pyridinique sur la naphthyridinone **4a** présuppose une sensibilité aux milieux acides et nous avons cherché à mesurer l'influence du pH sur les propriétés photophysiques de la molécule.

Dans un premier temps nous avons étudié l'intensité d'émission de fluorescence de **4a** pour une excitation à son  $\lambda_{\text{absmax}} = 415 \text{ nm}$  sur une gamme de pH comprise entre 2 et 12.

Cette courbe a été obtenue en enregistrant l'ensemble des spectres d'émission de fluorescence à différents pH à l'aide de solutions tamponnées aux pH correspondants. Puis, nous avons relevé le maximum d'intensité de fluorescence à chacun des pH. Pour cela, un tampon Britton-Robinson fraîchement préparé a été utilisé. Il s'agit d'un tampon universel composé d'acide phosphorique, d'acide acétique et d'acide borique permettant une utilisation sur une gamme très large de pH allant de pH 2 à 12 (Figure 66).

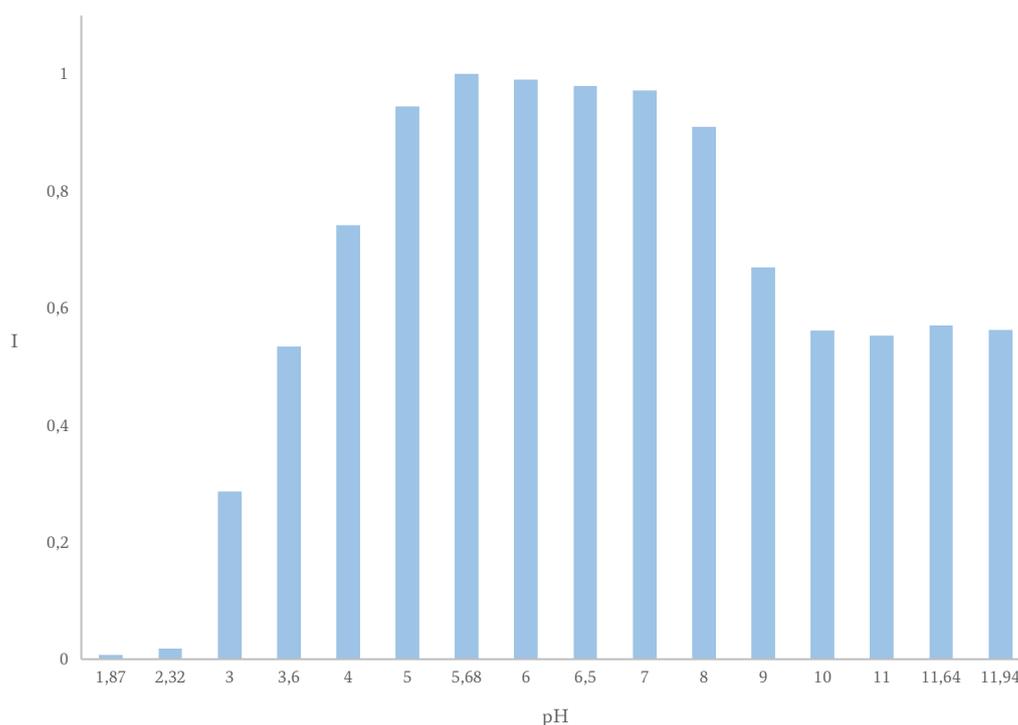


Figure 66 Spectre de l'intensité maximum de fluorescence de **4a** en fonction du pH

Nous pouvons constater que le maximum d'intensité de fluorescence est compris entre pH= 5 et pH= 7. Nous pouvons aussi remarquer une extinction de l'émission de fluorescence en dessous de pH= 3. Nous supposons qu'en dessous de ce pH nous sommes

en présence de la forme pyridinium soit la forme totalement protonée de la naphthyridinone. Cette forme protonée ne serait alors plus émissive. Au contraire, autour d'un pH= 7 la naphthyridinone est neutre et atteint son intensité maximum d'émission de fluorescence.

Dans un deuxième temps nous avons étudié l'ajout d'une solution acide à notre solution initiale de composé et enregistré le spectre d'absorption (Figure 67). Pour se faire une solution de **4a** à 100  $\mu\text{M}$  dans l'eau a été réalisée puis 1  $\mu\text{L}$  d'une solution aqueuse d'HCl à 100 mM a été ajoutée séquentiellement jusqu'à un volume de 20  $\mu\text{L}$  d'HCl.

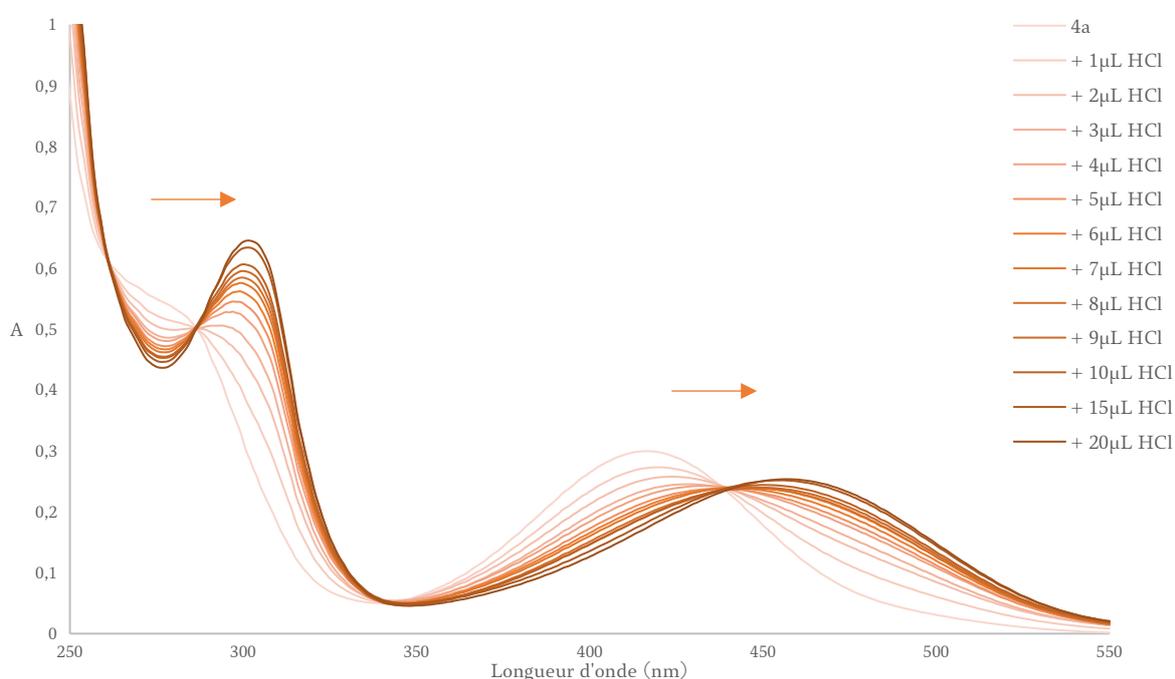


Figure 67 Spectres d'absorption avec ajouts progressifs d'une solution d'HCl à **4a**

Nous observons, grâce à ce test en conditions acides, la présence de 2 points isobestiques. Un premier point est observé à 438 nm et un deuxième à 285 nm avec un effet bathochrome. Effectivement, nous constatons un déplacement de la longueur d'onde d'absorption maximum de 415 nm pour **4a** à 463 nm pour **4a** +20  $\mu\text{L}$  d'HCl, soit une concentration d'HCl de 1,96 mM. Ceci nous indique donc la présence de 2 espèces différentes avec une espèce en milieu neutre et une espèce différente en milieu acide.

Nous avons ensuite réalisé la même manipulation en conditions basiques cette fois-ci à l'aide d'une solution de NaOH à 50 mM (Figure 68).

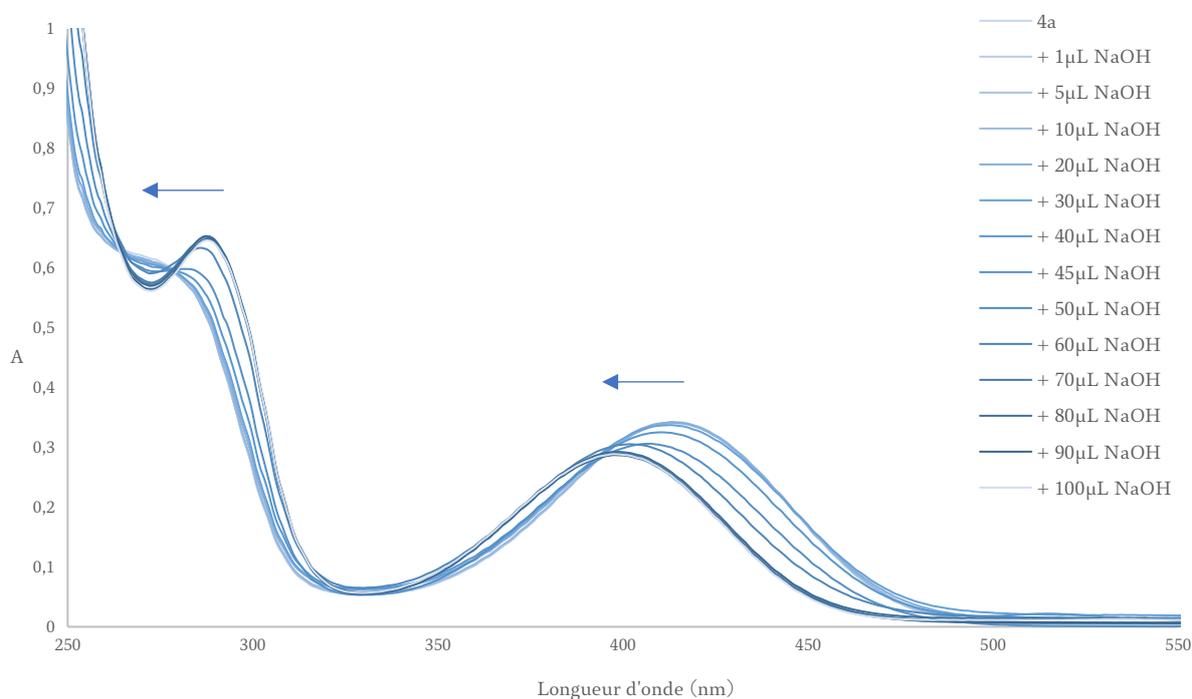


Figure 68 Spectres d'absorption avec ajouts progressifs d'une solution de NaOH à **4a**

Dans ce cas de figure, nous pouvons également observer 2 points isobestiques. Nous constatons un effet hypsochrome avec un déplacement de la longueur d'onde d'absorption maximum de 415 nm pour **4a** à 398 nm après ajout de 100 µL de NaOH. Néanmoins, en conditions basiques, le déplacement de longueur d'onde s'effectue de manière moins progressive qu'en conditions acides. En effet, nous pouvons visualiser un déplacement du  $\lambda_{\max}$  qu'après ajout minimum de 30 µL de NaOH et ceci jusqu'à un ajout de 60 µL de NaOH, après lesquels il n'y a plus de déplacement de la longueur d'onde maximale. Ce phénomène nous indique qu'une forme basique du composé serait présente.

A la suite de ces expériences et de l'observation d'un maximum d'absorption détecté dans chacun des milieux étudiés (conditions acides, neutres, basiques), nous avons superposé, sur un même graphique, les maxima d'absorption enregistrés dans les trois conditions (Figure 69). Ceci nous permet de confirmer l'existence d'espèces différentes de notre molécule selon le pH du milieu.

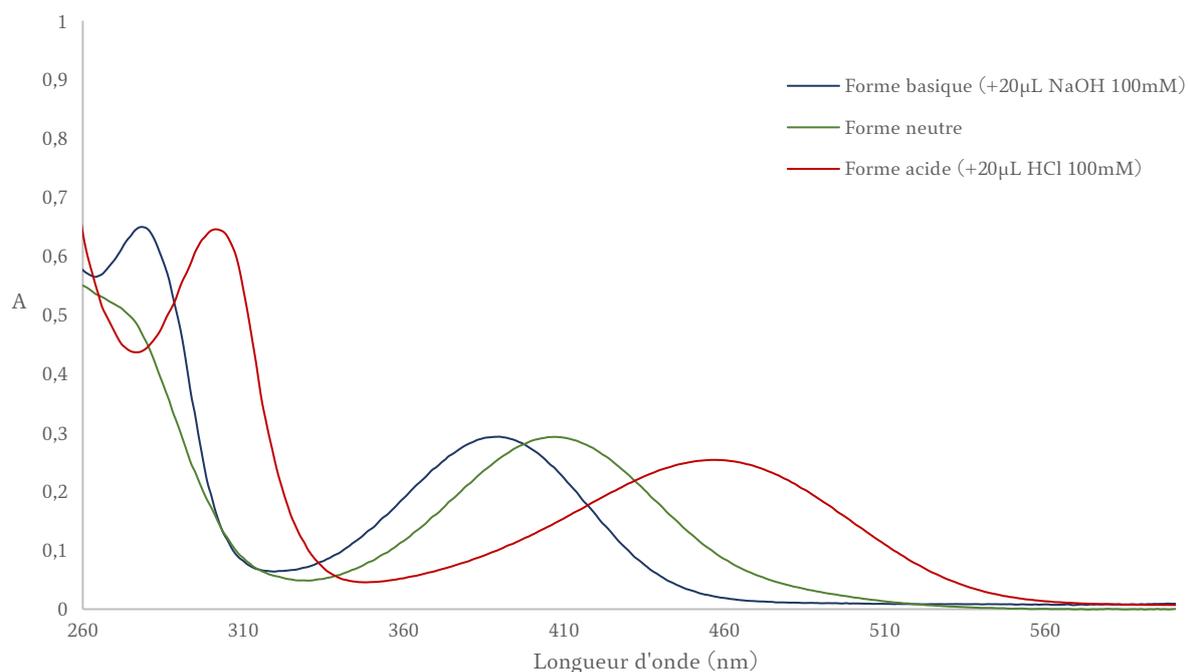


Figure 69 Spectres d'absorption des 3 espèces de la phénylnaphthyridinone **4a**

En comparant les spectres des différentes formes de la molécule, nous observons un déplacement de la longueur d'onde d'absorption vers le bleu de  $\Delta = 20$  nm entre la forme neutre et la forme basique et un déplacement vers le rouge de  $\Delta = 44$  nm entre la forme neutre et la forme acide.

Sur la base de ces résultats, nous avons pu identifier les 3 espèces détectées. En conditions acides, l'atome d'azote du cycle naphthyridinone se retrouve protoné et donne la forme pyridinium A alors qu'en conditions basiques nous observons la forme pyridolate C issue de la déprotonation de la forme lactim de la naphthyridinone (Figure 70).

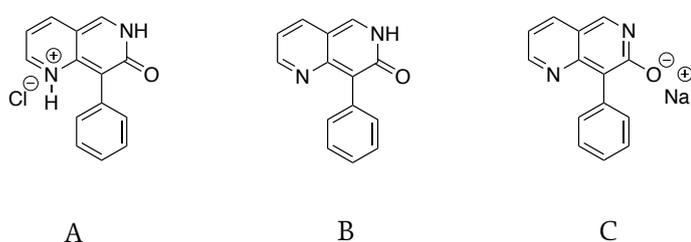


Figure 70 Représentation des 3 espèces identifiées (A: forme protonée, B: forme neutre, C: forme basique)

### C. Calculs des rendements quantiques

Comme exposé dans le premier chapitre introductif, le rendement quantique fait partie des caractéristiques importantes à connaître afin d'évaluer un fluorophore puisqu'il va définir l'efficacité de celui-ci.

Pour cette étude et afin de dégager une tendance, nous avons considéré seulement trois types de naphthyridinones, possédant trois substitutions différentes : les chlorhydrates des naphthyridinones **4a** (substituée en position 8), **21** (naphthyridinedione) et **26a** (substituée en position 4 et en 8) (Figure 71). Nous avons entrepris de mesurer les rendements quantiques de chacune des molécules dans deux solvants, le PBS 1X afin d'avoir une valeur dans l'eau tamponnée et l'acétonitrile pour une mesure dans un solvant organique.

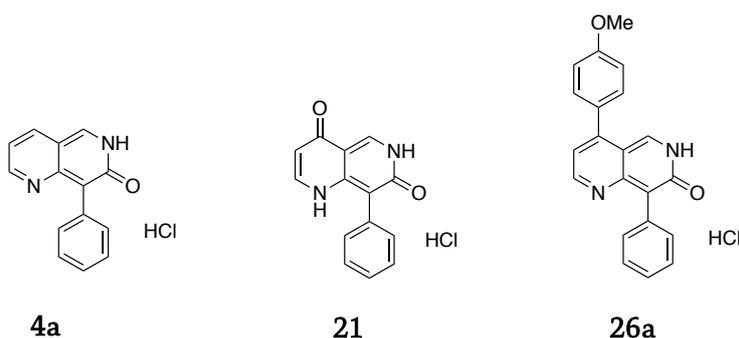


Figure 71 Les naphthyridinones choisies pour les calculs de rendement quantique

Pour réaliser ces calculs, nous avons utilisé la méthode de Williams et al,<sup>155</sup> qui consiste à utiliser des références dont le rendement quantique a été établi dans un solvant donné et pour une gamme de longueur d'onde donnée. Il s'agit ensuite de calculer des valeurs relatives par rapport à ces références connues.

Pour ce faire, une gamme de concentration d'une molécule de référence et du composé étudié sont réalisées. Les spectres d'absorbance et de fluorescence sont enregistrés pour l'ensemble des deux gammes de concentration. Chaque maximum d'absorption et d'émission de fluorescence sont ensuite reportés sur un graphique afin d'obtenir une droite linéaire correspondant à l'intensité de fluorescence du composé en fonction de son

absorbance. Le même procédé est répété pour la référence. Ceci nous permet d'accéder au coefficient directeur de la droite qui est ensuite intégrée dans la formule suivante :

$$\phi_x = \phi_{\text{ref}} \left( \frac{\text{Grad}_x}{\text{Grad}_{\text{ref}}} \right) \left( \frac{\eta_x^2}{\eta_{\text{ref}}^2} \right)$$

Avec :

$\phi_x$  : rendement quantique de fluorescence du composé

$\phi_{\text{ref}}$  : rendement quantique de fluorescence de la référence

$\text{Grad}_x$  : coefficient directeur du composé

$\text{Grad}_{\text{ref}}$  : coefficient directeur de la référence

$\eta_x$  : indice de réfraction du solvant du composé

$\eta_{\text{ref}}$  : indice de réfraction du solvant de la référence

Dans notre cas d'étude, nous avons utilisé la quinine sulfate monohydrate comme référence. Elle permet d'étudier des composés dont l'émission de fluorescence est comprise entre 400 et 600 nm. Son rendement quantique est de 54% dans une solution d'acide sulfurique à 0,1 M.

Après avoir effectué les différentes mesures, nous pouvons récapituler l'ensemble des valeurs obtenues dans le tableau ci-dessous (Tableau 4)

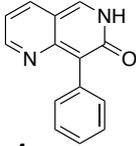
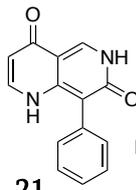
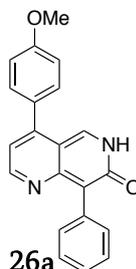
Molécules	Solvants	$\lambda_{Abs}(nm)$	$\lambda_{Em}(nm)$	$\epsilon$ (L.mol <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> )	$\phi_F$
 <b>4a</b>	CH <sub>3</sub> CN	349	418	3785	14%
	PBS 1X	414	537	4441	1.7%
 <b>21</b>	CH <sub>3</sub> CN	374	457	5207	34%
	PBS 1X	364	460	6071	42%
 <b>26a</b>	CH <sub>3</sub> CN	365	465	8195	25%
	PBS 1X	422	545	7109	0.7%

Tableau 4 Synthèse de données spectroscopiques des molécules **4a**, **21** et **26a**

Les différentes informations que nous pouvons déduire de ce tableau sont d'une part que la naphthyridinedione **21** possède un bon rendement quantique dans l'acétonitrile mais aussi et surtout dans l'eau. De manière générale, il n'est pas facile d'obtenir de bon rendement quantique dans l'eau qui plus est avec de petites molécules organiques. A titre de comparaison, G. Pinheiro et al obtiennent un rendement quantique de 10% dans l'eau et de 49% dans le THF pour la 4-pyridyl-3-hydroxyisoquinolinone.<sup>146</sup> Toutefois, nous remarquons que le composé **21** est celui qui émet à une plus faible longueur d'onde.

Nous pouvons tout de même souligner que la 4-méthoxyphényle naphthyridinone **26a** possède un coefficient d'absorption molaire similaire dans le PBS et l'acétonitrile mais un rendement quantique très différent. Nous pouvons alors en conclure que la majeure partie de sa désexcitation à l'état fondamental se fait sous processus non radiatif dans le PBS comparé à l'acétonitrile.

L'objectif pour nous est de trouver le meilleur équilibre entre la longueur d'onde d'émission, le rendement quantique et la solubilité de nos molécules. S'ajoute à cela la contrainte de ne pas pouvoir faire des molécules trop étendues pour qu'elles puissent être

compatibles avec une incorporation dans une séquence nucléotidique. L'ensemble de ces critères font qu'il semble difficile d'obtenir de bons rendements quantiques à des longueurs d'onde élevées pour les molécules que nous étudions.

Il aurait été préférable d'obtenir un déplacement de l'émission de fluorescence à des longueurs d'onde de plus basses intensités. En effet, pour faciliter l'utilisation d'une sonde fluorescente en milieu biologique, plus un composé aura une émission atteignant des longueurs d'onde élevées plus il sera intéressant car d'autres organites tels que les noyaux cellulaires, les membranes, les mitochondries sont usuellement révélés grâce à des fluorophores qui émettent à des longueurs d'onde d'émission correspondant au bleu ou au vert.

Malgré une bonne diversification de nos structures, nous n'avons pas réussi à obtenir un réel déplacement vers le rouge. De tout évidence, la substitution en *para* du phényle en position 8 de la naphthyridinone ne nous permettra pas de modifier suffisamment la longueur d'onde d'émission afin d'aboutir à un déplacement vers le proche infra-rouge.

Après avoir substitué la naphthyridinone en position 4 et en position 8, nous avons souhaité étendre le système  $\pi$  du bicycle afin de réussir à moduler les longueurs d'onde d'émission des composés. Ainsi, nous avons envisagé de remplacer le noyau pyridine par une quinoline qui permet d'apporter plus de conjugaison. Nous avons pour cela débuté la synthèse de la benzonaphthyridinone à partir du 2-chloro-3-quinolinecarboxaldéhyde commercial selon la même stratégie développée pour la synthèse des naphthyridinones discuté au chapitre 2 (Schéma 24).

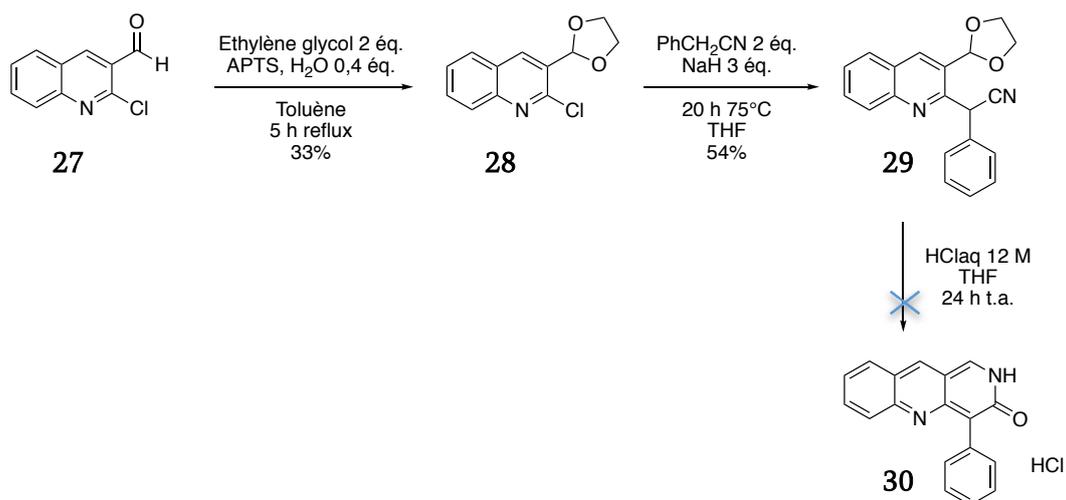


Schéma 24 Synthèse du motif quinoline en naphthyridone

La quinoline substituée par un groupement phenylacetonitrile **29** est obtenue avec des rendements satisfaisants en deux étapes après protection de la fonction aldéhyde. Cependant, la déprotection de la fonction aldéhyde suivie de la cyclisation en milieu acide ne permet pas d'obtenir le produit cyclisé. Au cours de cette réaction nous observons la dégradation du réactif, visualisée par RMN du proton. Une tentative de cyclisation avec de l'APTS monohydrate a par la suite été effectuée. Dans ce cas, après 24 heures de réaction, nous observons principalement un produit comportant une fonction aldéhyde. L'utilisation d'APTS permet de déprotéger la fonction aldéhyde mais ne permet pas de réaliser la cyclisation et d'obtenir le bicyclic naphthyridinone.

L'étude des propriétés photophysiques des naphthyridinones synthétisées au cours de ce projet a permis de mettre en évidence leur capacité et leur potentiel applicatif en tant que nucléobases fluorescentes. En effet, Ces composés possèdent les critères photophysiques essentiels comme une absorption dans le visible et une émission de fluorescence à des longueurs d'onde correspondant au vert. Elles sont également sensibles à leur environnement puisqu'elles présentent un solvatochromisme et un acidochromisme. Cependant à ce stade de l'étude nous n'avons pas encore réussi à atteindre une émission de fluorescence dans le domaine du proche infra-rouge pour ce type de composé.

## II. Étude biologique des naphthyridinones

Dans le but d'utiliser nos composés dans un milieu cellulaire, nous avons évalué leur cytotoxicité par un test de viabilité cellulaire au MTT (bromure de [3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium]). Il s'agit d'une méthode colorimétrique basée sur l'activité mitochondriale. Les cellules viables ont une activité mitochondriale constante et ainsi l'augmentation ou la diminution du nombre de cellules viables est linéairement liée à l'activité mitochondriale. Par extension, ce test permet de déterminer la mortalité cellulaire induite par un composé. Son principe repose sur l'utilisation d'un sel de tétrazolium qui est réduit en formazan par la succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes. La quantité de formazan produite sera donc proportionnelle à l'activité métabolique des cellules. Ce composé insoluble dans le milieu cellulaire et de couleur violette sera ensuite solubilisé dans du DMSO pour permettre son dosage spectrophotométrique à 570 nm. Ce test permet ainsi d'évaluer la viabilité des cellules au sein d'un échantillon et d'accéder à l'IC<sub>50</sub> des molécules.

Nous avons effectué ce test sur des cellules MDA-MB-231 qui sont des cellules cancéreuses du sein triple négatif, disponibles au laboratoire.

Le test a été réalisé avec des plaques 96 puits en triplicata dans lesquels 4 concentrations, 0,1 µM, 1 µM, 10 µM et 100 µM, ont été évaluées pour chacun des composés.

En pratique, les solutions stock de composés étudiés sont réalisées dans du DMSO et sont stérilisées. Du milieu cellulaire est préalablement ajouté dans chaque puit afin d'y déposer les cellules. Après 24 heures, le surnageant est aspiré et remplacé par les solutions de naphthyridinones aux différentes concentrations mentionnées précédemment. Puis, les cellules sont incubées pendant 72 heures à 37° C. Il est nécessaire d'avoir des puits témoin afin de comparer l'évolution cellulaire dans chaque puit test. Le témoin est réalisé dans les mêmes conditions que les autres puits mais aucun ajout de composé n'est effectué.

A l'issue du temps d'incubation, la solution de MTT est ajoutée dans chacun des puits et les cellules sont de nouveau incubées pendant 3 heures à 37° C. Enfin, le surnageant est retiré et une solution de DMSO est ajoutée. Après 15 minutes d'agitation, l'absorption des solutions dans chacun des puits est enregistrée par un lecteur de plaque.

A la suite de ce test, nous obtenons la relation dose-effet en traçant une courbe représentant le pourcentage de viabilité cellulaire en fonction de la concentration de composé qui a été

déposée. En y ajoutant une fonction sigmoïdale nous obtenons la concentration minimum pour laquelle une diminution de la prolifération cellulaire de 50% est observée ( $IC_{50}$ ). Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau suivant (Tableau 5). Nous constatons que l'ensemble des naphthyridinones ont une  $IC_{50} > 100 \mu\text{M}$  sauf un seul dérivé correspondant à la 4-(4-methoxyphenyl)-8-phenyl-1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one nommée **26a**.

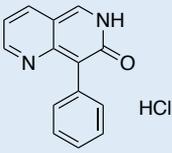
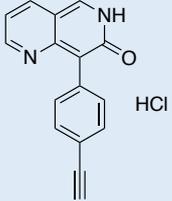
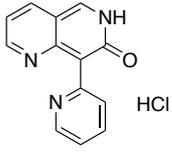
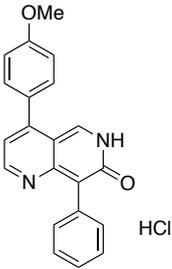
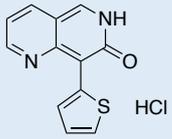
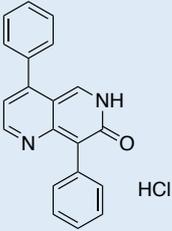
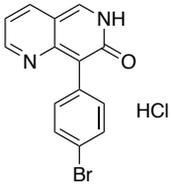
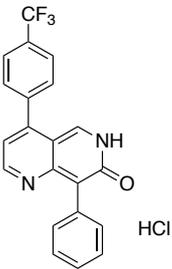
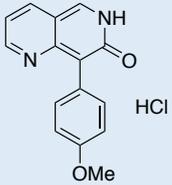
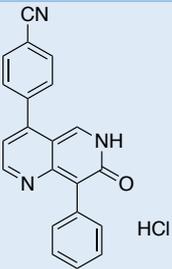
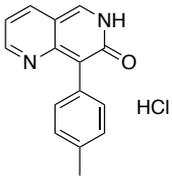
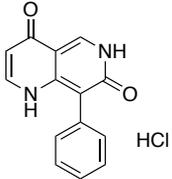
Nom du composé	Structure	IC <sub>50</sub>	Nom du composé	Structure	IC <sub>50</sub>
4a		>100μM	4g		>100μM
4b		>100μM	26a		12μM
4c		>100μM	26b		100μM
4d		>100μM	26c		100μM
4e		>100μM	26d		>100μM
4f		>100μM	21		>100μM

Tableau 5 Calculs d'IC<sub>50</sub> des naphthyridinone

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> obtenues nous permettent de considérer nos composés comme étant non-cytotoxiques.

Ce résultat nous conforte dans l'idée que nos molécules peuvent être de bons outils moléculaires grâce à leur compatibilité avec les milieux cellulaires vivants.

## Conclusion

Suite à l'analyse des propriétés spectroscopiques menée sur ces nucléobases artificielles, nous pouvons conclure que malgré des rendements quantiques faibles dans l'eau, les propriétés spectrales de nos molécules sont intéressantes et comportent de nombreux avantages tels que des longueurs d'onde d'absorption dans le visible et des longueurs d'onde d'émission au-delà de 500 nm offrant des déplacements de Stokes appréciables. De plus, ces molécules ont les atouts indéniables d'être sensibles à la polarité ainsi qu'au pH du milieu dans lequel elles se trouvent. La longueur d'onde d'émission maximale observée est dans le PBS, un milieu protique polaire, et le maximum d'intensité de fluorescence se situe autour de pH=7.

D'après l'étude de cytotoxicité, nous pouvons en déduire que ces molécules sont compatibles pour une application en milieu biologique.

L'ensemble de ces critères font de ces naphthyridinones de bons candidats en tant que nucléobases fluorescentes artificielles.

En revanche, suite à ce premier travail exploratoire, un effort de développement est encore à réaliser sur les 1,6-naphthyridin-7(6*H*)-ones afin d'améliorer leurs propriétés spectroscopiques et notamment d'augmenter leur rendement quantique dans l'eau.

## Chapitre 4 : Synthèse d'un nucléoside fluorescent et vers son insertion dans un oligonucléotide



# Chapitre 4 – Synthèse d'un nucléoside fluorescent et vers son insertion dans un oligonucléotide

Nous avons vu au cours du chapitre introductif les différentes parties constituant un nucléoside. Maintenant que la nucléobase, correspondant au bicyclic 1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one, a été obtenue, il nous a fallu trouver une stratégie de synthèse nous permettant d'accrocher cette nucléobase à un sucre de type désoxyribose (pour un modèle ADN) ou de type ribose (pour un modèle ARN). Pour cela, plusieurs stratégies ont été explorées.

## I. Synthèse du nucléoside naphthyridinone

### A. 1<sup>ère</sup> stratégie : la synthèse du nucléoside naphthyridinone via un couplage de Heck

La première stratégie de liaison de la partie osidique avec la partie hétérocyclique a été d'entreprendre des couplages palladiés et plus particulièrement le couplage de Heck.

L'idée de cette stratégie pour coupler le sucre à la naphthyridinone, nous vient des résultats obtenus dans la partie précédente, qui concernaient la synthèse de naphthyridinone halogénés sur la position 4 de la pyridine.

Pour cela, nous avons envisagé un couplage de Heck entre le ribal et la plateforme naphthyridinone afin d'obtenir le nucléoside correspondant (Schéma 25).

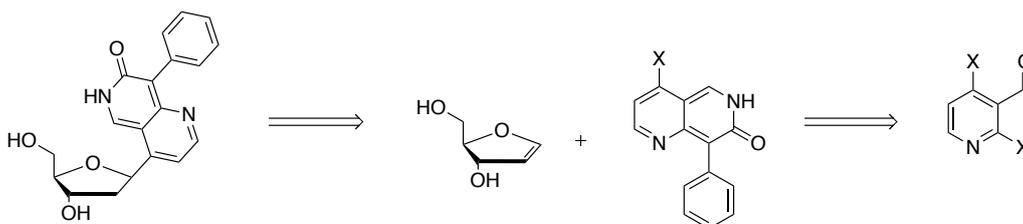


Schéma 25 Rétrosynthèse envisagée pour la formation du nucléoside par un couplage de Heck

Il existe dans la littérature divers exemples de couplages de ribal avec des pyridines halogénées. Par exemple, I. Novosjolova et al<sup>156</sup> ont procédé au couplage du ribal et de la 5-iodo-2-méthoxy-pyridine en présence de Pd(OAc)<sub>2</sub> avec de la triphénylarsine et du carbonate d'argent leur permettant d'obtenir un rendement de 48% (Schéma 26).

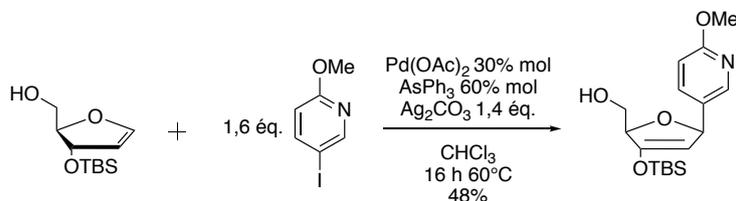


Schéma 26 Exemple de couplage de Heck entre un ribal et une 5-iodopyridine

Ce type de couplage a également été réalisé par H. Liu et al avec des composés azotés bicycliques.<sup>157</sup> La même combinaison de palladium et de phosphine est utilisée, à laquelle s'ajoute un léger excès de tributylamine dans du DMF à chaud pendant 36 heures. Ces conditions ont permis d'obtenir le produit de couplage avec un rendement de 65% (Schéma 27).

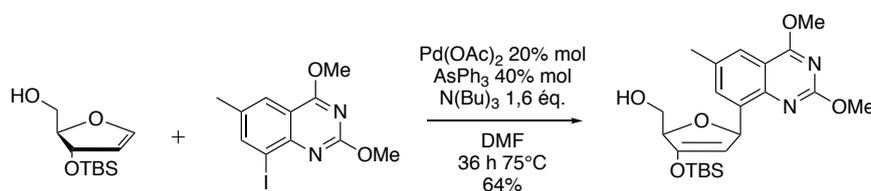


Schéma 27 Exemple de couplage de Heck avec un ribal et un composé azoté bicyclique

La réaction de Heck, comme son nom l'indique, a été découverte et décrite en 1972 par Richard Heck.<sup>158</sup> Il s'agit d'une réaction de couplage entre un halogéno-aryle et un alcène pour former un alcène substitué. La réaction s'effectue à l'aide d'un complexe de palladium (0) associé à des ligands phosphorés et en présence d'une base. Le complexe peut être préparé in situ par réaction entre des sels de palladium II, tels que du Pd(OAc)<sub>2</sub> ou PdCl<sub>2</sub> en présence de ligands de type phosphines. Cette découverte lui a valu le prix Nobel de chimie en 2010, associé avec les chimistes A. Suzuki et E. I. Negishi ayant eux-mêmes développé d'autres couplages croisés catalysés par les complexes du palladium. Le

mécanisme de la réaction se déroule en 4 étapes (Figure 72). La première correspond à l'addition oxydante du complexe de Pd<sup>0</sup> dans la liaison carbone-halogène et est cinétiquement déterminante. L'ordre de réactivité de l'addition oxydante est dépendant de l'atome d'halogène selon l'ordre suivant I >> Br > Cl > F. La deuxième étape correspond à la formation de la liaison carbone – carbone par complexation de l'alcène au complexe organométallique suivie de la *syn*-carbopalladation (addition de l'aryle et du palladium). Il s'agit d'une étape clé du mécanisme car c'est à cette étape que se joue la régio et stéréosélectivité de la réaction. La troisième étape est la *syn*-β-élimination d'hydrure de palladium (dehydropalladation) conduisant à la formation de l'alcène. Enfin, la dernière étape assure la régénération du catalyseur par élimination réductrice.

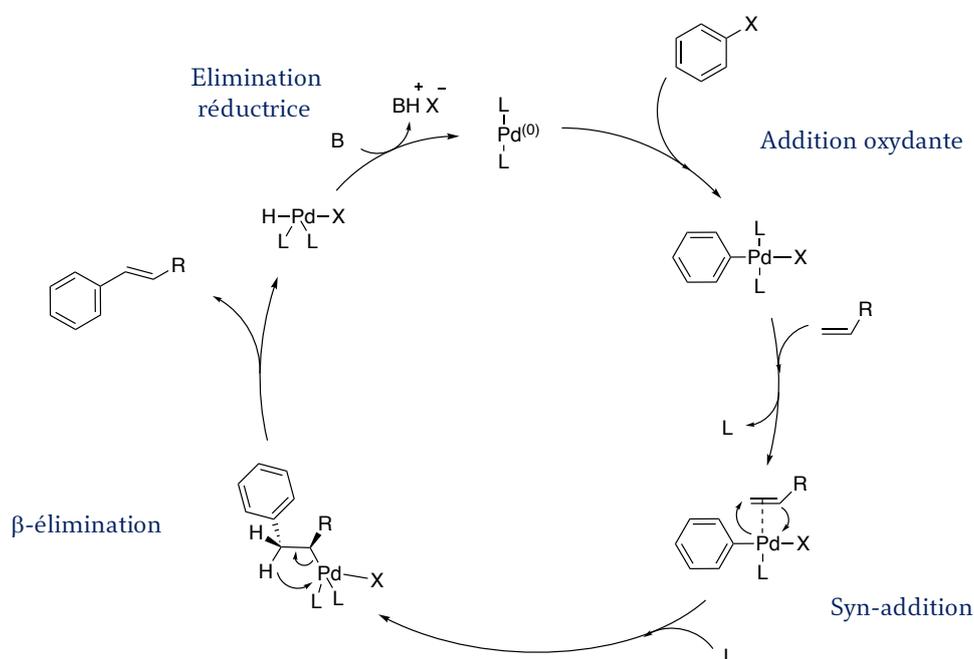


Figure 72 Cycle catalytique du couplage de Heck

Pour notre part, afin de réaliser cette stratégie, les deux précurseurs, le ribal et l'hétérocycle halogéné ont été synthétisés.

## 1. Synthèse du ribal

Différentes méthodes peuvent être utilisées pour synthétiser ce ribose insaturé comportant une double liaison entre la position 1 et 2. La première méthode choisie, issue des travaux de Cameron et al,<sup>159</sup> utilise la thymidine **31** commerciale comme réactif. Les groupements hydroxyles de la thymidine sont tout d'abord protégés sous forme d'éthers silylés par traitement par du chlorure de *tertio*-butyle diméthyle silane (TBDMS-Cl) en présence d'imidazole dans le dichlorométhane conduisant à la thymidine protégée **32** avec un rendement de 76%. Cet intermédiaire **32** est ensuite traité par du sulfate d'ammonium dans de l'hexaméthylidisilazane (HMDS). Cette étape permet d'aromatiser le cycle pyrimidique et d'en faire un bon groupement partant (sous sa forme pyrimidinium). Son départ est ensuite assisté par les doublets de l'oxygène formant un ion oxonium qui subit ensuite la déprotonation d'un des hydrogènes portés par le carbone C<sub>2</sub> donnant ainsi le ribal **33** (Schéma 28).

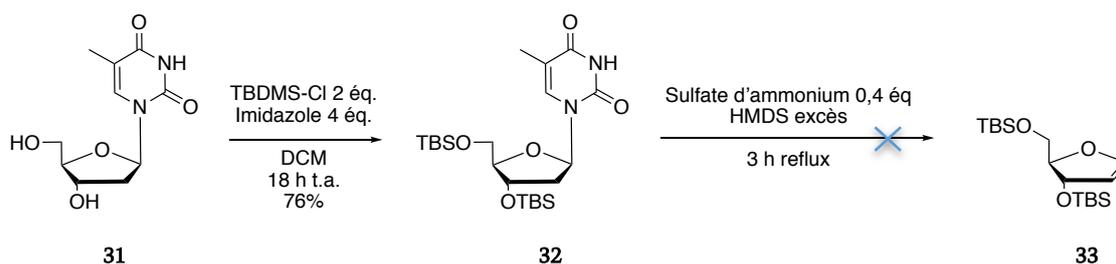


Schéma 28 Premier essai de la synthèse du ribal

Malgré plusieurs tentatives utilisant les conditions décrites de la littérature, nous ne sommes pas parvenus à obtenir le ribal **33** souhaité avec une bonne pureté. Durant chaque essai, nous observons la formation d'un sous-produit non identifié qui selon les cas, peut être le composé majoritaire du mélange.

La réaction a ensuite été réalisée en s'affranchissant de l'étape de protection des hydroxyles par des groupements silylés en traitant directement la thymidine par du sulfate d'ammonium dans le HMDS. En effet, nous pouvons remarquer dans la littérature que les groupements protecteurs du sucre peuvent influencer la réaction. De plus, cette stratégie permet d'obtenir le ribal directement protégé par des groupements TMS (Schéma 29).

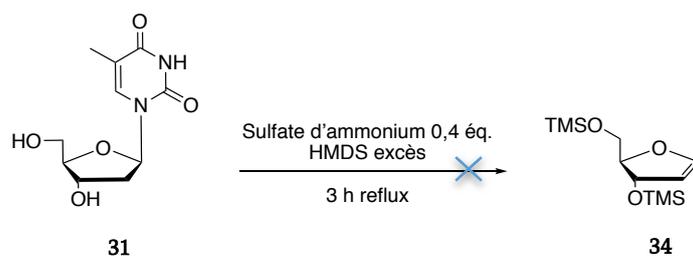


Schéma 29 Changement d'approche pour la synthèse du ribal

Cependant, la même impureté qu'observée précédemment est présente à l'issue de la réaction. Le composé désiré semble très instable sur silice ce qui ne nous permet pas de le purifier par chromatographie sur gel de silice pour une analyse ultérieure plus poussée.

Une 3<sup>ème</sup> approche a alors été utilisée afin de contourner la formation de ce sous-produit et d'aider le départ du cycle pyrimidique en utilisant du trifluorométhylsulfonate de triméthylsilyle (TMS-OTf) comme agent de silylation et la 2,6-lutidine comme base (Schéma 30).

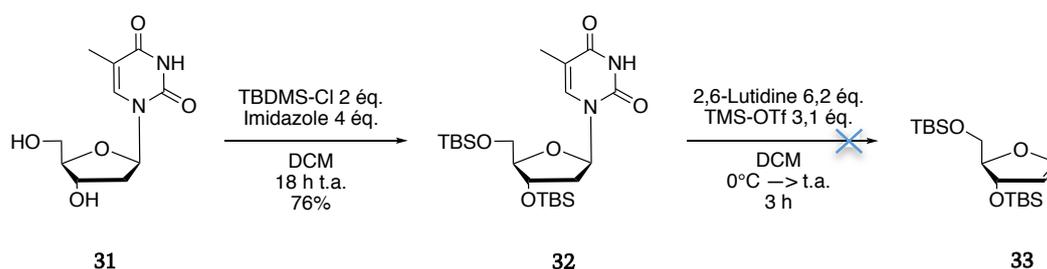


Schéma 30 Deuxième essai de la synthèse du ribal

Malheureusement, ces conditions expérimentales ne nous ont pas permis d'obtenir le composé attendu.

Finalement, c'est en suivant le protocole établi par Marco Minuth et Clemens Richert<sup>160</sup> que nous sommes parvenus à obtenir la formation du ribal de manière efficace en 3 étapes (Schéma 31). La première étape de cette synthèse consiste en l'introduction d'une fonction méthoxy sur le carbone anomérique par traitement du désoxyribose **35** avec de l'acide chlorhydrique anhydre (généralisé *in situ* par addition de chlorure d'acétyle) dans le méthanol. L'acétal **36** est ensuite directement engagé dans l'étape de protection des fonctions hydroxyles sous forme d'éthers silylés. Le produit diprotégé **37** est obtenu avec

un rendement de 55% sur ces deux étapes. Enfin, c'est en présence d'un excès de 2,6-lutidine et de TMS-OTf, que la double liaison C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> est obtenue, nous donnant ainsi le ribal **33** avec un rendement de 43% sans présence de sous-produits inconnus.

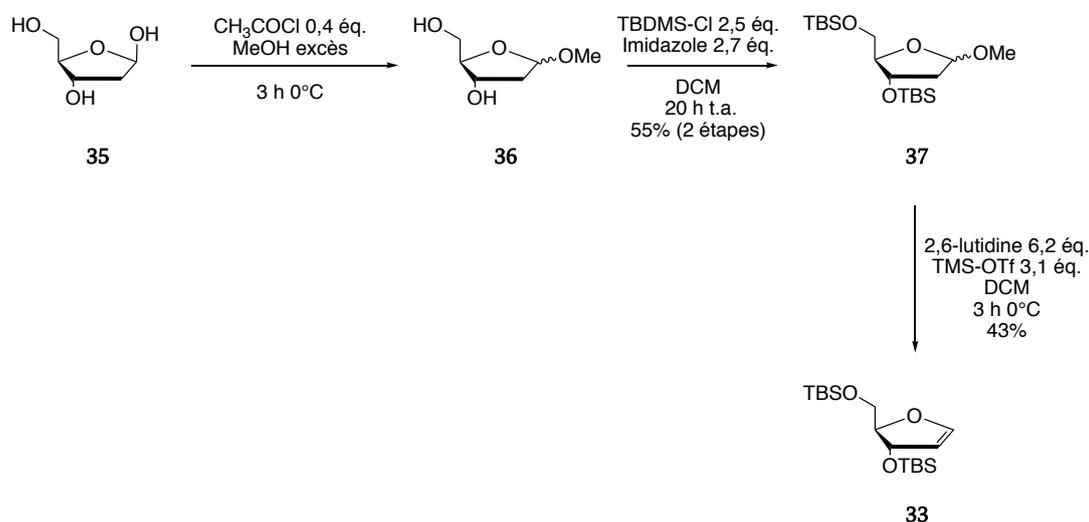


Schéma 31 Troisième essai de la synthèse du ribal

Une fois le ribal protégé obtenu, nous nous sommes consacrés à la synthèse de l'hétérocycle partenaire en vue du couplage de Heck.

## 2. Couplage de Heck

Au vu des résultats obtenus précédemment (Chapitre 2-I-B-2.), nous savons qu'il ne sera pas possible de réaliser un couplage de Heck directement entre le ribal et la plateforme naphthyridinone halogénée. De la même façon, nous avons déjà rencontré des problèmes de réactivité lors de l'exemplification du bicycle en réalisant un couplage de Sonogashira sur le bicycle naphthyridinone substitué par le 4-bromophényle en position 8. Il nous a semblé plus judicieux de travailler à partir des précurseurs de la naphthyridinone, c'est-à-dire avant l'étape de cyclisation, pour réaliser les couplages de Heck désirés.

Par conséquent, nous avons décidé d'utiliser la 2,4-dibromo-3-pyridinecarboxaldehyde et le ribal comme partenaires de la réaction de couplage de Heck, puis de réaliser ultérieurement les étapes de S<sub>N</sub>Ar et de cyclisation pour obtenir le nucléoside souhaité.

Le premier essais de couplage de Heck a été réalisé selon des conditions décrites par Novosjolova et al<sup>156</sup> ( $\text{Pd}(\text{OAc})_2/\text{AsPh}_3$ ) en remplaçant la tributylamine par de la triéthylamine en tant que base. Le deuxième est réalisé avec du dichlorure de bis(triphénylphosphine)palladium. (Schéma 32).

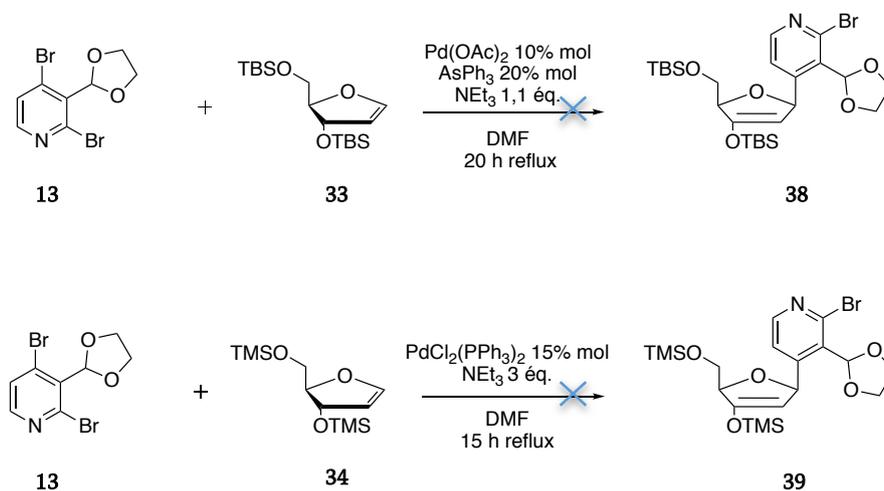


Schéma 32 Essais de couplage de Heck sur le motif 2,4-dibromo-3-pyridinecarboxaldehyde

Ces deux essais ne nous ont pas permis d'obtenir les produits de couplages désirés. Ce manque de réactivité pourrait être attribué à l'utilisation de dérivés bromés comme partenaires de cette réaction. En effet, il est connu que les motifs iodo-pyridine sont privilégiées dans ce type de couplage. Dans une revue concernant la synthèse de composés aryles C-nucléosides par des couplages de Heck, Wellington et Benner ont décrit que cette réaction est favorisée à partir de substrats iodés par rapport aux autres halogènes.<sup>161</sup> Suite à une comparaison de nombreuses réactions de Heck entre un glycal et un motif aglycone, ils concluent que l'utilisation de  $\text{Pd}(\text{OAc})_2/\text{AsPh}_3$  est la meilleure combinaison et que l'utilisation d'un ligand bidenté tel que le 1,3-bis(diphénylphosphino)propane (dppp) permettrait d'accélérer la réaction et d'augmenter le rendement du produit de couplage. Sur la base de ces observations, nous nous sommes donc dirigés vers l'utilisation d'une iodopyridine comme substrat modèle.

Nous avons alors essayé ces conditions de couplage avec le motif iodo-chloro-pyridine **17** et le ribal **33**. La source de palladium utilisée est de l'acétate de palladium dans les deux cas, puis l'ajout de dppp a également été testé. Ces tentatives sont malheureusement restées infructueuses. Nous avons alors entrepris des essais, dans les mêmes conditions, sur la

4-iodopyridine **40** afin de mesurer la faisabilité de cette réaction sur un substrat modèle. Seulement, les réactifs sont récupérés en fin de réaction (Schéma 9).

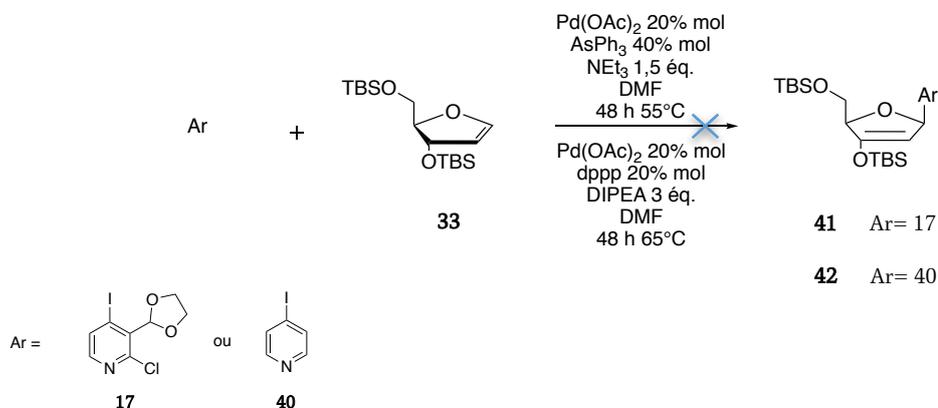


Schéma 33 Tentatives de couplage de Heck sur la 2-chloro-4-iodopyridine et la 4-iodopyridine

Un autre point important décrit dans la littérature concerne la position de l'atome d'iode sur le cycle aromatique. En effet, il semblerait que les positions 3 et 5 (positions équivalentes) de la pyridine soient privilégiées pour ce type de couplage. Cette position est normalement moins réactive comparée à la position 4 mais s'apparente comme plus adéquate dans ces systèmes.

Cependant, dans notre cas, nous ne pouvons pas réaliser de couplage en position 3 puisqu'elle est déjà occupée par la fonction aldéhyde qui nous sert par la suite à la formation du bicyclic naphthyridinone.

Pour conclure, l'utilisation d'un couplage de Heck pour réaliser le nucléoside naphthyridinone ne semble pas être la stratégie de choix. Nos différents essais sont restés infructueux et ce défaut de réactivité pourrait être dû à la position de l'atome d'iode sur le cycle pyridinique. Cependant dans notre cas, il n'est pas possible de changer la position l'atome d'iode. Nous avons alors porté notre attention vers une autre stratégie de couplage.

## B. 2<sup>ème</sup> stratégie : Synthèse du nucléoside naphthyridinone par chimie de click

Comme système de liaison entre notre bicyclic hétéroaromatique éthylnylphényle **4g** et le ribose, nous avons songé à introduire un motif 1,2,3-triazole à l'aide de la chimie click cupro-catalysée.

La chimie click, initiée par les travaux de K.B. Sharpless<sup>162</sup> et M. Meldal<sup>163</sup>, date de 2001. Ce concept comporte un certain nombre de critères tels que, des rendements élevés, une facilité de mise en œuvre, l'usage de solvants non toxiques etc. La réaction qui nous intéresse ici est plus précisément nommée réaction de CuAAC pour « Copper-catalyzed Alkyne Azide Cycloaddition », et est une des grandes réactions de chimie click. Les réactions de cycloadditions 1,3-dipolaires de Huisgen<sup>164</sup> entre un alcyne et un azoture se font par voie thermique générant souvent les deux régio-isomères triazoliques. L'utilisation d'un catalyseur de cuivre lors de la cycloaddition permet l'obtention d'un seul régio-isomère dans des conditions beaucoup plus douces (bien souvent à température ambiante) et dans un mélange de solvant H<sub>2</sub>O/alcool compatible avec quasi toutes les molécules. (Figure 73).

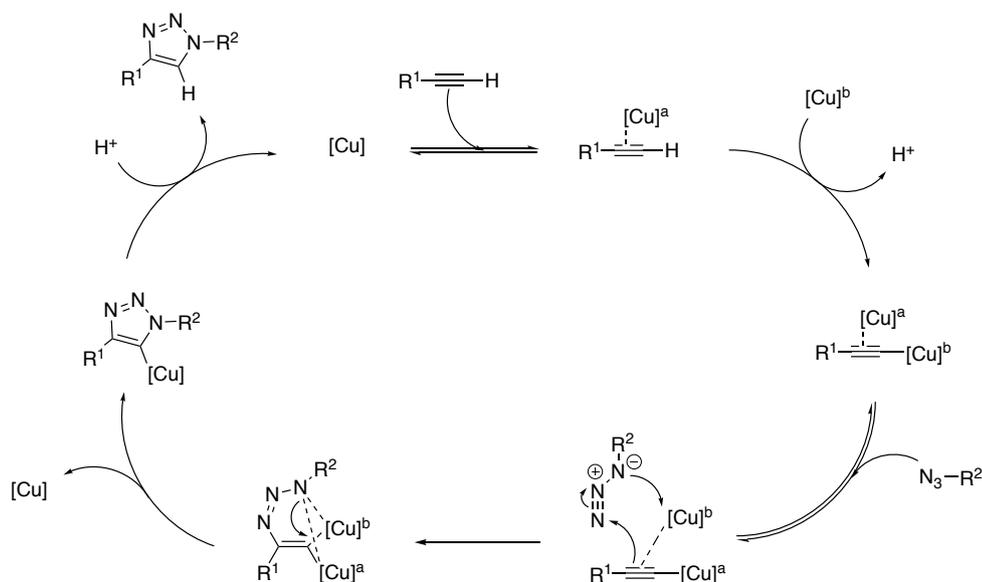


Figure 73 Cycle catalytique de la réaction de CuAAC

Pour réaliser cette stratégie de click, avec nos substrats, il est nécessaire de préparer un partenaire comportant une fonction azoture et une molécule avec une fonction éthyne comme présenté ci-dessous (Schéma 34).

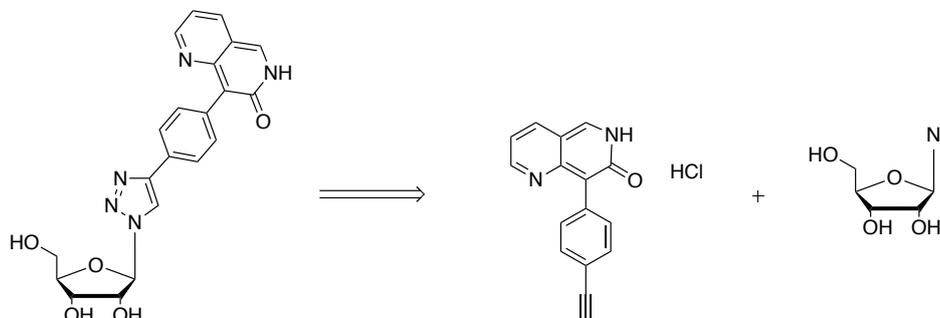


Schéma 34 Rétrosynthèse possible en vue d'une réaction de chimie de click envisagée

Nous avons vu précédemment la synthèse de la naphthyridinone substituée en position 8 par le motif éthynylphényle (molécule **4g**). Il nous restait alors à synthétiser un ribose possédant une fonction azoture en position anomérique. Celui-ci a été synthétisé à partir du 1,2,3,5-tetra-*O*-acetyl  $\beta$ -D-ribofuranose selon les conditions opératoires décrites dans la littérature.<sup>165</sup>

Ce sucre tétra-acétylé permet de s'affranchir de la séparation des anomères alpha et beta. Le composé ribose tétra-acétylé **43** est mis en présence d'azoture de triméthysilyle (TMS-N<sub>3</sub>) et d'une quantité catalytique de tétrachlorure d'étain dans du dichlorométhane pendant 24 heures, nous donnant accès au composé désiré **44** avec un rendement de 87% (Schéma 35).



Schéma 35 Synthèse du sucre azoture

La réaction implique le passage par la formation d'un carbocation acyloxonium dont la stéréochimie de la réaction sera contrôlée par l'assistance anchimérique de l'acétyle en position 2 du ribose. Ainsi, le composé bêta sera obtenu très majoritairement. Cette étape

nous fait alors travailler en version ribose et non désoxyribose, ce qui implique une transposition de nos molécules sur un modèle ARN.

Ayant en main les précurseurs, nous avons été amenés à moduler les différents paramètres réactionnels de la réaction de click. Nous avons notamment fait varier la quantité (catalytique ou stœchiométrique) de cuivre, sa source (sulfate de cuivre ou iodure de cuivre), la présence d'une base telle que la DIPEA. Nous avons également étudié l'influence du solvant, à savoir soit un mélange eau/*tert*-butanol soit un milieu totalement organique tel que l'acétonitrile, le méthanol ou le THF et cela à différentes températures.

L'ensemble des conditions testées est récapitulé dans le tableau suivant.

Sources de cuivre	Réducteur / ligand	Base	Solvants	Températures	Temps	Résultats
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O 5% mol	NaAsc 10% mol	/	<i>t</i> -BuOH/tampon phosphate	t.a.	24 h	Pas de réaction
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O 10% mol	NaAsc 30% mol/ TBTA 10% mol	/	<i>t</i> -BuOH/H <sub>2</sub> O	75° C	24 h	Pas de réaction
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O 10% mol	NaAsc 30% mol	/	DMF	150° C MW	30 min	Dégradation du sucre
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O 10% mol	NaAsc 30% mol	DIPEA	ACN	60° C	24 h	Pas de réaction
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O 2 éq.	NaAsc 4 éq.	DIPEA	ACN/H <sub>2</sub> O	t.a.	24 h	Pas de réaction + problème de solubilité
CuI 10% mol	/	DIPEA	ACN	t.a.	24 h	Pas de réaction
Cu( <i>i</i> Mes)Cl 10% mol	/	DIPEA	ACN	t.a.	24 h	Pas de réaction
Cu( <i>i</i> Mes)Cl 10% mol	/	/	MeOH	t.a.	24 h	Pas de réaction
CuI 2 éq.	/	DIPEA	THF	60° C	24 h	Pas de réaction + Problème de solubilité

Tableau 6 Essais de CuAAC

Nous pouvons constater que quelles que soient les conditions réactionnelles utilisées, que ce soit l'utilisation de cuivre II ou de cuivre I, tout en adaptant les conditions réactionnelles en fonction du degré d'oxydation de ce dernier, l'utilisation de différents solvants, de base, afin de neutraliser la forme chlorhydrate du composé hétérocyclique, les deux entités ne réagissent pas.

Au cours de ces nombreux essais nous avons réalisé une réaction modèle pour s'assurer que l'azoture **44** n'était pas la source des problèmes d'absence de réactivité (Schéma 36).

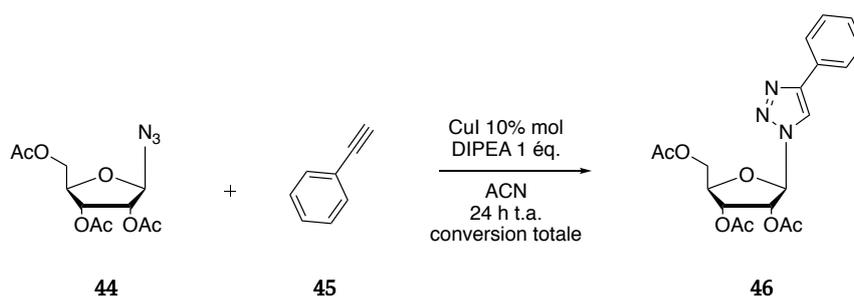


Schéma 36 Essai de click sur une réaction modèle

En ce sens, nous avons engagé le phénylacétylène **45** avec 10 % molaire de CuI dans de l'acétonitrile en présence de DIPEA. Cette réaction a duré 24 heures à température ambiante et a montré une conversion totale en faveur du composé attendu **46**.

Ainsi, le problème de réactivité semblerait provenir du cycle naphthyridinone (ou de sa forme chlorhydratée).

Afin de vérifier cette hypothèse, le précurseur **3g** de la naphthyridinone, soit la forme ouverte de notre bicyclic, et le sucre azoture **44** ont été alors engagés avec du sulfate de cuivre et de l'ascorbate de sodium dans un mélange binaire *t*-BuOH/H<sub>2</sub>O (Schéma 37).

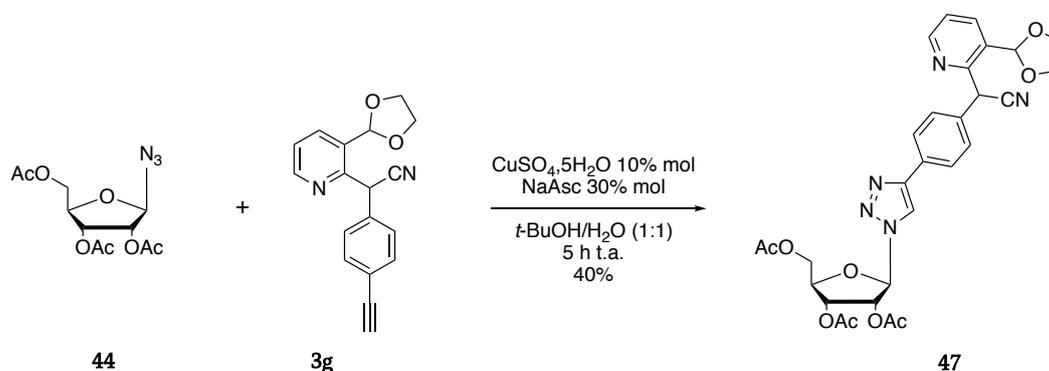


Schéma 37 Etape de CuAAC sur la forme ouverte

De cette façon, nous avons réussi à obtenir le produit de cycloaddition **47** avec la formation du motif triazole permettant éventuellement de contourner l'absence de réactivité du cycle naphthyridinone. Malgré tout, à ce stade de l'étude, nous ne savons pas si c'est la forme chlorhydrate de la molécule ou la possible complexation de la pyridone du motif hétérocyclique sur le cuivre qui inhibent la réactivité et empêchent l'obtention du composé désiré.

Cette étape réussie, l'étape de cyclisation en milieu acide a été réalisée selon les conditions décrites précédemment (Schéma 38).

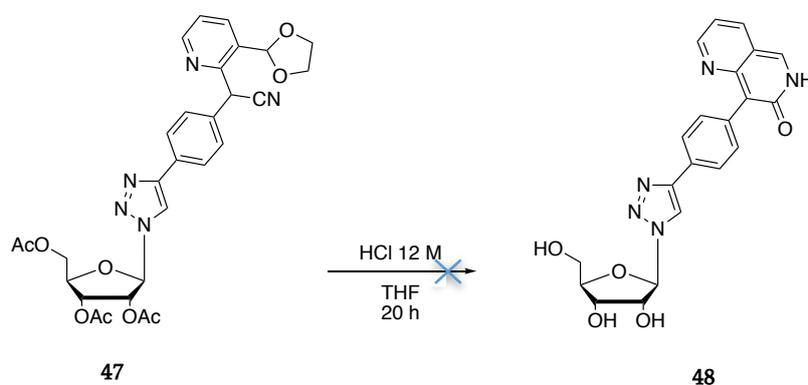


Schéma 38 Etape de cyclisation

Malheureusement, de façon surprenante et sans vraiment réussir à apporter d'explication à ces résultats, nous ne parvenons pas à obtenir le produit de manière efficace. Après une analyse approfondie du brut réactionnel nous pensons avoir récupéré une majeure partie du composé de départ, une très faible quantité de forme cyclisée (composé désiré), ainsi qu'une partie comportant le motif sucre mono désacétylé.

A ce stade de l'étude et en prenant en compte toutes les complications rencontrées pour greffer notre naphthyridinone sur le sucre par chimie click en fin de synthèse, nous avons décidé de modifier notre stratégie.

### C. 3<sup>ème</sup> stratégie : Synthèse du nucléoside naphthyridinone via une réaction click en tant qu'étape intermédiaire

A l'issu du précédent travail, nous avons alors repensé notre stratégie de chimie click afin de lier la partie ribose et le bicyclic naphthyridinone. Nous allons ainsi entreprendre l'étape de CuAAC plus tôt dans la synthèse, puis nous construirons le bicyclic naphthyridinone une fois le triazole formé.

Pour cela, nous avons envisagé d'utiliser le sucre azoture dont nous maîtrisons la synthèse et la plateforme 2-chloro-4-éthynyl-pyridine diméthylacétale comme partenaire de chimie click (Schéma 39).

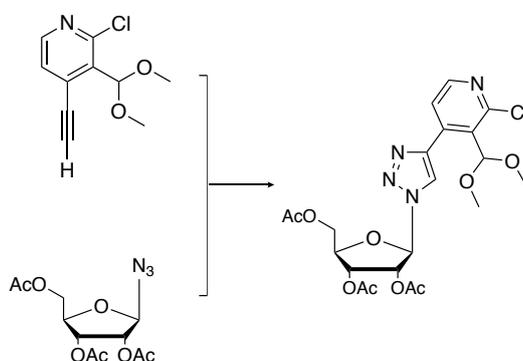


Schéma 39 Nouvelle stratégie envisagée de couplage par CuAAC

Une fois le triazole obtenu, l'étape de S<sub>N</sub>Ar suivie de la cyclisation en milieu acide devraient nous permettre d'obtenir le nucléoside désiré (Schéma 40).

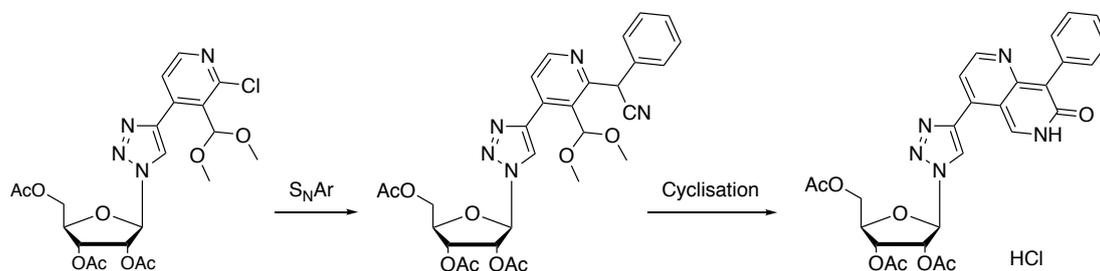


Schéma 40 Synthèse envisagée pour la formation du nucléoside naphthyridinone

Dans un premier temps, nous avons conçu et optimisé la synthèse de du 2-chloro-4-éthynyl-pyridine diméthylacétale **51**, à partir de la 2-chloro-4-iodo-3-pyridinecarboxaldéhyde **16** en 3 étapes (Schéma 41). Cependant nous nous apercevons qu'il nous faudra différencier les deux halogènes lors de la première étape de couplage.

Panda et al<sup>166</sup> ont notamment décrit un couplage de Sonogashira régiosélectif en position 4 entre la 2,6-dichloro-4-iodo-pyridinyléthanone et le phénylacétylène (Schéma 42).

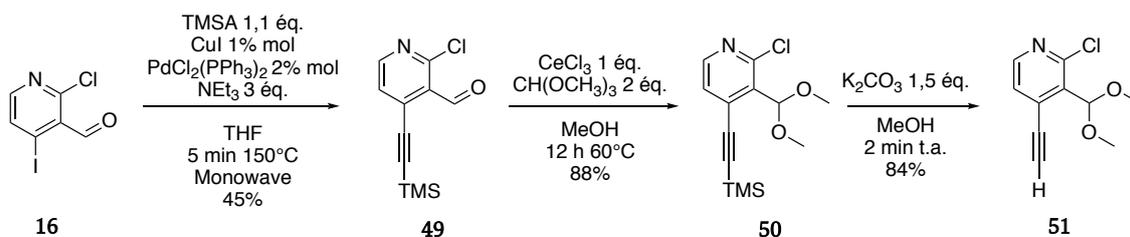


Schéma 41 Synthèse de la partie hétérocyclique

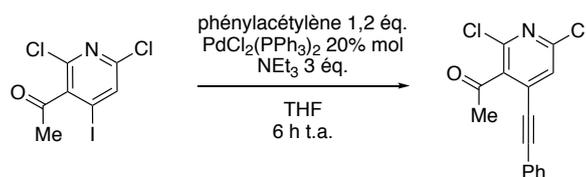


Schéma 42 Couplage de Sonogashira régiosélectif entrepris par Panda et al

Nous avons ainsi repris ces conditions afin de réaliser le couplage entre la 2-chloro-4-iodo-3-pyridine carboxaldéhyde **16** et le triméthylsilylacétylène. Malheureusement, nous obtenons tout de même les produits mono et disubstitués, par deux fonctions éthynyles, en fin de réaction. En revanche, grâce à l'utilisation d'un appareil « monowave » permettant de chauffer de manière très rapide, ce couplage s'est avéré régiosélectif sur la position 4 du cycle pyridine. Le produit de couplage attendu **49** a été isolé avec un rendement modeste de 45%. La présence de produit de dégradation est certainement dû aux conditions drastiques utilisées.

L'étape suivante correspond à la protection de la fonction aldéhyde sous forme d'acétal. Les conditions réactionnelles d'acétalisation telles que APTS, éthylène glycol à reflux, utilisées dans les précédentes stratégies n'ont pas été employées en raison de la potentielle réactivité de la fonction éthynyle dans ce cas de figure. Nous avons par conséquent utilisé des conditions plus douces initialement développées par Luche<sup>167</sup> utilisant de l'orthoformiate

de triméthyle avec une quantité stœchiométrique de chlorure de cérium dans du méthanol à chaud. Nous observons une conversion totale en produit **50** attendu après 12 heures de réaction.

Enfin, la dernière étape de cette synthèse a consisté à déprotéger la fonction éthyne à l'aide d'1,5 équivalents de carbonate de potassium dans du méthanol. Cette réaction doit précisément être effectuée en moins de 2 minutes à température ambiante afin d'obtenir le produit **51** désiré avec 84% de rendement. Passé ce délai, nous observons la formation du produit d'addition de deux molécules de méthanol sur la triple liaison.

Une fois le composé **51** obtenue, nous pouvions alors procéder à la réaction de CuAAC avec le ribose azoture **44**. Nous avons tout d'abord choisi d'utiliser une source de cuivre I, une base, dans un solvant organique. Après 18 heures à reflux, en présence de 2 équivalents de CuI, un excès de DIPEA dans du dichlorométhane nous avons isoler le produit **52** attendu avec un rendement de 75% (Schéma 43).

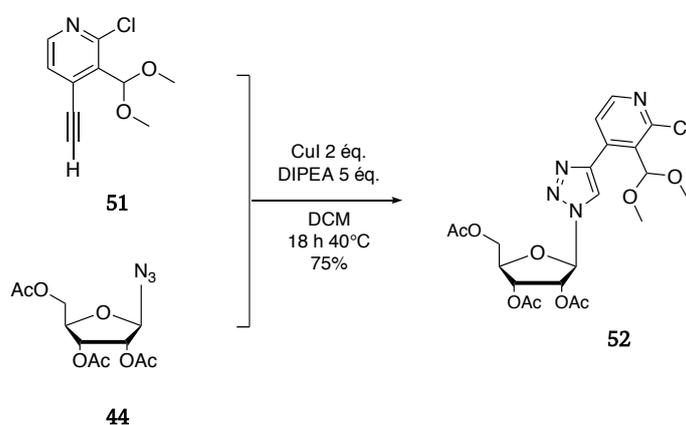


Schéma 43 Étape de CuAAC entre les composés 44 et 51

Pour l'étape de S<sub>N</sub>Ar puis de cyclisation en milieu acide, nous avons adopté la même stratégie que celle développée dans la partie précédente (Schéma 44).

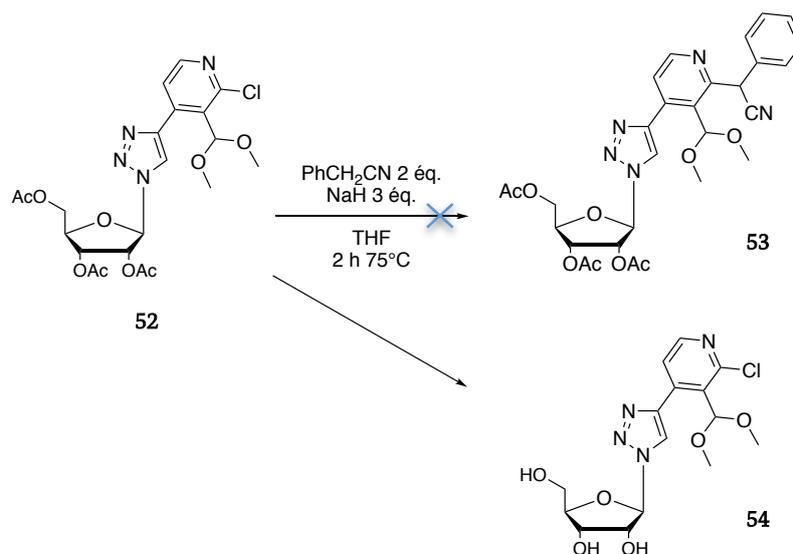


Schéma 44 Réaction de  $S_NAr$  sur le composé **47**

En présence de phénylacétonitrile et de  $\text{NaH}$  dans des conditions anhydres, aucun produit de substitution n'est obtenu. Sans vraiment pouvoir apporter d'explication, nous observons de manière reproductible, la déprotection des groupes hydroxyles du composé **52**.

Ainsi, pour éviter cette réaction parasite, nous nous sommes affranchis de groupements protecteurs sur le ribose pour réaliser la  $S_NAr$ .

Par ce faire, nous avons engagé le produit **52** dans une étape de déprotection des fonctions alcools (Schéma 45). Celle-ci a été réalisée dans les conditions décrites par Zemplén,<sup>168</sup> en présence d'une quantité catalytique de méthanolate de sodium dans du méthanol pendant cinq minutes afin d'obtenir la version complètement déprotégée **54** de manière quantitative.

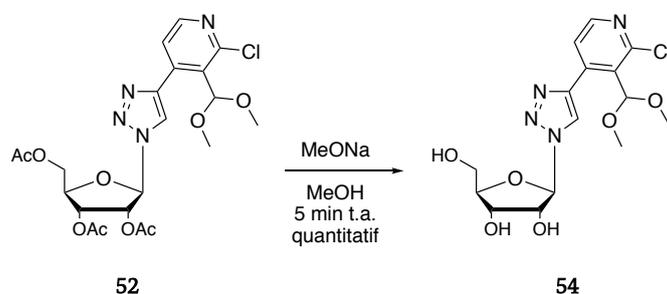


Schéma 45 Etape de déprotection des groupements acétyles

Une fois déprotégée la molécule **54** a été engagée dans la réaction de  $S_NAr$  en présence de 6 équivalents de NaH et 2 équivalents de phénylacétonitrile dans du THF pendant 24 heures. La présence de 3 groupes hydroxyles nous impose d'utiliser 6 équivalents de NaH au lieu de 3 initialement. Dans ces conditions, nous n'avons pas réussi à obtenir le produit attendu mais deux produits distincts : une partie sucre contenant une fonction époxyde et une partie hétérocyclique contenant le motif triazole (Schéma 46). Ces structures ont pu être confirmées par analyses LC-MS.

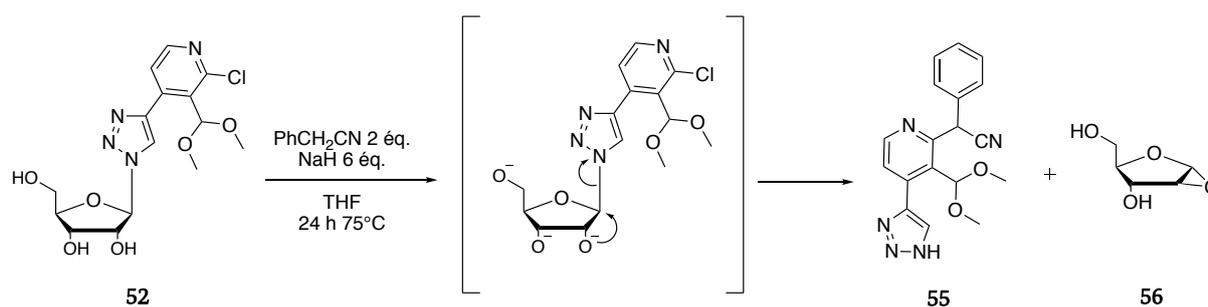


Schéma 46 Etape de  $S_NAr$  avec la molécule 49 déprotégée

Il semblerait donc que la partie hétérocyclique contenant le motif triazole pyridine se soit décrochée du sucre au cours de la réaction. Ce résultat peut s'expliquer par les hydroxyles du ribose qui une fois déprotonés sont de bons nucléophiles et peuvent alors participer à la formation de l'époxyde **56**. Cette réaction serait d'autant plus favorisée que la partie hétérocyclique contenant le motif 1,2,3-triazole peut être assimilée à un bon groupe partant. En effet, l'anion résultant serait fortement stabilisé par la mésomérie du cycle triazolique.

A ce stade nous comprenons que nous devons utiliser un sucre protégé pour réaliser cette réaction de  $S_NAr$  et que cette protection ne peut pas être un groupement de type ester. Nous avons alors pensé à utiliser des benzyles comme groupements protecteurs robustes. Ce choix s'explique par le fait que les fonctions éthers benzyliques ont l'avantage d'être stables en milieu basique comme en milieu acide et sont facilement clivables de manière sélective par hydrogénation catalytique.

Pour protéger les fonctions alcools du sucre, nous avons employé des conditions classiques décrites dans la littérature à savoir du NaH et du bromure de benzyle (BnBr). Ainsi, nous

avons déprotégé les groupes hydroxyles du sucre ribose **44** pour ensuite insérer les groupes benzyles selon la séquence réactionnelle ci-dessous (Schéma 47).

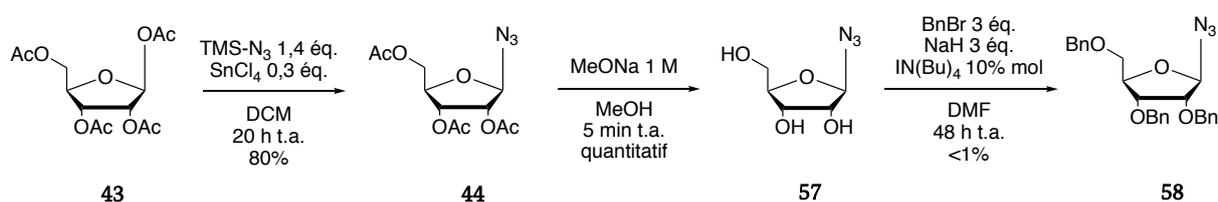


Schéma 47 Protection du ribose azoture sous forme d'éthers benzyliques

Concernant la dernière étape de protection, malgré plusieurs tentatives utilisant les conditions standards<sup>169,170</sup> (NaH, BnBr), aucun produit attendu n'a été observé. Nous avons tenté d'utiliser les mêmes conditions en y ajoutant un agent de transfert de phase, de l'iodure de tétrabutylammonium (TBAI). Dans ces conditions nous obtenons qu'une très faible partie protégée du composé **58**. Nous avons pu remarquer que ces conditions de protection étaient peu connues sur des motifs riboses comportant une fonction azoture en position anomérique.

Nous nous sommes alors tournés vers l'utilisation d'éthers silylés comme groupements protecteurs. Nous avons tout d'abord tenté la protection des fonctions hydroxyles du sucre azoture sous forme d'éthers silylés par le groupement TBDMS (Schéma 48). En effet, ce groupement est connu pour être robuste en milieu basique non nucléophile et facilement clivable en milieu acide fort, conditions de notre dernière étape de synthèse.

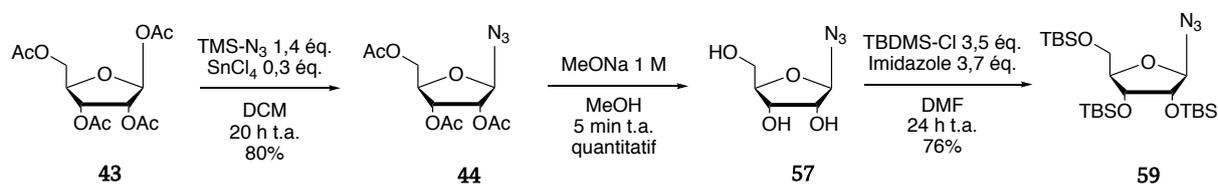


Schéma 48 Insertion des groupements TBDMS sur le ribose azoture

En présence de 3,5 équivalents de TBDMSCl et d'imidazole dans du DMF, nous obtenons après 24 heures le produit protégé **59** avec un rendement de 76%.

L'étape suivante correspond à la réaction de CuAAC entre le sucre protégé **59** et la pyridine **51**. Le produit de cyclo-addition est cette fois obtenu avec un rendement de 67% (Schéma 49).

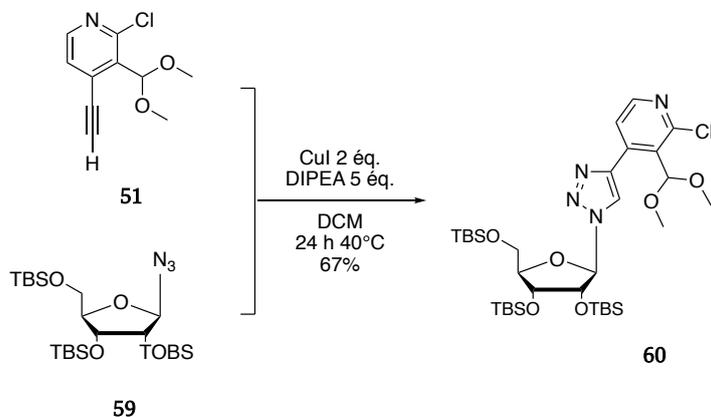


Schéma 49 Réaction de chimie de click entre 51 et 59

Le composé **60** est engagé dans les essais de  $S_NAr$  selon les conditions décrites précédemment (Schéma 50).

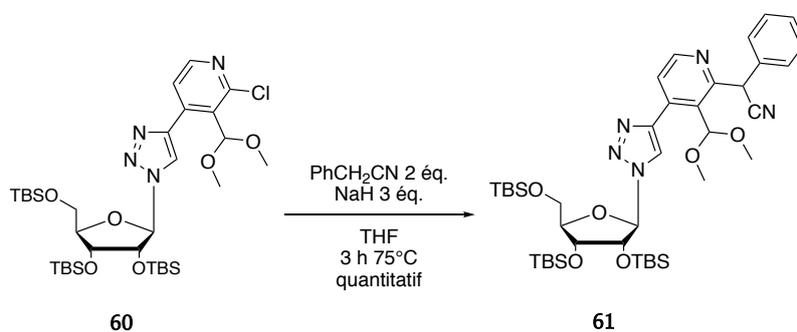


Schéma 50 Etape de  $S_NAr$  avec le ribose-TBDMS

A notre grande satisfaction, le produit **60** subit la réaction de substitution, en présence de 3 équivalents de NaH et 2 équivalents de phénylacétonitrile en 3 heures à reflux du THF, nous permettant d'obtenir le composé désiré **61** de façon quantitative.

Finalement, nous avons eu le plaisir de constater que la déprotection du sucre s'est effectuées comme attendu durant les 24 heures de l'étape de cyclisation en milieu acide. Nous avons isolé le nucléoside **62** avec un rendement quantitatif (Schéma 51).

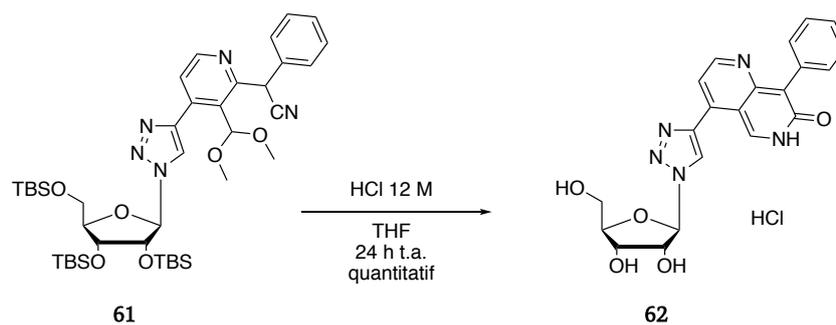


Schéma 51 Etape finale de cyclisation

## D. Bilan de la synthèse des nucléosides artificiels

Pour conclure sur cette partie, nous avons développé une nouvelle voie de synthèse en 9 étapes conduisant à la formation de nouveaux nucléosides artificiels fluorescent. Un certain nombre d'optimisations a été nécessaire pour atteindre notre cible comme notamment l'insertion régio-sélective d'une triple liaison sur la 2-chloro-4-iodopyridine, la protection des hydroxyles du ribose par des groupements TBDMS, ou encore le choix des conditions de chimie click.

Avec cette synthèse qui semble générale, nous pouvons maintenant transformer les naphthyridinones préparées et étudiées dans la partie précédente en nucléosides naphthyridinones suivant le schéma réactionnel résumé ci-dessous (Schéma 52).

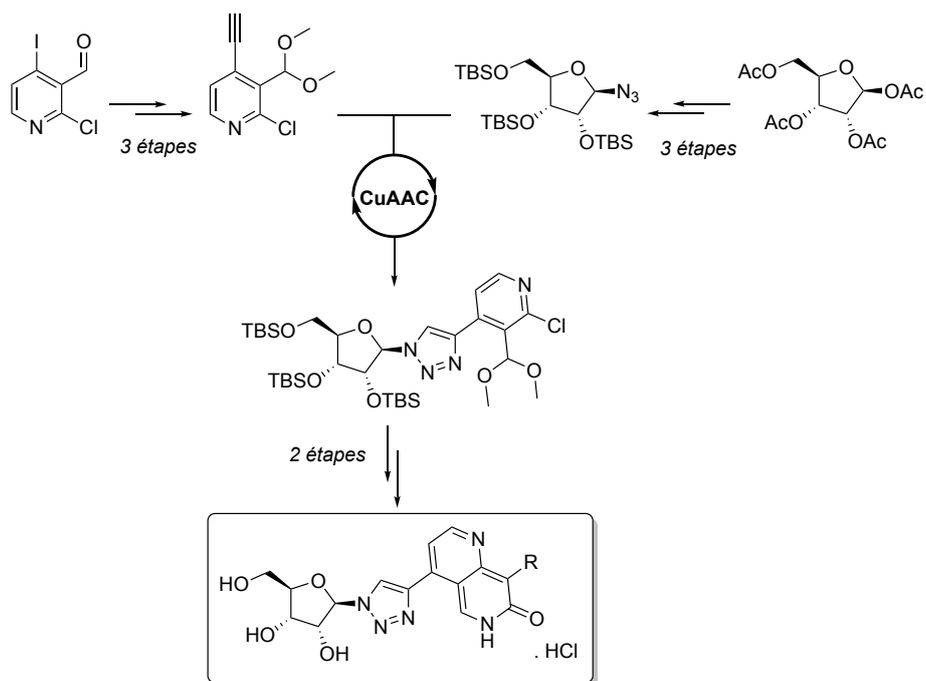


Schéma 52 Schéma général des nucléosides naphthyridinones

Par ailleurs, nous avons pu appliquer cette stratégie de synthèse à la préparation d'un autre nucléoside artificiel, présentant un cycle pyridine à la place du cycle phényle en position 8.

## II. Propriétés spectroscopiques des nucléosides

Un fois synthétisé, les propriétés spectrales des nucléosides obtenus ont été évalués afin de s'assurer que la fluorescence était bien conservée.

Nous avons pour cela enregistré les spectres d'absorption et d'émission de fluorescence des composés **62a** et **62b**, et nous les avons comparés avec les composés **4a** et **4b** correspondant aux équivalents naphthyridinones sans le ribose (Figure 74).

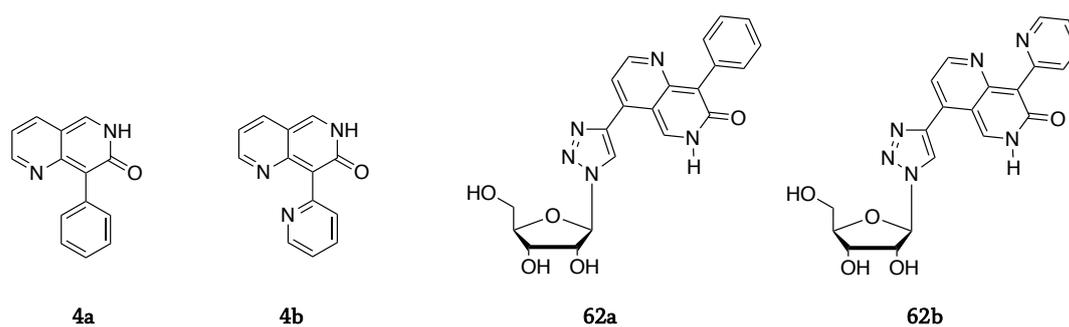


Figure 74 Structures des nucléosides et naphthyridinones étudiées

### A. Spectre d'absorption des nucléosides

Nous avons enregistré et comparé les spectres d'absorption des nucléosides **62a** et **62b** avec leur nucléobase **4a** et **4b**. L'ensemble de ces spectres est regroupé dans le graphique ci-dessous (Figure 75). Comme précédemment réalisé avec les composés naphthyridinones, les échantillons sont analysés dans du PBS 1X à une concentration de  $1.10^{-4}$  M.

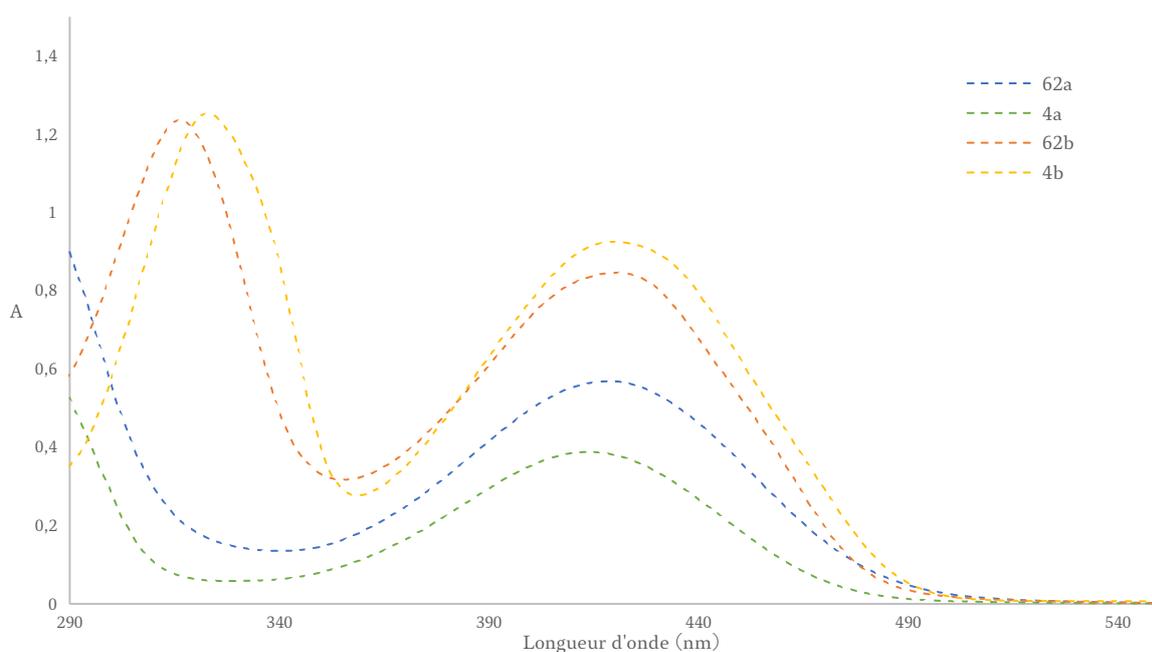


Figure 75 Spectres d'absorption des nucléosides **62a**, **62b** et des nucléobases **4a** et **4b**

Nous pouvons observer que l'absorption dans le visible est conservée avec des longueurs d'onde maximales  $\lambda_{\text{abs}}$  à 420 nm pour les deux nucléosides. Il est possible de visualiser un léger effet bathochrome pour le nucléoside phényle naphthyridinone **62a** et à l'inverse un effet hypsochrome pour le nucléoside pyridine naphthyridinone **62b** comparé à leur nucléobase seule **4a** et **4b**.

Globalement, les nucléosides suivent la même tendance de courbe que les nucléobases seules ce qui nous permet d'en déduire que la partie osidique ajoutée n'a pas un fort impact sur l'absorption de nos composés.

## B. Spectres d'émission des nucléosides

De la même façon, nous avons ensuite enregistré les spectres d'émission de fluorescence des nucléosides que nous avons comparé aux nucléobases seules (Figure 5). Les échantillons sont excités à la longueur d'onde maximum de leur absorption. Ils sont également analysés dans du PBS 1X à une concentration de  $1.10^{-5}$  M.

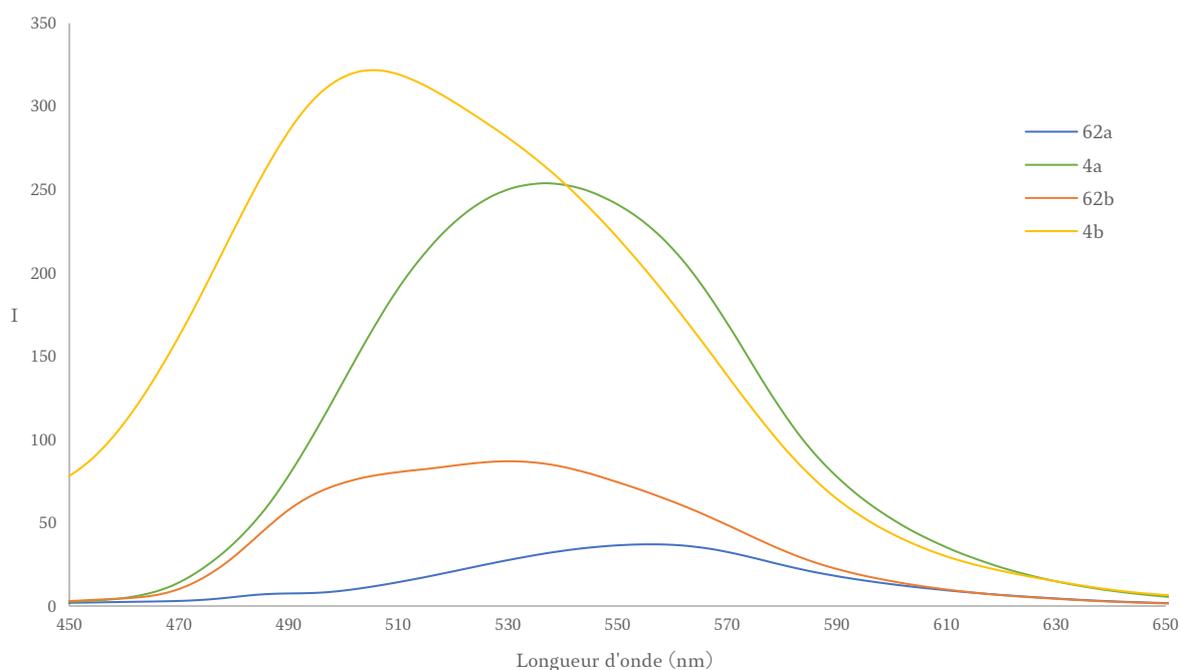


Figure 76 Spectres d'émission de fluorescence des nucléosides **62a**, **62b** et des nucléobases **4a** et **4b**

Nous pouvons constater ici qu'un effet bathochrome est visible dans les deux cas de figure. En effet, nous observons une longueur d'onde maximale  $\lambda_{em}$  de 556 nm pour le nucléoside phényle **62a**, soit un déplacement de  $\Delta = 19$  nm par rapport à sa nucléobase **4a** et une longueur d'onde maximale  $\lambda_{em}$  de 530 nm pour le nucléoside pyridine **62b**, correspondant à un déplacement de  $\Delta = 25$  nm par rapport à sa nucléobase **4b**.

Cependant, la différence d'intensité de fluorescence entre les nucléosides et les nucléobases est frappante. Une perte importante de l'émission de fluorescence est constatée, indiquant que la partie osidique diminue fortement les propriétés de fluorescence de nos nucléosides.

De façon intrigante, nous pouvons aussi voir un léger épaulement sur les courbes de fluorescence des deux nucléosides. A ce jour, nous n'avons pas fini d'étudier ces données pour mieux comprendre ce phénomène d'épaulement et nous n'avons pas encore déterminé quelles seraient les causes possibles de cette perte de fluorescence. Les rendements quantiques de fluorescence restent également à être déterminer.

Malgré la diminution d'intensité de fluorescence de nos composés, leurs longueurs d'onde, qui ont été légèrement déplacées vers le rouge, restent intéressantes pour être utilisées en tant que nucléosides fluorescents.

### III. Vers l'insertion de nucléosides fluorescents dans un oligonucléotide

La synthèse et les propriétés spectroscopiques réalisées, détaillées et caractérisées, il nous restait alors à insérer nos nucléosides dans un oligonucléotide afin de pouvoir caractériser leur capacité d'appariement et pouvoir mesurer leur interaction avec différentes cibles comme exposé lors du chapitre introductif.

## A. Les méthodes d'insertion d'un nucléoside ou nucléotide

Il existe 3 méthodes principales permettant d'insérer une base artificielle dans un oligonucléotide ; par synthèse supportée sur phase solide,<sup>89,90</sup> par voie enzymatique<sup>91,92,93,94</sup> ou par modification post-synthétique.<sup>95</sup>

### 1. La synthèse supportée sur phase solide

La synthèse supportée sur phase solide est la méthode la plus couramment utilisée de par sa facilité d'emploi. Elle requiert généralement l'usage d'un synthétiseur automatique mais peut aussi être réalisée manuellement. Afin d'incorporer un nucléoside dans un synthétiseur, la position 5' du sucre est tout d'abord protégée de manière conventionnelle par un groupement DMTr (diméthoxytrityle) ainsi que la position 3' par un groupement phosphoramidite (Figure 77).

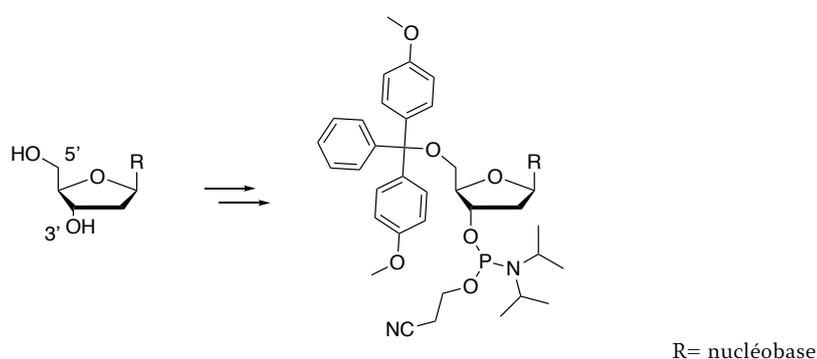


Figure 77 Protection du nucléoside en vue de son insertion dans un oligonucléotide

Pour un modèle ARN, une étape de protection de la fonction hydroxyle en position 2' est nécessaire généralement par un groupement TBDMS (tertbutyldimethylsilyle). Mais il est possible de trouver d'autres méthodes de protection comme proposé par Pitsch et al<sup>171</sup> utilisant un groupement TOM (triisopropylsilyloxyméthyle) ou encore un groupement ACE 2'-O-bis(2-acetoxyethoxy)methyl orthoester proposé par Scaringe et al (Figure 7).<sup>172,173</sup>

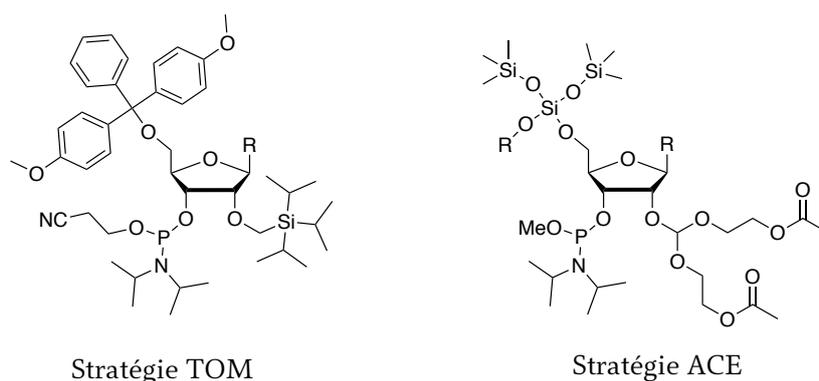


Figure 78 Protections possibles de la position 2' sur modèle ARN

Une fois le nucléoside protégé, la synthèse supportée sur phase solide peut être engagée et se déroule en 5 étapes (Figure 80). Tout d'abord, le premier nucléoside à insérer est greffé au support solide au niveau de la position 3' du sucre. Puis une étape de déprotection de la position 5' protégée par le groupement DMTr est effectué en conditions acides par l'acide trichloroacétique. Le couplage 3'-5' permettant l'ajout d'un nouveau nucléoside est ensuite réalisé en présence de tétrazole qui permet d'activer le groupement phosphoramidite. Une étape de blocage est ensuite nécessaire, ce qui sert à éliminer les nucléoside 5' OH qui n'auraient pas réagi lors du couplage. Pour cela la fonction hydroxyle libre est acétylée par de l'anhydride acétique empêchant ainsi sa réaction dans les cycles suivant. Concernant la partie supportée, une étape d'oxydation du phosphate est réalisée passant d'un phosphite P(III) à un phosphate P(IV) plus stable. Cette étape s'effectue à l'aide d'une solution de diiode dans du THF. Ensuite, l'oligonucléotide préparé peut soit recommencer un cycle afin d'ajouter un autre nucléoside, soit être clivé afin d'arrêter sa synthèse.

Pour stopper la synthèse une étape de clivage et une étape de déprotection sont réalisées en conditions basiques.

Cette méthode s'avère robuste avec un rendement quasiment quantitatif (~99,5%) à chaque cycle.

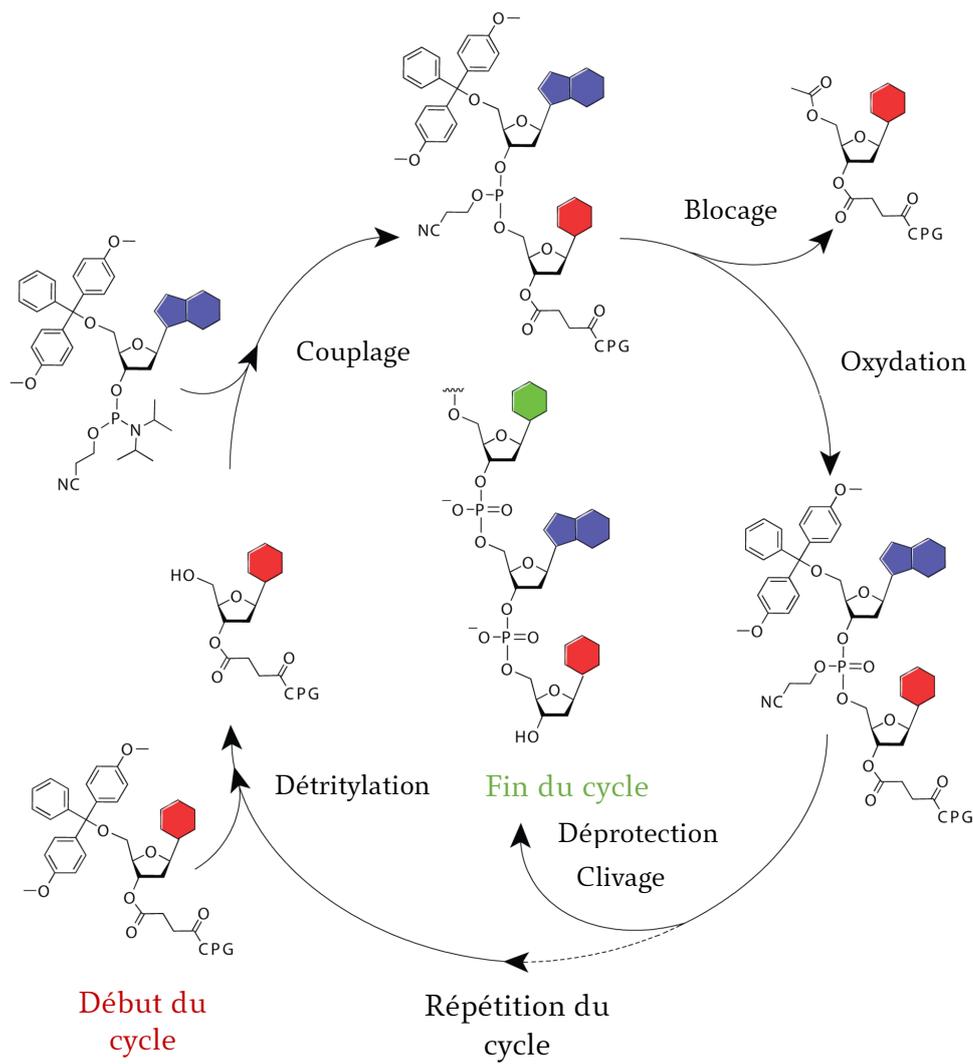


Figure 80 Cycle de la synthèse supportée sur phase solide

Au-delà du côté fonctionnel de cette méthode, les nucléosides peuvent être introduits de manière spécifique en choisissant l'ordre d'ajout des bases. La limite d'utilisation est d'environ 100 nucléotides pour l'ADN et 50 pour l'ARN, ce qui permet tout de même d'obtenir des oligonucléotides exploitables. Il faut tout de même considérer que pour des nucléobases artificielles assez différentes des bases naturelles ou très encombrées, les rendements obtenus sont généralement moins bons. De plus, l'insertion de nucléosides de structures très atypiques ne pourra pas être réalisable sur synthétiseur. Enfin, le coût d'investissement peut aussi être un frein à son utilisation.

## 2. La voie enzymatique

L'insertion de bases artificielles fluorescentes par voie enzymatique est la deuxième technique la plus employée. Elle nécessite l'utilisation d'ADN ou d'ARN polymérase ainsi qu'une amorce. Elle est réalisable sur les bases canoniques et non canoniques.<sup>174</sup> Les nucléosides doivent préalablement être transformés en nucléotides triphosphate (dNTP ou NTP) (Figure 81).

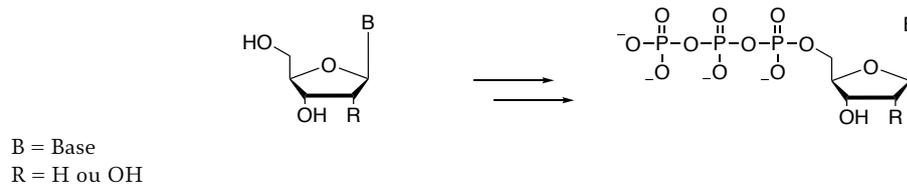


Figure 81 Transformation d'un nucléoside en nucléotide triphosphate

Pour ce faire, plusieurs méthodes ont été mises au point. Nous pouvons citer comme par exemple la méthode de Yoshikawa ou celle de Ludwig-Eckstein qui sont les premières à avoir été développées (Schéma 53).<sup>175</sup>

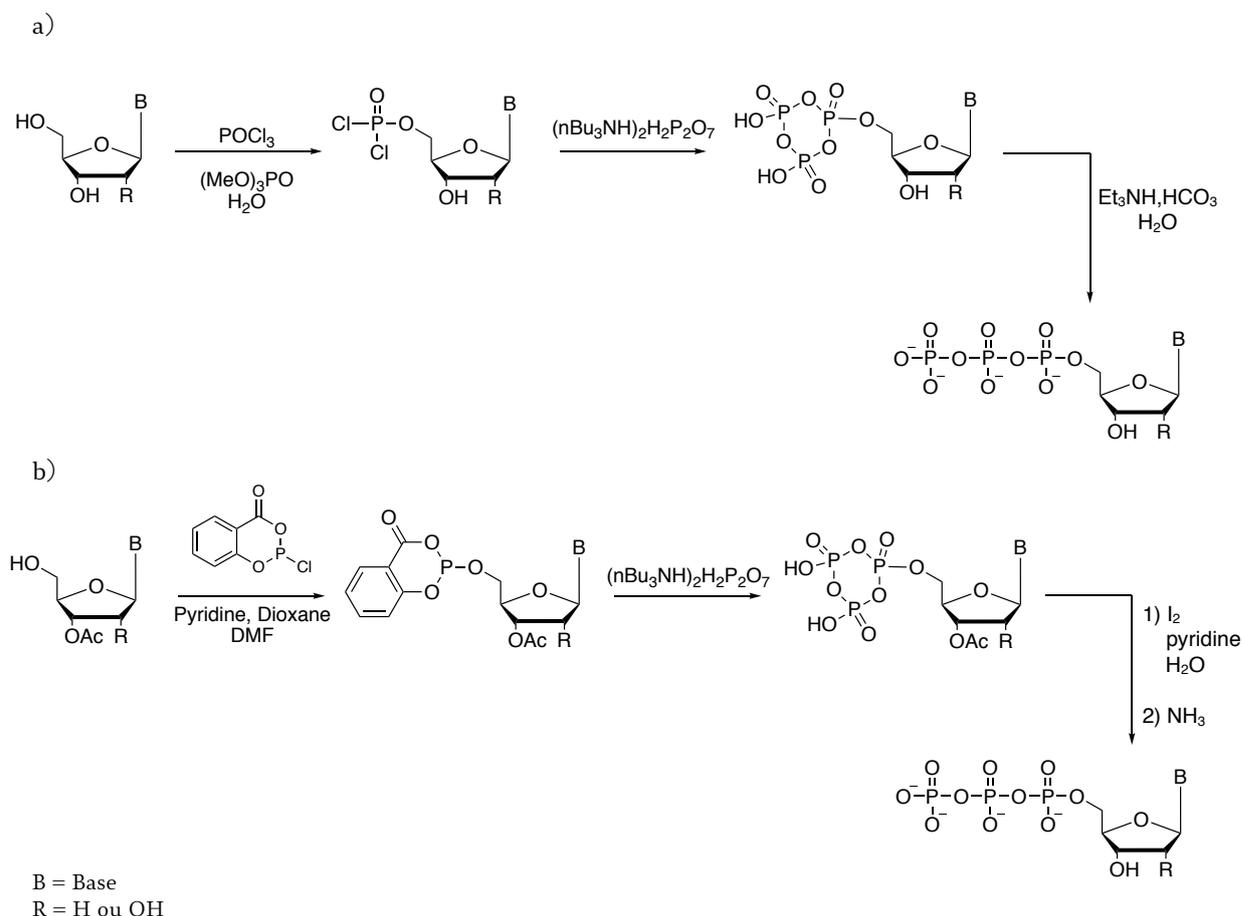


Schéma 53 a) Méthode de Yoshikawa b) Méthode de Ludwig-Eckstein pour la synthèse de dNTP ou NTP

La méthode de Ludwig-Eckstein est en réalité une amélioration de la méthode de Yoshikawa permettant une synthèse plus efficace, formant moins de sous-produits.

Depuis, de nombreuses autres méthodes ont été décrites dans la littérature. Néanmoins, celle-ci reste la méthode usuelle pour la formation de nucléotides triphosphate.

L'incorporation de bases artificielles par voie enzymatique peut ensuite se faire par différentes polymérases. Kent et al se sont intéressés à l'insertion de bases étendues fluorescentes mimétiques des 4 bases d'ADN naturelles via l'ADN polymérase  $\theta$  (Pol $\theta$ ), polymérase humaine.<sup>176</sup>

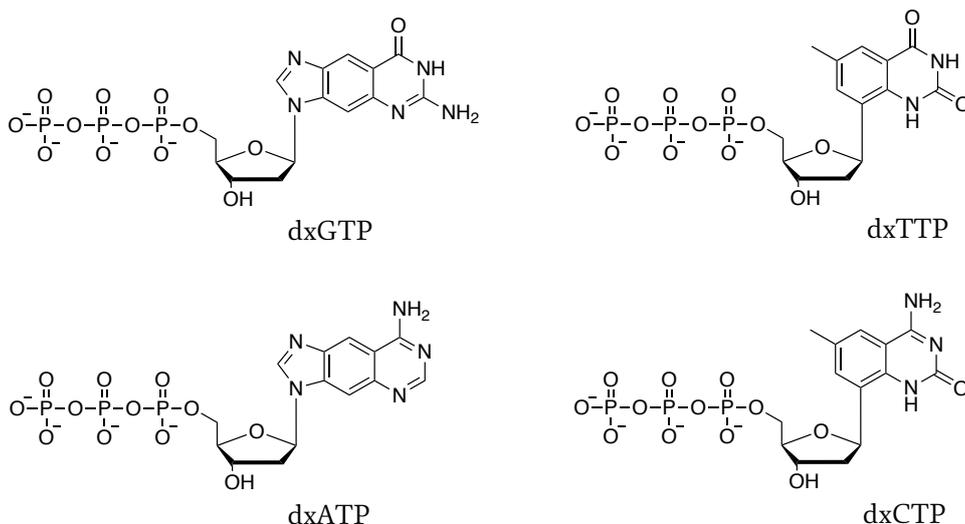


Figure 82 Dérivés désoxynucléotides triphosphate analogues fluorescents des bases d'ADN

Dans ces conditions, Pol $\theta$  permet une insertion efficace des 4 nucléotides artificielles dxATP, dxGTP, dxTTP et dxCTP.

Cette méthode enzymatique peu couteuse offre la possibilité d'introduire des bases d'ADN ou d'ARN artificielles fluorescentes de tailles différentes, qu'elles soient canoniques ou non. Elle assure également une insertion spécifique dans des conditions biocompatibles. Cependant, cette stratégie ne permet pas encore d'insérer une quantité importante d'ADN ou d'ARN modifié.

### 3. L'insertion post-synthétique

La technique par modification post-synthétique permet l'accroche de cycles fluorescents après la formation d'un oligonucléotide. Elle est actuellement réalisable via deux réactions de couplage carbone-carbone pallado catalysées, le couplage de Suzuki et le couplage de Stille.<sup>177,178</sup> Cette stratégie consiste à placer un atome d'halogène sur une base naturelle, et sur un oligonucléotide puis d'effectuer ensuite la réaction de couplage palladié afin d'insérer des fluorophores.

Omumi et al ont décrit l'utilisation du couplage de Suzuki pour post-fonctionnaliser une guanosine.<sup>179</sup> Des essais de couplage de 5 dérivés d'acides arylboroniques sur la

8-bromoguanine ont été réalisées à l'aide de l'acétate de palladium, du ligand TPPTS (sel de trisodium tris(3-sulfophényl)phosphine) et du carbonate de sodium dans un mélange H<sub>2</sub>O/ACN (2 :1) (Figure 83).

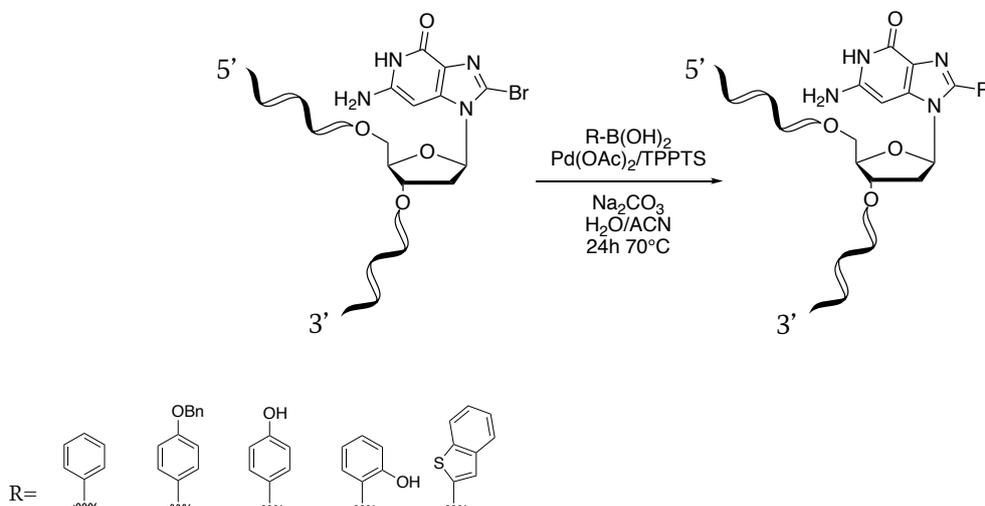


Figure 83 Réaction de Suzuki post synthétique pour l'incorporation de cycle aromatique sur un oligonucléotide

Le même couplage avec l'ensemble des dérivés boroniques a été réalisé sur 5 oligonucléotides de tailles différentes allant du dinucléotide (dimère) jusqu'au 15-mer. Cette méthode s'est avérée assez efficace avec des rendements compris entre 40 et 90% indépendamment de la taille de l'oligonucléotide.

Sur le même principe Krause et al. ont utilisé le couplage de Stille afin de post-synthétiser des oligonucléotides ARN comportant un nucléotide artificiel fluorescent.<sup>180</sup> Pour cela, une stratégie a été mise au point à partir du dinucléotide 5-I-UpG sur lequel a été couplé divers composés stannylés hétérocycliques et alcynes. Des conditions classiques de réaction de Stille ont été employées avec du Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> et de la phénylarsine dans du DMF à 60° C pendant 30 minutes (Figure 84).

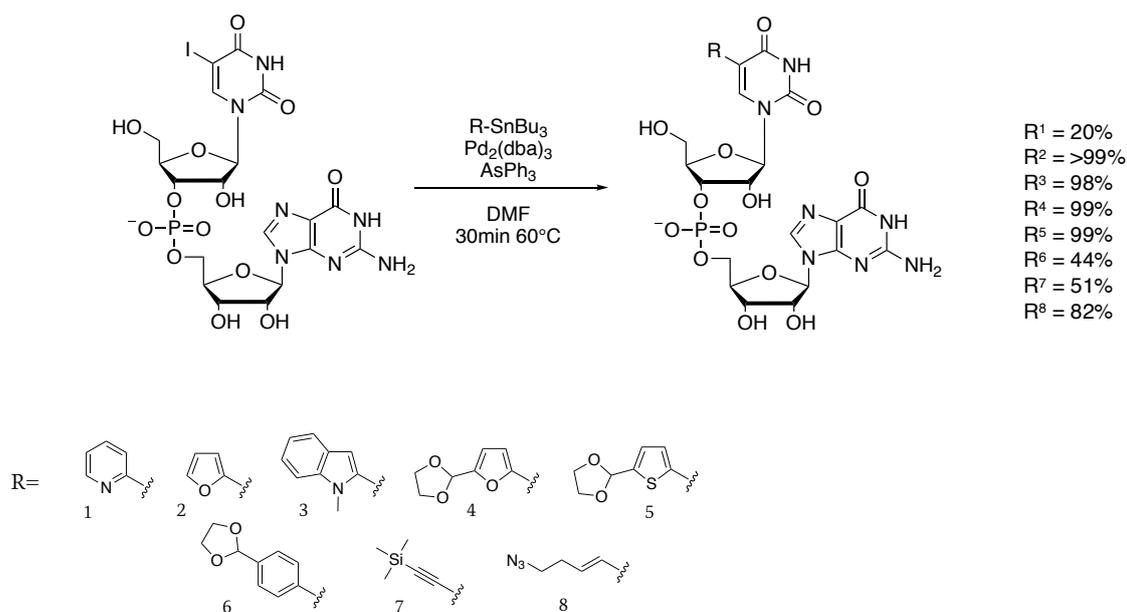


Figure 84 Couplage de Stille pour la post-fonctionnalisation du dinucléotide 5-I-UpG

Après avoir post-synthétisé l'ensemble des dimères avec les groupements  $R^1$  à  $R^8$ , les auteurs ont ensuite réalisé uniquement l'insertion de  $R^8$  de façon post-synthétique sur des oligonucléotides plus longs allant de 11-mer à 16-mer pour lequel ils obtiennent des rendements allant de 23% à 61%.

Cette méthode a l'avantage de post-fonctionnaliser des oligonucléotides de différentes tailles et ceci de manière spécifique grâce à l'incorporation au préalable d'une base halogénée. De cette façon, la dimension de la nucléobase ne pose plus de problème lors de l'insertion du nucléoside sur le brin modèle dans le cas de l'utilisation de nucléobases encombrées. Il serait alors possible de fonctionnaliser de manière efficace de très longs nucléotides pouvant aller jusqu'à 1000 paires de base. Cependant, cette méthode nécessite encore une optimisation avant de pouvoir être utilisée à grande échelle.

## B. Vers la transformation des nucléosides en nucléosides phosphoramidites

Parmi les trois méthodes présentées, nous avons opté pour la synthèse supportée. Notre objectif a donc été de convertir nos nucléosides en nucléosides phosphoramidites. Pour cela, nous avons repris les conditions classiques utilisées dans la littérature, à savoir la protection du groupe hydroxyle en position 5' par un diméthoxytrityle puis une protection du groupe hydroxyle en position 2' par un groupement TBDMS et enfin l'insertion du phosphoramidite sur le groupe hydroxyle en 3'.

Nous avons commencé par la tritylation de notre nucléoside phényle naphthyridinone en utilisant les conditions usuelles qui sont l'utilisation de chlorure de diméthoxytrityle dans de la pyridine à température ambiante.<sup>181,182</sup> Dans ces conditions, nous n'avons pas obtenu la protection de l'alcool en 5', et seuls les réactifs sont récupérés en fin de réaction (Schéma 54).

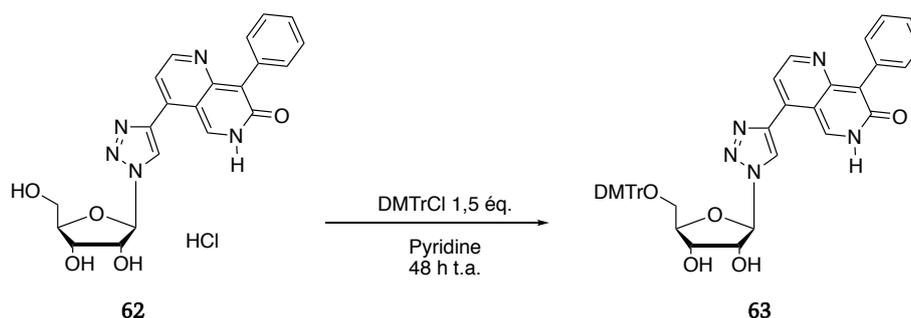


Schéma 54 Essai de tritylation du nucléoside

Surpris face à ce résultat, nous ne pensions pas être mis en difficulté lors de cette étape. Nous avons regardé davantage la littérature afin de nous tourner vers d'autres conditions. Nous avons ainsi pu voir que la co-évaporation du réactif avec de la pyridine semblait être un point crucial. Nous avons donc répété cette réaction en réalisant une co-évaporation de notre nucléoside avec de la pyridine. En prenant cette précaution, nous avons pu obtenir une faible quantité de produit désiré (20% de rendement).

Afin d'améliorer ce rendement, nous avons ajouté de la DIPEA aux conditions réactionnelles initiales et nous avons également procédé à l'ajout des composés à froid comme l'ont proposé Barthes et al (Schéma 56).<sup>183</sup> Ces nouvelles conditions n'ont pas permis d'obtenir le produit désiré.

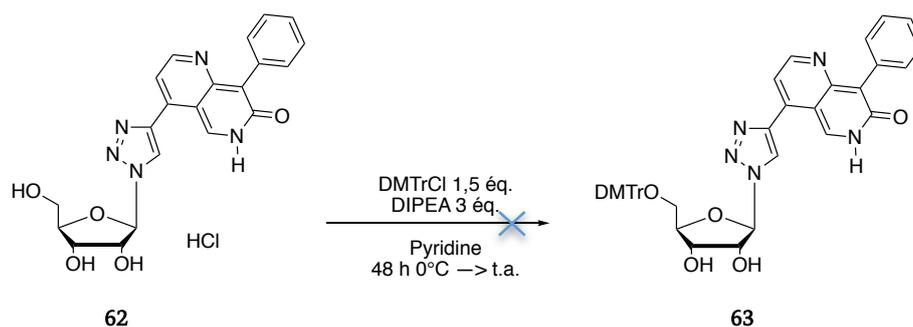


Schéma 55 Essai de tritylation en présence de DIPEA

L'excès de pyridine utilisé nous permet normalement de neutraliser *in situ* la forme chlorhydrate du nucléoside de départ. Cependant, nous avons tout de même tenté de neutraliser notre nucléoside avant de l'engager dans la réaction de tritylation. Pour cela, nous avons utilisé une résine échangeuse d'ion acide, la DOWEX 50. Le composé est dissous dans du méthanol et mélangé à la résine DOWEX 50 jusqu'au changement de couleur de la résine, prenant la couleur du composé. Notre composé se retrouve ainsi accroché à la résine. Le milieu est ensuite filtré et la résine est lavée au méthanol. Enfin, la résine est lavée avec une solution aqueuse d'ammoniac ce qui permet de décrocher la molécule de la résine et d'obtenir le composé sous sa forme neutre.

Celui-ci est alors engagé dans les conditions réactionnelles initiales après co-évaporation avec de la pyridine. Malheureusement, cette alternative ne nous permet pas d'augmenter le rendement de cette réaction.

Enfin, un essai en remplaçant la pyridine par de la 2,6-lutidine a été effectué dans du DMF (Schéma 56). Une fois de plus, le composé désiré n'a pas été obtenu dans ces conditions.

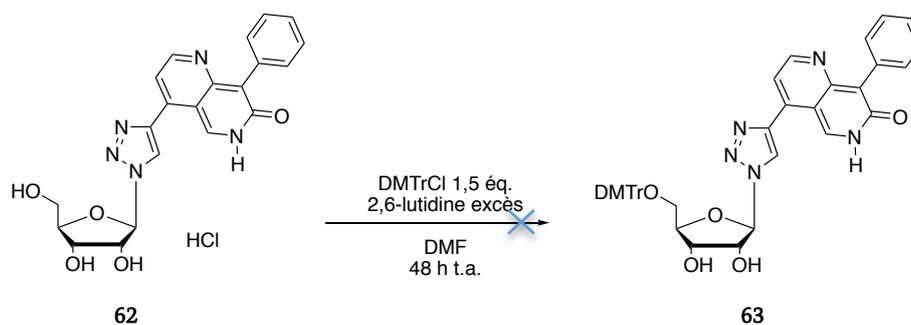


Schéma 56 Essai de tritylation avec de la 2,6-lutidine

Afin de pouvoir cibler le problème, nous avons entrepris cette réaction de tritylation sur une réaction connue, en utilisant la guanosine comme réactif. Le but ici est de savoir si les difficultés rencontrées proviennent des conditions utilisées, d'une mauvaise manipulation des produits ou de la réactivité de notre nucléoside artificiel. Ainsi, la guanosine a été co-évaporée 3 fois avec de la pyridine puis mise en présence de chlorure de diméthoxytrityle dans de la pyridine. Après 4 heures de réaction, la conversion en nucléoside tritylé est totale (Schéma 57).

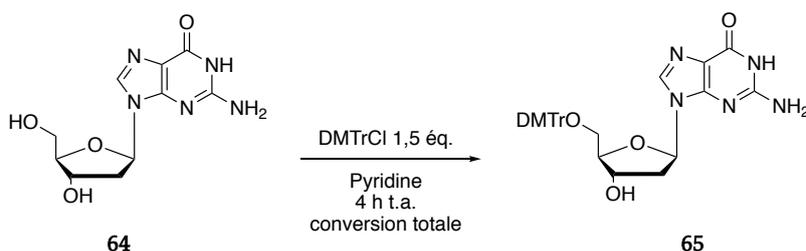


Schéma 57 Synthèse de tritylation de la guanosine

Nous supposons alors qu'un problème de réactivité lié à notre substrat nucléoside serait en cause à cette étape. Le peu de produit obtenu avec les différents essais de tritylation ne nous a pas permis de poursuivre la suite de la séquence réactionnelle. Deux étapes sont manquantes afin de parvenir au nucléoside phosphoramidite.

Afin de pouvoir entreprendre le reste de la stratégie, il serait possible d'utiliser un autre type de groupement protecteur en remplacement du DMTr. Les groupements TBMDs peuvent notamment être utilisés ou encore les méthoxytrityles qui sont plus robustes que leur homologue diméthoxy. Seulement, ces autres stratégies ne permettront pas une insertion par voie supportée de manière automatisée mais uniquement de manière manuelle.

A ce jour, ces autres alternatives n'ont pas encore été testées.

## Conclusion

Au cours de ce chapitre nous avons pu voir l'ensemble des stratégies mises au point afin de constituer un nucléoside fluorescent à partir de la 8-phényl-1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one. A l'issue de ces expériences, nous avons pu développer une séquence réactionnelle permettant l'accroche de la naphthyridinone à un ribose nous donnant accès au nucléoside correspondant. Cette méthode a ensuite pu être appliquée à un autre motif naphthyridinone, la 8-pyridine-1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one.

Les propriétés spectrales de ces nucléosides ont ainsi pu être étudiées et comparées à la première étude concernant les nucléobases naphthyridinones. Ces résultats se sont avérés mitigés mais restent encourageant pour la suite du développement de nouveaux nucléosides naphthyridinones fluorescents.

En vue de son insertion dans un oligonucléotide par synthèse supportée sur phase solide automatisée, la transformation d'un nucléoside naphthyridinone en nucléoside phosphoramidite a été essayée mais n'a aboutie. En effet, des difficultés ont été rencontrées lors de la protection de l'hydroxyle en position 5' du ribose par le diméthoxytrityle.

Cependant d'autres possibilités sont encore à explorer et permettraient la transformation des nucléosides soit en nucléosides phosphoramidites soit en nucléotides triphosphate ce qui pourra nous permettre d'envisager leur insertion dans un oligonucléotide afin d'étudier leurs propriétés au sein d'un brin d'ARN modèle.



**Chapitre 5 : Synthèse de nucléosides  
fluorescents contenant un noyau  
1,2,4-triazole**



# Chapitre 5 – Synthèse de nucléosides fluorescents contenant un noyau 1,2,4-triazole

## Introduction

Les triazoles sont définis comme étant des hétérocycles à 5 chaînons comportant 3 atomes d'azotes. Il existe deux isomères de cette structure, les 1,2,3-triazoles et les 1,2,4-triazoles (Figure 85).<sup>184,185</sup>

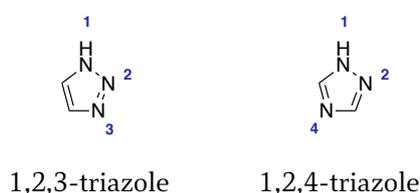


Figure 85 Les 2 grandes catégories de triazoles

De plus, ces deux triazoles possèdent une forme tautomère selon la position de l'atome d'hydrogène. Pour les 1,2,3-triazoles, cet équilibre conduit aux formes 1,2,3-(1*H*)-triazoles et 1,2,3-(2*H*)-triazoles. Le même équilibre tautomérique est possible avec les 1,2,4-triazoles donnant lieu aux 1,2,4-(1*H*)-triazoles et aux 1,2,4-(4*H*)-triazoles (Figure 2).<sup>186</sup>

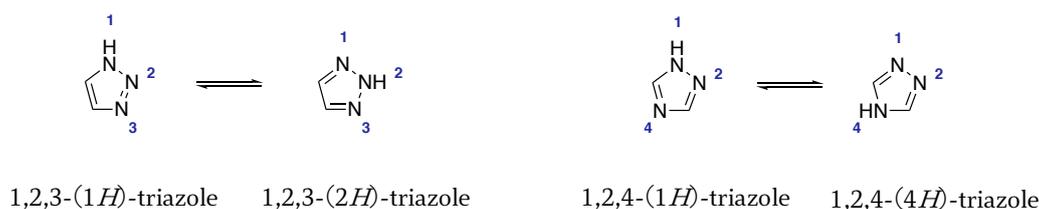


Figure 86 Formes tautomères des 1,2,3-triazoles et des 1,2,4-triazoles

Ces hétérocycles présentent des propriétés biologiques notables et font l'objet de recherches importantes. En effet, il s'agit d'un petit noyau aromatique stable vis à vis de conditions acides ou basiques, réductrices, oxydantes et dégradation métabolique. Le noyau triazole peut former des liaisons hydrogènes et établir des interactions par empilement  $\pi$  avec le milieu environnant.<sup>187,188</sup>

Les triazoles sont souvent utilisés en chimie médicinale pour concevoir des structures biologiquement actives. En effet, ils sont notamment considérés comme des bioisostères de liaisons amides.<sup>189,190,191</sup> Ces composés sont par conséquent très largement exploités en chimie biologique. Les 1,2,3-triazoles possèdent une structure aisément obtenue par des réactions de type chimie de click catalysées au cuivre mais sont également réalisables par chimie bioorthogonale.

Les structures 1,2,4-triazoles, sont eux aussi connus pour leur large champ d'applications biologiques. De nombreux composés dérivés de ce noyau sont utilisés en tant qu'agents anti-microbiens,<sup>192,193,194,195</sup> anti-inflammatoires,<sup>196</sup> anti-douleurs,<sup>197</sup> anti-hypertensifs<sup>198</sup> ou encore anti-cancéreux.<sup>199</sup>

Parmi ces structures à fort potentiel thérapeutique, les nucléosides triazoles (structures nucléiques composées d'un noyau triazole en position anomérique) représentent une classe particulière de composés faisant l'objet d'efforts de recherche importants. Ces travaux concernent les nucléosides possédant un motif 1,2,3-triazole<sup>200,201,202,203,204</sup> et également les nucléosides avec une partie 1,2,4-triazole.<sup>205,206,207,208,209</sup> Nous pouvons citer comme exemple la ribavirine qui constitue le chef de file de ces structures nucléosides 1,2,4-triazoles (Figure 3). Ce composé est un analogue de la guanosine, réputé pour son activité anti-virale à large spectre.<sup>210,211</sup> Elle est notamment utilisée dans le traitement de l'hépatite C.<sup>212,213</sup> La ribavirine a également montré des propriétés anti-cancéreuses.<sup>214</sup>

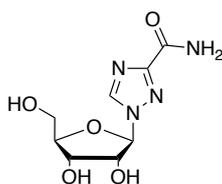


Figure 87 Structure de la ribavirine

Suite à sa découverte, un important travail de recherche a été entrepris afin de synthétiser des analogues structuraux de la ribavirine.<sup>215,216,217,218,219</sup> Les modifications effectuées concernent la structure hétérocyclique mais peuvent également concerner la partie glycone (sucre).

Au-delà de ces propriétés biologiques, les 1,2,4-triazoles sont également des structures aux propriétés spectrales intéressantes.<sup>220</sup> Des composés contenant le noyau 1,2,4-triazole ont notamment été étudiés pour des applications en tant que matériau émetteur pour des cellules électrochimiques électroluminescentes (Lec)<sup>221</sup>, à des fins d'émission induite par agrégation (AIE)<sup>222</sup> ou encore en tant que structure optoélectronique<sup>223</sup>.

La fluorescence de composés 1,2,4-triazoles a également été exploitée en tant que sonde du milieu biologique.<sup>224</sup> Bian et al. ont notamment décrit l'utilisation d'un 1,2,4-triazole 1,3,5-trisubstitué comme détecteur « off-on » des ions  $Zn^{2+}$  par chélation.<sup>30</sup>

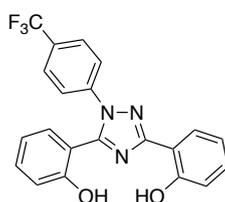


Figure 88 Structure du 2-[5-(2-hydroxyphényl)-1-[4-(trifluorométhyl)phényl]-1,2,4-triazole-3-yl]phénol, détecteur de  $Zn^{2+}$

Depuis plusieurs années, l'équipe Chembio s'intéresse aux structures 1,2,4-triazoliques diversement substituées notamment pour leurs propriétés de luminescence. Durant la thèse du Dr Anthony Nina Diogo, il a été montré que les structures de type 3-(1,3-diphenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one présentaient une fluorescence dépendante de la substitution du groupe aromatique. Fait intéressant, ces composés possèdent une émission de fluorescence dans l'eau.<sup>225</sup> Ces structures ont été étudiées pour le marquage de protéines carbonylées associées au vieillissement et à l'inflammation.

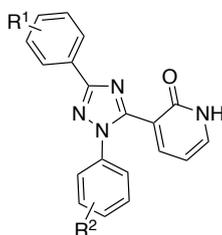


Figure 89 Structure de la 3-(1,3-diphenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one

Dans la continuité de vouloir proposer un travail original, nous avons cherché à utiliser les structures 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-ones pour élaborer des nucléosides fluorescents de façon similaire aux structures naphthyridinones. Pour cela, un premier travail de synthèse a été entrepris pour accéder aux dérivés 1,2,4-triazole-pyridin-2-ones. Puis, plusieurs stratégies ont été envisagées afin de lier ces structures à une partie osidique de type ribose ou désoxyribose afin d'aboutir à la formation d'un nucléoside.

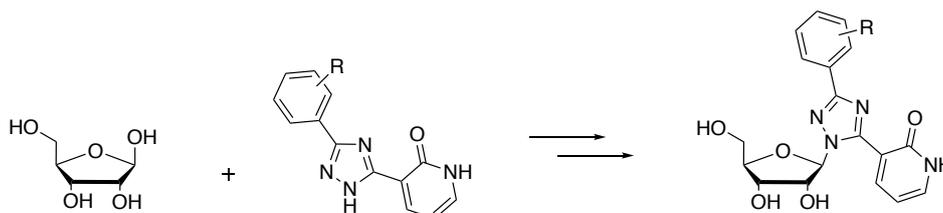
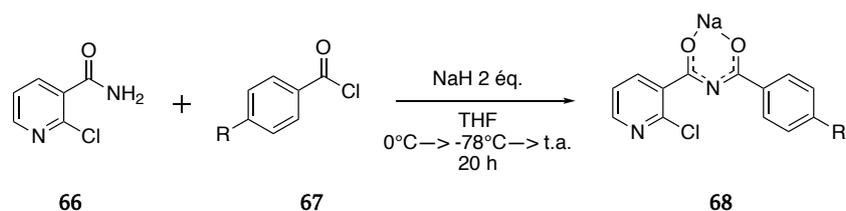


Figure 90 Objectif de synthèse pour la formation des 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-ones nucléosides

## I. Synthèse de 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-ones

Une séquence réactionnelle simple et efficace a été mise au point au laboratoire permettant d'accéder à des motifs 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one en 3 étapes.<sup>226,227</sup>

La première étape correspond à la formation d'un anion sodé à partir de la 2-chloronicotinamide et d'un chlorure d'acyle comportant un substituant R en *para* du benzène. Cette étape est réalisée à l'aide de 2 équivalents d'hydrure de sodium (NaH) introduit à basse température (Schéma 58). Le premier équivalent de base permet la déprotonation de la fonction acétamide. L'addition à basse température du chlorure d'acyle permet d'obtenir l'imide intermédiaire qui sera déprotoné par le deuxième équivalent de base présent dans le milieu réactionnel. Les anions sodés précipitent alors dans le milieu, une filtration suivie d'une trituration permettent de les récupérer avec une pureté satisfaisante. Ces conditions ont ainsi été reprises et au cours de cette thèse permettant d'obtenir des anions sodés diversement substitués avec de bons rendements (Tableau 7).

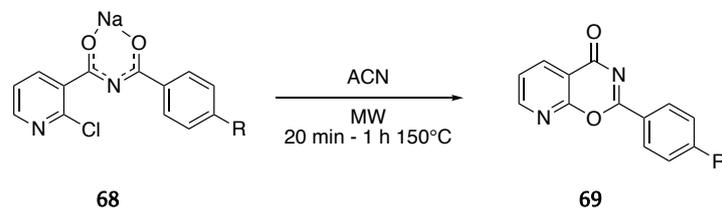


Sch\u00e9ma 58 1<sup>re</sup> \u00e9tape de synth\u00e8se des 1,2,4-triazole-pyridin-2-ones

Compos\u00e9	R	Rendement
<b>68a</b>	H	81%
<b>68b</b>	F	97%
<b>68c</b>	CN	98%
<b>68d</b>	Cl	75%
<b>68e</b>	CF <sub>3</sub>	88%
<b>68f</b>	OMe	94%
<b>68g</b>	NO <sub>2</sub>	67%

Tableau 7 Rendements des anions sod\u00e9s

Les anions sod\u00e9s **68** sont directement engag\u00e9s dans une r\u00e9action d'*O*-arylation intramol\u00e9culaire dans l'ac\u00e9tonitrile permettant d'acc\u00e9der aux pyrido-oxazinones correspondantes (Sch\u00e9ma 59). Pour r\u00e9aliser cette r\u00e9action, une irradiation micro-ondes du milieu r\u00e9actionnel est n\u00e9cessaire. Cette \u00e9tape fournit \u00e9galement de bons rendements compris entre 33 et 78% (Tableau 8).



Sch\u00e9ma 59 2<sup>me</sup> \u00e9tape de synth\u00e8se des 1,2,4-triazole-pyridin-2-ones

Composé	R	Rendement
69a	H	65%
69b	F	55%
69c	CN	76%
69d	Cl	61%
69e	CF <sub>3</sub>	78%
69f	OMe	59%
69g	NO <sub>2</sub>	33%

Tableau 8 Rendements des pyrido-oxazinones

Enfin, la formation du noyau 1,2,4-triazole est obtenue par un mécanisme ANRORC (addition nucléophile ring opening ring closure).

Ce mécanisme de substitution nucléophile particulier rencontré en chimie hétérocyclique, a été découvert et mis en évidence par Van der plas et al.<sup>228,229</sup> Pour être considéré comme tel, le composé hétérocyclique doit pouvoir subir une addition nucléophile et l'espèce nucléophile doit contenir le même hétéroatome que l'hétérocyclique.<sup>230</sup> D'un point de vue expérimentale, il semble préférable que l'hétéroatome comporte également un atome d'hydrogène.

Ainsi, l'attaque de l'hydrazine sur la pyrido-oxazinone respecte tout à fait les règles du mécanisme ANRORC. Celle-ci est réalisée sous irradiations micro-ondes à haute température, en présence d'hydrazine et d'acide acétique dans l'éthanol (Schéma 60). Elle permet l'obtention d'une série de 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-ones diversement substituées avec des rendements modérés (Tableau 9).

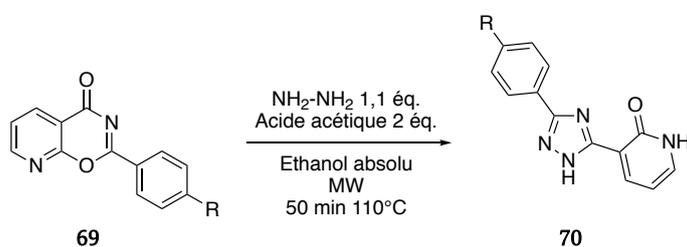


Schéma 60 3ème étape de synthèse des 1,2,4-triazole-pyridin-2-ones

Composé	R	Rendement
70a	H	26%
70b	F	30%
70c	CN	34%
70d	Cl	32%
70e	CF <sub>3</sub>	89%
70f	OMe	61%
70g	NO <sub>2</sub>	7%

Tableau 9 Rendements des 1,2,4-triazoles

Cette synthèse en 3 étapes nous a permis de réaliser un ensemble de 7 composés 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-ones diversement substitués notamment grâce à la contribution de Laura Bertrand dans le cadre d'un stage effectué au laboratoire. Des groupements essentiellement mésomères attracteurs (-M) ont été insérés (R= F, CN, Cl, CF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>). La version phényle, sans substituant, a été obtenue (R= H) permettant la comparaison avec un motif sans effet électro-attracteur. Enfin, un groupement électrodonneur a également été introduit (R= OMe).

Une fois ce travail de synthèse effectué, nous avons voulu insérer les triazoles sur un sucre afin de former un nucléoside.

## II. Stratégies de synthèse de nucléosides 1,2,4-triazoles

### A. Synthèses par *N*-glycosylation

La première stratégie en vue de l'obtention des nucléosides 1,2,4-triazoles a été de réaliser une réaction de *N*-glycosylation afin de lier la partie osidique à la partie hétérocyclique au niveau de l'atome d'azote (Schéma 61).

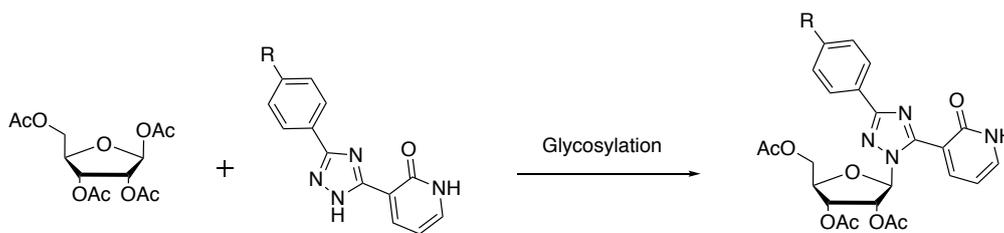


Schéma 61 Stratégie de synthèse des nucléosides 1,2,4-triazoles

La glycosylation est une réaction bien connue en chimie des sucres.<sup>231,232,233,234,235</sup> Elle permet d'introduire différentes structures, glycones ou aglycones, au niveau de la position anomérique et conduit à la formation d'une liaison glycosidique.<sup>236</sup> Cette réaction se réalise via un mécanisme de type  $S_N1$  ou  $S_N2$ , selon le nucléofuge utilisé. Lors d'un mécanisme de type  $S_N1$ , celui-ci peut aboutir à la formation de différents isomères à partir du carbocation intermédiaire. En effet, les glycosides sont caractérisés par la position du substituant sur le carbone anomérique donnant l'anomère  $\alpha$  ou  $\beta$ . Cependant, il existe des groupements dit « participants » qui permettent d'orienter la glycosylation et d'obtenir la formation d'un seul anomère (assistance anchimérique). Ces groupements correspondent à des groupements protecteurs de type ester positionnés en  $C_2$ , et permettent cette fois, la formation d'un intermédiaire acyloxonium stabilisé en bloquant une face. Dans le cas du ribose peracétylé, la participation de l'acétate en position 2 permet l'approche du nucléophile uniquement sur la face supérieure, aboutissant à la formation de l'anomère  $\beta$  (Schéma 62).<sup>237,238,239</sup> D'autres paramètres tels que l'utilisation de certains solvants ou l'encombrement stérique peuvent également influencer la stéréochimie du glycoside formé.<sup>240,241</sup>

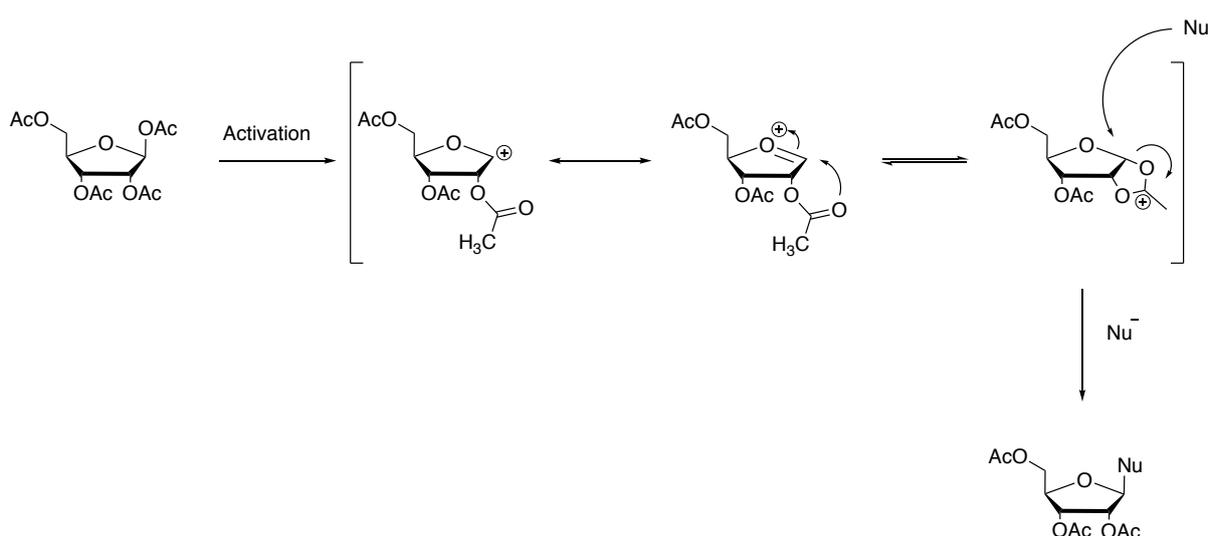


Schéma 62 Mécanisme de glycosylation du ribose peracétylé avec assistance du groupement en C<sub>2</sub>

Nous avons entrepris différents essais de glycosylation entre le ribose tétra-acétylé et les triazoles préalablement synthétisés.

Les premières tentatives ont été réalisées avec des acides de Lewis en tant que catalyseurs de la réaction. Ce catalyseur a pour but de faciliter le départ du groupement acétate en position anomérique, et ainsi augmenter le caractère électrophile de ce carbone.

Pour cela, nous avons entrepris une synthèse avec du chlorure d'indium dans de l'éthanol pendant 45 minutes à 50° C sous irradiation micro-ondes comme l'ont proposé Siddiqui et al sur des systèmes similaires (Schéma 7).<sup>242</sup>

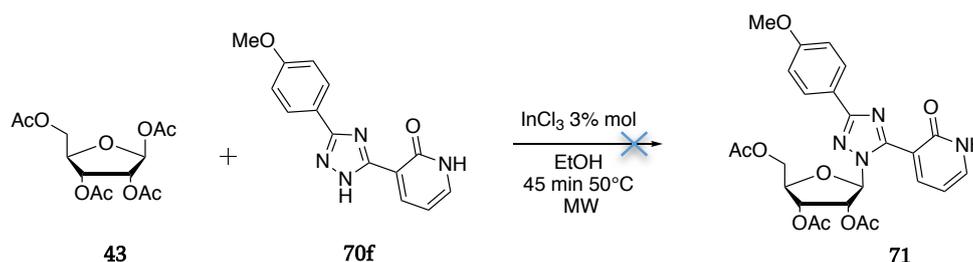


Schéma 63 Essai de glycosylation avec du chlorure d'indium

Ces premières conditions réactionnelles n'ont pas permis d'obtenir le nucléoside souhaité. Après analyse RMN, nous visualisons les deux entités de départ avec une proportion de l'espèce osidique supérieur à celle du triazole (70/30).

Inspirés par les travaux de Todoulou et al<sup>243</sup>, nous avons alors tenté une glycosylation en présence d'une quantité catalytique d'APTS à chaud, sans solvant et sous vide. Dans ces conditions, nous n'avons pas observé la fusion de notre composé triazolique inhibant alors la réactivité. Nous avons eu recours à l'utilisation d'acétonitrile pour pouvoir réaliser la réaction mais nous avons dû diminuer la température de réaction (Schéma 64).

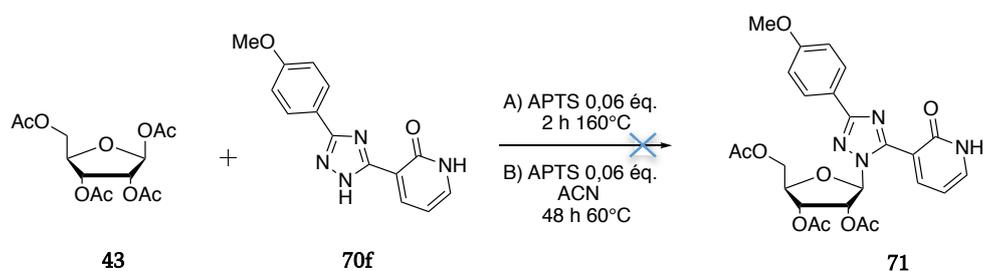


Schéma 64 Essai de glycosylation avec de l'APTS

Dans ces conditions, aucune réaction n'est observée. En fin de réaction, nous constatons une quantité bien supérieure de sucre représentant 90% de notre brut réactionnel. Il est possible que nous perdions une partie du triazole lors des traitements puisque sa solubilité dans les solvants organiques est faible.

Suite à ces premières tentatives peu concluantes, nous nous sommes tournés vers le triflate de triméthylsilyle (TMSOTf) comme activateur.

Nous avons ainsi réalisé une réaction test entre le ribose tétra-acétylé et le 1,2,4-triazole en présence de TMSOTf dans de l'acétonitrile pendant 5 heures afin d'évaluer la faisabilité de cette méthode (Schéma 65).

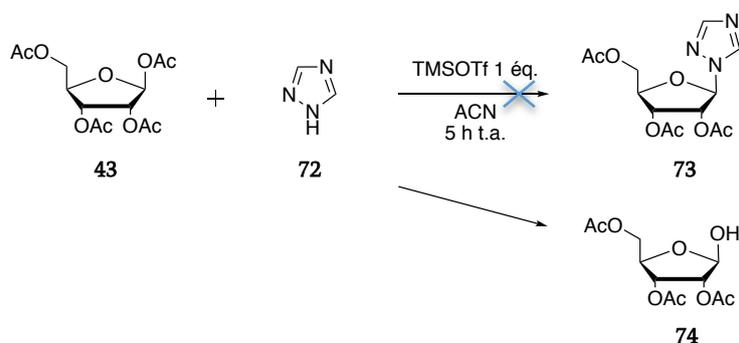


Schéma 65 Essai de glycosylation catalysée par du TMSOTf

A l'issue de la réaction, un nouveau produit est formé. Après analyse, nous constatons qu'il s'agit du produit d'hydrolyse de la position anomérique.

Enfin, nous avons pu remarquer en consultant la littérature que certains auteurs conseillent l'utilisation de bis(*p*-nitrophenyl)phosphate (BNPP) qui serait un bien meilleur catalyseur.<sup>244,245,246</sup> Nous avons alors réalisé un essai de glycosylation entre le ribose et le 1,2,4-triazole avec 3% molaire de BNPP. Les composés ont été préalablement dilués dans de l'éthanol puis évaporé afin d'obtenir une huile. Le milieu réactionnel a ensuite été chauffé à 150° C pendant 20 heures (Schéma 66).

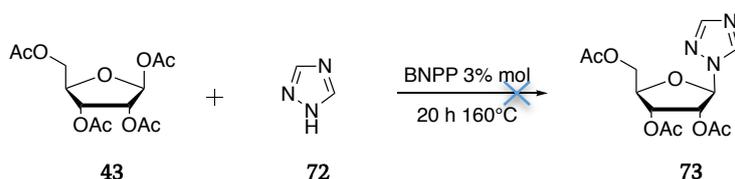


Schéma 66 Essai de glycosylation à l'aide du BNPP

Une fois encore le résultat de cette réaction n'est pas satisfaisant, les composés de départ sont retrouvés en fin de réaction.

A l'issue des différentes glycosylations entreprises, nous remarquons que dans les conditions acides utilisées, aucune réactivité de notre motif 1,2,4-triazole-pyridin-2-one n'est observée. En effet, le noyau triazolique semble faiblement réactif, dans ces conditions, pour mener à bien ce type de réaction. Nous avons alors exploré d'autres voies de synthèse.

## B. Synthèse par substitution nucléophile S<sub>N</sub>2

Nous nous sommes alors tournés vers l'utilisation de réactions de substitutions nucléophiles afin de lier la partie glycone et aglycone. Dans le but de réaliser ces essais nous avons utilisé un partenaire osidique adapté, le sucre de Hoffer. Il s'agit d'un désoxyribose comportant un atome de chlore en position anomérique et dont les positions 3 et 5 sont protégés par des groupements toluoyles (Figure 91). L'atome de chlore est en position alpha, ce qui nous permettra d'obtenir l'anomère bêta en fin de réaction.

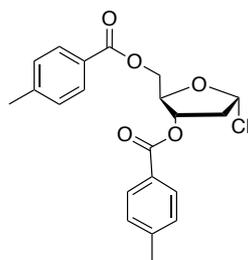


Figure 91 Structure du sucre de Hoffer

Nous avons réalisé un premier essai de substitution nucléophile entre le sucre de Hoffer et le 1,2,4-triazole-pyridin-2-one en utilisant du carbonate de potassium dans de l'acétonitrile à température ambiante pendant 24 heures (Schéma 67). Malheureusement aucune conversion n'est observée dans ces conditions. Les deux réactifs sont retrouvés en fin de réaction. Nous avons également eu recours au chauffage (80° C) mais cela ne nous a pas permis d'obtenir le composé désiré, une dégradation du milieu est observée.

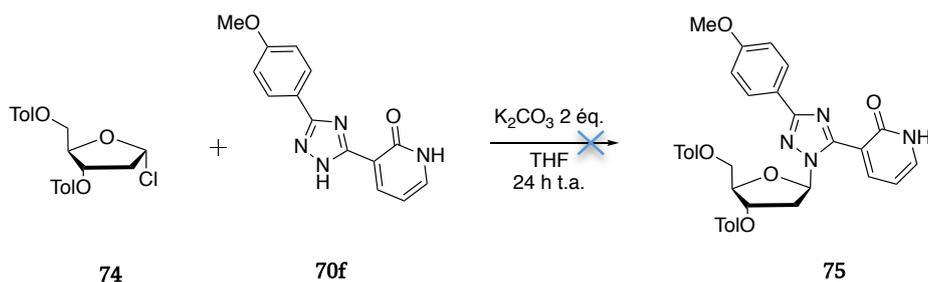


Schéma 67 Essai de formation du nucléoside triazole par substitution nucléophile avec du  $K_2CO_3$

Ces essais n'étant pas concluants, nous avons utilisé une base forte (NaH) afin d'augmenter la nucléophilie du motif triazole. Après avoir entrepris des essais en chauffant le milieu réactionnel, c'est finalement à température ambiante que nous avons commencé à observer la formation du produit désiré. En effet, une certaine proportion de l'espèce triazolique de départ est toujours visible en fin de réaction (13%) (Schéma 68).

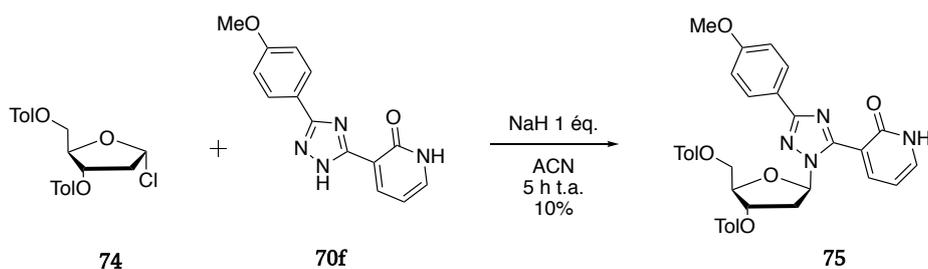


Schéma 68 Synthèse du nucléoside triazole par substitution nucléophile avec du NaH

Suite à ce premier résultat nous avons tenté d'optimiser la réaction notamment en procédant à un ajout du sucre à froid ou encore en prolongeant le temps de réaction. Seulement, même après 48 heures de réaction, le produit désiré n'est pas obtenu avec un rendement acceptable.

Après une analyse des résultats par RMN du proton et LC-MS, nous supposons qu'une compétition entre l'atome d'azote du noyau triazole et l'atome d'azote de la pyridone est possible lors de la réaction de substitution. En effet, le spectre LC-MS nous indique la présence de deux espèces différentes ayant la même masse molaire. Pour vérifier notre hypothèse, nous avons alors utilisé 2 équivalents de NaH. De cette façon, le produit disubstitué devrait être obtenu. A l'issue de la réaction, nous observons bien le produit de disubstitution, ce qui confirme la double réactivité de notre motif 1,2,4-triazole-pyridin-2-one vis-à-vis du sucre, ce qui constitue un problème pour la suite de notre synthèse (Schéma 69).

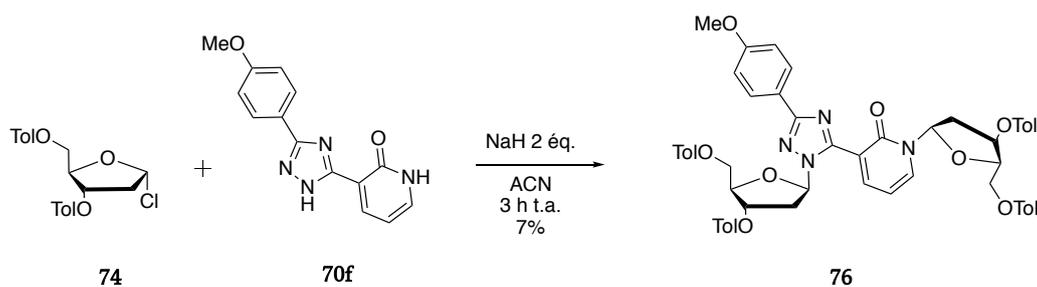


Schéma 69 Essai de disubstitution sur le motif 1,2,4-triazole-pyridin-2-one

Cette deuxième stratégie qui consiste à réaliser les nucléosides triazoles par le biais d'une substitution nucléophile ne s'avère pas suffisamment efficace et génère trop de sous-produits difficilement séparables par chromatographie.

Face à ces difficultés, nous nous sommes alors tournés vers une tout autre approche.

## C. Synthèse via un mécanisme ANRORC

Cette nouvelle stratégie a été imaginée à partir de la synthèse originale des triazoles. En effet, nous avons vu précédemment que les 1,2,4-triazole-pyridin-2-ones sont obtenues par l'utilisation d'hydrazine sur les dérivés pyrido-oxazinones selon un processus séquentiel de type addition nucléophile, ouverture de cycle, fermeture de cycle (ANRORC).

Schmidt et al ont d'ailleurs utilisé cette stratégie pour la réalisation de nucléosides pyrazoles substitués à partir d'un ribose hydrazine et de dérivés éthoxy-méthylène-acrylamides.<sup>247</sup>

D'après leurs travaux, cette réaction est spécifique et permet d'obtenir exclusivement l'anomère  $\beta$  dépendamment des groupements protecteurs utilisés.<sup>248</sup>

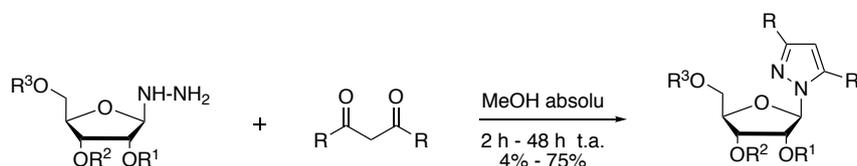


Schéma 70 Synthèse générale de l'obtention des nucléosides pyrazoles de Schmidt et al

L'objectif est alors d'utiliser ces mêmes conditions à partir des dérivés pyrido-oxazinones et de l'hydrazine 2,3-*O*-isopropylidène-D-ribose (Schéma 71).

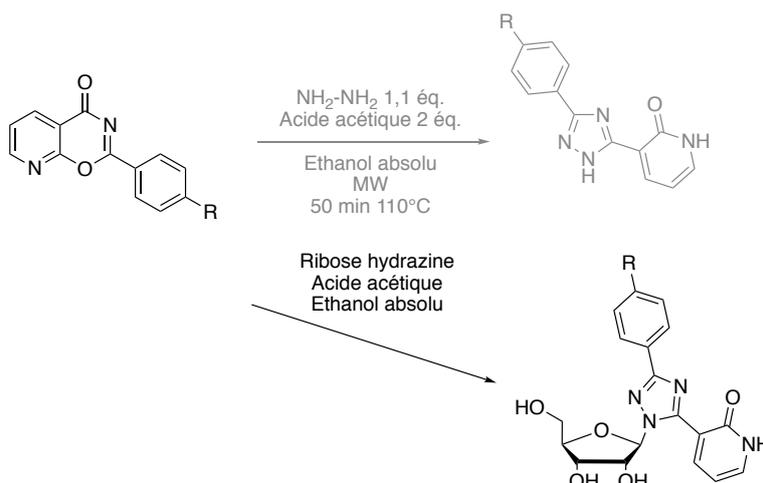


Schéma 71 Stratégie de formation des nucléosides triazoles via l'utilisation d'un sucre hydrazine

Afin de parvenir à cette réalisation, le ribose hydrazine a tout d'abord été synthétisé, les motifs pyrido-oxazinones sont, quant à eux, obtenu conformément à la stratégie présentée précédemment.

## 1. Synthèse du ribose hydrazine

La synthèse du ribose hydrazine protégé par un groupement isopropylidène en position 2, 3 est réalisé en 2 étapes selon la procédure décrite par Schmidt et al.<sup>247</sup> Tout d'abord, les groupements hydroxyles en position 2 et 3 du ribose sont protégées par un groupement isopropylidène dans l'acétone avec une quantité catalytique d'acide sulfurique pendant 20 heures (Schéma 72).

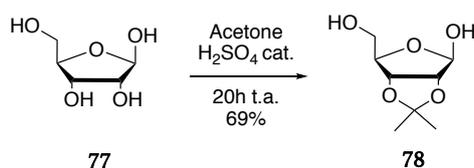


Schéma 72 Protection des positions 2 et 3 du ribose sous forme isopropylidène

Le composé **78** est ensuite mis en réaction avec un excès d'hydrazine dans du méthanol absolu. Après concentration du milieu réactionnel le produit désiré est obtenu avec un rendement de 90% (Schéma 73). Il est à noter que ce composé ribose hydrazine est relativement instable et doit être utilisé dans les 48 heures suivant sa synthèse.

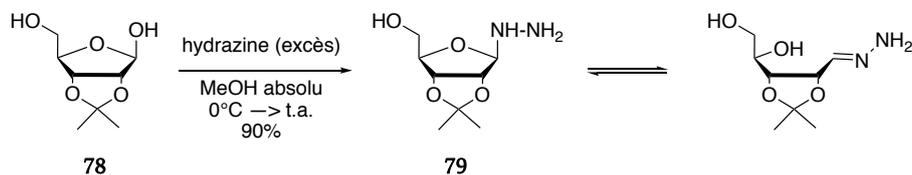


Schéma 73 Formation du ribose hydrazine à partir du ribose protégé

## 2. Synthèse du nucléoside (3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one via un processus ANRORC

Pour obtenir le composé nucléoside triazole, le ribose hydrazine est mis en présence de la pyrido-oxazinone correspondante, la 2-phenyl-4*H*-pyrido[3,2-*e*][1,3]oxazin-4-one, dont la synthèse a déjà été vue précédemment. L'addition des deux composés s'effectue dans l'éthanol absolu à froid. Puis, la réaction est laissée sous agitation à température ambiante (Schéma 74).

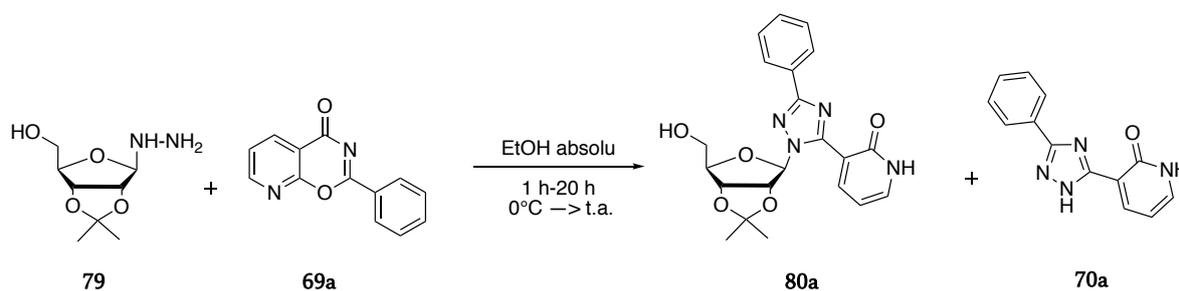


Schéma 74 Formation du cycle 1,2,4-triazole

Après plusieurs heures de réaction, nous observons la présence du nucléoside triazole attendu et de la 1,2,4-triazole-pyridin-2-one sans la partie osidique en proportion 1 : 1, deux produits difficilement séparables par chromatographie sur gel de silice. Pour permettre une séparation plus aisée de ces deux composés, le mélange est engagé tel quel dans la suite de la synthèse dans l'optique de les séparer plus tard à l'issue de l'étape de déprotection des fonctions hydroxyles.

Cette étape de déprotection est réalisée en présence d'une résine Amberlite IR 120 dans un mélange acétone/eau et permet d'obtenir le premier nucléoside 1,2,4-triazoles pyridin-2-one avec un rendement modeste sur deux étapes de 14% à optimiser (Schéma 75).

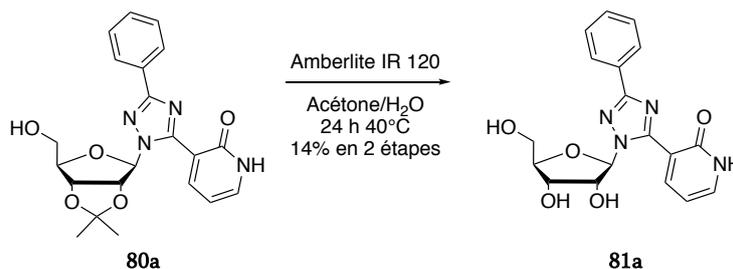


Schéma 75 Synthèse du motif nucléosidique 1,2,4-triazole après déprotection

Suite à ce résultat encourageant, nous avons repris cette séquence réactionnelle à partir des pyrido-oxazinones **69b** et **69f** substituées respectivement par un substituant R= F et R= OMe en position para du groupement phényle afin d'obtenir les nucléosides correspondants. (Schéma 76).

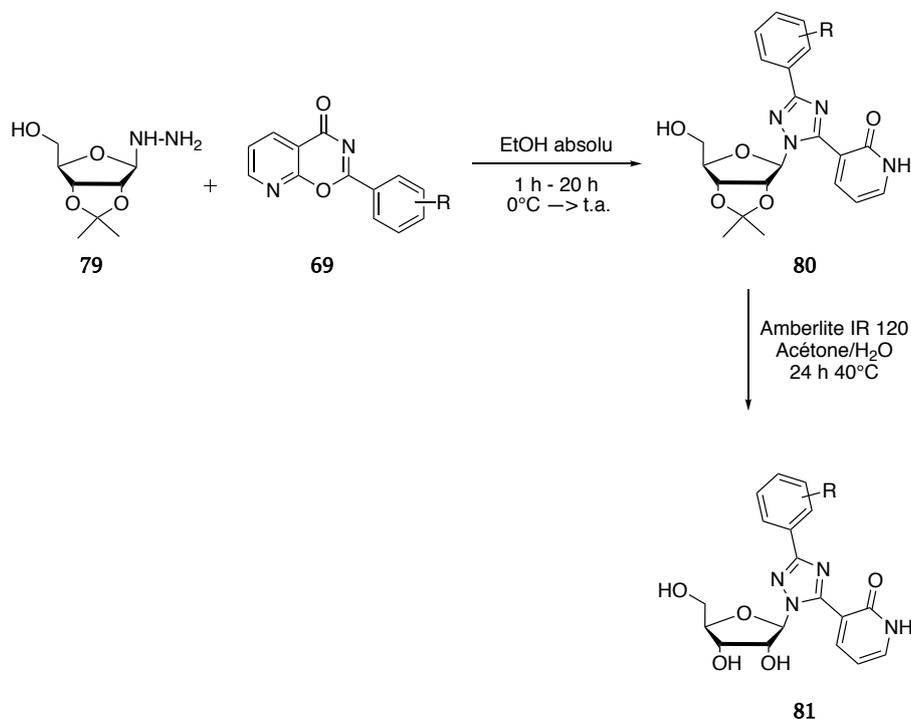


Schéma 76 Synthèse générale des nucléosides 1,2,4-triazole-pyridin-2-ones

Composé	R	Rendement
<b>81a</b>	<i>p</i> -H	14%
<b>81b</b>	<i>p</i> -F	26%
<b>81c</b>	<i>p</i> -OMe	/
<b>81d</b>	<i>m</i> -OMe	10%

Tableau 10 Rendements des dérivés **81a-d** en 2 étapes

En suivant le même procédé, nous avons pu obtenir un deuxième nucléoside 1,2,4-triazole-pyridin-2-one comportant un substituant fluor en position *para* du groupement phényle avec une rendement globale de 26%.

En revanche, en présence du substituant méthoxy sur la position *para* de la pyridoxazinone, nous ne parvenons pas à déprotéger le composé **80c** pour aboutir au nucléoside final.

En parallèle de ces substitutions en *para*, des substitutions sur les autres positions ont été entreprises. Nous pouvons actuellement reporter l'obtention du composé substitué en *méta* par un groupement méthoxy, en suivant la même stratégie de synthèse que vue précédemment.

### III. Propriétés photophysiques des 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-ones et de leur forme nucléoside

Nous avons par la suite analysé les propriétés spectroscopiques des composés 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-ones ainsi que leur forme nucléoside (Figure 92).

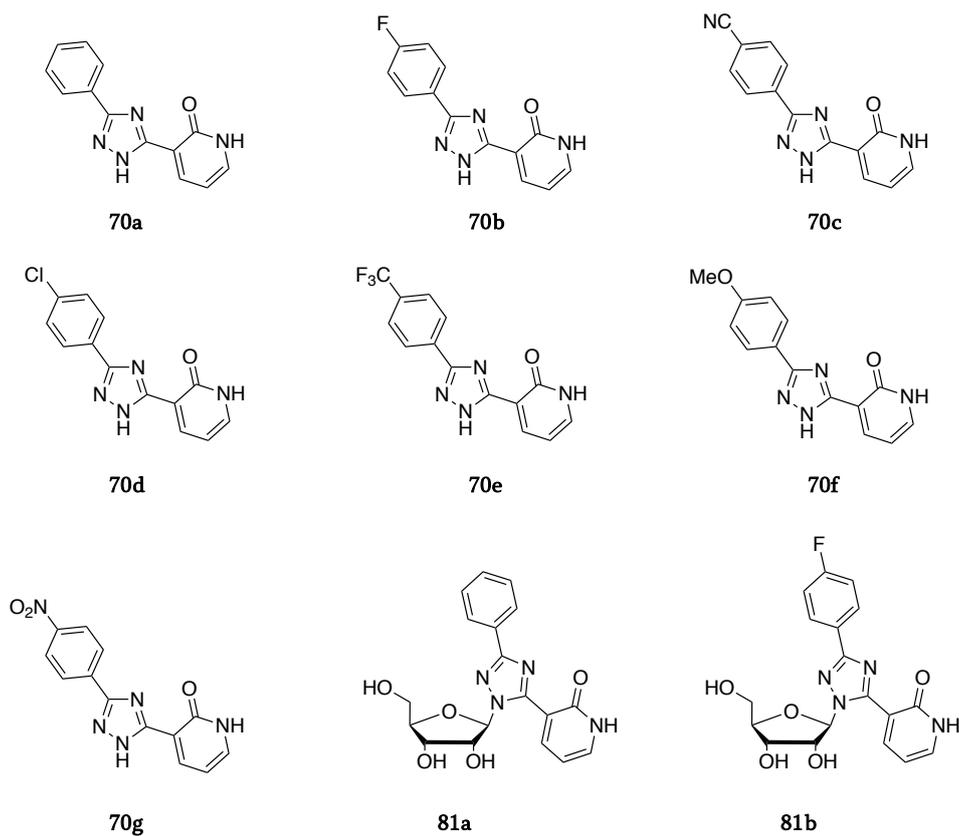


Figure 92 Ensemble des structures dont les propriétés spectrales ont été étudiées

Nous avons tout d'abord enregistré les spectres d'absorption et de fluorescence des différents triazoles synthétisés puis des motifs nucléosidiques correspondants. Nous avons par la suite comparé les résultats obtenus.

### A. Absorbance et fluorescence des 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-ones

L'ensemble des composés a été pré-dilué dans du DMSO afin de faciliter la solubilisation des molécules dans l'eau, puis des échantillons à une concentration de  $1.10^{-5}$  M ont été préparés pour l'enregistrement des spectres d'absorption et de fluorescence.

## 1. L'absorbance

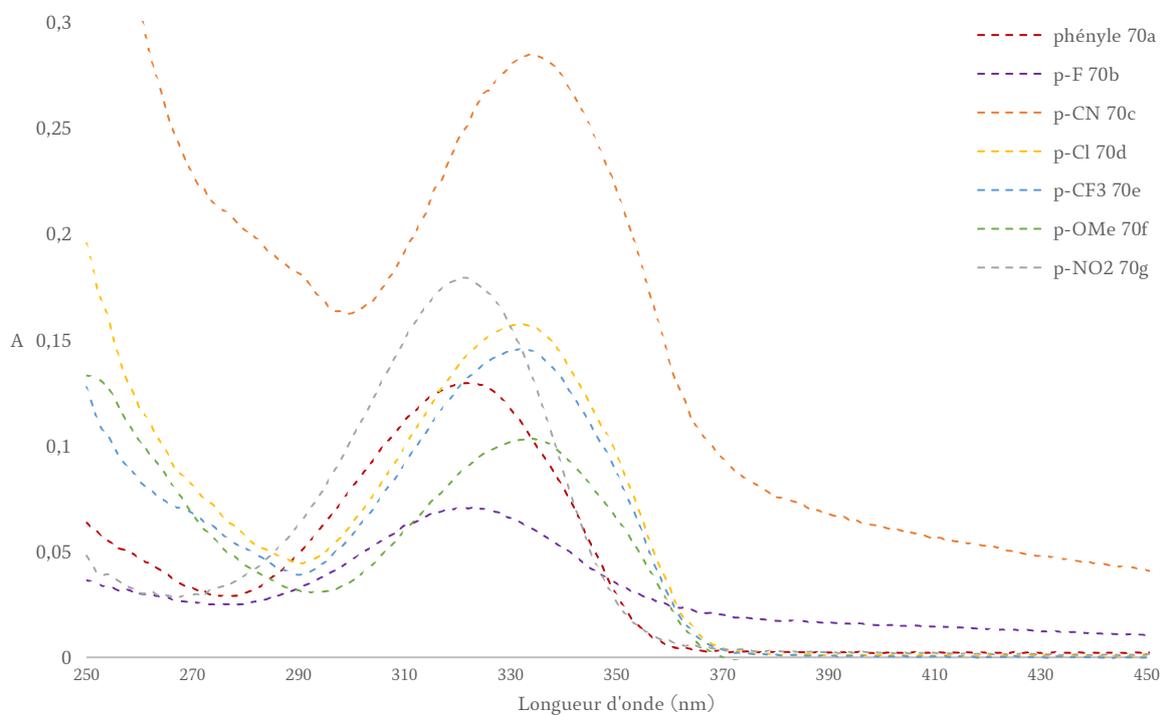


Figure 93 Spectres d'absorption des dérivés 1,2,4-triazoles à une concentration de  $10^{-5}$  M dans l'eau

L'ensemble des spectres enregistrés nous montre deux longueurs d'onde maximum dans l'ultra-violet à 334 nm pour les composés substitués par un groupement *p*-CN, *p*-Cl, *p*-CF<sub>3</sub>, *p*-OMe et à 320 nm pour les composés *p*-NO<sub>2</sub>, *p*-F et phényle. Leur absorbance est comprise entre 0,07 et 0,28 donnant des coefficients d'extinction molaire ( $\epsilon$ ) compris entre 7080 et 28480 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> (Tableau 11).

## 2. La fluorescence

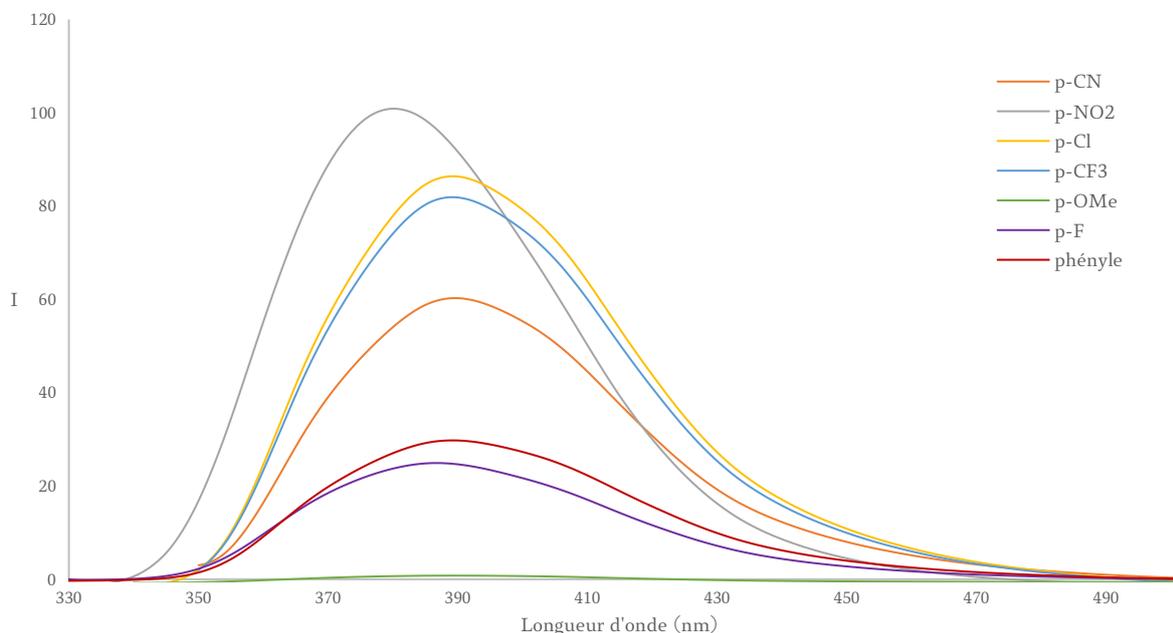


Figure 94 Spectres de fluorescence des triazoles substitués en *para* du phényle à une concentration de  $10^{-5}$  M dans l'eau

Sur l'ensemble des composés substitués en position *para* du groupement phényle, nous observons une longueur d'onde d'émission de fluorescence maximum autour de 390 nm à l'exception du *p*-NO<sub>2</sub> pour lequel le maximum d'émission  $\lambda_{em}$  se situe à 380 nm. Nous pouvons également constater que l'intensité de fluorescence varie en fonction du substituant. En effet, les composés substitués par un groupement électro-attracteur révèlent une intensité de fluorescence plus importante que le motif phényle non substitué. *A contrario*, le substrat *p*-OMe, substituant mésomère donneur +M, s'avère peu émissif. Nous remarquons ainsi que nos composés suivent globalement la constante de Hammett qui indique l'effet des substituants en *para* d'un phényle sur la répartition électronique du système.

L'ensemble des mesures spectroscopiques des molécules étudiées est rassemblé dans le tableau ci-dessous (Tableau 11).

Composé	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)	Déplacement de Stoke (nm)	$\epsilon$ (L.mol <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> )
Ph	323	389	66	12820
<i>p</i> -F	323	387	64	7080
<i>p</i> -CN	334	390	56	28480
<i>p</i> -Cl	332	389	57	15739
<i>p</i> -CF <sub>3</sub>	332	389	57	14549
<i>p</i> -OMe	334	389	55	10332
<i>p</i> -NO <sub>2</sub>	321	300	59	17925

Tableau 11 Récapitulatif des valeurs spectrales des 1,2,4-triazole-pyridin-2-ones

Malgré les différentes substitutions, la longueur d'onde d'émission de fluorescence de ces composés n'a pas pu être décalée vers les longueurs d'onde du visible. Seule l'intensité de fluorescence a été impactée par ces changements.

Pour rappel, une émission de fluorescence dans longueur d'onde appartenant au spectre du visible et émettant au-delà du bleu est très appréciée pour utilisation en tant qu'outils moléculaire fluorescent.

## B. Absorbance et fluorescence des nucléosides 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-ones

De la même façon que précédemment, l'ensemble des composés a été pré-dilué dans du DMSO afin de les solubiliser, puis les échantillons ont été préparés avec une concentration de  $1.10^{-5}$  pour enregistrer les spectres d'absorption et de fluorescence.

Pour cette analyse, nous comparons directement les motifs triazoles substitués par un groupement phényle et un groupement *p*-fluorophényle avec leur nucléoside correspondant.

## 1. L'absorbance

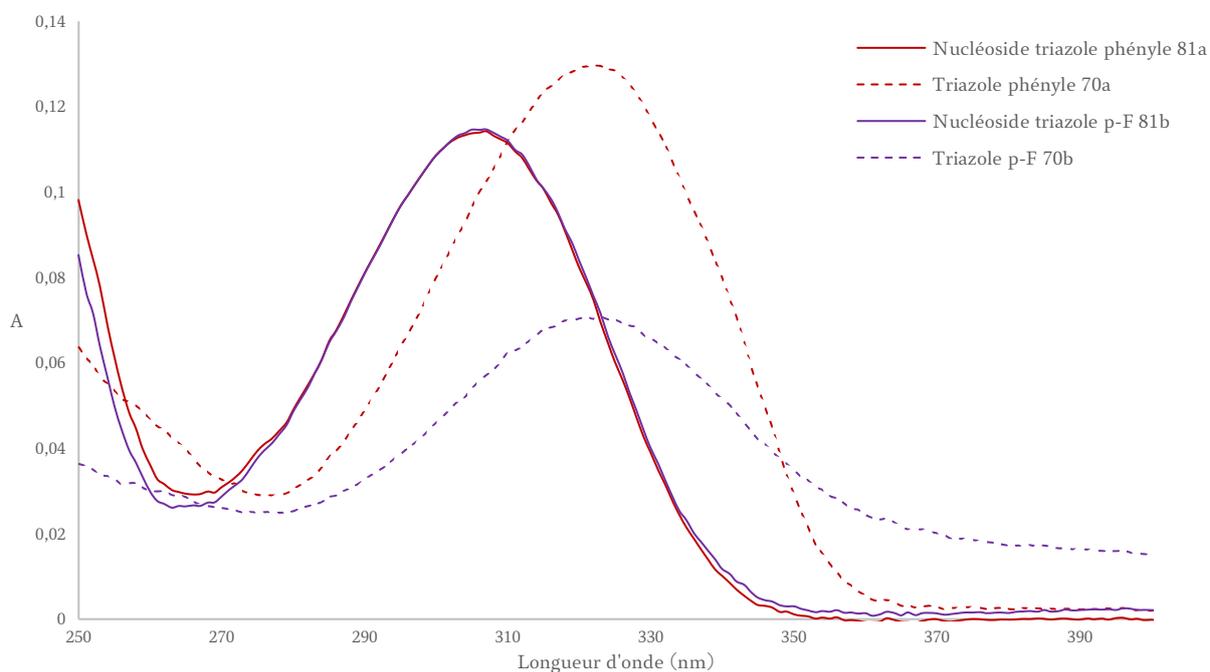


Figure 95 Comparaison des spectres d'absorption des composés triazoles **70a** **70b** et des nucléosides triazoles **81a** **81b**

En ce qui concerne les nucléosides, nous observons un décalage vers le bleu des maxima des longueurs d'onde d'absorption de 322 nm à 308 nm. Malgré ce déplacement vers des longueurs d'onde de plus haute énergie, nous constatons que l'absorbance est conservée voir même augmentée dans le cas du motif *para*-fluoro **81b**.

## 2. La fluorescence

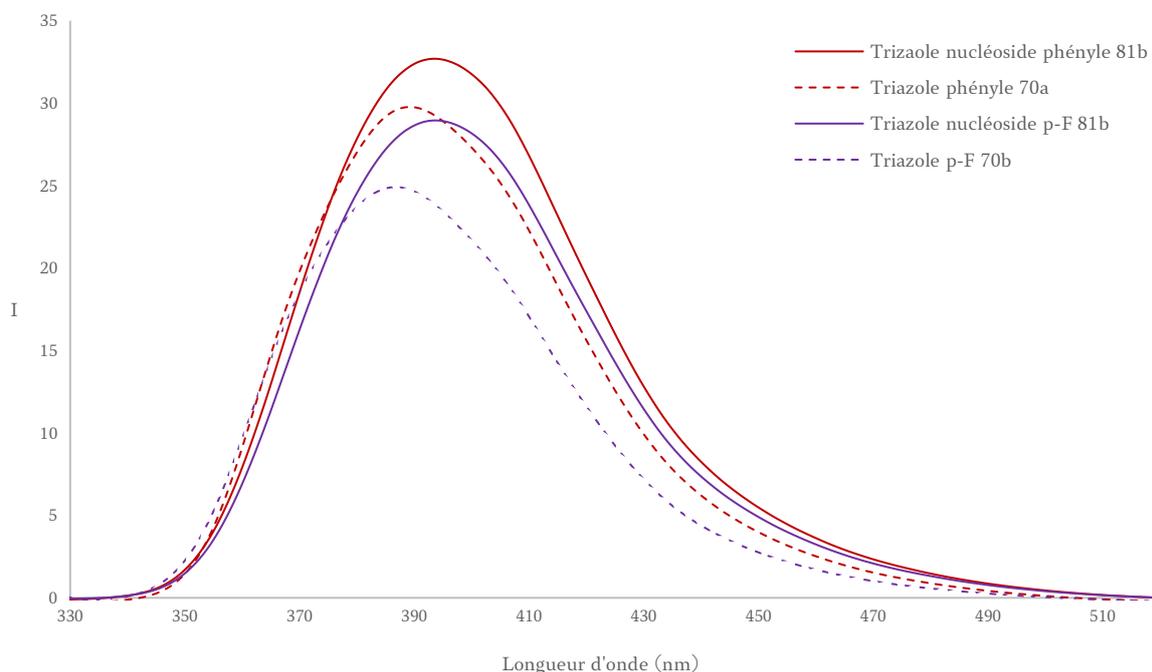


Figure 96 Comparaison des spectres de fluorescence des triazoles **70a 70b** et des nucléosides triazoles **81a 81b**

Concernant la fluorescence, nous observons un léger effet bathochrome pour l'émission des nucléosides avec un maximum d'émission à  $\lambda_{em} = 395$  nm. Malheureusement, cette transformation de structure de nos triazoles en nucléosides ne nous permet pas de décaler suffisamment les longueurs d'onde maximales d'émission afin d'atteindre le domaine du visible. Cependant, nous remarquons que l'intensité de fluorescence de nos composés sous forme nucléoside est conservée et est même légèrement supérieure à celle obtenue avec les composés triazole. C'est une caractéristique très importante puisqu'avec les motifs naphthyridinones, nous avons constaté une diminution drastique de l'intensité de fluorescence de nos composés sous forme de nucléoside.

Enfin, l'effet hypsochrome de l'absorption cumulé à un effet bathochrome de la fluorescence induit des déplacements de Stokes plus importants des composés pouvant atteindre un  $\Delta = 87$  nm.

Après ces premières analyses concernant l'absorbance et la fluorescence de ces nouvelles structures nucléosides 3-(3-phényl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-ones, nous pouvons conclure qu'une certaine modulation de ces structures serait nécessaire afin de

pouvoir déplacer les longueurs d'émission vers des longueurs d'onde de plus basse énergie. Toutefois, ces structures restent très intéressantes de par leur bonne intensité de fluorescence dans l'eau.

## Conclusion

Au cours de ce chapitre nous avons pu voir la synthèse de différents composés de type 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-ones substitués par des groupements électro-attracteurs et un groupement électro-donneur (Figure 97).

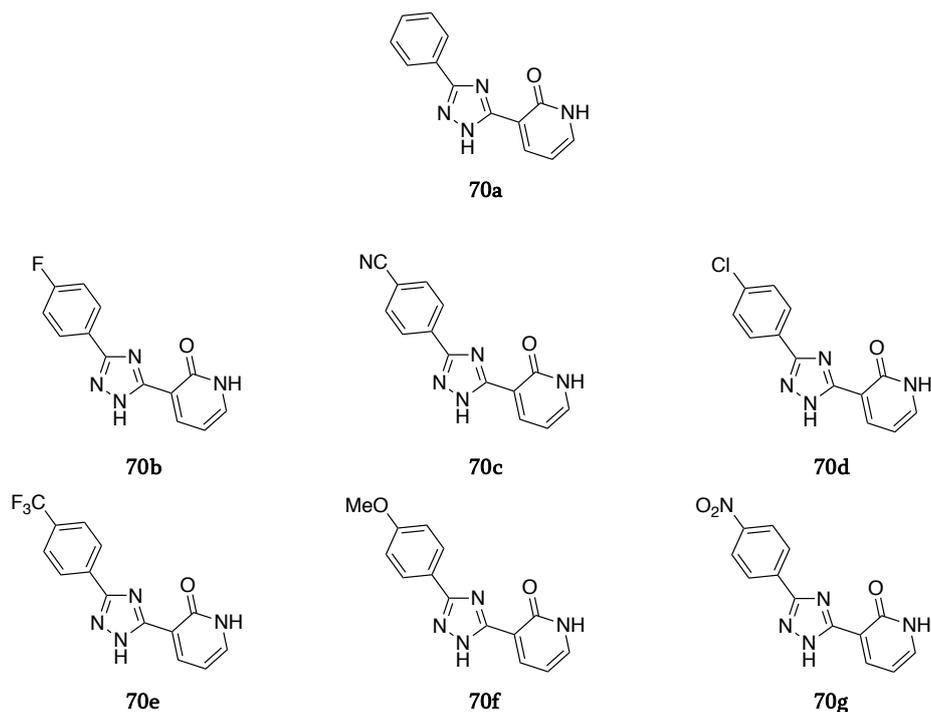


Figure 97 Ensemble des triazoles obtenus

Nous avons ensuite décrit les différentes stratégies que nous avons employé afin de transformer ces dérivés en nucléosides triazoles. Ce développement synthétique a finalement été réussi par une réaction entre les motifs pyrido-oxazinones et le ribose hydrazine *via* un mécanisme nommé ANRORC.

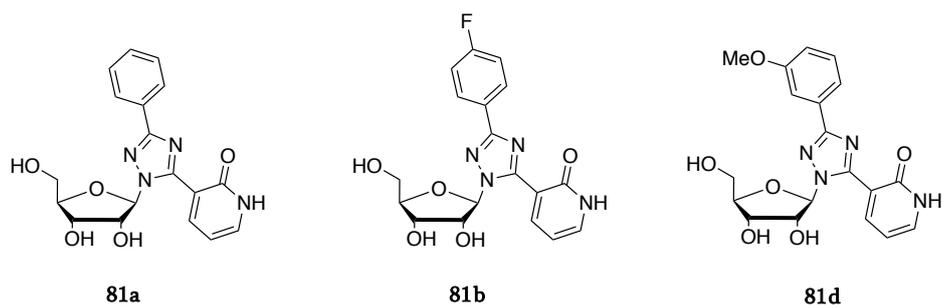


Figure 98 Nucléosides triazoles obtenus

Enfin, les propriétés spectroscopiques de ces composés ont ensuite été évalués.

Nos premiers résultats sont encourageants et une optimisation plus fine nous permettra moduler les structures nucléosides triazoles étudiées pour en faire de bons candidats en tant que nucléosides fluorescents.



## Chapitre 6 : Synthèse d'hétérocycles azotés originaux



# Chapitre 6 – Synthèse d'hétérocycles azotés originaux

## Introduction

Les hétérocycles sont une famille de molécules très largement décrite et reconnue en chimie médicinale.<sup>249,250</sup>

Au vu de la diminution de nouveaux composés mis sur le marché des médicaments par les industries pharmaceutiques, l'identification de nouvelles séries chimiques originales et efficaces sur les cibles thérapeutiques est un des défis majeurs auxquels l'industrie pharmaceutique est confrontée. En effet, la recherche de nouvelles structures hétérocycliques est nécessaire dans le but de développer de nouveaux médicaments ainsi que d'optimiser leur efficacité.

Les combinaisons pour l'élaboration de nouveaux cycles sont quasi infinies. Dans l'optique d'étendre la diversité chimique et d'explorer de nouveaux territoires synthétiques, les chimistes organiciens ont envisagé plusieurs approches et notamment le design de squelettes originaux *in silico* à partir de méthodes computationnelles.

Comme nous l'avons déjà abordé brièvement dans le chapitre 2, le chimiste théoricien Williams Pitt d'UCB Celltech a élaboré une librairie, nommée VEHICLE, de plusieurs milliers d'hétérocycles originaux, théoriquement réalisables. Puis, en appliquant un critère de faisabilité, 22 hétérocycles originaux nommés « rings of the future » ont ainsi été publiés et montrés à la communauté de chimistes organiciens comme étant une source d'inspiration afin de créer et synthétiser une nouvelle génération d'hétérocycles aux propriétés biologiques potentielles (Figure 99).<sup>133</sup>

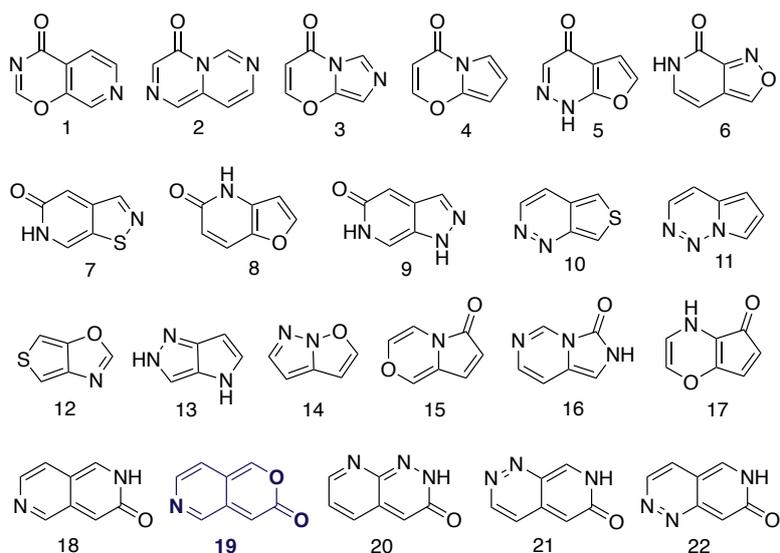


Figure 99 Liste des 22 molécules correspondant aux "rings of the future"

Pour cela, son équipe a mené une étude *in-silico* en appliquant plusieurs critères de sélection permettant d'obtenir cette liste restreinte de molécules réalisables :

- Uniquement des composés mono ou bicycliques
- Des cycles à 5 ou 6 atomes
- Les atomes autorisés sont : C, H, N, O, S
- Molécules neutres
- Molécules aromatiques
- Seuls les fonctions carbonyles exocycliques sont autorisés

Suite à la parution de la publication de Pitt, un certain nombre de ces structures ont été réalisés par plusieurs équipes de chimistes. L'équipe Chembio s'est penchée sur différents hétérocycles de cette liste et a notamment synthétisé l'un d'entre eux : la pyrido-oxazinone P1 et a écrit une revue sur l'ensemble des hétérocycles qui ont également été synthétisés.<sup>132,226</sup>

Puis, l'équipe Chembio s'est tournée vers la réalisation d'autres « ring of the future » avec l'objectif de synthétiser la molécule P19, la 3H-pyrano[4,3-c]pyridin-3-one et son isomère 7H-pyrano[4,3-b]pyridin-7-one (Figure 99).

Afin de développer sa synthèse, il a d'abord été envisagé de réaliser la version non aromatique de la molécule, la 5,8-dihydro-7H-pyrano[4,3-b]pyridin-7-one, puis dans un

second temps, d'obtenir le bicyclic aromatique par une dernière étape de déshydrogénation (Schéma 77).

Afin de faciliter la lecture de ce chapitre, nous nommerons la 5,8-dihydro-7H-pyrano[4,3-*b*]pyridin-7-one : pyridolactone et la 7H-pyrano[4,3-*b*]pyridin-7-one : pyranopyridinone.

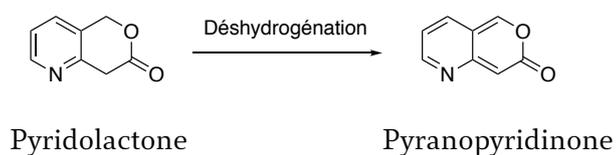


Schéma 77 Stratégie d'obtention de la pyranopyridinone

Le bicyclic pyridolactone s'apparente aux bicyclics de type isochromanones, il s'agit en réalité de la version azotée de la 3-isochromanone (Figure 100).



Figure 100 Structure du bicyclic isochromanone (gauche) et de la pyridolactone (droite)

Ces hétérocycles sont retrouvés dans de nombreux produits naturels mais également en tant que plateforme synthétique permettant d'accéder à des composés biologiquement actifs.<sup>251</sup>

De nombreuses synthèses ont été développées concernant la formation des 3-isochromanones.<sup>252,253,254,255,256,257,258,259</sup>

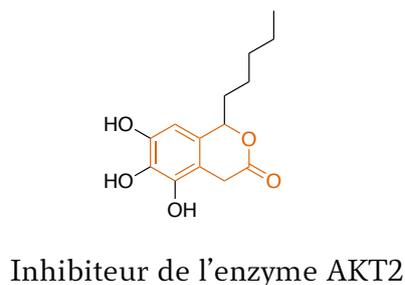
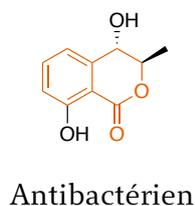


Figure 101 Exemples de molécules contenant des isochromanones

Li et al. ont notamment développé l'accès à des 3-isochromanones substituées en position 4 grâce à une méthode de synthèse permettant l'incorporation énantiosélective de différents groupements aryles sur un dérivé cétoester benzylique. Le bicyclic isochromanone a ensuite été obtenu par une cyclisation en milieu acide (Schéma 78).<sup>260</sup>

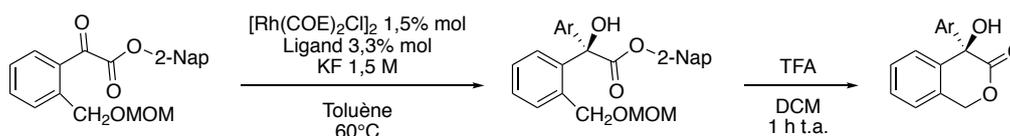


Schéma 78 Développement de synthèse de motifs 3-isochromanones par Li et al.

Chang et al ont récemment proposé une stratégie efficace pour l'obtention de plusieurs dérivés isochromanones substitués en position 4 via une réaction de carboxy-Pictet-Spengler. Les auteurs ont mis au point une synthèse d'annélation [4+2] intramoléculaire grâce à l'utilisation d'anhydride trifluoroacétique (Schéma 79).<sup>261</sup>

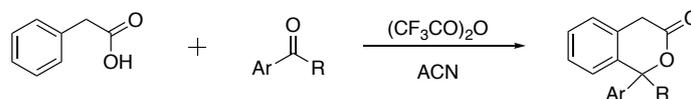


Schéma 79 Développement de synthèse de motifs 3-isochromanones par Chang et al

En revanche, peu de stratégies de synthèse ont été développées pour accéder à la version azotée des bicycles isochromanones, c'est-à-dire les pyridolactones.<sup>262,263,264,265</sup>

L'ajout d'un atome d'azote sur le cycle aromatique offre la possibilité d'obtenir 4 isomères différents. Seules les synthèses des isomères de position de l'atome d'azote en 1, 3 et 4 du cycle aromatique sont déjà décrits dans la littérature.

Nous pouvons notamment citer le travail de Yabu et al. comme exemple de synthèse concernant la version azotée des isochromanones.<sup>266</sup> Ils proposent une synthèse de la camptothécine, un alcaloïde naturel connu, comportant un bicyclic pyridolactone. Leur synthèse comprend une étape de cyanosilylation énantiosélective d'une cétone catalysée par un complexe de samarium chiral ce qui leur permet d'obtenir la cyanhydrine correspondante. Celle-ci fournit le cycle lactone du bicyclic après une étape d'hydrolyse et de cyclisation en conditions acides (Schéma 80).

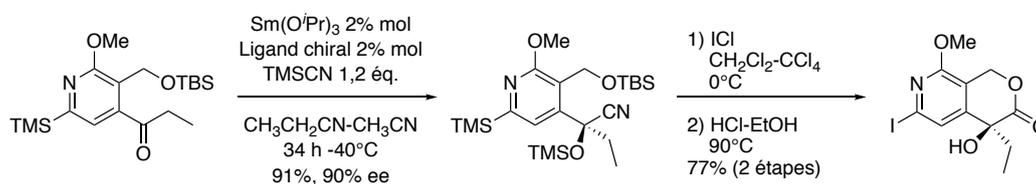


Schéma 80 Développement de synthèse d'un bicyclic pyridolactone par Yabu et al.

Le motif pyridolactone apparaît également dans la synthèse totale de la jasminine proposé par Bannasar et al.<sup>267</sup> Ils parviennent à réaliser la construction du motif bicyclic après une fonctionnalisation de la 3-acétylpyridine en 6 étapes. Cette stratégie leur permet de réaliser l'insertion sélective d'un groupement propanoate de méthyle en position 4 du noyau pyridine pour ensuite cycliser en milieu réducteur et obtenir la pyridolactone (Schéma 81).

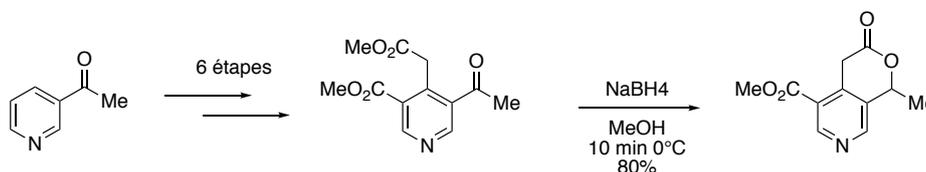


Schéma 81 Synthèse d'un motif pyridolactone par Bannasar et al

L'équipe Chembio s'est également intéressée à la synthèse de ces structures pyridolactones et à la manière d'obtenir la pyranopyridinone publiée par Pitt mais aussi d'étudier sa fonctionnalisation afin d'évaluer son potentiel en tant que structure biologiquement active.

Ce projet a débuté lors de la thèse de Kevin Passador (2015 à 2018) et a été poursuivi par la suite en ce début de thèse.

## I. Synthèse et mise au point des structures 5,8-dihydro-7H-pyrano[4,3-b]pyridin-7-ones

Entre 2015 et 2018, l'équipe Chembio a mis au point 3 voies synthétiques permettant d'aboutir au bicyclic pyridolactone diversément substitué. Chacune des voies entreprises permettent d'introduire une substitution différente sur le cycle lactone. (Figure 102).

La première méthode nommée A, permet l'insertion de groupements alkyles au niveau de R<sup>1</sup> en position 8 du bicyclic. Cette stratégie utilise un couplage palladié de Buchwald entre le (2-chloropyridin-3-yl)méthanol protégé par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyle (TBS) et un acétate de *tert*-butyle comme étape clé.

La deuxième méthode nommée B, permet quant à elle l'insertion de groupements aryles au niveau de R<sup>1</sup> grâce à l'utilisation d'une réaction de substitution nucléophile aromatique entre le (2-chloropyridin-3-yl)méthanol protégé et un substrat aryle-acétonitrile.

La troisième méthode nommée C, permet l'insertion de groupements alkyles et aryles au niveau de R<sup>2</sup> en position 5 du bicyclic par une réaction de Grignard, suivie par une étape originale de cyclisation faisant intervenir un dérivé organosélénié.

Enfin, l'insertion du groupement R<sup>3</sup> est réalisée par post-fonctionnalisation de la plateforme pyridolactone bicyclique.

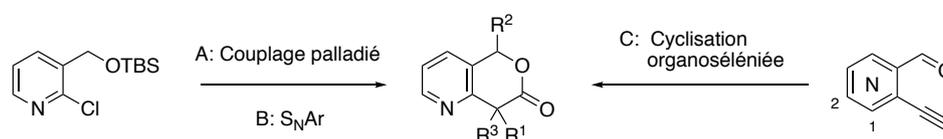


Figure 102 Les différentes voies mises au point pour obtenir le bicyclic pyranopyridinone

Les méthodes A et B comprennent 2 étapes de synthèse identiques et utilisent le même substrat de départ la 2-chloro-3-pyridinocarboxaldehyde commerciale. Celle-ci est engagée dans une étape de réduction de la fonction carbonyle par du borohydrure de sodium

( $\text{NaBH}_4$ ) dans du méthanol pour donner l'alcool correspondant, avec un rendement de 89%. La protection de la fonction alcool par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyle (TBS) est ensuite réalisée dans des conditions classiques en présence de chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle (TBSCl) et d'imidazole (Schéma 82).

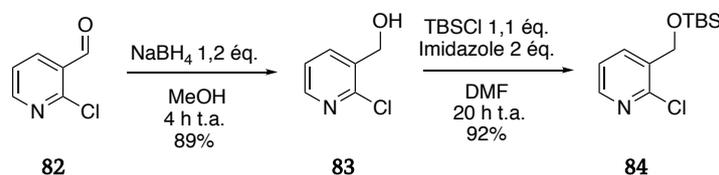


Schéma 82 Partie commune des séquences réactionnelles de la méthode A et B

## A. Méthode A

La synthèse selon la méthode A nécessite 3 étapes supplémentaires. L'intermédiaire chloropyridine silylé **84** est engagé dans une réaction d'alpha arylation catalysée par le complexe *t*BuXPhos Pd G1 en présence de LiHMDS et de *tert*-butylacétate dans du toluène pendant 2 heures. Le produit de couplage **85** est ainsi obtenu avec un bon rendement de 61%. L'insertion du groupement  $\text{R}^1$  en position 8 de la lactone est ensuite réalisée via une étape d'alkylation. Celle-ci est réalisée avec une base forte et encombrée, le LiHMDS et divers dérivés halogénés  $\text{R}^1\text{X}$  offrant ainsi une grande diversification de la plateforme synthétique. Enfin, la déprotection de l'alcool suivie d'une étape de cyclisation par de l'APTS monohydrate dans du toluène pendant 20 heures permet l'obtention du bicyclic désiré (Schéma 83).

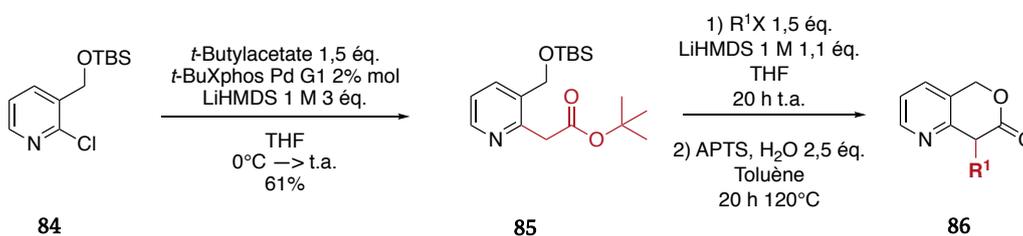


Schéma 83 Séquence réactionnelle de la méthode A

La stratégie A a permis d'élaborer une petite librairie de 6 dérivés comportant un groupement alkyle en position 8 (Figure 103).

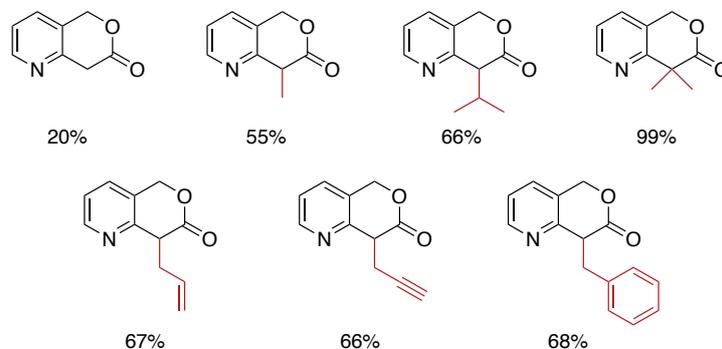


Figure 103 Molécules synthétisées par la méthode A lors de la thèse de Kevin Passador

## B. Méthode B

La synthèse de la pyridolactone via la méthode B nécessite quant à elle seulement 2 étapes supplémentaires à partir du substrat chloropyridine silylé **84**. Selon cette méthode, la chloropyridine est engagée dans une substitution nucléophile aromatique en présence de LiHMDS et d'un dérivé aryle-acétonitrile permettant l'insertion de groupements  $R^1$  de type aryles. Enfin, la déprotection de l'alcool suivie de la cyclisation sont effectuées en présence d'APTS monohydrate dans du toluène à chaud pendant 4 heures (Schéma 84).

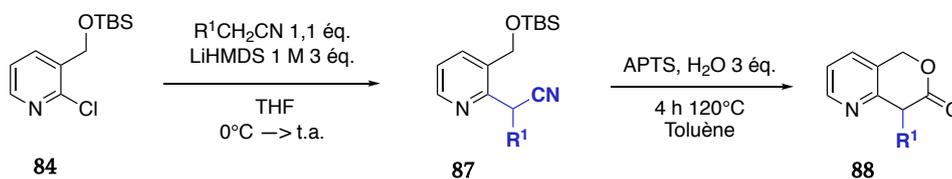


Schéma 84 Séquence réactionnelle de la méthode B

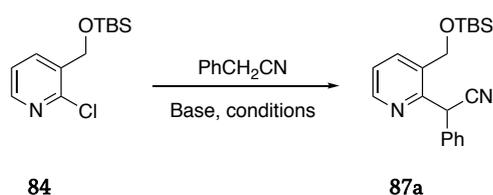
Cette stratégie a permis l'obtention d'une première molécule comportant un groupement phényle en position 8. Puis, ce travail a été repris lors de cette thèse afin d'optimiser la synthèse et de réaliser une exemplification grâce à l'insertion de différents cycles aromatiques.

Avant de se lancer dans la diversification de la structure pyridolactone par l'insertion de groupements aryles, nous avons essayé d'optimiser les conditions de cette étape de  $S_NAr$  afin d'obtenir le composé désiré en un temps plus court (Tableau 12).

Pour cela, nous avons eu recours à l'utilisation de 3 équivalents de *tert*-butylate de potassium (*t*-BuOK) dans de la *N*-méthyl-2-pyrrolidinone (NMP) à 110° C. Dans ces conditions, aucun produit n'est observé mais uniquement les composés de départ.

Une autre stratégie est alors entreprise en utilisant de l'amidure de sodium ( $NaNH_2$ ) dans du toluène à température ambiante. Dans ces conditions, le produit de substitution est obtenu avec un faible rendement de 20% contre 62% avec les conditions de référence (LiHMDS, THF).

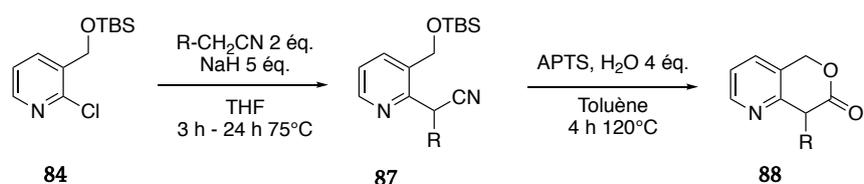
Enfin, l'utilisation de 2 équivalents de NaH dans du THF à reflux pendant 2 heures permet d'obtenir le composé avec un rendement de 59%. Ce rendement a été optimisé à 69% en ajoutant un excès de NaH après 3 heures de réaction.



Entrée	Base	Conditions	Rendement
1	LiHMDS 3 éq.	Toluène, 0° C, 24 h	62%
2	<i>t</i> -BuOK 3 éq.	NMP 110° C	/
3	$NaNH_2$ 4 éq.	Toluène, t.a., 24 h	20%
4	NaH 2 éq.	THF, 75° C, 2 h	59%
5	NaH 5 éq.	THF, 75° C, 3 h	69%

Tableau 12 Conditions testées pour l'optimisation de l'étape de  $S_NAr$

Ce sont ces dernières conditions, NaH, THF, à reflux, qui ont été retenues pour réaliser la synthèse des autres dérivés (Schéma 85).



R = Ph            87a 82%  
 R = 4-Br-Ph    87b 63%  
 R = 4-OMe-Ph 87c 74%  
 R = 2-pyr        87d brut

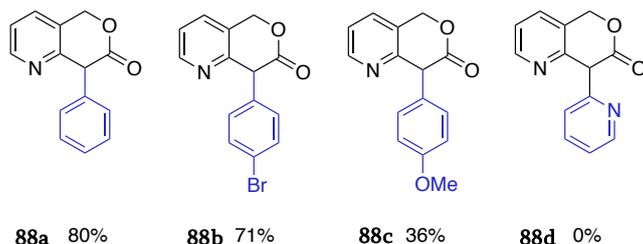


Schéma 85 Synthèse des dérivés pyridolactones substitués par des aryles via la méthode B

Nous avons ainsi obtenu quelques exemples supplémentaires montrant la possibilité d'accéder à des dérivés comportant un cycle aromatique en position 8 de la pyridolactone de façon efficace. En revanche, la cyclisation en présence du motif pyridine n'a pas été concluante. Après son insertion par  $S_NAr$  donnant le composé **87d**, celui-ci a été engagé dans l'étape de cyclisation en tant que brut réactionnel. Seulement, une dégradation du milieu est observée en fin de réaction, ne nous permettant pas d'obtenir ce dérivé sous forme cyclisée.

Une variante de cette méthode a été utilisée afin d'obtenir la 5,8-diphényl-5,8-dihydro-7H-pyrano[4,3-b]pyridin-7-one. Il s'agit du dérivé pyridolactone disubstitué par des groupements phényles en position 5 et 8. L'insertion du phényle en position 5 est effectué par l'addition du bromure de phénylmagnésium sur la 2-chloro-3-pyridinecarboxaldéhyde de départ. La fonction alcool du composé **89** est ensuite protégée par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyle selon les mêmes conditions de protection décrites précédemment. Le composé obtenu **90** est engagé dans la réaction de  $S_NAr$  puis dans l'étape de cyclisation selon la même procédure que pour les autres dérivés (Schéma 86).

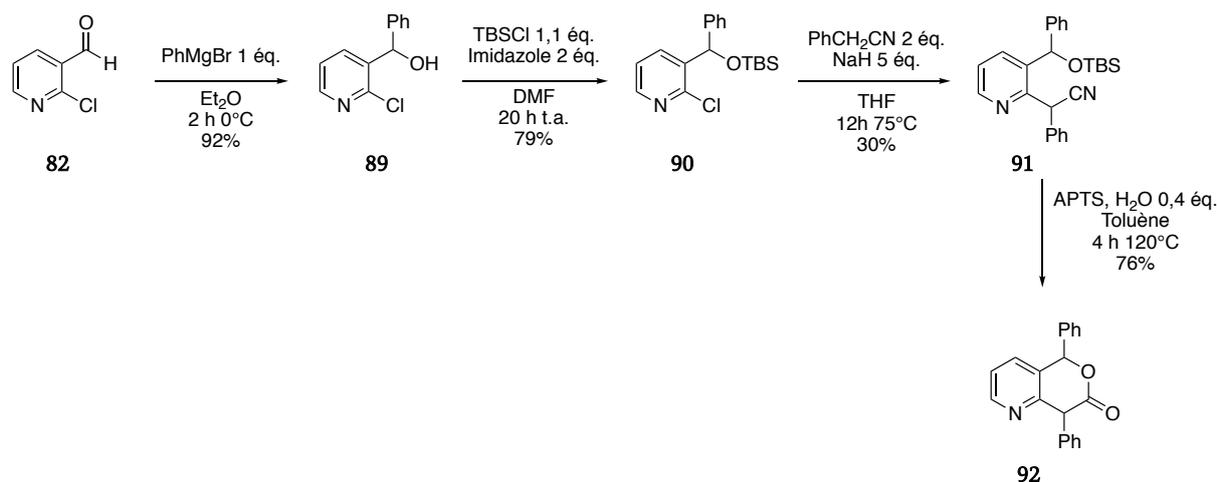


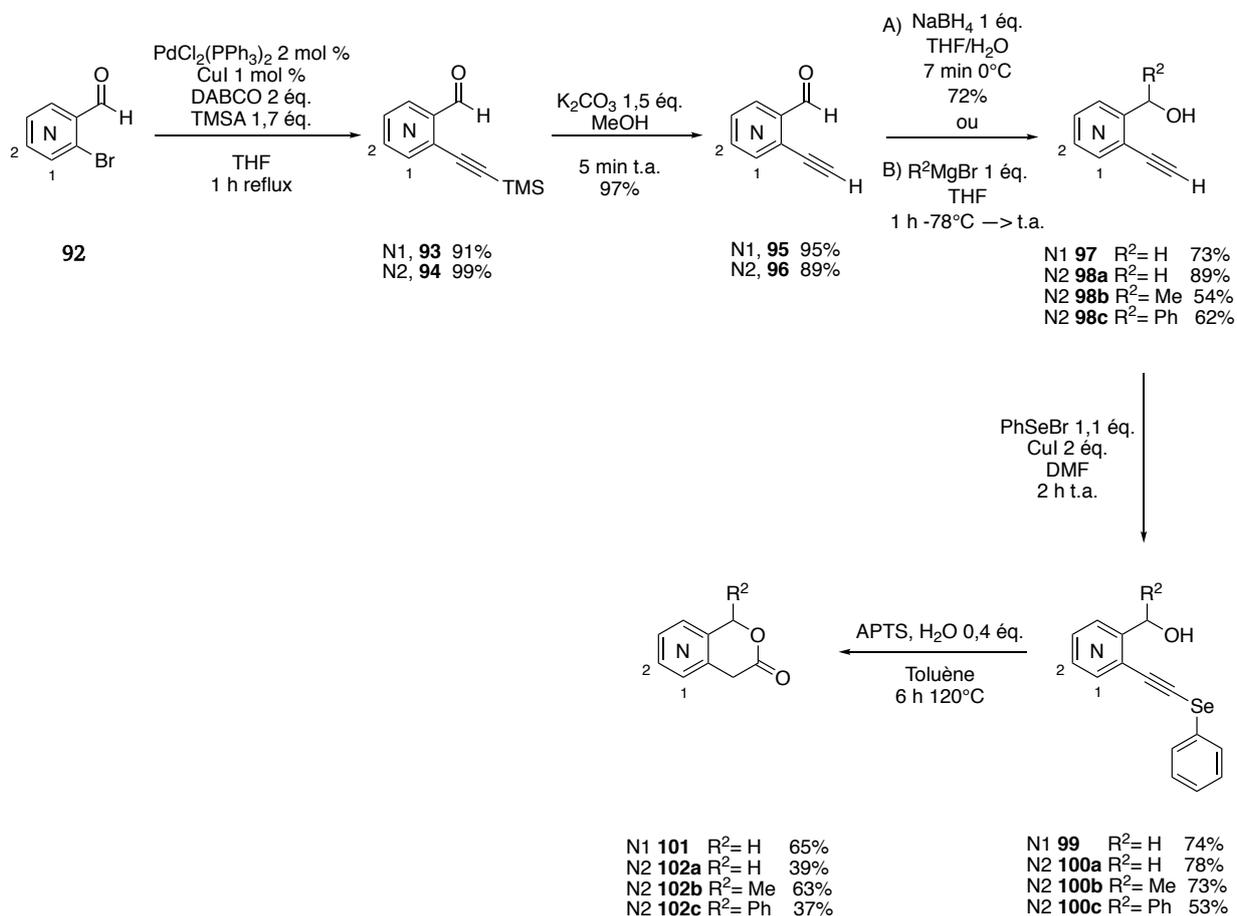
Schéma 86 Synthèse du dérivé pyridolactone diphényle par la méthode B

A l'issue de ce travail, nous avons su optimiser la méthode B ce qui a permis d'obtenir différentes pyridolactones diversement substituées par des groupements aromatiques sur les positions 8 et 5 du bicycle.

### C. Méthode C

La méthode C permet une tout autre approche et se compose de 5 étapes réactionnelles (Schéma 87). Cette stratégie a été réalisée à partir de la 2-bromo-3-pyridine carboxaldéhyde. Un couplage de Sonogashira est tout d'abord réalisé sur la 2-bromopyridine carboxaldéhyde en présence d'éthylènetriméthylsilane (TMSA), de palladium dichloro bis(triphénylphosphine) ( $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ ), d'iodure de cuivre et de 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octane (DABCO) dans du THF pendant 1 heure. Le composé 3-éthynylisonicotinaldéhyde contenant la fonction alcyne protégée par un groupement TMS est obtenue avec un rendement de 83%. L'étape suivante est la déprotection de la fonction alcyne. Celle-ci est réalisée grâce à l'utilisation de carbonate de potassium dans du méthanol pendant 5 minutes. L'incorporation du groupement  $\text{R}^2$  s'effectue ensuite par une réaction entre l'aldéhyde et un réactif de Grignard de type  $\text{R}^2\text{MgBr}$ . Cette étape permet alors d'introduire plusieurs types de groupements alkyles en position 5 du bicycle. La cyclisation finale s'effectue en présence d'APTS sur le composé organosélénié **96**. Celui-ci est obtenu à partir du composé alcynylpyridine **95** par un couplage au cuivre en présence de bromure de phénylsélénium.<sup>268</sup> La présence du motif phénylsélénium sur la fonction

alcyne permet d'orienter la cyclisation vers un processus de type *6-endo* aboutissant à la formation d'un cycle à 6 chaînons qui après hydratation et élimination du phénylsénelol conduit au cycle  $\delta$ -lactone.



Sch\u00e9ma 87 S\u00e9quence r\u00e9actionnelle de la m\u00e9thode C

La strat\u00e9gie C a permis l'\u00e9laboration de 4 compos\u00e9s dont deux sont substitu\u00e9s par un groupement en position 1 du bicyclic 1,4-dihydro-3*H*-pyrano[4,3-*c*]pyridin-3-one, introduit pr\u00e9alablement par l'addition d'un r\u00e9actif de Grignard sur le 3-\u00e9thynylisonicotinald\u00e9hyde (Figure 104). Au travail de synth\u00e8se d\u00e9j\u00e0 effectu\u00e9 auparavant, nous avons su montrer la possibilit\u00e9 d'ins\u00e9rer un groupement ph\u00e9nyle en position 1.

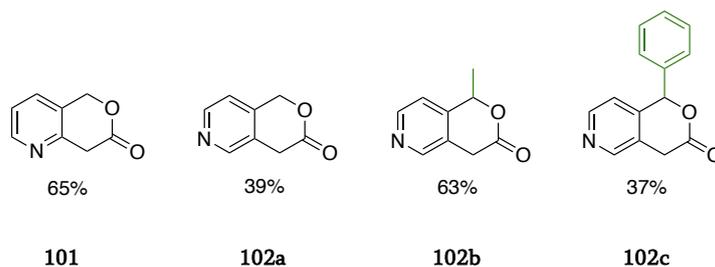


Figure 104 Molécules obtenues par la méthode C

## II. Vers la synthèse de structures semi-rigides

Suite à la synthèse de ces différents bicycles par l'une des trois méthodologies présentées, nous avons tenté d'introduire d'autres types de substituants comme des groupements amines au niveau de la position 8.

Ce choix s'explique par le fait de pouvoir aboutir, *in fine*, à des structures semi-rigides analogues de nouveaux composés anti-histaminiques. En effet, des molécules encombrées similaires au notre ont été proposées en tant que potentiels analogues anti-histaminiques semi-rigides.<sup>270</sup> Ram et al. ont notamment évalué des composés qui s'apparentent à nos pyridolactones mais dans leur forme benzénique (Figure 105).<sup>271</sup>

Les structures anti-histaminiques commerciales sont souvent composées de chaînes alkyles libres, le but ici est de contraindre la structure ce qui pourrait permettre d'augmenter l'affinité de la molécule pour le récepteur histaminique H1. En plus de rigidifier la structure, nous nous proposons aussi d'y ajouter un atome d'azote. L'ajout d'atome d'azote est déjà connu comme impactant les propriétés physico-chimiques des structures biologiquement actives. En effet, cet atome supplémentaire peut être intéressant notamment pour améliorer la polarité de la molécule, former des liaisons hydrogènes ou encore avoir un effet sur la conformation de liaison au ligand cible.<sup>272</sup>

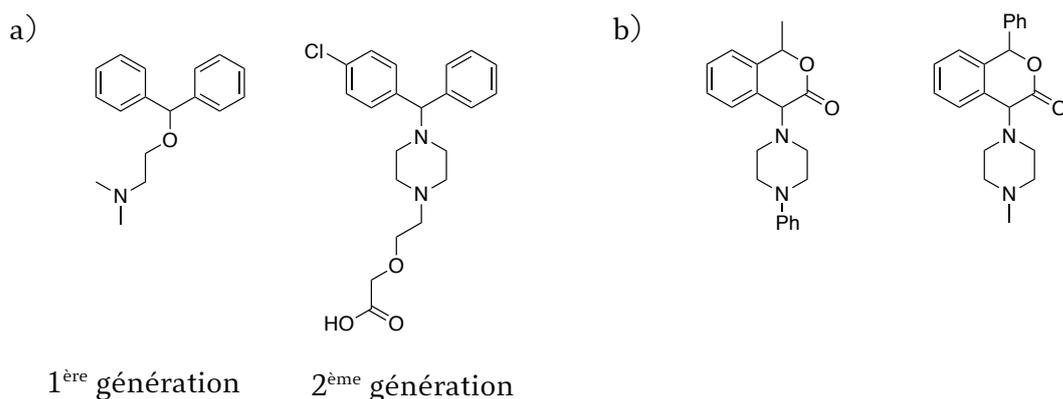


Figure 105 a) composés anti-histaminiques commerciaux b) composés analogues d'anti-histaminiques de Ram et al

Pour inclure des groupements amines en position 8 du bicyclic par post-fonctionnalisation, il a fallu tout d'abord introduire un atome de brome sur le composé **101** afin de réaliser ensuite une substitution nucléophile. Pour cela, l'ajout d'1 équivalent de N-bromosuccinimide (NBS) dans du DMF a été réalisé sur la plateforme hétérocyclique permettant l'insertion d'un atome de brome en position 8. La réaction de substitution a été réalisée avec différents groupements : la N-phénylpipérazine, N-méthylpipérazine et la morpholine. Cette réaction a fourni uniquement le composé **104** substitué par la N-phénylpipérazine avec un rendement modeste de 22%. Les autres motifs ont montré une dégradation du milieu réactionnel (Schéma 88).

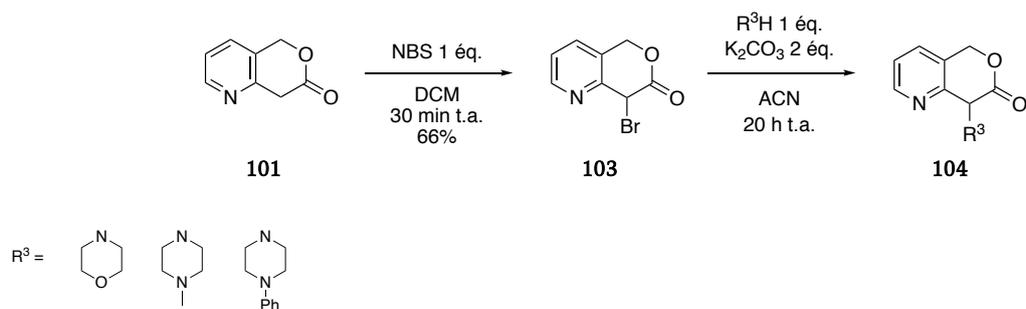
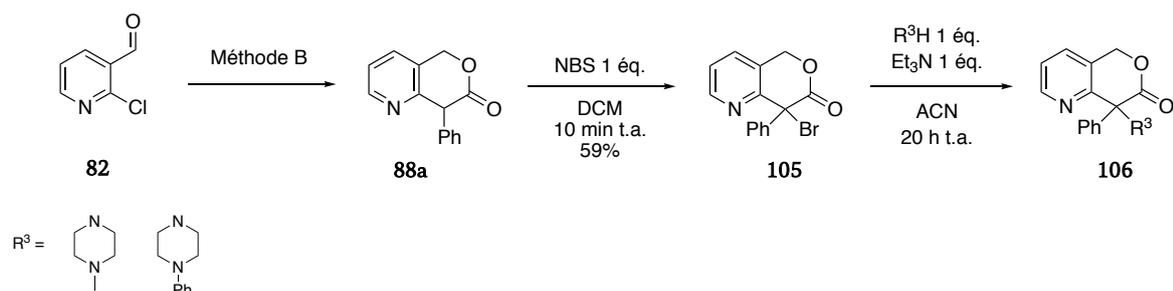


Schéma 88 Insertion du groupement R<sup>3</sup> sur la pyridolactone

Cette stratégie a ensuite été reprise afin de disubstituer le bicyclic pyridolactone par un groupement amine. Ainsi, le même procédé a été utilisé pour introduire la N-phénylpipérazine et la N-méthylpipérazine sur la phénylpyridolactone. De cette façon, deux structures semi-rigides supplémentaires ont été obtenues (Schéma 89).



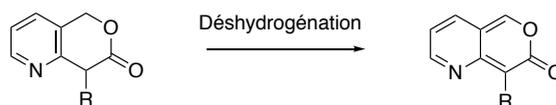
Sch\u00e9ma 89 Exemples de disubstitution de la pyridolactone

Nous avons ainsi synth\u00e9tis\u00e9 une petite librairie de mol\u00e9cules analogues d'anti-histaminiques qui pourraient montrer une activit\u00e9 biologique int\u00e9ressante. Ceci pourrait alors ouvrir la voie \u00e0 une nouvelle g\u00e9n\u00e9ration de compos\u00e9s anti-histaminiques. Des \u00e9tudes plus pouss\u00e9es de chimie m\u00e9dicinale sur ce type de compos\u00e9s sont n\u00e9cessaires afin d'\u00e9valuer leur potentiel.

### III. Exploration synth\u00e9tique de la 7H-pyrano[4,3-*b*]pyridin-7-one

#### A. Travail pr\u00e9liminaire

Afin d'acc\u00e9der au motif original pyranopyridinone et son isom\u00e8re d\u00e9sign\u00e9, quelques essais d'oxydation du cycle pyridolactone par d\u00e9shydrog\u00e9nation ont \u00e9t\u00e9 r\u00e9alis\u00e9s lors de la th\u00e8se de K. Passador. (Sch\u00e9ma 90).



Sch\u00e9ma 90 Strat\u00e9gie d'obtention de la pyranopyridinone

Pour cela, des conditions de déshydrogénation ont été tentées en présence de palladium sur charbon, de chloranil ou encore de charbon actif en présence d'air dans des solvants de types xylène, diglyme ou toluène à des températures élevées  $> 130^{\circ}$  C. Cependant, aucune de ces conditions n'ont permis la formation de la pyranopyridinone désirée, constatant soit une dégradation du milieu soit aucune réaction.

## B. Voie des oxydations

Lors de nos synthèses des pyridolactones nous avons constaté que celles-ci subissaient facilement une oxydation à l'air libre en position 8. En effet, lorsque nous évaluons la stabilité du composé par RMN du proton, nous observons qu'après quelques jours, environ 20% du produit comporte un groupe hydroxyle sur cette position (Figure 106).

Afin de tirer profit de ce phénomène naturel, nous avons alors exploré cette stratégie qui utilise la 8-hydroxypyridolactone comme substrat de départ.

Une fois la fonction alcool transformée en groupe partant, cela permettrait après une réaction d'élimination d'atteindre le motif bicyclique pyranopyridinone.

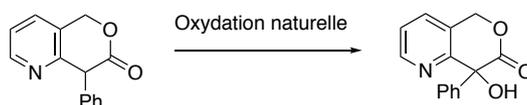


Figure 106 Oxydation naturelle du motif pyridolactone

Les premiers essais réalisés sont inspirés des conditions de Carl Finger.<sup>273</sup> En présence d'air comprimé et d'un équivalent de triéthylamine, nous parvenons à obtenir 20% de conversion.

La conversion de la réaction a ensuite été améliorée à 30% en présence d'oxygène pur et grâce à l'ajout d'un excès de base.

Nous avons ensuite changé de base, en utilisant du *tert*-butylate de potassium (*t*-BuOK), dans du diméthylesulfoxyde. Grâce à ces conditions réactionnelles, le produit attendu contenant un groupement hydroxyle en position 8 du bicycle est obtenu avec une conversion totale. (Tableau 13).

Essais	Source d'oxygène	Base	Conditions	Résultats
1	Air comprimé	Et <sub>3</sub> N	DCM 1h30 t.a.	20% de conversion
2	O <sub>2</sub>	Et <sub>3</sub> N	DCM 2 h t.a.	30% de conversion
3	O <sub>2</sub>	<i>t</i> -BuOK	DMSO- <i>d</i> 6 20 min t.a.	Conversion totale

Tableau 13 Essais d'oxydation de la phénylpyridolactone

Par la suite, il fallait transformer la fonction alcool en un groupement partant et réaliser ensuite l'élimination qui nous conduirait au produit bicyclique aromatique. Pour cela, nous avons réalisé deux essais, l'un consistait en la formation d'un mésylate et l'autre en la formation d'un acétate. Nous avons alors engagé une partie de la pyridolactone oxydée avec du chlorure de mésyle et de la triéthylamine dans du diméthylsulfoxyde pendant 20 heures. L'autre partie a été mise en solution dans du THF dans laquelle a été ajoutée de l'anhydride acétique et une quantité catalytique d'acide sulfurique pendant 20 heures également (Schéma 91).

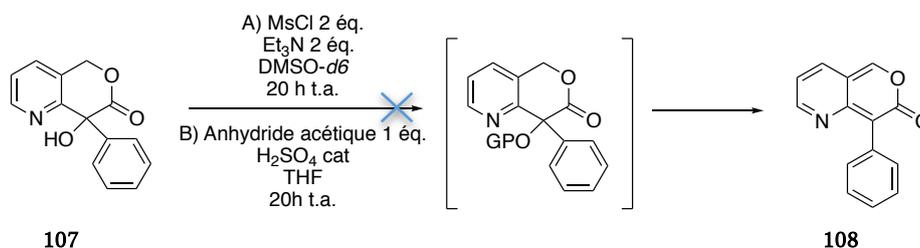


Schéma 91 Essais de transformation de l'hydroxyle en bon groupe partant en vue de l'obtention de la pyranopyridinone

Malheureusement, aucune trace du produit attendu n'a été observée. Les résultats issus de ces réactions ont été difficilement interprétables car nos essais ont été probablement réalisés sur une trop faible quantité et se sont avérés peu reproductibles.

Il est donc difficile de conclure sur ces résultats. Suite à quoi nous avons décidé de focaliser nos recherches de synthèse de la pyranopyridinone en utilisant une autre stratégie.

### C. Via une cyclisation finale

Les stratégies de déshydrogénation de la pyridolactone n'ayant pas permis d'obtenir le composé aromatique pyranopyridinone, nous avons décidé d'utiliser la voie de synthèse des benzopyran-3-ones, comme entrepris par Holland et al.<sup>274</sup> Pour cela, nous avons repris la voie de synthèse développée pour la préparation des naphthyridinones et modifié uniquement les conditions réactionnelles utilisées lors de la dernière étape de cyclisation afin d'aboutir au cycle pyranopyridinone (Schéma 92).

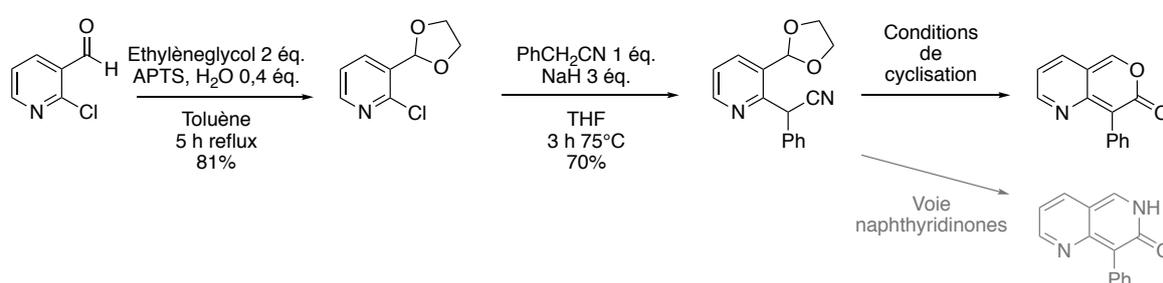


Schéma 92 synthèse envisagée pour l'obtention du cycle pyranopyridinone

Pour cela, nous avons envisagé de saponifier la fonction nitrile puis d'hydrolyser la fonction acétale en milieu acide afin de permettre ensuite la cyclisation et former le cycle pyrone. Ainsi, plusieurs tentatives ont été réalisées en ce sens. Tout d'abord, en présence de NaOH 2,5 N dans de l'éthanol à reflux pendant 1 heure, puis en engageant directement le composé après évaporation du milieu dans une étape de cyclisation en présence de HCl<sub>aq</sub> 12 M dans du THF pendant 1 heure. Après analyse du milieu réactionnel, il s'agit simplement de la forme naphthyridinone. Ce résultat nous amène à conclure que l'étape de saponification n'a pas été complète et que nous avons obtenu seulement la forme amide intermédiaire qui donne après cyclisation la formation du cycle pyridone du bicycle (Schéma 93).

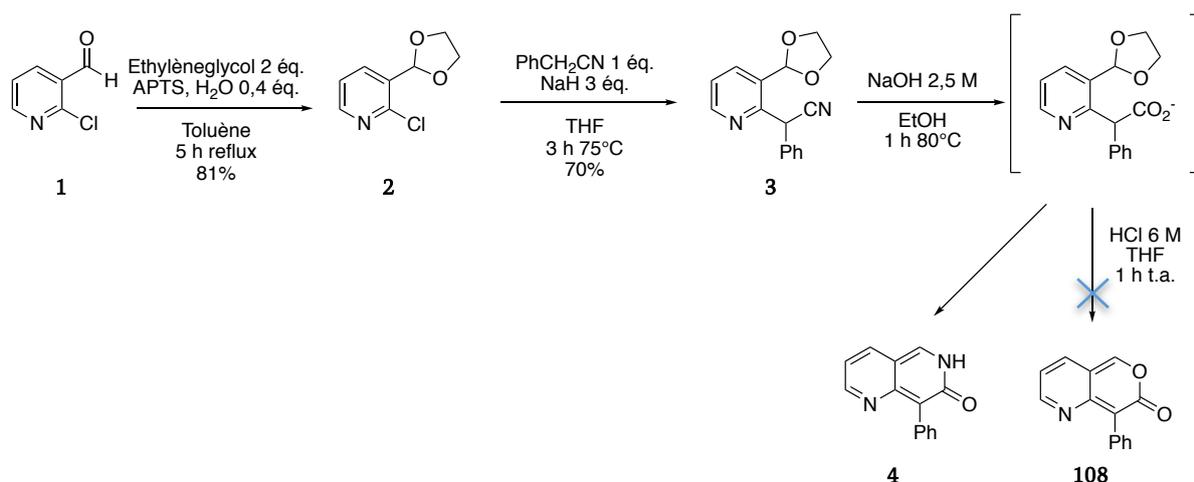


Schéma 93 Séquence réactionnelle employée pour la synthèse de la pyranopyridinone

Devant la difficulté de la saponification ou de l'hydrolyse alcaline de la fonction nitrile, d'autres conditions plus fortes ont été testées afin de garantir la formation de la fonction carboxylate.

Pour cela, le composé a été mis en présence de KOH broyé dans un mélange ternaire THF/MeOH/H<sub>2</sub>O. La réaction est portée à reflux pendant 3 jours. Lors du suivi par CCM, nous pouvons remarquer que la conversion en produit attendu est faible et ce malgré un temps de réaction prolongé. Le produit est isolé après lavage à l'eau et engagé dans la réaction de cyclisation en présence d'HCl concentré dans du THF à 90° C. Après quelques heures de réaction, le milieu est évaporé à sec. Nous obtenons un composé fluorescent sous lampe UV à 365 nm, reflétant une couleur bleue. Les signaux RMN du proton montrent uniquement la présence de protons aromatiques. Alors que nous pensions avoir obtenu le bon composé, nous nous sommes rendus compte, après une longue analyse de la molécule, que nous avons en réalité synthétisé un aza-anthracène.

C'est en réfléchissant aux différentes cascades synthétiques possibles que nous avons conclu à une séquence réactionnelle comprenant l'hydrolyse de l'acétal, une cyclisation puis une décarboxylation du cycle pyrone. L'intermédiaire réactif ainsi obtenu subit alors une réaction de Friedel et Craft suivie d'une déshydratation et d'une aromatisation pour conduire à la formation de l'aza-anthracène. (Schéma 94).

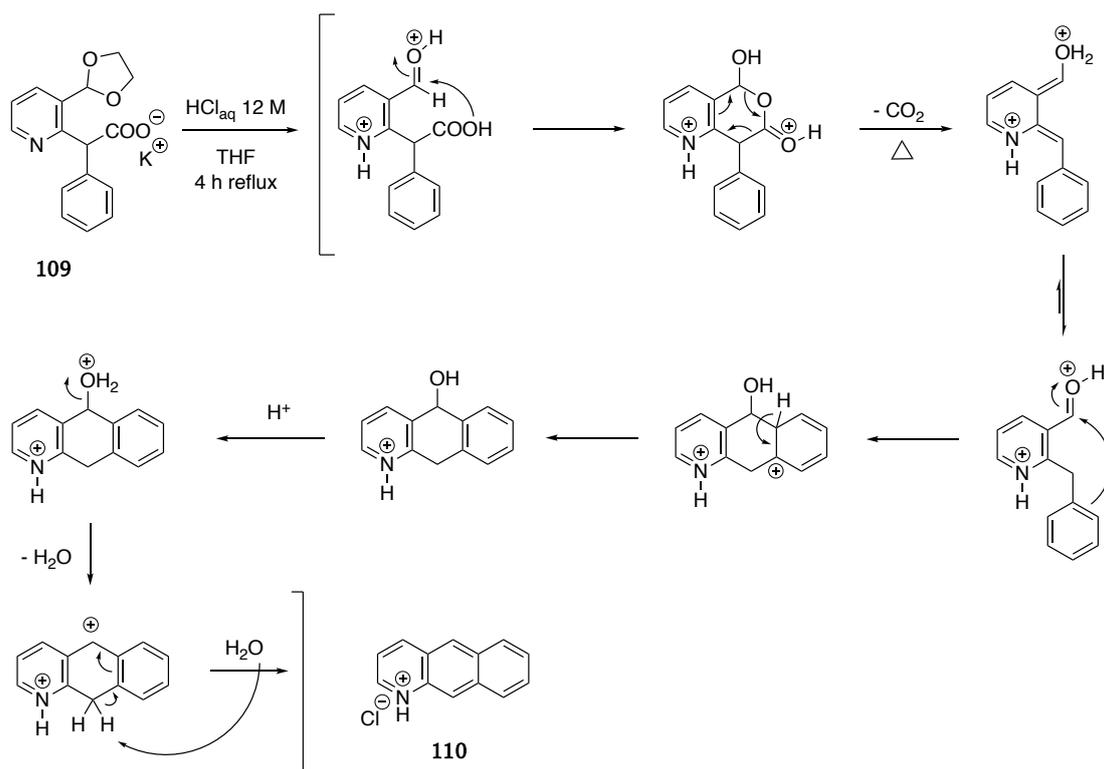


Schéma 94 Mécanisme proposé de la formation de l'aza-anthracène

Le composé attendu pyranopyridinone n'a pas été obtenu dans ces conditions. Le produit contenant le motif lactone obtenu après cyclisation en milieu acide s'est révélé trop instable à haute température conduisant facilement à une décarboxylation. En revanche, un produit non désiré intéressant de type aza-anthracène a été identifié comme produit de la réaction, ces composés sont à ce jour assez peu exploités. Malheureusement, nous n'avons pas eu l'occasion de donner suite à ce résultat.

Il nous a ainsi fallu revoir notre stratégie afin d'obtenir une fonction acide carboxylique à la place du nitrile sur la molécule. Nous avons vu lors de la synthèse du motif pyridolactone via la méthode A que l'insertion d'ester en position 2 de la pyridine était possible et que celui-ci donnera aisément l'acide carboxylique correspondant en milieu acide. Nous avons alors opté pour l'utilisation des esters *tert*-butyliques qui semble être une stratégie plus réalisable car le groupement *tert*-butyle peut facilement se cliver en milieu acide.

Le dérivé *tert*-butyle 2-phénylacétate n'étant pas commercialement disponible, nous décidons de le réaliser sur la pyridine en deux temps. Tout d'abord en insérant de l'acétate

de *tert*-butyle sur la pyridine protégée puis en ajoutant le groupement phényle par une réaction de substitution nucléophile aromatique. Nous avons alors engagé la pyridine protégée **2** avec de l'acétate de *tert*-butyle, 2% molaire de palladium *tbu*XPhos G1 ainsi qu'un excès de LiHMDS dans du toluène à froid pendant 5 minutes pour conduire quantitativement au produit de couplage (Schéma 95).

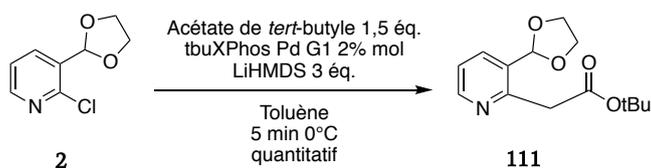


Schéma 95 Réaction d'insertion du groupement *tert*-butylacétate sur la pyridine **2**

Une fois l'intermédiaire ester **111** obtenu, il nous fallait alors insérer le motif phényle. Pour ce faire, nous avons choisi d'utiliser le *para*-nitrofluorobenzène comme substrat réactionnel. En effet, un cycle benzène ne serait probablement pas suffisamment réactif ici, *a contrario* avec un groupement électro-attracteur en position *para* cela permettrait de favoriser la réactivité du substrat. Pour réaliser cette substitution nucléophile aromatique, nous avons utilisé 1 équivalent de *para*-nitrofluorobenzène et un excès de NaH dans du THF. Le composé désiré est obtenu après un temps réactionnel de 3 heures avec un rendement faible de 21% (Schéma 96).

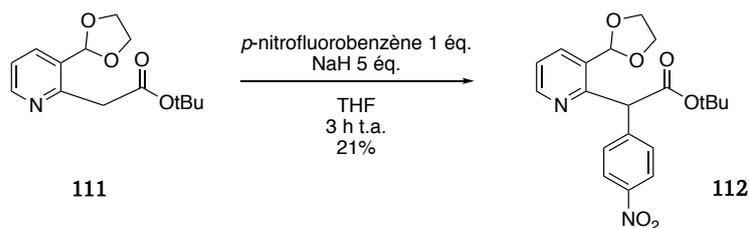


Schéma 96 Réaction d'insertion du groupement *para*-nitrophényle

A ce stade, il ne nous restait plus qu'à cycliser la molécule pour tenter d'obtenir la pyranopyridinone souhaitée. Nous avons engagé notre composé **112** dans un milieu acide avec du HCl concentré dans du THF à température ambiante pendant 24 heures (Schéma 97).

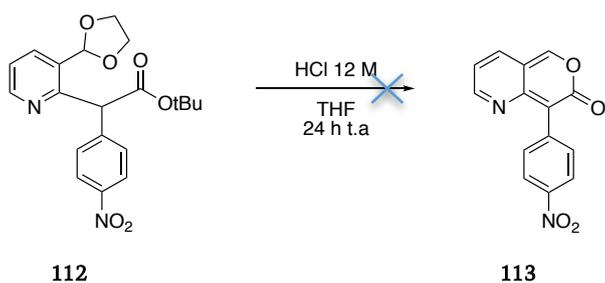


Schéma 97 Réaction de cyclisation

De manière assez surprenante nous nous rendons compte qu'il devient difficile de déprotéger l'aldéhyde lors de cette étape. En effet, après plusieurs heures de réaction, l'acétal est toujours présent sur la molécule. Après analyse par RMN du milieu réactionnel nous constatons qu'une partie seulement est déprotégée mais nous ne visualisons pas de forme totalement cyclisée de la molécule.

Nous avons alors repris les essais réalisés avec l'acétate de *tert*-butyle afin de cycliser directement cet intermédiaire ce qui nous donnerait accès à la pyranopyridinone sans substituant en position 8. Pour cela, nous avons engagé le composé **111** dans des conditions acides fortes (Schéma 98).

Un premier essai a été réalisé avec du HCl dans du THF, ce qui revient à entreprendre les conditions utilisées pour l'obtention des naphthyridinones. Malgré un temps prolongé, la réaction n'a pas été concluante quant à la formation du produit désiré.

Le deuxième essai consistait à utiliser de l'acide sulfurique en excès puis d'avoir recours à un chauffage modéré. Une dégradation du milieu est observée en fin de réaction.

Le dernier essai est réalisé cette fois-ci dans du HCl concentré sans solvant, tout d'abord à température ambiante puis sous chauffage modéré pendant quelques heures avant de laisser agiter la réaction pendant 20 heures. Aucune cyclisation de la molécule n'est observée, seul le départ du groupement *tert*-butyle est constaté.

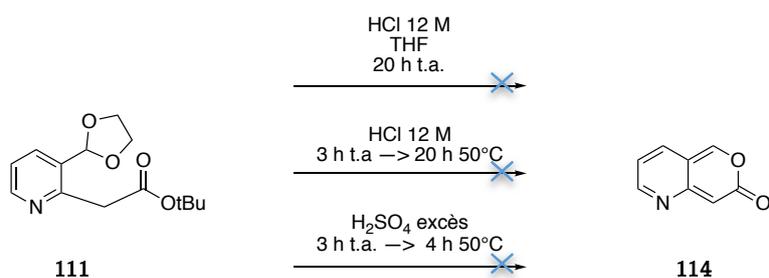


Schéma 98 Essais de cyclisation du composé **111**

A l'issue de ces différents essais nous avons conclu qu'il n'est pas si simple d'obtenir la pyranopyridinone désirée. Malgré nos essais de synthèse utilisant différentes stratégies nous ne sommes pas parvenus à obtenir la molécule cible.

Nous supposons que ce bicycle est potentiellement instable ce qui expliquerait les difficultés ainsi rencontrées. Cette instabilité est d'ailleurs déjà connue sur l'analogue benzène. Celui-ci se réarrangement spontanément par ouverture de cycle pour donner la 1*H*-isochromen-1-one (Schéma 99).<sup>275</sup>

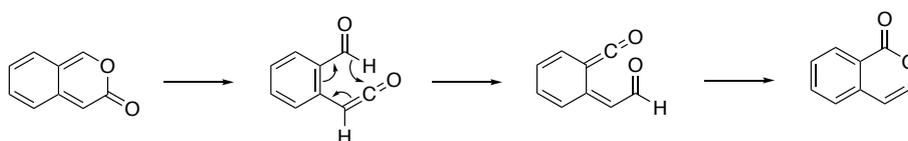


Schéma 99 Réarrangement par ouverture de cycle de la 2-benzopyran-3-one

## Conclusion

Au cours de ce chapitre de synthèse, nous avons parcouru l'ensemble des travaux réalisés par l'équipe sur le développement de 3 voies de synthèse de la 5,8-dihydro-7H-pyrano[4,3-*b*]pyridin-7-one ainsi que sa fonctionnalisation démontrant le potentiel de cette plateforme synthétique. Cela nous a permis la réalisation de 2 isomères de la pyridolactones diversement substituées sur les positions 5 et 8, et les positions 1 et 4 par des groupements alkyles et aryles (Figure 107).

Ce travail a notamment été mis en valeur par la parution d'une publication.<sup>276</sup>

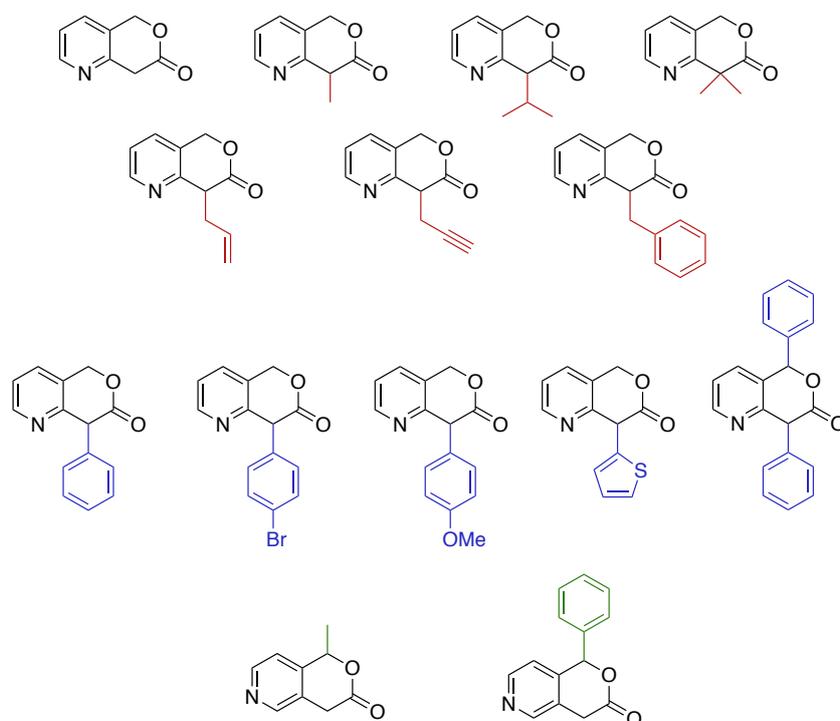


Figure 107 Ensemble des dérivés pyridolactones réalisés

Nous avons également étudié la faisabilité des pyridolactones en tant que nouvelles structures semi-rigides comme analogues de composés anti-histaminiques. En ce sens, trois composés ont jusque-là été obtenu (Figure 108). Ce travail nécessite tout de même un effort supplémentaire afin d'évaluer leurs propriétés biologiques et pourra amener ensuite à réaliser une étude structure-activité.

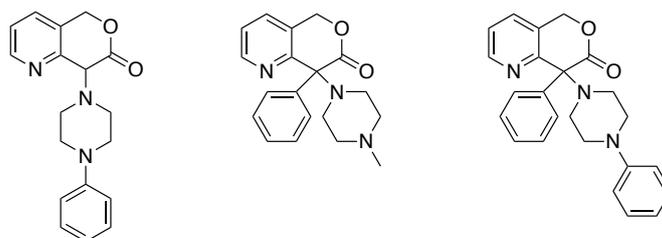


Figure 108 Structures semi-rigides proposées en tant qu'anti-histaminiques

Enfin, nous avons exploré un ensemble de stratégies variées afin de réaliser le bicyclic 7H-pyrano[4,3-*b*]pyridin-7-one cible. Malgré nos efforts, cette molécule n'a pu être obtenue par les différentes synthèses employées. Ceci pourrait être expliqué par l'instabilité de ce type de structure, phénomène déjà connu sur la version benzène. De plus, nous rappelons que l'essentiel de ce travail a été effectué sur l'isomère de la structure proposée par Pitt et al. Une différence de faisabilité entre ces 2 isomères pourrait également être à l'origine de cet échec ou peut-être sommes-nous, à la frontière entre la chimie théorique et la chimie expérimentale ?



# Conclusion générale



## Conclusion générale

Cette thèse retranscrit les travaux réalisés sur la conception et l'étude de nucléosides fluorescents artificiels construits à partir d'hétérocycles originaux. Ces outils moléculaires permettraient, par détection de fluorescence, une mise en évidence de différents processus biologiques tels que les interactions entre les acides nucléiques et les protéines, mais également la conformation de l'ADN lors de ces interactions. Ces bases fluorescentes peuvent aussi être employées dans la détection de mutations ou de délétions de bases naturelles aboutissant à des maladies génétiques.

Ce travail exploratoire a été imaginé à la suite de résultats intéressants concernant des structures hétéroaromatiques fluorescentes obtenues lors de thèses précédentes. En effet, l'équipe Chembio a su mettre à profit ses connaissances et compétences en chimie hétérocyclique afin de proposer une toute nouvelle application biologique au sein du laboratoire.

La première structure abordée lors de cette thèse correspond au bicyclic 1,6-naphthyridin-7-one qui a initialement été découvert de manière fortuite lors d'un travail engagé sur l'élaboration d'un autre hétérocycle, la 3-pyranopyridinone. Ces bicyclics et leurs isomères découlent d'une étude *in-silico* proposée par Pitt et al.

Inspirés par ces travaux, nous avons su optimiser, durant cette thèse, la synthèse du bicyclic naphthyridinone ainsi que démontré le potentiel de cette plateforme synthétique. Nous avons proposé un travail d'exemplification et de diversification par l'insertion de groupements électroniquement donneurs ou accepteurs en position 4 et 8 de la molécule. Il est connu que l'apport d'effets électroniques par des substituants sur un fluorophore peut permettre d'en moduler ses propriétés photophysiques grâce notamment à un mécanisme de type donneur-accepteur. C'est en ce sens que nous avons synthétisé une petite librairie de naphthyridinones diversement substituées et étudié ses effets sur les propriétés spectrales afin de concevoir un fluorophore qui absorbe dans le visible et dont l'émission de fluorescence correspond à des longueurs d'onde au-delà du bleu, ainsi qu'un rendement quantique appréciable dans les milieux aqueux.

Ce travail de synthèse a été effectué par l'emploi de réactions faciles à mettre en œuvre et à partir de substrats commerciaux simples.

Nous avons ensuite étudié et développé les propriétés photophysiques intéressantes en milieu aqueux, des naphthyridinones et plus particulièrement de la 8-phénylnaphthyridinone, que nous avons comparé aux milieux organiques. En effet, cet isomère étant peu connu il nous a paru important de reporter l'ensemble de ses caractéristiques spectrales.

Suite à cette étude, nous avons montré que nos composés absorbent dans le domaine du visible (364 nm – 420 nm) et réémettent à des longueurs d'onde correspondant au vert en milieu aqueux. Ils possèdent également des déplacements de Stokes appréciables (de 37 nm à 164 nm).

Nous avons pu voir que les substitutions effectuées ne permettaient pas une variation importante des propriétés spectrales du composé. Ainsi, d'autres types de substituants placés à différentes positions seront nécessaires si l'on souhaite moduler davantage ces caractéristiques.

Notre molécule s'est, aussi, avérée sensible à son environnement. Nous avons démontré un solvatochromisme de notre composé. En effet, des longueurs d'onde d'émission différentes sont obtenues dans les solvants aprotiques (420 nm) et les milieux protiques (540 nm) correspondant respectivement aux formes tautomères lactime et lactame. Un acidochromisme a également été observé et démontré par la mise en évidence de 3 espèces différentes selon le pH du milieu environnant.

Par la suite, un long travail de synthèse a été nécessaire afin de trouver une façon de lier notre bicyclic à un ose de type ribose ou désoxyribose en vue d'obtenir notre premier nucléoside artificiel.

Une synthèse convergente utilisant un couplage CuAAC entre la 2-chloro-4-éthynylpyridine diméthylacétale et le 2,3,5-Tri-*O*-(*tert*-butyldiméthylsilyle)- $\beta$ -D-ribofuranosyl azide aura finalement permis l'obtention de ce nucléoside en 9 étapes.

Une évaluation des propriétés spectrales (absorbance et émission) a été réalisée sur les 2 nucléosides fluorescents artificiels obtenus. Un effet bathochrome, par rapport au cycle naphthyridinone seul, est constaté dans les deux cas, avec des longueurs d'onde d'émission maximum à 536 et 557 nm. Seulement, une perte conséquente de l'intensité de fluorescence est également observée. Ces premiers nucléosides nous permettront tout de même d'initier un travail applicatif mais nécessiteront, eux aussi, des modifications synthétiques permettant une amélioration de leurs propriétés photophysiques.

Une évaluation de cytotoxicité a notamment été réalisée sur les nucléobases artificielles synthétisées et nous confirme que celles-ci sont adaptées pour une éventuelle application en milieu biologique de par leur non-cytotoxicité.

Enfin, une transformation de ces nucléosides artificiels en nucléosides phosphoramidites a été entreprise en fin de thèse dans le but de pouvoir synthétiser, de façon supportée sur phase solide, un petit oligonucléotide comportant une base fluorescente.

Durant ce travail de thèse, une deuxième structure la 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one, a également été exploitée en tant que futur nucléoside fluorescent artificiel. Sa synthèse a été initiée lors de travaux précédemment réalisés par l'équipe Chembio entre 2010 et 2018 qui ont permis l'élaboration de nombreux types de 1,2,4-triazoles bi et tri-substitués.

Nous avons poursuivi nos recherches avec les motifs 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one selon le même principe que vu précédemment avec la structure 1,6-naphthyridin-7-one.

Dans un premier temps des stratégies consistant à lier le triazole et un ose de type ribose ou désoxyribose ont été explorés. Finalement, les 1,2,4-triazole nucléosides ont été obtenus avec succès à partir de dérivés pyrido-oxazinones différemment substituées et d'un sucre hydrazine selon un mécanisme de type ANRORC. Cette stratégie nous a permis d'obtenir à ce jour 3 dérivés nucléosidiques.

Une évaluation des propriétés spectrales a été entreprise sur les dérivés triazoles. Ceux-ci se révèlent être fluorescents mais à des longueurs d'onde trop faibles (bleu) pour correspondre aux caractéristiques actuellement recherchées dans le domaine de la biologie. De même, les formes nucléosidiques de ces composés triazoliques se sont révélées fluorescentes ce qui était plus mitigé pour le cas des structures nucléosidiques des naphthyridinones. Pour un décalage vers le rouge de la fluorescence, une modulation efficace de la plateforme 1,2,4-triazole-pyridin-2-one est donc nécessaire afin d'améliorer le potentiel de nos composés.

Au bilan, ce travail de thèse issu d'un projet totalement nouveau dans l'équipe, nous a permis d'obtenir des premiers modèles originaux de nucléobases fluorescentes artificielles. Ces résultats encourageants ouvrent des perspectives d'applications pour ces nouveaux

composés en tant que nucléosides fluorescents. Leur insertion dans un oligonucléotide ainsi que l'étude spectrale de leur interaction avec les bases nucléiques naturelles nous permettraient d'apporter une preuve de concept sur ces nouvelles molécules.

# Partie expérimentale



## Experimental section

### Materials and instruments

All reagents and solvents were purchased from commercial suppliers, Sigma-Aldrich, TCI, Alfa-Aesar or fluorochem.

All reactions were monitored by TLC on silica gel 60 F254 plates and revealed using UV lamp ( $\lambda = 254$  nm).

Flash chromatography was carried out on a puriflash 430 instrument (Interchim) using 30  $\mu\text{m}$  spherical silica or 40-60  $\mu\text{m}$  irregular silica cartridges.

Reactions involving air or moisture sensitive reagents were carried out under an inert atmosphere (argon).

THF was distilled over sodium/benzophenone. DCM and ACN were distilled over calcium hydride. Pyridine and 2,6-lutidine were distilled over  $\text{K}_2\text{CO}_3$ .

All final compounds were analyzed by high-resolution ESI mass spectrometry (HRMS) in MeOH using a microTOF-Q mass spectrometer fitted with an electrospray ion source.

NMR spectra were recorded on a Bruker Avance III spectrometer at 300 or 400 MHz for  $^1\text{H}$  and 100 MHz for  $^{13}\text{C}$ . 2D NMR experiments such as  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY and  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC experiments were performed to enable signal attributions. Chemical shifts ( $\delta$ ) are given in ppm, referenced to the residual solvent, coupling constant ( $J$ ) are measured in hertz (Hz). Multiplicity is indicated as follows: s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quadruplet; dd, doublet of doublet; m, multiplet.

The melting point were performed on electrothermal IA 91000.

Reactions with microwave assistance were performed using a Biotage Initiator<sup>TM</sup> 2.0 apparatus in a Biotage 10-20 mL microwave vial, at the indicated temperature, on very high absorption mode, for an indicated period of time.

UV/Vis absorption spectra were measured using a JASCO V670 spectrophotometer at 20° C.

Emission spectra were performed on JASCO J-815 CD spectrofluorometer at 20° C.

# Protocols and characterization of compounds

## Chapitre 2

### General procedure A

To a stirred solution of 2-chloro-3-pyridinecarboxaldehyde (2 g, 14 mmol) and ethylene glycol (1.58 mL, 28.2 mmol) in toluene (50 mL) was added *p*-toluenesulfonic acid hydrate (PTSA, H<sub>2</sub>O) (1.065 g, 5.6 mmol). The reaction mixture was refluxed for 5 h with a Dean-Stark apparatus. After cooling to room temperature, a saturated aqueous solution of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(sat) was added. The compound was extracted with DCM (3 x 30 mL). The combined organic phases were washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/ethyl acetate 7/3) to afford the title compound.

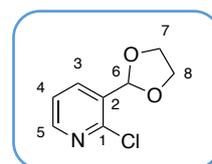
### 2-chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridine 2

CAS [65753-46-0]

The compound is obtained following the general procedure A

White solid, m<sub>pure</sub>= 2.1 g

Yield: 81%

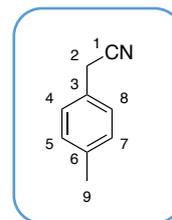


<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ 8.40 (dd, 1H, *J* = 4.84 Hz, *J* = 1.98 Hz, H<sub>5</sub>), 7.95 (dd, 1H, *J* = 7.48 Hz, *J* = 1.76 Hz, H<sub>3</sub>), 7.29 (dd, 1H, *J* = 7.48 Hz, *J* = 4.84 Hz, H<sub>4</sub>), 6.10 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 4.19-4.06 (m, 4H, H<sub>7,8</sub>)

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*): δ 150.3 (C<sub>5</sub>), 149.1 (C<sub>1</sub>), 137.1 (C<sub>3</sub>), 131.8 (C<sub>2</sub>), 123.3 (C<sub>4</sub>), 99.3 (C<sub>6</sub>), 65.1 (C<sub>7</sub> C<sub>8</sub>)

## 2-(*p*-tolyl)acetonitrile **6**

CAS [11434803]



Potassium cyanide (KCN) (263 mg, 4,05 mmol) was added to a stirred solution of 4-methylphenylbromide (500 mg, 2.7 mmol) in 3 ml of dry DMF.

The reaction mixture was stirred at 80° C for 18 h. The solution was cooled at room temperature and quenched by addition of a saturated aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub> (5 mL) until pH= 10. The compound was extracted with EtOAc (3 x 20 mL) and the combined organic layer were washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, and concentrated under reduced pressure.

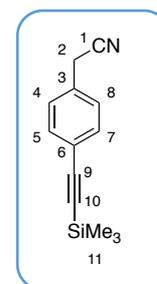
The residue was purified by silica gel chromatography (Pentane/EtOAc 5%).

Colorless oil,  $m_{\text{pure}} = 186$  mg

Yield: 53%

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  7.37 – 7.05 (m, 4H, H<sub>4/5/7/8</sub>), 3.72 (s, 2H, H<sub>2</sub>), 2.38 (s, 3H, H<sub>9</sub>)

## 2-(4-((trimethylsilyl)ethynyl)phenyl)acetonitrile **8**



To a stirred solution of 4-bromophenylacetonitrile (2 g, 10 mmol) in 20 mL of toluene was bubbled argon for 5 min. Then PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (140 mg, 2% mol), CuI (19 mg, 1% mol), diazabicyclooctane (DABCO) (2.24 g, 20 mmol) and trimethylsilylacetylene (TMSA) (2.4 ml, 17 mmol) were added. The solution

was stirred at 90° C for 4 h under argon. The resulting mixture was filtered over a pad of celite® and purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc 9/1) to afford the title compound as a colorless oil.

Colorless oil,  $m_{\text{pure}} = 1.9$  g

Yield: 83%

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  7.49 (d, 2H, H<sub>4/8</sub>), 7.29 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H, H<sub>5/7</sub>), 3.77 (s, 2H, H<sub>2</sub>), 0.28 (s, 9H H<sub>11</sub>)

## General procedure B

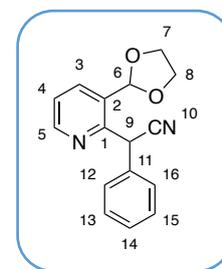
Sodium hydride (NaH) (64,8 mg, 1.62 mmol) was added to a stirred solution of 2-chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridine **2** (100 mg, 0.54 mmol) in dry THF (2 mL). Arylacetonitrile (113  $\mu$ L, 1.08 mmol) was added in one portion and the reaction mixture was refluxed for 3 h to 48 h. The solution was cooled to room temperature and neutralized by addition of water. The compound was extracted with EtOAc (3x). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated under reduced pressure. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/Et<sub>2</sub>O 6/4) to afford the title compound.

### 2-[3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridin-2-yl]-2-phenylacetonitrile **3a**

The compound is obtained following the general procedure B from the phenylacetonitrile (113  $\mu$ L, 1.08 mmol) for 3 h of reaction time.

Colorless oil,  $m_{\text{pure}} = 114.6$  mg

Yield: 80%



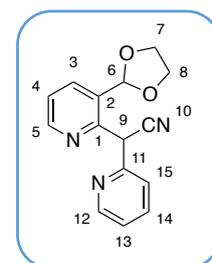
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) :  $\delta$  8.68 (dd, 1H,  $J = 4.77$  Hz,  $J = 1.65$  Hz, H<sub>5</sub>), 7.93 (dd, 1H,  $J = 7.70$  Hz,  $J = 1.28$  Hz, H<sub>3</sub>), 7.49-7.43 (m, 2H, H<sub>4,14</sub>), 7.40-7.28 (m, 4H, H<sub>12,13,15,16</sub>), 5.95 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.88 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 4.17-4.04 (m, 4H, H<sub>7</sub> H<sub>8</sub>) ppm;  
<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) :  $\delta$  153.1 (C<sub>1</sub>), 149.9 (C<sub>5</sub>), 135.8 (C<sub>3</sub>), 134.4, 131.3, 130.4, 128.9 (C<sub>12</sub>), 128.1 (C<sub>13</sub>), 123.1 (C<sub>4</sub>), 119.0 (C<sub>10</sub>), 100.4 (C<sub>6</sub>), 65.3 (C<sub>7/8</sub>), 65.2 (C<sub>7/8</sub>), 41.3 (C<sub>9</sub>)

HRMS (ESI +): calcd for C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H: 267.1134; found: 267.1134 [M+H]<sup>+</sup>

### 2-[3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridin-2-yl]-2-(pyridine-2-yl)acetonitrile **3b**

The compound is obtained following the general procedure B from 2-pyridylacetonitrile (602  $\mu$ L, 5.4 mmol) for 4 h of reaction time.

Pale yellow oil,  $m_{\text{pure}} = 238$  mg



Yield: 33%

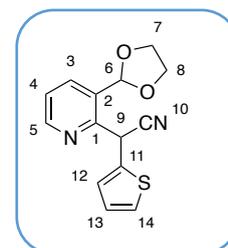
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.48 (dd,  $J = 4.8, 1.8$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 8.38 (dd, 1H, H<sub>12</sub>), 7.77 (dd,  $J = 7.9, 1.8$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.55 (td,  $J = 7.7, 1.9$  Hz, 1H, H<sub>13/14</sub>), 7.44 (dt,  $J = 7.9, 1.0$  Hz, 1H, H<sub>13/14</sub>), 7.14 (dd,  $J = 7.8, 4.8$  Hz, 1H, H<sub>4/15</sub>), 7.06 (dd,  $J = 7.6, 4.8, 1.2$  Hz, 1H, H<sub>4/15</sub>), 6.03 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.96 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 3.99 – 3.88 (m, 4H, H<sub>7/8</sub>).

### 2-[3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridin-2-yl]-2-(thiophen-2-yl)acetonitrile **3c**

The compound is obtained following the general procedure B from 2-thienylacetonitrile (57  $\mu\text{L}$ , 0.54 mmol) for 20 h of reaction time.

Brown oil,  $m_{\text{pure}} = 84.5$  mg

Yield: 57%



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.68 (dd,  $J = 5.1, 1.6$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.88 (dd,  $J = 7.9, 1.7$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.31 (dd,  $J = 7.9, 4.8$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 7.25 (d,  $J = 5.0$  Hz, 1H, H<sub>14</sub>), 7.14 (d,  $J = 3.5$  Hz, 1H, H<sub>12</sub>), 6.94 (t,  $J = 5.0, 3.8$  Hz, 1H, H<sub>13</sub>), 6.13 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.89 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 4.15 – 4.03 (m, 4H, H<sub>7</sub> H<sub>8</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  152.7 (C<sub>1</sub>), 150.3 (C<sub>5</sub>), 136.3 (C<sub>2</sub>), 135.7 (C<sub>3</sub>), 130.7 (C<sub>11</sub>), 127.3, 126.8, 126.6, 123.3 (C<sub>4</sub>), 118.5 (C<sub>10</sub>), 100.7 (C<sub>6</sub>), 65.3 (C<sub>7/8</sub>), 65.2 (C<sub>7/8</sub>), 37.2 (C<sub>9</sub>).

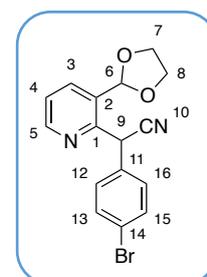
HRMS (ESI +): calcd for C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 273.0698; found: 273.0699 [M+H]<sup>+</sup>

### 2-(4-bromophenyl)-2-[3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridin-2-yl]acetonitrile **3d**

The compound is obtained following the general procedure B from 4-bromophenylacetonitrile (1.06 g, 5.4 mmol) for 5 h of reaction time.

$m_{\text{pure}} = 930$  mg

Yield: 99%



**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.67 (dd,  $J = 4.8, 1.7$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.91 (dd,  $J = 7.9, 1.7$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.50 (d, 2H, H<sub>13</sub> H<sub>15</sub>), 7.38 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H, H<sub>12</sub> H<sub>16</sub>), 7.31 (dd,  $J = 11.1, 3.3$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 5.89 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.87 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 4.19 – 3.97 (m, 4H, H<sub>7</sub> H<sub>8</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  152.8, 150.3 (C<sub>5</sub>), 135.8 (C<sub>3</sub>), 133.8, 132.0 (C<sub>12</sub>/C<sub>14</sub>), 130.9 (C<sub>11</sub>/C<sub>15</sub>), 129.9, 123.2 (C<sub>2</sub>), 122.4, 118.8 (C<sub>10</sub>), 100.8 (C<sub>6</sub>), 65.3 (C<sub>7/8</sub>), 65.2 (C<sub>7/8</sub>), 40.8 (C<sub>9</sub>).

**HRMS** (ESI +): calcd for C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H: 345.0239; found: 345.0240 [M+H]<sup>+</sup>

### 2-[3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridin-2-yl]-2-(4-methoxyphenyl)acetonitrile **3e**

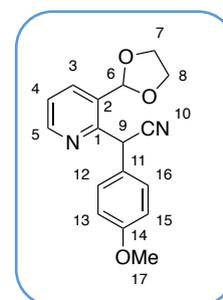
The compound is obtained following the general procedure B from 4-methoxyphenylacetonitrile (80  $\mu$ L, 1.77 mmol) for 48 h of reaction time.

1<sup>st</sup> purification on silica gel (Cyclohexane/Et<sub>2</sub>O 5/5)

2<sup>nd</sup> purification on silica gel (DCM/MeOH 1%)

Yellow oil, m<sub>pure</sub> = 270 mg

Yield: 84%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.66 (d,  $J = 4.7, 1.4$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.94 (d,  $J = 7.7, 1.2$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.45 (dd,  $J = 7.8, 4.7$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 7.37 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H, H<sub>13</sub>/H<sub>15</sub>), 6.93 (d, 2H, H<sub>12</sub>/H<sub>16</sub>), 5.99 (d,  $J = 2.2$  Hz, 2H, H<sub>6</sub> H<sub>9</sub>), 4.13-3.99 (m, 4H, H<sub>7</sub> H<sub>8</sub>), 3.73 (s, 3H, H<sub>17</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  159.3, 153.9 (C<sub>1</sub>), 150.6 (C<sub>5</sub>), 136.6 (C<sub>3</sub>), 130.9, 129.6 (C<sub>13</sub>/C<sub>15</sub>), 127.6, 123.8 (C<sub>4</sub>), 120.4, 114.6 (C<sub>12</sub>/C<sub>16</sub>), 100.4 (C<sub>6</sub>), 65.4 (C<sub>7/8</sub>), 65.4 (C<sub>7/8</sub>), 55.6 (C<sub>17</sub>), 39.8 (C<sub>9</sub>).

**HRMS** (ESI +): calcd for C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>H: 319.1059; found: 319.1059 [M+Na]<sup>+</sup>

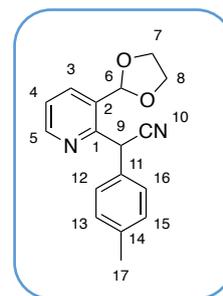
### 2-[3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridin-2-yl]-2-(4-methylphenyl)acetonitrile **3f**

The compound is obtained following the general procedure B from 4-methylphenylacetonitrile (70  $\mu$ L, 0.54 mmol) for 24 h of reaction time.

Yellow oil

$m_{\text{pure}} = 120$  mg

Yield: 79%



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.66 (dd,  $J = 4.8, 1.9$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.88 (dd,  $J = 8.0, 2.1$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.33 (d, 2H, H<sub>12</sub> H<sub>16</sub>), 7.27 (dd, 1H, H<sub>4</sub>), 7.14 (d, 2H, H<sub>13</sub> H<sub>15</sub>), 5.85 (s, 2H, H<sub>6</sub> H<sub>9</sub>), 4.18 – 3.99 (m, 4H, H<sub>7</sub> H<sub>8</sub>), 2.31 (s, 3H, H<sub>17</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  153.5 (C<sub>1</sub>), 150.2 (C<sub>5</sub>), 138.0 (C<sub>2</sub>), 135.3 (C<sub>3</sub>), 131.6 (C<sub>11</sub>), 130.9 (C<sub>14</sub>), 129.6 (C<sub>12</sub>, C<sub>16</sub>), 128.1 (C<sub>13</sub>, C<sub>15</sub>), 122.9 (C<sub>4</sub>), 119.3 (C<sub>10</sub>), 100.6 (C<sub>6</sub>), 65.3 (C<sub>7/8</sub>), 65.2 (C<sub>7/8</sub>), 41.2 (C<sub>9</sub>), 21.1 (C<sub>17</sub>).

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H: 281.1285; found: 281.1285 [M+H]<sup>+</sup>

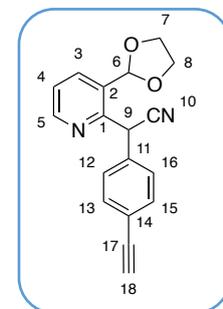
### 2-[3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridine-2-yl]-2-(4-ethynylphenyl)acetonitrile **3g**

The compound is obtained following the general procedure B from 2-(4-((trimethylsilyl)ethynyl)phenyl)acetonitrile **8** (1 g, 4.68 mmol) for 20 h of reaction time. The deprotection of the terminal alkyne occurred during the reaction.

Purification by gel silica chromatography (Cyclohexane/Et<sub>2</sub>O 3/7)

Brown oil,  $m_{\text{pure}} = 420$  mg

Yield: 62%



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.65 (dd,  $J = 4.8, 1.8$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.89 (dd,  $J = 7.8, 1.8$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.51 – 7.38 (m, 4H, H<sub>12</sub>/H<sub>13</sub>/H<sub>15</sub>/H<sub>16</sub>), 7.29 (dd,  $J = 7.8, 4.8$  Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 5.87 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H, H<sub>6</sub>/H<sub>9</sub>), 4.21 – 4.01 (m, 5H, H<sub>7</sub>/H<sub>8</sub>), 3.07 (s, 1H, H<sub>18</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  152.9 (C<sub>1</sub>), 150.3 (C<sub>5</sub>), 135.6 (C<sub>3</sub>), 135.2, 132.6 (C<sub>13</sub>/C<sub>15</sub>), 131.0, 128.2 (C<sub>12</sub>/C<sub>16</sub>), 123.1 (C<sub>4</sub>), 122.2, 118.7 (C<sub>10</sub>), 100.8 (C<sub>6</sub>), 82.9, 78.0 (C<sub>18</sub>), 65.3 (C<sub>7/8</sub>), 65.2 (C<sub>7/8</sub>), 41.2 (C<sub>9</sub>).

**HRMS** (ESI +): calcd for C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H: 291.1134; found: 291.1134 [M+H]<sup>+</sup>

### General procedure C

A 37% solution of hydrochloric acid (w/w, 328  $\mu$ L, 3,94 mmol) was added to a stirred solution of the corresponding aryl-2-[3-(1,3-dioxolan-2-yl)aryl-2-yl]acetonitrile **3** (1.3 mmol) in THF (15 mL). The solution was stirred at room temperature for 20 h. The mixture was concentrated under vacuum to yield the corresponding hydrochloride salt.

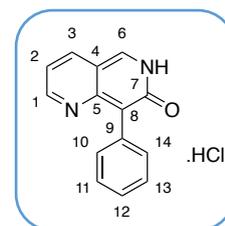
### 8-phenyl-6,7-dihydro-1,6-naphthyridin-7-one, hydrochloride salt **4a**

The compound is obtained following the general procedure C from compound **3a** (350 mg, 1.3 mmol).

Orange powder  $m_{\text{pure}} = 338$  mg

Yield: quantitative

Mp > 300° C



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  9.16 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 9.01 (dd,  $J = 8.3, 1.7$  Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 8.77 (dd,  $J = 5.6, 1.7$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.64 – 7.56 (m, 3H, H<sub>11</sub> H<sub>12</sub> H<sub>13</sub>), 7.56 – 7.48 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 7.40 (d, 2H, H<sub>10</sub> H<sub>14</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  162.1 (C<sub>7</sub>), 153.2 (C<sub>3</sub>), 151.6 (C<sub>1</sub>), 146.8 (C<sub>6</sub>), 141.6, 130.4 (C<sub>10</sub>/C<sub>14</sub>), 129.9 (C<sub>12</sub>), 129.8 (C<sub>11</sub>/C<sub>13</sub>), 129.1, 117.1 (C<sub>2</sub>), 115.5, 114.9.

**HRMS** (ESI+): calcd for C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>OH: 223.0871; found: 223.0871 [M+H]<sup>+</sup>

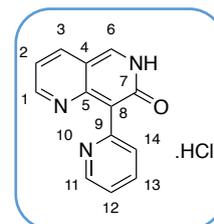
### 8-(pyridin-2-yl)-6,7-dihydro-1,6-naphthyridin-7-one, hydrochloride salt **4b**

The compound is obtained following the general procedure C from compound **3b** (114 mg, 0.45 mmol).

Yellow powder,  $m_{\text{pure}} = 115$  mg

Yield: quantitative

$M_p > 300^\circ \text{C}$



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  8.32 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 8.28 (d,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 7.97 (ddd,  $J = 8.6, 7.0, 1.3$  Hz, 1H), 7.66 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 7.40 (t,  $J = 6.9$  Hz, 1H), 7.24 – 7.17 (m, 1H), 7.12 (s, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  148.6, 143.9, 142.5, 141.2, 139.3, 139.1, 121.4, 121.1, 117.5, 117.3, 116.9, 83.1, 62.5.

**HRMS** (ESI +): calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}_3\text{OH}$ : 223.0824; found: 224.0824  $[\text{M}+\text{H}]^+$

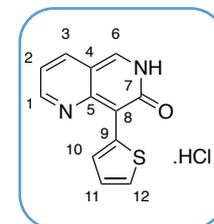
### 8-(thiophen-2-yl)-6,7-dihydro-1,6-naphthyridin-7-one, hydrochloride salt **4c**

The compound is obtained following the general procedure C from compound **3c** (67.5 mg, 0.25 mmol).

Black solid,  $m_{\text{pure}} = 65$  mg

Yield: quantitative

$M_p > 300^\circ \text{C}$



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  9.08 (s, 1H,  $\text{H}_6$ ), 8.90 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H,  $\text{H}_1$ ), 8.80 (d,  $J = 5.5$  Hz, 1H,  $\text{H}_3$ ), 7.72 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H,  $\text{H}_{12}$ ), 7.53 – 7.42 (m, 1H,  $\text{H}_2$ ), 7.35 – 7.16 (m, 2H,  $\text{H}_{10}$   $\text{H}_{11}$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  161.9 ( $\text{C}_7$ ), 153.5 ( $\text{C}_3$ ), 151.2 ( $\text{C}_1$ ), 147.1 ( $\text{C}_6$ ), 130.8, 129.9, 128.8, 128.2, 117.3 ( $\text{C}_2$ ), 62.5.

**HRMS** (ESI+): Calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\text{OSH}$  229.0430; found 229.0430  $[\text{M}+\text{H}]^+$

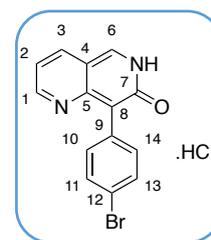
### 8-(4-bromophenyl)-6,7-dihydro-1,6-naphthyridin-7-one, hydrochloride salt **4d**

The compound is obtained following the general procedure C from compound **3d** (565 mg, 1.63 mmol)

$m_{\text{pure}} = 540 \text{ mg}$

Yield: quantitative

$M_p > 300^\circ \text{ C}$



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  9.18 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 9.02 (dd,  $J = 8.4, 1.7 \text{ Hz}$ , 1H, H<sub>1</sub>), 8.79 (dd,  $J = 5.6, 1.7 \text{ Hz}$ , 1H, H<sub>3</sub>), 7.76 (d,  $J = 8.4 \text{ Hz}$ , 1H, H<sub>12</sub> H<sub>13</sub>), 7.52 (dd,  $J = 8.4, 5.6 \text{ Hz}$ , 1H, H<sub>2</sub>), 7.32 (d,  $J = 8.4 \text{ Hz}$ , 1H, H<sub>10</sub> H<sub>14</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  153.3, 151.7, 147.1, 132.9 (C<sub>10</sub> C<sub>14</sub>), 132.3 (C<sub>11</sub> C<sub>13</sub>), 128.2, 123.6, 117.1, 115.5, 62.5.

**HRMS** (ESI+): calcd for C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>BrN<sub>2</sub>O: 299.99; found: 300.99 [M+H]<sup>+</sup>

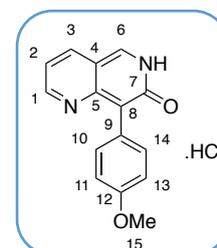
### 8-(4-methoxyphenyl)-6,7-dihydro-1,6-naphthyridin-7-one, hydrochloride salt **4e**

The compound is obtained following the general procedure C from compound **3e** (50 mg, 0.17 mmol).

Orange solid,  $m_{\text{pure}} = 53 \text{ mg}$

Yield: quantitative

$M_p > 300^\circ \text{ C}$



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  9.13 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 9.00 (dd,  $J = 8.4, 1.7 \text{ Hz}$ , 1H, H<sub>1</sub>), 8.77 (dd,  $J = 5.6, 1.7 \text{ Hz}$ , 1H, H<sub>3</sub>), 7.50 (dd,  $J = 8.4, 5.6 \text{ Hz}$ , 1H, H<sub>2</sub>), 7.37 – 7.28 (m, 2H, H<sub>11</sub>/H<sub>13</sub>), 7.17 – 7.06 (m, 2H, H<sub>10</sub>/H<sub>14</sub>), 3.86 (s, 3H, H<sub>15</sub>)

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  162.2 (C<sub>7</sub>), 159.9, 153.1 (C<sub>3</sub>), 151.6 (C<sub>1</sub>), 146.3 (C<sub>6</sub>), 141.5, 131.9 (C<sub>11</sub>/C<sub>13</sub>), 121.3, 117.0 (C<sub>2</sub>), 115.5, 115.2 (C<sub>10</sub>/C<sub>14</sub>), 114.6, 55.4 (C<sub>15</sub>).

**HRMS** (ESI+): calcd for C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>K: 291.0536; found 291.0934 [M+K]<sup>+</sup>

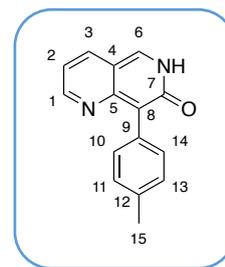
### 8-(4-methylphenyl)-6,7-dihydro-1,6-naphthyridin-7-one, hydrochloride salt **4f**

The compound is obtained following the general procedure C from compound **3f** (108 mg, 0.38 mmol).

Orange solid,  $m_{\text{pure}} = 107$  mg

Yield: quantitative

$M_p > 300^\circ \text{C}$



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  9.14 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 9.00 (dd,  $J = 8.4, 1.7$  Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 8.76 (dd,  $J = 5.6, 1.7$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.50 (dd,  $J = 8.3, 5.6$  Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 7.41 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H, H<sub>10</sub> H<sub>14</sub>), 7.28 (d, 2H, H<sub>11</sub> H<sub>13</sub>), 2.39 (s, 3H, H<sub>15</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  162.2 (C<sub>7</sub>), 153.2 (C<sub>3</sub>), 151.6 (C<sub>1</sub>), 146.4 (C<sub>6</sub>), 141.5, 140.3, 130.3 (C<sub>10</sub> C<sub>14</sub>), 130.2 (C<sub>11</sub> C<sub>13</sub>), 125.8, 117.0 (C<sub>2</sub>), 115.5, 115.1, 62.5, 20.5 (C<sub>15</sub>).

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>OH 237.1022; found 237.1025 [M+H]<sup>+</sup>

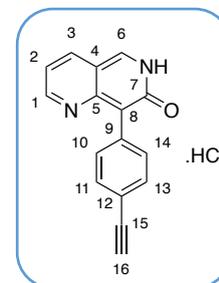
### 8-(4-methoxyphenyl)-6,7-dihydro-1,6-naphthyridin-7-one, hydrochloride salt **4g**

The compound is obtained following the general procedure C from compound **3g** (338 mg, 1.16 mmol)

Yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 320$  mg

Yield: quantitative

$M_p > 300^\circ \text{C}$

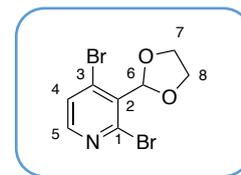


$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.16 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 8.90 (dd,  $J = 4.6, 1.8$  Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 8.69 (dd,  $J = 8.4, 1.8$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.66 – 7.48 (m, 4H, H<sub>10</sub>/H<sub>11</sub>/H<sub>13</sub>/H<sub>14</sub>), 7.49 – 7.43 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 4.24 (s, 1H, H<sub>16</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  161.2 (C<sub>7</sub>), 154.7 (C<sub>1</sub>), 150.6 (C<sub>6</sub>), 134.0, 132.1 (C<sub>10</sub>/C<sub>14</sub>), 131.65 (C<sub>11</sub>/C<sub>13</sub>), 121.1, 118.9 (C<sub>2</sub>), 118.1, 84.1, 81.4 (C<sub>16</sub>).

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H: 247.0871, found: 247.0866 [M+H]<sup>+</sup>

### 2,4-dibromo-3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridine 13



The compound is obtained following the general procedure A from 2,4-dibromo-pyridine carboxaldehyde (1 g, 3.7 mmol) for 4 h of reaction time.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 1.058$  g

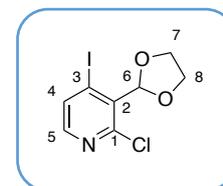
Yield: 93%

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.13 (dd,  $J = 5.2$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.52 (dd,  $J = 5.2$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 6.36 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 4.34 (d,  $J = 6.6$  Hz, 2H, H<sub>7/8</sub>), 4.11 (d,  $J = 6.9$  Hz, 2H, H<sub>7/8</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  150.2 (C<sub>5</sub>), 144.2 (C<sub>1</sub>), 135.4 (C<sub>3</sub>), 130.6 (C<sub>2</sub>), 129.1 (C<sub>4</sub>), 103.6 (C<sub>6</sub>), 66.1 (C<sub>7</sub> C<sub>8</sub>) ppm.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>H 307.8916; Found: 307.8918 [M+H]<sup>+</sup>

### 4-bromo-2-chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridine 17



The compound is obtained following the general procedure A from 2-chloro-4-iodo-pyridine carboxaldehyde (1 g, 3.74 mmol) for 4 h of reaction time. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/ethyl acetate 9/1) to afford the title compound.

Yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 1.1$  g

Yield: 94%

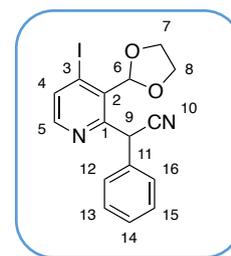
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  7.94 (dd,  $J = 5.1, 1.2$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.82 (dd, 1H, H<sub>4</sub>), 6.26 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 4.35 (d,  $J = 6.7$  Hz, 2H, H<sub>7/8</sub>), 4.10 (d, 2H, H<sub>7/8</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  151.5 (C<sub>5</sub>), 149.6 (C<sub>1</sub>), 135.7 (C<sub>3</sub>), 130.7, 109.1, 104.1 (C<sub>6</sub>), 66.0 (C<sub>7</sub>/C<sub>8</sub>).

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>ClINO<sub>2</sub>H 311.9283; Found : 311.9284 [M+H]<sup>+</sup>

#### 4-iodo-2-[3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridine-2-yl]-2-phenylacetonitrile **18**

The compound is obtained following the general procedure B from compound **17** (200 mg, 0.64 mmol) for 3 h of reaction time. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/ethyl acetate 9/1) to afford the title compound.



$m_{\text{pure}} = 90$  mg

Yield: 36%

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  8.37 (d,  $J = 5.3$  Hz, 1H), 7.50 – 7.33 (m, 5H), 7.18 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 6.35 (s, 1H), 6.17 (s, 1H), 4.43 – 4.00 (m, 5H).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  150.7, 149.0, 134.4, 129.2, 128.4, 127.6, 126.8, 124.8, 118.4, 101.5, 65.0, 65.0, 36.6.

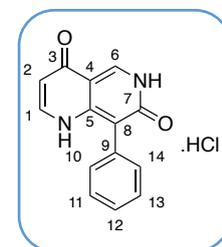
**HRMS** (ESI+): calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{IN}_2\text{O}_2$ : 392.0095, found: 393.0095  $[\text{M}+\text{H}]^+$

#### 8-phenyl-6,7-dihydro-1,6-naphthyridin-4-ol, hydrochloride salt **21**

The compound is obtained following the general procedure C from compound **18** (80 mg, 0.2 mmol) for 48 h of reaction time.

Pale yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 57$  mg

Yield: quantitative



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.77 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.58 – 7.22 (m, 6H), 6.97 (d,  $J = 6.5$  Hz, 1H), 5.79 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  161.8, 161.4, 143.1, 140.1, 135.2, 134.2, 131.1, 129.2, 128.4, 127.6, 120.7, 109.3, 100.8, 63.2, 39.6.

**HRMS** (ESI+): calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2\text{H}$ : 238.0821, found 238.0821  $[\text{M}+\text{H}]^+$

## General procedure D

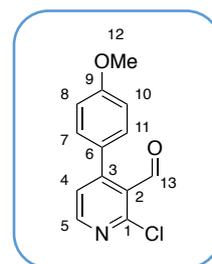
Arylbronic acid derivative (1 eq) was added to a stirred solution of 2-chloro-4-iodo-3-pyridinecarboxaldehyde (250 mg, 0.93 mmol), potassium carbonate (257 mg, 1.86 mmol) in a binary mixture of THF/H<sub>2</sub>O (v/v 4/1). The reaction mixture was degassed by freeze-pump-thaw (3 cycles) and tetrakis(triphenylphosphine) palladium (3%) was added. The reaction mixture was refluxed for 20 to 48 hours. The reaction was quenched by addition of saturated aqueous solution of NH<sub>4</sub>Cl and the compound was extracted with EtOAc (x3). The combined organic layers were washed with H<sub>2</sub>O, dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc 9/1).

### 2-chloro-4-(4-methoxyphenyl)nicotinaldehyde **23a**

The compound is obtained following the general procedure D from 4-methoxyphenylboronic acid (142 mg, 0.93 mmol) for 20 h of reaction time.

Yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 177$  mg

Yield: 88%



<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.07 (s, 1H, H<sub>13</sub>), 8.42 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.23 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 7.21 – 7.17 (m, 2H, H<sub>8</sub>/H<sub>10</sub>), 7.03 – 6.87 (m, 2H, H<sub>7</sub>/H<sub>11</sub>), 3.80 (s, 3H, H<sub>12</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  190.1 (C<sub>13</sub>), 160.8, 154.2 (C<sub>1</sub>), 151.3 (C<sub>5</sub>), 151.0, 130.7 (C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>), 128.0, 127.5, 124.6 (C<sub>4</sub>), 114.3, 55.4 (C<sub>12</sub>).

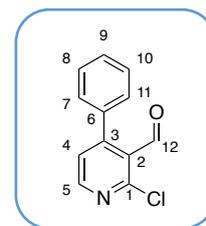
HRMS (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>ClNO<sub>2</sub>H: 248.0473, found: 248.0473 [M+H]<sup>+</sup>

### 2-chloro-4-phenylnicotinaldehyde **23b**

The compound is obtained following the general procedure D from phenylboronic acid (228 mg, 1.87 mmol) for 48 h of reaction time.

Yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 207$  mg

Yield: 51%



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.21 (s, 1H, H<sub>12</sub>), 8.56 (dd,  $J = 5.0$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.56 – 7.42 (m, 3H, H<sub>8</sub>, H<sub>9</sub>, H<sub>10</sub>), 7.42 – 7.24 (m, 3H, H<sub>4</sub>, H<sub>7</sub>, H<sub>11</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  189.8 (C<sub>12</sub>), 154.5 (C<sub>1</sub>), 151.5 (C<sub>5</sub>), 151.2 (C<sub>2</sub>), 135.6, 129.4 (C<sub>9</sub>), 129.0 (C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>), 128.7 (C<sub>7</sub>, C<sub>11</sub>), 128.0, 124.8 (C<sub>4</sub>).

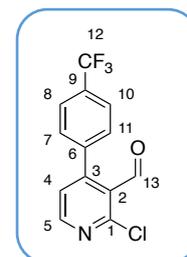
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>ClNOH 218.0367, found 218.0366 [M+H]<sup>+</sup>

### 2-chloro-4-(4-(trifluoromethyl)phenyl)nicotinaldehyde **23c**

The compound is obtained following the general procedure D from 4-trifluoromethylphenylboronic acid (355 mg, 1.87 mmol) for 48 h of reaction time.

Yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 200$  mg

Yield: 37%



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.25 (s, 1H, H<sub>13</sub>), 8.51 (d,  $J = 5.0$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.65 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H, H<sub>8</sub>, H<sub>10</sub>), 7.34 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H, H<sub>7</sub>, H<sub>11</sub>), 7.19 (d,  $J = 5.0$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  189.5 (C<sub>13</sub>), 152.6, 152.6, 152.1, 139.8, 129.1, 127.6, 125.6, 125.6, 125.5, 125.5, 125.0 (C<sub>4</sub>).

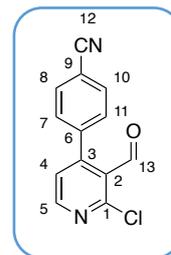
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>13</sub>H<sub>7</sub>ClF<sub>3</sub>NOH: 286.0247, found 286.0204 [M+H]<sup>+</sup>

#### 4-(2-chloro-3-formylpyridin-4-yl)benzonitrile **23d**

The compound is obtained following the general procedure D from 4-cyanophenylboronic acid (290 mg, 1.97 mmol) for 48 h of reaction time.

$m_{\text{pure}} = 77$  mg

Yield: 19%



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.31 (s, 1H, H<sub>13</sub>), 8.53 (d,  $J = 5.0$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.68 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H, H<sub>8</sub>, H<sub>10</sub>), 7.32 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H, H<sub>7</sub>, H<sub>11</sub>), 7.16 (d,  $J = 5.0$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>).

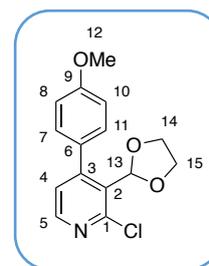
$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  189.4 (C<sub>13</sub>), 153.3, 152.3 (C<sub>5</sub>), 151.8, 141.1, 132.2 (C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>), 129.2 (C<sub>7</sub>, C<sub>11</sub>), 127.2, 124.9 (C<sub>4</sub>), 118.1, 113.1.

#### 2-chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)-4-(4-methoxyphenyl)pyridine **24a**

The compound is obtained following the general procedure A from 2-chloro-4-(4-methoxyphenyl)nicotinaldehyde **23a** (177 mg, 0.81 mmol) for 4 h of reaction time.

Yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 140$  mg

Yield: 59%



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.27 (d,  $J = 4.9$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.20 (d, 2H, H<sub>18</sub>, H<sub>10</sub>), 7.04 (d,  $J = 4.9$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 6.88 (d, 2H, H<sub>7</sub>, H<sub>11</sub>), 5.92 (s, 1H, H<sub>13</sub>), 4.01 – 3.87 (m, 2H, H<sub>14/15</sub>), 3.87 – 3.66 (m, 5H, H<sub>14/15</sub>, H<sub>12</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  159.8, 154.1, 151.5, 148.7 (C<sub>5</sub>), 130.2 (C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>), 129.9, 127.6, 124.7 (C<sub>4</sub>), 113.5 (C<sub>7</sub>, C<sub>11</sub>), 101.1 (C<sub>13</sub>), 65.8 (C<sub>14</sub>, C<sub>15</sub>), 55.3 (C<sub>12</sub>).

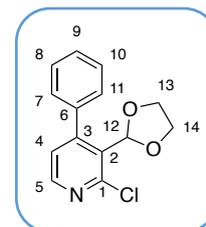
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>ClNO<sub>3</sub>H: 292.0762, found: 292.0735 [M+H]<sup>+</sup>

### 2-chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)-4-phenylpyridine **24b**

The compound is obtained following the general procedure A from 2-chloro-4-(phenyl)nicotinaldehyde **23b** (207 mg, 0.95 mmol) for 6 h of reaction time.

$m_{\text{pure}} = 150 \text{ mg}$

Yield: 60%



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.31 (d,  $J = 5.0 \text{ Hz}$ , 1H), 7.35 (d,  $J = 5.2, 1.9 \text{ Hz}$ , 3H), 7.28 – 7.22 (m, 2H), 7.05 (d,  $J = 5.0 \text{ Hz}$ , 1H), 5.92 (s, 1H), 3.96 – 3.71 (m, 4H).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  154.3, 151.7, 148.8, 137.8, 128.8, 128.2, 128.0, 127.85, 124.7, 101.1, 65.7.

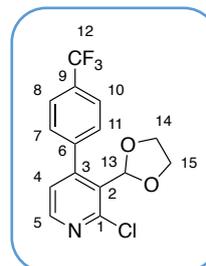
HRMS (ESI+): calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClNO}_2\text{H}$ : 262.0657, found: 262.0629  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 2-chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)-4-(4-(trifluoromethyl)phenyl)pyridine **24c**

The compound is obtained following the general procedure A from 2-chloro-4-(4-(trifluoromethyl)phenyl)nicotinaldehyde **23c** (200 mg, 0.7 mmol) for 4 h of reaction time.

$m_{\text{pure}} = 118 \text{ mg}$

Yield: 51%



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.35 (d,  $J = 4.9 \text{ Hz}$ , 1H), 7.61 (d,  $J = 8.1 \text{ Hz}$ , 2H), 7.38 (d, 2H), 7.03 (d,  $J = 4.9 \text{ Hz}$ , 1H), 5.94 (s, 1H), 3.83 – 3.61 (m, 4H).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  152.7, 152.0, 149.2, 141.8, 129.1, 127.9, 124.8, 124.7, 124.6, 124.6, 101.1, 65.5.

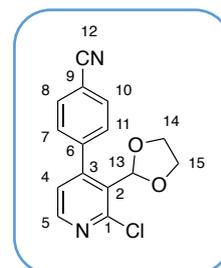
HRMS (ESI+): calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClF}_3\text{NO}_2\text{H}$ : 330.0509, found 330.0503  $[\text{M}+\text{H}]^+$

#### 4-(2-chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridin-4-yl)benzotrile **24d**

The compound is obtained following the general procedure A from 4-(2-chloro-3-formylpyridin-4-yl)benzotrile **23d** (77 mg, 0.32 mmol) for 4 h of reaction time.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 50$  mg

Yield: 55%



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.43 (d,  $J = 4.9, 0.9$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.71 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.43 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.07 (d,  $J = 4.9, 0.8$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 6.02 (s, 1H, H<sub>13</sub>), 3.88 – 3.72 (m, 2H, H<sub>14</sub>/H<sub>15</sub>), 3.69 – 3.59 (m, 2H, H<sub>14</sub>/H<sub>15</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  152.1, 152.1, 149.4 (C<sub>5</sub>), 143.1, 131.4 (C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>), 129.5 (C<sub>7</sub>, C<sub>11</sub>), 127.8, 124.5 (C<sub>4</sub>), 118.3, 112.0, 101.1 (C<sub>13</sub>), 65.4 (C<sub>14</sub>, C<sub>15</sub>).

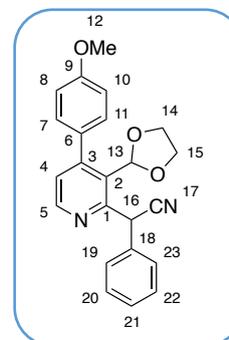
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H: 287.0587, found: 287.0582 [M+H]<sup>+</sup>

#### 2-(3-(1,3-dioxolan-2-yl)-4-(4-methoxyphenyl)pyridin-2-yl)-2-phenylacetone nitrile **25a**

The compound is obtained following the general procedure B from 2-chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)-4-(4-methoxyphenyl)pyridine **24a** (70 mg, 0.24 mmol) for 4 h of reaction time.

$m_{\text{pure}} = 55$  mg

Yield: 62%



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.52 (d,  $J = 5.0$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.56 – 7.38 (m, 2H, H<sub>8/10</sub>), 7.36 – 7.12 (m, 6H, H<sub>19/20/21/22/23/4</sub>), 6.97 – 6.83 (m, 2H, H<sub>7/11</sub>), 6.02 (s, 1H), 5.66 (s, 1H), 4.30 – 4.06 (m, 2H, H<sub>14/15</sub>), 3.94 – 3.81 (m, 2H, H<sub>14/15</sub>), 3.78 (s, 3H, H<sub>12</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  160.0, 155.8, 152.3, 150.2, 135.7, 130.9, 130.4, 129.6, 128.7, 128.2, 127.7, 125.9, 124.3, 119.7, 113.9, 100.9, 64.8, 64.7, 55.3, 40.8.

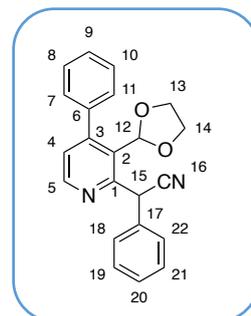
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>H: 373.1552, found: 373.1547 [M+H]<sup>+</sup>

## 2-(3-(1,3-dioxolan-2-yl)-4-phenylpyridin-2-yl)-2-phenylacetonitrile **25b**

The compound is obtained following the general procedure B from 2-chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)-4-phenylpyridine **24b** (150 mg, 0.57 mmol) for 30 min of reaction time.

$m_{\text{pure}} = 52 \text{ mg}$

Yield: 27%



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.58 (d,  $J = 4.9 \text{ Hz}$ , 1H, H<sub>5</sub>), 7.64 (d,  $J = 8.0 \text{ Hz}$ , 2H), 7.52 – 7.36 (m, 4H), 7.32 – 7.15 (m, 3H), 7.04 (d,  $J = 4.9 \text{ Hz}$ , 1H, H<sub>4</sub>), 6.01 (s, 1H, H<sub>15</sub>), 5.53 (s, 1H, H<sub>12</sub>), 4.23 – 3.95 (m, 2H, H<sub>13/14</sub>), 3.92 – 3.69 (m, 2H, H<sub>13/14</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  156.1, 151.1, 150.3, 141.1, 135.4, 129.4, 128.7, 128.2, 127.9, 126.0, 125.5, 125.5, 125.4, 124.0, 119.5, 100.6, 64.9, 64.8, 40.9.

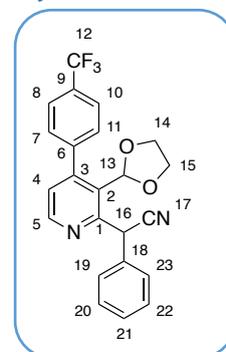
**HRMS** (ESI+): calcd for C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H: 343.1447, found: 343.1441 [M+H]<sup>+</sup>

## 2-(3-(1,3-dioxolan-2-yl)-4-(4-(trifluoromethyl)phenyl)pyridin-2-yl)-2-phenylacetonitrile **25c**

The compound is obtained following the general procedure B 2-chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)-4-(4-(trifluoromethyl)phenyl)pyridine **24c** (118 mg, 0.36 mmol) for 30 min of reaction time.

$m_{\text{pure}} = 41 \text{ mg}$

Yield: 41%



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.55 (d,  $J = 4.9 \text{ Hz}$ , 1H), 7.52 – 7.45 (m, 2H), 7.40 – 7.34 (m, 3H), 7.32 – 7.24 (m, 4H), 7.06 (d,  $J = 4.9 \text{ Hz}$ , 1H), 6.02 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 4.29 – 4.08 (m, 2H), 3.95 – 3.75 (m, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  155.9, 152.6, 150.1, 137.4, 135.7, 129.0, 128.7, 128.3, 128.5, 128.2, 127.7, 125.9, 124.2, 119.7, 100.8, 64.8, 64.8, 40.8.

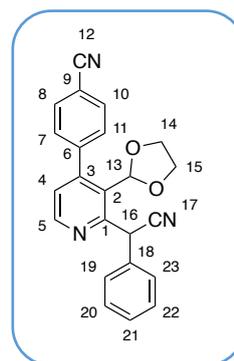
**HRMS** (ESI+) calcd for C<sub>23</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: 411.132, found: 411.1312 [M+H]<sup>+</sup>

#### 4-(2-(cyano(phenyl)methyl)-3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridin-4-yl)benzotrile **25d**

The compound is obtained following the general procedure B from 4-(2-chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridin-4-yl)benzotrile **24d** (50 mg, 0.17 mmol) for 5 h of reaction time.

$m_{\text{pure}} = 40 \text{ mg}$

Yield: 64%



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.62 (d,  $J = 5.0 \text{ Hz}$ , 1H), 7.69 (d,  $J = 7.9 \text{ Hz}$ , 2H), 7.47 (d,  $J = 7.4 \text{ Hz}$ , 2H), 7.42 (d,  $J = 7.9 \text{ Hz}$ , 2H), 7.33 – 7.21 (m, 3H), 7.04 (d,  $J = 5.0 \text{ Hz}$ , 1H), 6.00 (s, 1H), 5.51 (s, 1H), 4.27 – 3.96 (m, 3H), 3.90 – 3.74 (m, 2H).

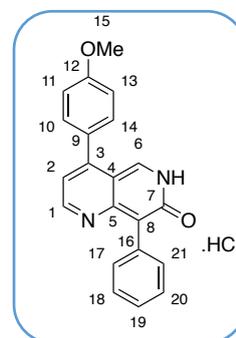
$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  156.1, 150.5, 150.4, 142.1, 135.3, 132.2, 129.7, 128.8, 128.2, 127.9, 125.9, 123.7, 119.4, 118.1, 112.7, 100.5, 64.9, 64.9, 41.0.

#### 4-(4-methoxyphenyl)-8-phenyl-1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one, hydrochloride salt **26a**

The compound is obtained following the general procedure C from **25a** (55 mg, 0.15 mmol) for 20 h of reaction time.

Red powder,  $m_{\text{pure}} = 54 \text{ mg}$

Yield: quantitative



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.95 – 8.75 (m, 2H,  $\text{H}_{1/6}$ ), 7.70 (d,  $J = 8.3 \text{ Hz}$ , 2H,  $\text{H}_{11/13}$ ), 7.58 – 7.36 (m, 6H,  $\text{H}_{17/18/19/20/21/2}$ ), 7.23 (d,  $J = 8.4 \text{ Hz}$ , 2H,  $\text{H}_{10/14}$ ), 3.91 (s, 3H,  $\text{H}_{12}$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  161.4, 161.3, 152.8, 148.6, 131.9, 131.6, 128.6, 128.1, 127.6, 118.6, 116.1, 115.1, 55.9.

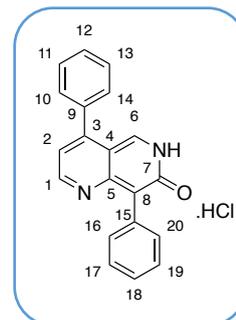
**HRMS** (ESI+) calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{H}$ : 329.1290, found: 329.1288  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 4,8-diphenyl-1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one, hydrochloride salt **26b**

The compound is obtained following the general procedure C from **25b** (52 mg, 0.15 mmol) for 20 h of reaction time.

Burgundy powder,  $m_{\text{pure}} = 50$  mg

Yield: quantitative



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8.93 (d,  $J = 4.5$  Hz, 1H,  $\text{H}_1$ ), 8.75 (s, 1H,  $\text{H}_6$ ), 8.00 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H,  $\text{H}_{10/14}$ ), 7.96 – 7.84 (m, 3H,  $\text{H}_{11/12/13}$ ), 7.61 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H,  $\text{H}_2$ ), 7.47 – 7.30 (m, 5H,  $\text{H}_{16/17/18/19/20}$ ).

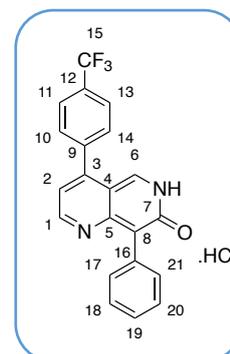
**HRMS** (ESI+) calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{OH}$ : 299.1184, found: 299.1184  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 8-phenyl-4-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one, hydrochloride salt **26c**

The compound is obtained following the general procedure C from **25c** (62 mg, 0.15 mmol) for 20 h of reaction time.

Red powder,  $m_{\text{pure}} = 60$  mg

Yield: quantitative



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8.90 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H,  $\text{H}_1$ ), 8.80 (s, 1H  $\text{H}_6$ ), 7.69 – 7.64 (m, 4H,  $\text{H}_{10/11/13/14}$ ), 7.53 – 7.46 (m, 5H,  $\text{H}_{17/18/19/20/21}$ ), 7.37 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H,  $\text{H}_2$ ).

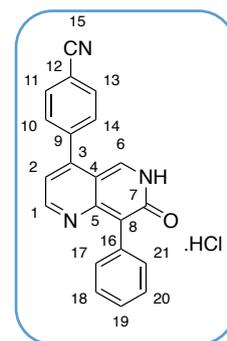
**HRMS** (ESI+) calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_2\text{OH}$ : 367.1058, found: 367.1052  $[\text{M}+\text{H}]^+$

4-(7-oxo-8-phenyl-6,7-dihydro-1,6-naphthyridin-4-yl)benzonitrile, hydrochloride salt **26d**

The compound is obtained following the general procedure C from **25d** (40 mg, 0.11 mmol) for 20 h of reaction time.

Red powder,  $m_{\text{pure}} = 40$  mg

Yield: quantitative



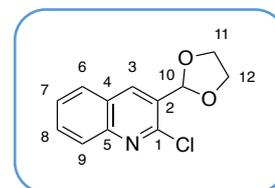
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8.94 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H,  $\text{H}_1$ ), 8.72 (s, 1H,  $\text{H}_6$ ), 8.11 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H,  $\text{H}_{11/13}$ ), 7.88 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H,  $\text{H}_{10/14}$ ), 7.59 – 7.33 (m, 6H,  $\text{H}_{17/18/19/20/21/2}$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  161.0, 154.7, 149.6, 147.5, 140.9, 134.0, 133.3, 131.8, 130.7, 130.7, 127.8, 127.4, 118.9, 115.8, 114.6, 112.5, 63.2.

**HRMS** (ESI+) calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OH}$ : 324.1137, found: 324.1132  $[\text{M}+\text{H}]^+$

## Chapitre 3

### 2-Chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)quinoline **28**



The compound is obtained following the general procedure A from 2-chloro quinoline-3-carboxaldehyde (2 g, 10.4 mmol) for 5 h of reaction time. Purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/Ethyl acetate 8/2) to afford the title compound.

Brown solid,  $m_{\text{pure}} = 1.087$  g

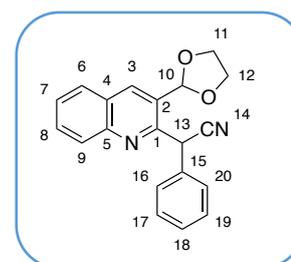
Yield: 44%

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.38 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 8.00 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H, H<sub>9</sub>), 7.83 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 7.72 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H, H<sub>8</sub>), 7.54 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 6.21 (s, 1H, H<sub>10</sub>), 4.24 – 3.97 (m, 4H, H<sub>11</sub>/H<sub>12</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  149.2, 147.7, 136.6 (C<sub>3</sub>), 130.9 (C<sub>8</sub>), 129.4, 128.2 (C<sub>9</sub>), 128.0 (C<sub>6</sub>), 127.2 (C<sub>7</sub>), 126.8, 100.4 (C<sub>10</sub>), 65.5 (C<sub>11</sub>/C<sub>12</sub>).

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>ClNO<sub>2</sub>H 236.0473; found: 236.0473 [M+H]<sup>+</sup>

### 2-(3-(1,3-dioxolan-2-yl)quinolin-2-yl)-2-phenylacetonitrile **29**



The compound is obtained following the general procedure B from 2-Chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)quinoline **28** (500 mg, 2.12 mmol) for 20 h of reaction time. Purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/Diethyl ether 6/4) to afford the title compound.

Brown oil,  $m_{\text{pure}} = 360$  mg

Yield: 54%

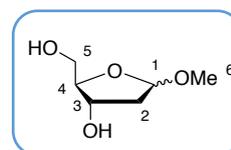
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.37 (s, 1H), 8.23 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.86 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.83 – 7.72 (m, 1H), 7.60 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.53 – 7.42 (m, 2H), 7.39 – 7.31 (m, 3H), 6.12 (s, 1H), 5.92 (s, 1H), 4.25 – 4.05 (m, 4H)

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  152.8, 147.6, 135.3, 134.5, 130.4, 129.6, 129.1, 129.0, 128.5, 128.4, 128.3, 127.7, 127.4, 126.8, 119.2, 100.7, 65.3, 65.1, 42.7.

**HRMS** (ESI+): calcd for C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H 317.1285; found: 317.1284 [M+H]<sup>+</sup>

## Chapitre 4

### 1-*O*-Methyl-2-deoxy-D-ribose **36**



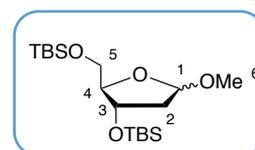
Acetyl chloride (843  $\mu$ L, 11.92 mmol) was added to a stirred solution of methanol (70 mL) at 0° C. The reaction mixture was stirred for 5 min at 0° C. Then the 2-deoxy-D-ribose (4 g, 29.8 mmol) was added and the mixture was stirred at 0° C for 3 h.  $\text{NaHCO}_3$  powder (2,4 g) was added to the solution and the solution was stirred for 10 min at 20° C. The precipitate was filtered and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The resulting residue was dissolved with EtOAc and filtered. The filtrate was concentrated under reduced pressure to afford the title compound as a crude.

Pale yellow oil,  $m = 4.76$  g

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  5.18 – 5.04 (m, 1H,  $\text{H}_1$ ), 4.19 – 4.05 (m, 2H,  $\text{H}_5$ ), 3.69 – 3.55 (m, 2H,  $\text{H}_{4/3}$ ), 3.37 (s, 3H, OMe), 2.32 – 2.03 (m, 2H,  $\text{H}_2$ ).

Spectral data of **36** were in agreement with the literature.<sup>277</sup>

### 3,5-Di-*O*-(tertbutyldimethylsilyle)-2-deoxy-D-ribose **37**



To a stirred solution of compound **36** (4.7 g, 32 mmol) in dry DCM (77 mL) were added imidazole (6.5 g, 96 mmol) and TBDMSCl (14.5 g, 96 mmol). The reaction mixture was stirred at rt for 24 h. The suspension was filtered through a pad of celite® and washed with DCM. The resulting filtrate was put in a separative funnel and washed with water. The organic layer was dried over  $\text{MgSO}_4$  filtered and evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified on silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc 98/2 to 95/5) to afford the desired compound.

Colorless oil,  $m_{\text{pure}} = 6$  g

Yield: 55% (2 steps)

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  5.03 – 4.94 (m, 1H,  $\text{H}_1$ ), 4.44 – 4.34 (m, 1H,  $\text{H}_{5a}$ ), 4.26 – 4.12 (m, 1H,  $\text{H}_{5b}$ ), 3.96 – 3.83 (m, 2H,  $\text{H}_{3/4}$ ), 3.39 (s, 3H, OMe), 2.46 – 2.22 (m, 1H,

H<sub>2a</sub>), 2.17 – 1.94 (m, 1H, H<sub>2b</sub>), 0.99 – 0.85 (m, 18H, Si-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.14 – 0.02 (m, 12H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)

Spectral data of **37** were in agreement with the literature.<sup>278</sup>

### 1,4-Anhydro-2-deoxy-3,5-bis-O-(*t*-butyldimethylsilyl)-D-erythro-pent-1-enitol **33**

To a stirred solution of compound **37** (1 g, 2.65 mmol) in DCM (7 mL) cooled at 0 ° C, were added 2,6-lutidine (1.9 mL, 16.43 mmol) and TMS-OTf (1.48 mL, 8.21 mmol) and the mixture was stirred for 3 h. The mixture was extracted with DCM (3 x 30 mL). The organic layer was washed with brine (2 x 20 mL). The combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under pressure. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Petroleum spirit/ Et<sub>2</sub>O 5%) to afford the desired compound.

m<sub>pure</sub> = 390 mg

Yield: 43%

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 6.38 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 4.92 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 4.78 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 4.20 (t, *J* = 6.2, 2.4 Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 3.60 (dd, *J* = 10.8, 5.8 Hz, 1H, H<sub>5a</sub>), 3.49 – 3.32 (m, 1H, H<sub>5b</sub>), 0.86 – 0.74 (m, 18H, Si-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.05 – -0.09 (m, 12H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

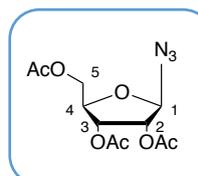
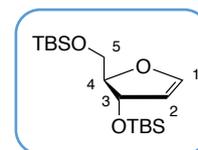
<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 148.9, 103.3, 88.9, 75.9, 62.8, 25.9, 25.9, 25.8, 18.3, 18.0, -4.2, -4.4, -5.3, -5.3.

Spectral data of **33** were in agreement with the literature.<sup>159</sup>

### 2,3,5-Tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl azide **44**

Trimethylsilyl azide (2.9 mL, 21.98 mmol) and tin chloride 1 M in heptane (4.7 mL, 4.7 mmol) were added to a stirred solution of 1,2,3,5-Tetra-*O*-acetyl-β-D-ribofuranose (5 g, 15.7 mmol) in dry DCM (40 mL).

The reaction mixture was stirred at rt under argon for 20 h. The solution was washed with



Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>+NaCl (10 mL + 20 mL) and extracted with DCM (2 x 30 mL). The combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under vacuum. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc 7/3) to afford the desired compound.

Colorless oil, m<sub>pure</sub>= 4.8 g

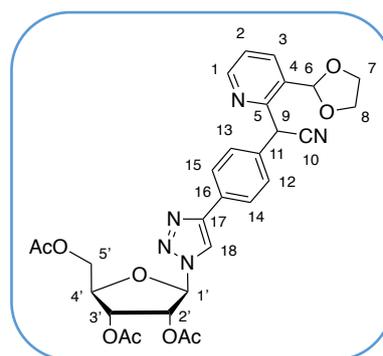
Yield: quantitative

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 5.45 – 5.22 (m, 2H, H<sub>5</sub>), 5.12 (s, 1H, H<sub>1</sub>), 4.54 – 4.23 (m, 2H, H<sub>3</sub>/H<sub>4</sub>), 4.23 – 4.00 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 2.21 – 1.93 (m, 9H, OAc).

HRMS (ESI<sup>+</sup>): Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>Na 324.0802; found 324.0805 [M+Na]<sup>+</sup>

(2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-2-(4-(4-((3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridin-2-yl)(cyano)methyl)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-5-(acetoxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diyl diacetate **47**

CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (4.2 mg, 10% mmol) and sodium ascorbate (10 mg, 30% mmol) were added to a stirred solution of compound **3g** (50 mg, 0.17 mmol) and azide **44** (51 mg, 0.17 mmol) in *t*BuOH/H<sub>2</sub>O (150 μL v/v 1:1). The reaction mixture was stirred at rt for 5 h. Then, an aqueous solution of EDTA 0.1 M (2 mL) was added to the mixture and the



solution was extracted with EtOAc (3 x 5 mL). The combined organic layers were washed with an aqueous solution of EDTA 0.1 M (3 x 5 mL), dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under reduced pressure. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc 6/4) to afford the title compound.

White oil, m<sub>pure</sub>= 40 mg

Yield: 40%

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.68 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 8.05 – 7.88 (m, 2H, H<sub>3/18</sub>), 7.83 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>14/15</sub>), 7.55 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>12/13</sub>), 7.41 – 7.22 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 6.20 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H<sub>1</sub>'), 6.02 – 5.86 (m, 3H, H<sub>6/9/4'</sub>), 5.65 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H, H<sub>3'</sub>),

4.52 (m, 1H, H<sub>2'</sub>), 4.27 (dd, *J* = 12.4, 4.4 Hz, 1H, H<sub>5'a</sub>), 4.19 – 4.06 (m, 5H, H<sub>7/8/5'b</sub>), 2.21 – 2.01 (m, 9H, OAc).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  170.3, 169.4, 169.2, 153.1, 150.3, 147.4, 135.6, 134.8, 131.0, 130.0, 128.8, 126.3, 123.1, 119.0, 100.7, 90.1, 81.0, 74.3, 70.7, 65.3, 65.2, 62.8, 60.7, 41.3, 20.6, 20.4, 20.4.

### 2-chloro-4-((trimethylsilyl)ethynyl)nicotinaldehyde **49**

In a monowave vial (10 mL), the 4-iodo-2-chloro-3-pyridine carboxaldehyde (1 g, 3.74 mmol) was dissolved in THF (6 mL). Ethynyltrimethylsilane (570  $\mu$ L, 4.11 mmol), CuI (7 mg, 0.037 mmol), PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (52 mg, 0.075 mmol) and NEt<sub>3</sub> (1.58 ml, 11.22 mmol) were added into the flask. The reaction was heated using the mode “as fast as possible” at 150° C for 10 min. The mixture was filtered on celite® and washed with DCM. The residue was purified by silica gel chromatography (cyclohexane/Et<sub>2</sub>O 5%).

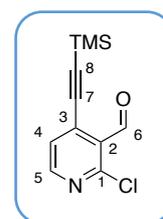
Yellow-brown solid,  $m_{\text{pure}} = 400\text{mg}$

Yield: 45%

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.56 (s, 1H), 8.48 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 0.32 (s, 9H).

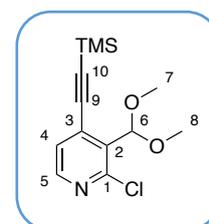
<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  188.2, 152.2, 151.9, 135.3, 128.8, 127.1, 109.8, 98.3.

HRMS (ESI+) Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>ClNOSiH 238.0449; Found: 238.0450 [M+H]<sup>+</sup>



### 2-chloro-3-(dimethoxymethyl)-4-((trimethylsilyl)ethynyl)pyridine **50**

Compound **49** (455 mg, 1.94 mmol) previously dissolved in MeOH (5 mL) was added to a stirred solution of CeCl<sub>3</sub> (479 mg, 1.94 mmol) and trimethyl orthoformate CH(OCH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (1.37 ml, 6.26 mmol) in MeOH (2 mL). The reaction mixture was heated at 60° C until complete conversion of the starting material. The solution was neutralized with a saturated aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub> (10 mL) and



extracted with DCM (2 x 10 mL). The organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under pressure to afford the title compound without further purification as an oil.

m<sub>pure</sub> = 493 mg

Yield: 89%

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.30 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 5.81 (s, 1H), 3.49 (s, 6H), 0.30 (s, 10H).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 148.6, 126.1, 103.5, 55.5, -0.4

HRMS (ESI+) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>2</sub>SiH 284.0868; found: 284.0869 [M+H]<sup>+</sup>

### 2-chloro-3-(dimethoxymethyl)-4-ethynylpyridine **51**

K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (623 mg, 4.5 mmol) was added to a stirred solution of compound **50** (850 mg, 3 mmol) in MeOH (20 mL). The reaction mixture was stirred at rt for 2 min. The solution was immediately quenched with water (20 mL) and extracted with DCM (3 x 20 mL). The organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under reduced pressure to afford a crude product which was engaged in the next step without further purification.

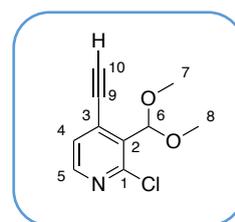
m<sub>pure</sub> = 556 mg

Yield: 84%

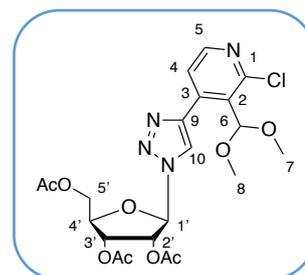
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 10.55 (s, 1H), 8.47 (dd, *J* = 5.0, 3.2 Hz, 1H), 7.50 – 7.31 (m, 1H), 0.37 – 0.19 (m, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ 151.0, 148.8, 132.9, 132.2, 127.3, 103.5, 87.2, 78.9, 77.2, 55.8.

HRMS (ESI+) Calcd for C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>ClNO<sub>2</sub>H 212.0473; found: 212.0473 [M+H]<sup>+</sup>



(2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-2-(acetoxymethyl)-5-(4-(2-chloro-3-(dimethoxymethyl)pyridin-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)tetrahydrofuran-3,4-diy l diacetate **52**



CuI (79 mg, 0.42 mmol), DIPEA (182  $\mu$ L, 1.05 mmol) and compound **51** (65 mg, 0.21 mmol) were added to a stirred solution of compound **44** (45.5 mg, 0.21 mmol) in DCM (3 mL). The reaction mixture was stirred at 40° C for 7 h. Then an aqueous solution of EDTA 0.1 M (10 mL) was added to the mixture which was stirred for 1 h until the organic layer was colorless. The organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc 1/1).

Colorless oil,  $m_{\text{pure}} = 70$  mg

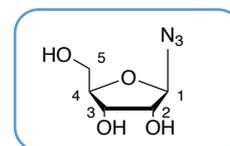
Yield: 65%

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.51 (s, 1H, H<sub>10</sub>), 8.41 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 8.07 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 6.21 (d,  $J = 3.6$  Hz, 1H, H<sub>1'</sub>), 5.96 – 5.83 (m, 2H, H<sub>5'</sub>), 5.67 (t,  $J = 5.4$  Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 4.58 – 4.34 (m, 2H, H<sub>2'/3'</sub>), 4.32 – 4.15 (m, 1H, H<sub>4'</sub>), 3.41 (s, 6H, H<sub>7/8</sub>), 2.23 – 1.89 (m, 9H, OAc).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  170.3, 169.4, 169.2, 151.7, 149.5, 143.1, 140.2, 126.5, 123.9, 104.8, 90.0, 80.9, 77.2, 74.3, 70.8, 62.9, 56.1, 56.0, 20.5, 20.4, 20.4.

HRMS (ESI+) Calcd for C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>9</sub>Na 535.1202; found: 535.1199 [M+Na]<sup>+</sup>

$\beta$ -D-ribofuranosyl azide **57**



A freshly prepared solution of MeONa (1 M in MeOH) was added to a stirred solution of 2,3,5-tri-*O*-acetate- $\beta$ -D-ribofuranosyl azide (4.8 g, 15.9 mmol) in MeOH (90 mL). The reaction mixture was stirring 5 minutes at rt and quenched with DOWEX resin. The suspension was vigorously stirring during 10 min and the resin was filtered and washed with DCM. The desired compound is obtained without purification.

Colorless oil,  $m_{\text{pure}} = 2.7$  g

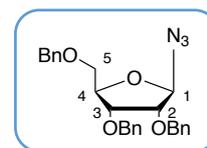
Yield: quantitative

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  5.21 (d,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 4.10 – 4.05 (m, 1H), 4.04 – 3.94 (m, 1H), 3.88 – 3.74 (m, 2H), 3.63 (dd,  $J$  = 12.0, 5.5 Hz, 1H), 3.33 (d,  $J$  = 1.7 Hz, 1H).

**HRMS** (ESI+): Calcd for  $\text{C}_5\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_4$  174.0520; found 174.0522  $[\text{M}-\text{H}]^-$

### 2,3,5-Tri-*O*- $\beta$ -D-ribofuranosyl azide **58**

Compound **57** (100 mg, 0.57 mmol) was dissolved in dry DMF (5 mL) and cooled with an ice bath. NaH (68.5 mg, 1.7 mmol) was added portionwise and the mixture was stirred for 1 h. Then benzyl bromide (201  $\mu\text{L}$ , 1.7 mmol) and  $\text{IN}(\text{Bu})_4$  (10% mol) were added. After 48 h the reaction was quenched with water and extracted with DCM. The organic layer was washed with water and brine, dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated under reduced pressure. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclehexane/EtOAc 95/5) to afford the title compound.



$m_{\text{pure}}$  = 15 mg

Yield: 1%

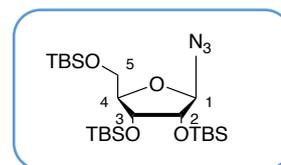
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  7.41 – 7.31 (m, 15H OBn), 5.37 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1H,  $\text{H}_1$ ), 4.72 – 4.48 (m, 7H,  $\text{CH}_2$ ), 4.43 – 4.34 (m, 1H), 4.11 (dd,  $J$  = 6.7, 4.7 Hz, 1H), 3.79 (dd,  $J$  = 4.7, 2.1 Hz, 1H), 3.64 (dd,  $J$  = 32.2, 3.9 Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  138.0, 137.5, 137.3, 128.4, 128.4, 128.3, 128.0, 127.9, 127.9, 127.5, 92.8, 81.5, 80.1, 77.2, 73.4, 72.5, 72.4, 69.9.

**HRMS** (ESI+): Calcd for  $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_4\text{Na}$  468.1894; found 468.1898  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

## 2,3,5-Tri-O-(tertbutyldimethylsilyl)- $\beta$ -D-ribofuranosyl azide **59**

Imidazole (3.9 g, 57 mmol) and TBDMSCl (8.2 g, 54 mmol) were added to a stirred solution of D-ribofuranosyl azide (2.7 g,



15.4 mmol) in DMF (30 mL). The reaction mixture was stirred for 24 h at rt. The mixture was quenched with a saturated aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub> and extracted with DCM (3 x 40 mL). The combined organic layers were washed with water (3 X 50 mL), dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under reduced pressure. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/Et<sub>2</sub>O 5%) to afford the title compound.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 6.1$  g

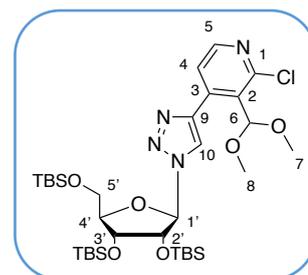
Yield: 76%

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  5.12 (d,  $J = 2.7$  Hz, 1H), 4.22 (dd,  $J = 5.9, 4.0$  Hz, 1H), 4.07 – 3.95 (m, 1H), 3.90 – 3.76 (m, 2H), 3.69 (dd,  $J = 11.5, 3.4$  Hz, 1H), 0.98 – 0.91 (m, 32H), 0.14 – 0.08 (m, 18H).

HRMS (ESI<sup>+</sup>): Calcd for C<sub>23</sub>H<sub>51</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>3</sub>Na 540.3080. Found 540.308 [M+Na]<sup>+</sup>

## 4-(1-((2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-3,4-bis((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-2-chloro-3-(dimethoxymethyl)pyridine **60**

CuI (1.3 g, 6.96 mmol), DIPEA (3 ml, 17 mmol) and compound **59** (1.98 mg, 3.84 mmol) were added portionwise to a stirred solution of compound **51** (736 mg, 3.48 mmol) in DCM (30 mL).



The reaction mixture is stirred at 40° C for 24 h. Then an aqueous solution of EDTA 0.1 M (50 mL) was added to the mixture which was stirred for 1 h until the organic layer was colorless. The organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by silica gel chromatography (cyclohexane/EtOAc 5%) to afford the title compound.

Colorless oil,  $m_{\text{pure}} = 1.7$  g

Yield: 67%

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.35 – 8.19 (m, 2H, H<sub>10/5</sub>), 7.89 (d,  $J$  = 5.1 Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 5.78 (d,  $J$  = 5.0 Hz, 1H, H<sub>1'</sub>), 5.73 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 4.67 (t,  $J$  = 4.6 Hz, 1H, H<sub>2'</sub>), 4.23 (t,  $J$  = 3.9 Hz, 1H, H<sub>3'</sub>), 4.03 (q,  $J$  = 4.6 Hz, 1H, H<sub>4'</sub>), 3.77 – 3.52 (m, 2H, H<sub>5'</sub>), 3.29 (s, 3H, H<sub>7</sub>), 3.24 (s, 3H, H<sub>8</sub>), 0.86 – 0.68 (m, 27H, SiCH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.03 – -0.30 (m, 18H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  151.6, 149.3, 142.6, 140.7, 127.8, 127.2, 123.9, 104.7, 92.2, 86.2, 76.1, 72.4, 62.9, 56.0, 55.9, 26.9, 25.9, 18.3, 17.9, -4.4, -4.7, -5.1, -5.5.

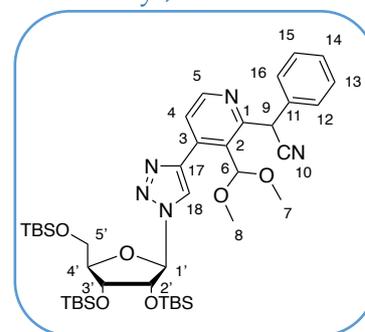
**HRMS** (ESI+) Calcd for C<sub>33</sub>H<sub>61</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>Si<sub>3</sub>Na 751.3480. Found 751.348 [M+Na]<sup>+</sup>

2-(4-(1-((2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-3,4-bis((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-3-(dimethoxymethyl)pyridin-2-yl)-2-phenylacetonitrile **61a**

The compound is obtained following the general procedure B from compound **60** (1 g, 1.37 mmol) and phenylacetonitrile (303  $\mu\text{L}$ , 2.74 mmol) at 75° C for 3 h of reaction time.

Brown oil,  $m_{\text{pure}} = 1.25$  g

Yield: quantitative



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.63 (dd,  $J$  = 5.0, 1.8 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 8.11 (s, 1H, H<sub>18</sub>), 7.61 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 7.46 – 7.22 (m, 5H, H<sub>12/13/14/15/16</sub>), 6.51 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 6.10 (dd,  $J$  = 5.3, 1.7 Hz, 1H, H<sub>9</sub>), 5.86 (d,  $J$  = 0.8 Hz, 1H, H<sub>1'</sub>), 4.74 – 4.54 (m, 1H), 4.44 – 4.23 (m, 1H), 4.23 – 4.11 (m, 1H), 4.02 – 3.70 (m, 2H), 3.54 – 3.35 (m, 6H, H<sub>7/8</sub>), 1.00 – 0.74 (m, 27H, SiCH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.20 – -0.19 (m, 18H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  156.1, 149.6, 144.4, 135.9, 130.1, 128.5, 127.5, 126.0, 122.4, 120.0, 103.1, 92.7, 86.4, 72.4, 62.7, 56.1, 56.1, 37.1, 31.9, 29.7, 29.7, 29.3, 25.9, 25.7, 22.6, 22.6, 14.1.

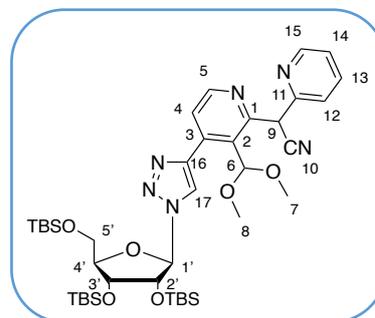
**HRMS** (ESI+): calcd for C<sub>41</sub>H<sub>67</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>Si<sub>3</sub>H 810.4472; found: 810.4473 [M+H]<sup>+</sup>

2-(4-(1-((2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-3,4-bis((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-3-(dimethoxymethyl)pyridin-2-yl)-2-(pyridin-2-yl)acetonitrile **61b**

The compound is obtained following the general procedure B from compound **60** (537 mg, 0.74 mmol) and 2-pyridylacetonitrile (164  $\mu$ L, 1.47 mmol) at 75° C for 20 h of reaction time.

Brown oil,  $m_{\text{pure}} = 222$  mg

Yield: 37%



$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.64 (dd,  $J = 4.9, 2.4$  Hz, 2H), 8.12 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 7.75 – 7.59 (m, 1H), 7.50 – 7.38 (m, 1H), 7.38 – 7.29 (m, 1H), 7.22 (dd,  $J = 7.5, 5.0$  Hz, 1H), 6.69 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 6.08 (dd,  $J = 5.4, 1.7$  Hz, 1H), 5.87 (d,  $J = 5.8$  Hz, 1H), 4.71 – 4.58 (m, 1H), 4.35 – 4.26 (m, 1H), 4.26 – 4.17 (m, 1H), 3.99 – 3.73 (m, 2H), 3.52 – 3.37 (m, 6H), 1.00 – 0.80 (m, 27H), 0.21 – -0.17 (m, 18H).

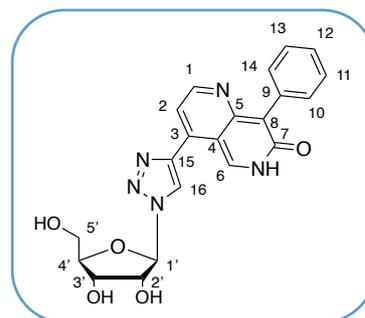
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>40</sub>H<sub>66</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>Si<sub>3</sub>H 811.4424; found: 811.4428 [M+H]<sup>+</sup>

4-(1-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-8-phenyl-1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one **62a**

The compound is obtained following the general procedure C from **61a** (1.25 g, 1.54 mmol) at rt for 24 h of reaction time.

Red powder,  $m_{\text{pure}} = 695$  mg

Yield: 98%



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.89 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 9.38 (s, 1H, H<sub>16</sub>), 8.89 (dd,  $J = 5.2, 3.7$  Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 7.76 (dd,  $J = 9.4, 5.1$  Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 7.56 – 7.46 (m, 5H, H<sub>10/11/12/13/14</sub>), 6.12 (d,  $J = 4.4$  Hz, 1H, H<sub>17</sub>), 4.56 (t,  $J = 4.6$  Hz, 1H, H<sub>2'</sub>), 4.25 (q,  $J = 4.8$  Hz, 1H, H<sub>4'</sub>), 4.07 (t,  $J = 4.2$  Hz, 1H, H<sub>3'</sub>), 3.83 – 3.47 (m, 2H, H<sub>5'</sub>).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  150.1, 148.8, 142.4, 133.7, 130.5, 129.8, 129.2, 129.1, 127.4, 114.6, 93.5, 86.2, 75.9, 70.2, 61.1.

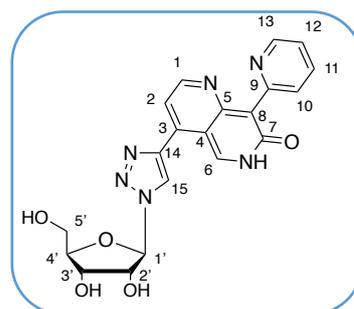
HRMS (ESI+): calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_5\text{H}$  422.1459; found: 422.1460  $[\text{M}+\text{H}]^+$

4-(1-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-8-(pyridin-2-yl)-1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one **62b**

The compound is obtained following the general procedure C from **61b** (217 mg, 0.27 mmol) at rt for 24 h of reaction time.

$m_{\text{pure}} = 85$  mg

Yield: 68%



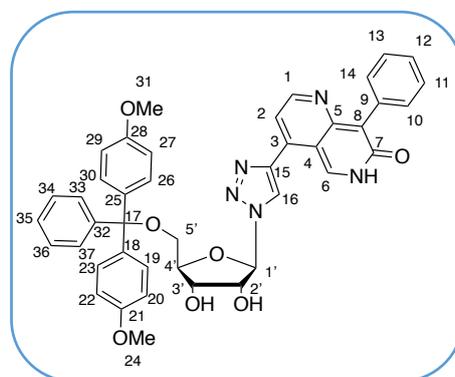
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  9.06 (d,  $J = 1.5$  Hz, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.46 (d,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 8.24 (dd,  $J = 6.7, 1.8$  Hz, 2H), 8.02 – 7.90 (m, 2H), 7.78 – 7.60 (m, 5H), 7.22 – 7.08 (m, 2H), 6.22 – 6.11 (m, 1H), 4.61 – 4.50 (m, 1H), 4.32 (q,  $J = 5.0$  Hz, 1H), 4.17 – 4.08 (m, 1H), 3.83 – 3.64 (m, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  148.8, 145.1, 143.1, 142.7, 141.9, 140.2, 139.1, 128.2, 116.3, 115.6, 114.6, 108.3, 93.4, 88.6, 86.1, 83.4, 75.9, 70.2, 63.5, 61.0.

HRMS (ESI+) Calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_6\text{O}_5\text{H}$  423.1411; Found 423.1415  $[\text{M}+\text{H}]^+$

4-(1-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-5-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-8-phenyl-1,6-naphthyridin-7(6*H*)-one **63**

Compound **62a** was co-evaporated with pyridine (3 x 5 mL). To a stirred solution of compound **62a** in dry pyridine (250  $\mu\text{L}$ ) was added portionwise DMTrCl (40 mg, 0.12 mmol). The reaction mixture was stirred for 24 h. The mixture was evaporated and co-evaporated with toluene (2 x 5 mL). The resulting residue was



purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 2% to 5%) to afford the title compound.

Orange solid,  $m_{\text{pure}} = 20$  mg

Yield: 20%

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  9.43 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 8.68 (s, 1H, H<sub>16</sub>), 8.43 (d,  $J = 4.4$  Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 7.40 – 7.33 (m, 4H, H<sub>33/34/36/37</sub>), 7.27 – 7.24 (m, 1H, H<sub>35</sub>), 7.16 – 7.00 (m, 8H, H<sub>19/20/22/23/26/27/29/30</sub>), 6.74 (d,  $J = 4.4$  Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 6.67 – 6.62 (m, 5H, H<sub>10/11/12/13/14</sub>), 6.12 (d,  $J = 2.7$  Hz, 1H, H<sub>1'</sub>), 4.70 (m, 1H, H<sub>4'</sub>), 4.54 (dd,  $J = 6.2, 4.8$  Hz, 1H, H<sub>2'</sub>), 4.20 (t,  $J = 6.2, 3.1$  Hz, 1H, H<sub>3'</sub>), 3.56 (s, 6H, OMe), 3.42 – 3.25 (m, 2H, H<sub>5'</sub>).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (100 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  158.7, 156.2, 144.3, 143.7, 137.3, 135.5, 131.1, 129.89, 128.1, 127.4, 127.4, 126.9, 126.5, 123.9, 116.6, 112.7, 93.4, 86.5, 84.2, 75.5, 70.3, 62.5, 54.2.

**HRMS** (ESI+) Calcd for C<sub>42</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>H 724.2766; found: 724.2767 [M+H]<sup>+</sup>

## Chapitre 5

### General procedure E

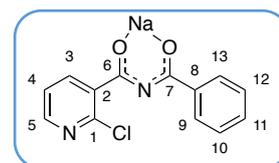
At 0° C, under argon atmosphere, NaH (60% in oil dispersion; 159 mg, 3.98 mmol) was added to a stirred solution of 2-chloronicotinamide (0.31 g, 1.99 mmol) in dry THF (40 mL), and the reaction mixture was stirred at 0° C for 1 h. Then, at -78° C, acyl chloride (1.99 mmol) was added and the reaction mixture was slowly warmed up to rt and stirred for 20 h. The reaction mixture was filtered and concentrated under reduced pressure. The resulting residue was triturated with Et<sub>2</sub>O to give, after filtration, the desired compound.

#### Sodium benzoyl-2-chloronicotinimidate **68a**

The compound is obtained following the general procedure E from benzoylchloride (0.23 ml, 1.99 mmol)

Pale yellow powder,  $m_{\text{pure}} = 335$  mg

Yield: 60%

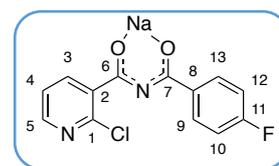


#### Sodium 2-chloro-(4-fluorobenzoyl)nicotinimidate **68b**

The compound is obtained following the general procedure E from 4-fluorobenzoylchloride (357.7  $\mu$ L, 3.18 mmol)

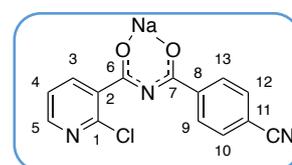
White powder,  $m_{\text{pure}} = 930$  mg

Yield: 97%



#### Sodium 2-chloro-(4-cyanobenzoyl)nicotinimidate **68c**

The compound is obtained following the general procedure E from 4-cyanobenzoylchloride (328 mg, 1.99 mmol)



White powder,  $m_{\text{pure}} = 598$  mg

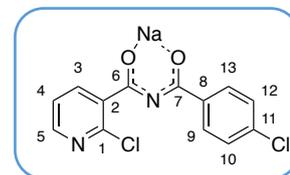
Yield: 98%

#### Sodium 2-chloro-(4-chlorobenzoyl)nicotinimidate **68d**

The compound is obtained following the general procedure E from 4-chlorobenzoylchloride (250  $\mu\text{L}$ , 1.99 mmol)

White powder,  $m_{\text{pure}} = 440$  mg

Yield: 75 %

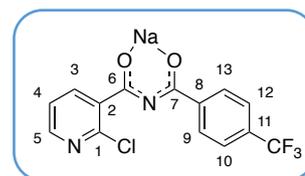


#### Sodium 2-chloro-(4-trifluorobenzoyl)nicotinimidate **68e**

The compound is obtained following the general procedure E from 4-fluoromethylbenzoylchloride (300  $\mu\text{L}$ , 1.99 mmol)

White powder,  $m_{\text{pure}} = 575$  mg

Yield: 88 %

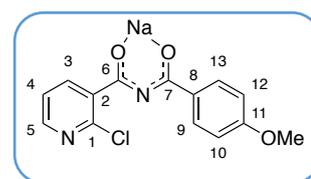


#### Sodium 2-chloro-(4-methoxybenzoyl)nicotinimidate **68f**

The compound is obtained following the general procedure E from 4-methoxybenzoylchloride (338 mg, 1.99 mmol)

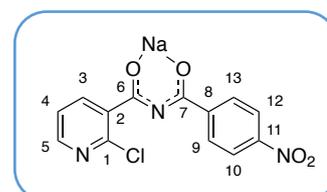
White powder,  $m_{\text{pure}} = 548$  mg

Yield: 95 %



#### Sodium 2-chloro-(4-nitrobenzoyl)nicotinimidate **68g**

The compound is obtained following the general procedure E from 4-nitrobenzoylchloride (368 mg, 1.99 mmol)



White powder,  $m_{\text{pure}} = 440 \text{ mg}$

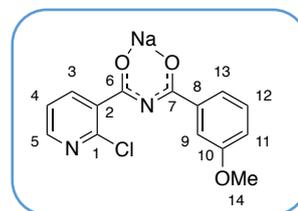
Yield: 67 %

### Sodium 2-chloro-(3-methoxybenzoyl)nicotinimidate **68h**

The compound is obtained following the general procedure E from 3-méthoxybenzoylchloride (434  $\mu\text{L}$ , 3.18 mmol)

White powder,  $m = 865 \text{ mg}$

Yield: 87 %



### General procedure F

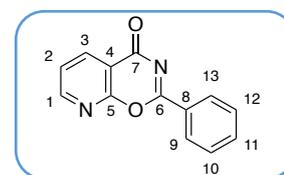
In a microwave vial (10-20 mL) under argon, compound **68** (1 mmol) was dissolved in 19 mL of dry acetonitrile and the vial was sealed. Then the mixture was placed into the microwave and stirred for 20 min to 1 h at 150° C. The reaction mixture was filtered and the filtrate was evaporated. The resulting solid was triturated with Et<sub>2</sub>O and dried under vacuum to obtain the desired compound.

### 2-phenyl-4*H*-pyrido[3,2-*e*][1,3]oxazin-4-one **69a**

The compound is obtained following the general procedure F from sodium 2-chloro-benzoyl nicotinimidate **68a** (731 mg, 2.58 mmol) for 20 min of reaction time.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 376 \text{ mg}$

Yield: 65%

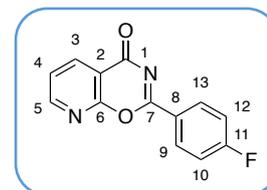


<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*6) 8.82 (dd,  $J = 4.7, 2.0 \text{ Hz}$ , 1 H), 8.50 (dd,  $J = 7.6, 2.0 \text{ Hz}$ , 1 H), 8.31 (m, 2 H), 7.78 (tt,  $J = 7.4, 1.3 \text{ Hz}$ , 1 H), 7.70 (dd,  $J = 7.7, 4.7 \text{ Hz}$ , 1 H), 7.67 (tt,  $J = 7.4, 1.6 \text{ Hz}$ , 2 H).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO-*d*6) 166.8, 163.7, 159.5, 154.4, 137.6, 134.4, 129.5, 129.2 (2 C), 129.1 (2 C), 124.3, 113.5.

HRMS (ESI+) Calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{H}$  225.0656, found: 225.0664  $[\text{M}+\text{H}]^+$

#### 2-(4-fluorophenyl)-4*H*-pyrido[3,2-*e*][1,3]oxazin-4-one **69b**



The compound is obtained following the general procedure F from sodium 2-chloro-4-fluorobenzoyl nicotinimidate **68b** (311 mg, 1.03 mmol) for 20 min of reaction time.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 397$  mg

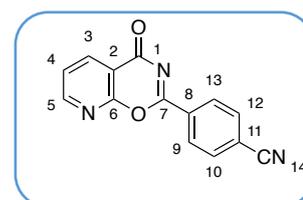
Yield: 55%

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  8.82 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8.50 (d,  $J = 7.6$ , 1H,  $\text{H}_3$ ), 8.37 (dd,  $J = 8.5, 5.4$  Hz, 2H,  $\text{H}_{10}$ ), 7.70 (dd,  $J = 7.6, 4.8$  Hz, 1H,  $\text{H}_4$ ), 7.53 – 7.48 (m, 2H,  $\text{H}_9$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO)  $\delta$  167.1 ( $\text{C}_1$ ), 163.4 ( $\text{C}_7$ ), 159.9 ( $\text{C}_6$ ), 154.9 ( $\text{C}_2$ ), 138.1 ( $\text{C}_5$ ), 132.6 ( $\text{C}_{10}$ ), 132.5 ( $\text{C}_{11}$ ), 117.1 ( $\text{C}_8$ ), 116.9 ( $\text{C}_9$ ), 113.9 ( $\text{C}_4$ ).

HRMS (ESI+) Calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_7\text{FN}_2\text{O}_2\text{Na}$  265.0386, found: 265.0486  $[\text{M}+\text{H}]^+$

#### 4-(4-oxo-4*H*-pyrido[3,2-*e*][1,3]oxazin-2-yl)benzotrile **69c**



The compound is obtained following the general procedure F from sodium 2-chloro-4-cyanobenzoyl nicotinimidate **68c** (295 mg, 0.96 mmol) for 1 h of reaction time.

Yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 180$  mg

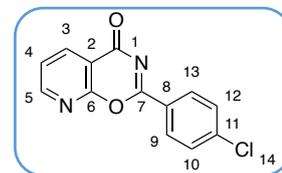
Yield: 76%

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  8.86 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H,  $\text{H}_5$ ), 8.54 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H,  $\text{H}_3$ ), 8.45 (d,  $J = 8$  Hz, 2H,  $\text{H}_9$ ), 8.14 (d,  $J = 8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{10}$ ), 7.74 (dd,  $J = 7.7, 4.8$  Hz, 1H,  $\text{H}_4$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO)  $\delta$  167.1 ( $\text{C}_1$ ), 162.8 ( $\text{C}_7$ ), 159.8 ( $\text{C}_6$ ), 155.1 ( $\text{C}_2$ ), 138.2 ( $\text{C}_5$ ), 134.4 ( $\text{C}_4$ ), 133.6 ( $\text{C}_{10}$ ), 130.1 ( $\text{C}_9$ ), 125.0 ( $\text{C}_3$ ), 118.5 (CN), 116.5 ( $\text{C}_8$ ), 114.0 ( $\text{C}_{11}$ ).

**HRMS** (ESI+) Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> 249.0538, found: 250.0610 [M+H]<sup>+</sup>

### 2-(4-chlorophenyl)-4*H*-pyrido[3,2-*e*][1,3]oxazin-4-one **69d**



The compound is obtained following the general procedure F from sodium 2-chloro-4-chlorobenzoyl nicotinimidate **68d** (220 mg, 0.74 mmol) for 20 min of reaction time.

White solid, m<sub>pure</sub> = 117 mg

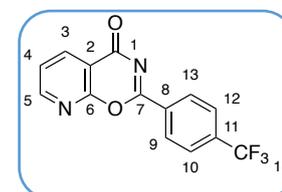
Yield: 61%

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.84 (d, *J* = 5 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 8.52 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 8.32 (d, *J* = 8 Hz, 2H, H<sub>9</sub>), 7.76 (d, *J* = 8 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 7.72 (dd, *J* = 8 Hz; 5 Hz, 1H, H<sub>4</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO) δ 154.9 (C<sub>2</sub>), 138.1 (C<sub>5</sub>), 131.3 (C<sub>9</sub>), 129.9 (C<sub>10</sub>), 124.8 (C<sub>3</sub>).

**HRMS** (ESI+): Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>7</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>H 259.0269; found 259.027 [M+H]<sup>+</sup>

### 2-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-4*H*-pyrido[3,2-*e*][1,3]oxazin-4-one **69e**



The compound is obtained following the general procedure F from sodium 2-chloro-4-trifluoromethylbenzoyl nicotinimidate **68e** (287 mg, 0.87 mmol) for 1 h of reaction time.

Yellow solid, m<sub>pure</sub> = 198 mg

Yield: 78%

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.86 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 8.54 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 8.51 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H<sub>9/13</sub>), 8.06 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H<sub>10/12</sub>), 7.74 (dd, *J* = 7.8, 4.8 Hz, 1H, H<sub>4</sub>).

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, DMSO) δ -61.72.

**HRMS** (ESI+) Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>7</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 292.0460, found: 293.0248 [M+H]<sup>+</sup>

### 2-(4-methoxyphenyl)-4*H*-pyrido[3,2-*e*][1,3]oxazin-4-one **69f**

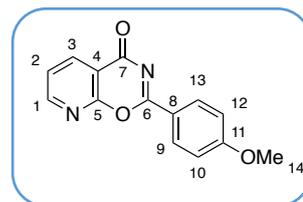
The compound is obtained following the general procedure F from sodium 2-chloro-4-methoxybenzoyl nicotinimidate **68f** (274 mg, 0.94 mmol) for 1 h of reaction time.

Yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 200$  mg

Yield: 83%

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  8.80 (dd,  $J = 4.8$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 8.48 (dd,  $J = 7.6$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 8.28 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 7.67 (dd,  $J = 7.6, 4.8$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 7.20 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H, H<sub>9</sub>), 3.91 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, DMSO)  $\delta$  167.2 (C<sub>1</sub>), 164.8 (C<sub>11</sub>), 164.1 (C<sub>7</sub>), 159.9 (C<sub>6</sub>), 154.7 (C<sub>2</sub>), 137.9 (C<sub>5</sub>), 131.9 (C<sub>10</sub>), 124.6 (C<sub>3</sub>), 121.8 (C<sub>8</sub>), 115.2 (C<sub>9</sub>), 113.9 (C<sub>4</sub>), 55.4 (OCH<sub>3</sub>).

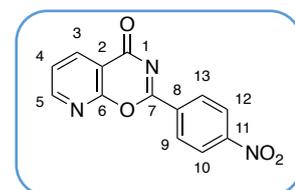


### 2-(4-nitrophenyl)-4*H*-pyrido[3,2-*e*][1,3]oxazin-4-one **69g**

The compound is obtained following the general procedure F from sodium 2-chloro-4-nitrobenzoyl nicotinimidate **68g** (220 mg, 0.67 mmol) for 1 h of reaction time.

Yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 118$  mg

Yield: 33%

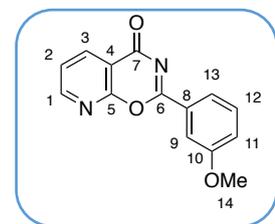


### 2-(3-methoxyphenyl)-4*H*-pyrido[3,2-*e*][1,3]oxazin-4-one **69h**

The compound is obtained following the general procedure F from sodium 2-chloro-3-methoxybenzoyl nicotinimidate **68h** (864 mg, 2.76 mmol) for 20 min of reaction time.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 370$  mg

Yield: 53%



**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.79 (dd,  $J = 4.7, 2.0$  Hz, 1H), 8.62 (dd,  $J = 7.7, 2.1$  Hz, 1H), 8.11 (dd,  $J = 7.8, 1.3$  Hz, 1H), 8.00 (t,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 7.58 (dd,  $J = 7.7, 4.7$  Hz, 1H), 7.49 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.31 – 7.19 (m, 2H), 3.94 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  166.6, 163.4, 159.5, 159.4, 154.3, 137.5, 130.8, 130.4, 124.2, 121.4, 120.5, 113.4, 113.3, 55.4.

**HRMS** (ESI+) Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 254.0691, found: 255.0763 [M+H]<sup>+</sup>

### General procedure G

In a microwave vial (10-20 mL) compound **69** was dissolved in dry ethanol (15 mL). Then hydrazine (1.1 eq, 1.18 mmol) and acetic acid (2 eq, 2.14 mmol) were added and the vial was sealed. The mixture was placed into microwave for 1 h at 110 ° C. After the reaction mixture was cool down to room temperature and the ethanol was evaporated. The resulting residue was purified on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95/5) to give the desired compound.

### 3-(3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one **70a**

The compound is obtained following the general procedure G from compound **69a** (240 mg, 1.07 mmol) for 1 h of reaction time.

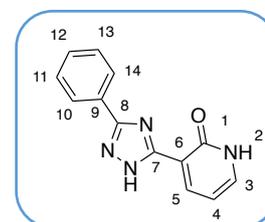
White solid,  $m_{\text{pure}} = 50$  mg

Yield: 26%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.42 (d,  $J = 7$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 8.08 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 7.66 (d,  $J = 6$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.50 – 7.45 (m, 2H, H<sub>11</sub>), 7.44 – 7.38 (m, 1H, H<sub>12</sub>), 6.50 (t,  $J = 7$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  160.9 (C<sub>1</sub>), 160.7 (C<sub>9</sub>), 152.5 (C<sub>6</sub>), 140.1 (C<sub>3</sub>), 138.3 (C<sub>5</sub>), 131.9 (C<sub>8</sub>), 129.3 (C<sub>12</sub>), 129.1 (C<sub>10</sub>), 126.3 (C<sub>11</sub>), 117.3 (C<sub>7</sub>), 106.6 (C<sub>4</sub>)

**HRMS** (ESI+) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>OH 239.0927; found 239.0929 [M+H]<sup>+</sup>



### 3-(3-(4-fluorophenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one **70b**

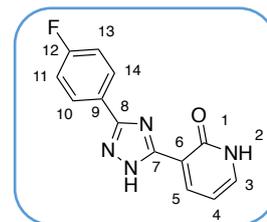
The compound is obtained following the general procedure G from compound **69b** (240 mg, 0.99 mmol) for 1 h of reaction time.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 70$  mg

Yield: 30%

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8.43 (d,  $J = 6.9$  Hz, 1H,  $\text{H}_3$ ), 8.11 (m, 2H,  $\text{H}_{11}$ ), 7.66 (d,  $J = 6.1$  Hz, 1H,  $\text{H}_5$ ), 7.31 (t,  $J = 8.7$  Hz, 2H,  $\text{H}_{10}$ ), 6.50 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H,  $\text{H}_4$ )

**HRMS** (ESI+): Calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{FN}_4\text{OH}$  257.0833; found 257.0837  $[\text{M}+\text{H}]^+$



### 4-(5-(2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl)benzotrile **70c**

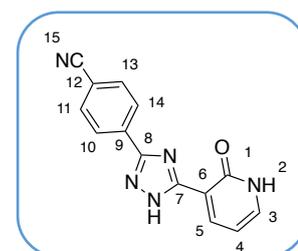
The compound is obtained following the general procedure G from compound **69c** (360 mg, 1.44 mmol) for 1 h of reaction time.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 130$  mg

Yield: 34%

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  14.06 (s, 1H, NH), 12.50 (s, 1H, NH), 8.43 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H,  $\text{H}_3$ ), 8.23 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H,  $\text{H}_{10}$ ), 7.95 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H,  $\text{H}_{11}$ ), 7.68 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H,  $\text{H}_5$ ), 6.50 (t,  $J = 7$  Hz, 1H,  $\text{H}_4$ )

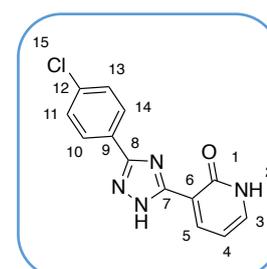
$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  160.6 ( $\text{C}_1$ ), 140.6 ( $\text{C}_3$ ), 138.2 ( $\text{C}_5$ ), 136.0 ( $\text{C}_8$ ), 13.3 ( $\text{C}_{11}$ ), 128.9 ( $\text{C}_{12}$ ), 126.9 ( $\text{C}_{10}$ ), 119.0 (CN), 111.7 ( $\text{C}_7$ ), 106.5 ( $\text{C}_4$ )



### 3-(3-(4-chlorophenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one **70d**

The compound is obtained following the general procedure G from compound **69d** (230 mg, 0.89 mmol) for 1 h of reaction time.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 78$  mg



Yield: 32%

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.43 (d,  $J$  = 7 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 8.08 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 7.66 (d,  $J$  = 6.3, 1H, H<sub>3</sub>), 7.55 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 6.50 (t,  $J$  = 7 Hz, 1H, H<sub>4</sub>)

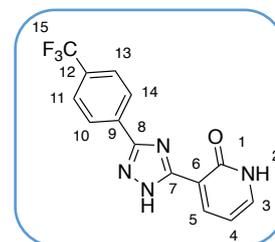
$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  160.7(C<sub>1</sub>), 159.8 (C<sub>9</sub>), 152.4(C<sub>6</sub>), 140.5(C<sub>5</sub>), 138.1(C<sub>3</sub>), 133.98(C<sub>12</sub>), 130.6 (C<sub>8</sub>), 129.2 (C<sub>11</sub>), 128.0(C<sub>10</sub>), 117.3(C<sub>7</sub>), 106.4 (C<sub>4</sub>)

### 3-(3-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one **70e**

The compound is obtained following the general procedure G from compound **69e** (206 mg, 0.70 mmol) for 1 h of reaction time.

Yellow solid,  $m_{\text{pure}}$  = 190 mg

Yield: 89%



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  14.01 (s, 1H, NH), 12.45 (s, 1H, NH), 8.45 (d,  $J$  = 7 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 8.29 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H, H<sub>10</sub>), 7.86 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H, H<sub>11</sub>), 7.68 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 6.51 (t,  $J$  = 7 Hz, 1H, H<sub>4</sub>)

$^{19}\text{F NMR}$  (376 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -61.08

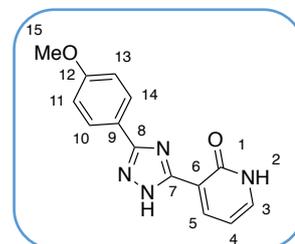
$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, DMSO)  $\delta$  160.6 (C<sub>1</sub>), 140.6 (C<sub>3</sub>), 138.2 (C<sub>5</sub>), 126.9 (C<sub>11</sub>), 126.2 (C<sub>10</sub>), 117.2 (C<sub>7</sub>), 106.4 (C<sub>4</sub>)

### 3-(3-(4-methoxyphenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one **70f**

The compound is obtained following the general procedure G from compound **69f** (200 mg, 0.79 mmol) for 1 h of reaction time.

Yellow solid,  $m_{\text{pure}}$  = 260 mg

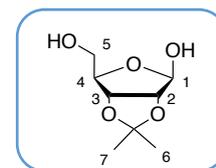
Yield: 61%



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8.41 (dd,  $J = 7, 2.1$  Hz, 1H,  $\text{H}_3$ ), 8.00 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{11}$ ), 7.64 (dd,  $J = 6.4, 2.1$  Hz, 1H,  $\text{H}_5$ ), 7.03 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{10}$ ), 6.48 (t,  $J = 7$  Hz, 1H,  $\text{H}_4$ ), 3.81 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ )

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO}$ )  $\delta$  160.9 ( $\text{C}_1$ ), 160.6 ( $\text{C}_{12}$ ), 160.4 ( $\text{C}_9$ ), 152.1 ( $\text{C}_6$ ), 140.3 ( $\text{C}_3$ ), 137.8 ( $\text{C}_5$ ), 127.8 ( $\text{C}_{11}$ ), 124.4 ( $\text{C}_8$ ), 117.6 ( $\text{C}_7$ ), 114.5 ( $\text{C}_{10}$ ), 106.4 ( $\text{C}_4$ ), 55.6 ( $\text{OCH}_3$ )

### 2,3-*O*-isopropylidene-D-ribose **78**



D-ribose (4 g, 26 mmol) was added to a stirred solution of dry acetone (39 ml). A catalytic quantity of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (117  $\mu\text{L}$ ) was added and the reaction mixture was stirred at rt for 24 h.  $\text{NaHCO}_3$  powder was added and the mixture was stirred for 10 min. The reaction mixture was filtered and concentrated under reduced pressure. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc 5/5) to afford the title compound.

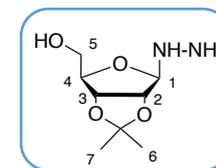
Colorless oil,  $m_{\text{pure}} = 3.4$  g

Yield: 69%

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  6.45 (s, 1H), 5.17 (s, 1H), 4.94 – 4.82 (m, 1H), 4.69 (dd,  $J = 6.0, 1.1$  Hz, 1H), 4.44 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 4.05 – 3.93 (m, 1H), 1.31 (s, 7H).

Spectral data of **78** were in agreement with the literature.<sup>279</sup>

### 2,3-*O*-isopropylidene-D-ribose hydrazine **79**



Hydrazine (40 mL, 1 M in THF) was added to a stirred solution of 2,3-*O*-isopropylidene-D-ribose **78** (740 mg, 3.89 mmol) in MeOH (6 mL) at rt for 48 h. The reaction mixture was co-evaporated with MeOH (3 x 30 mL) to obtain a colorless syrup. The residue was dried under vacuum at 70° C for 20 h. The compound is obtained in pure form without any further purification.

Colorless oil,  $m_{\text{pure}} = 718$  mg

Yield: 90%

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  7.01 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.30 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 4.50 (dd,  $J = 7.8, 6.2$  Hz, 1H), 4.07 – 3.86 (m, 1H), 3.58 – 3.46 (m, 2H), 3.44 – 3.28 (m, 1H), 1.38 (s, 3H), 1.26 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  138.26, 108.09, 78.12, 70.15, 63.9, 28.34, 25.88.

**HRMS** (ESI+) Calcd for  $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4\text{H}$  205.1183, found 205.1184  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### General procedure H

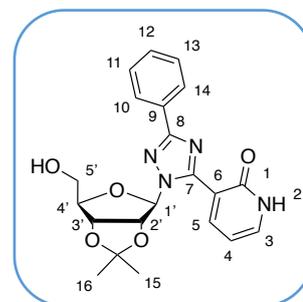
Compound **69** was added portionwise at  $0^\circ\text{C}$  to a stirred solution of compound **79** in absolute ethanol (5 mL). The reaction mixture was stirred for 1 h to 20 h. Then the ethanol has been evaporated. The desired compound is obtained as mixture because the purification by silica gel chromatography (DCM/MeOH 5%) was not enough effective to separate the by product. The crude was directly used for the next step.

### 3-(1-((3*aR*,4*R*,6*R*,6*aR*)-6-(hydroxymethyl)-2,2-dimethyltetrahydrofuro[3,4-*d*][1,3]dioxol-4-yl)-3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one **80a**

The compound is obtained following the general procedure H from compound **69a** (371 mg, 1.65 mmol) for 1 h of reaction time.

Pale yellow solid

Used as crude

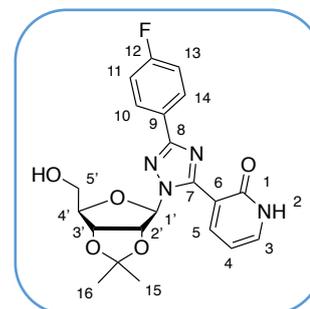


3-(3-(4-fluorophenyl)-1-((3*aR*,4*R*,6*R*,6*aR*)-6-(hydroxymethyl)-2,2-dimethyltetrahydrofuro[3,4-*d*][1,3]dioxol-4-yl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one **80b**

The compound is obtained following the general procedure H from compound **69b** (353 mg, 1.73 mmol) for 20 h of reaction time.

White solid

Used as crude

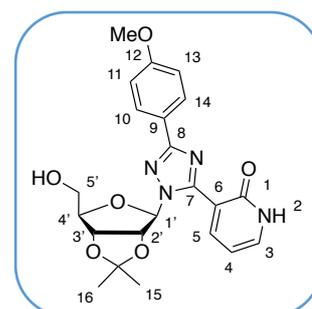


3-(1-((3*aR*,4*R*,6*R*,6*aR*)-6-(hydroxymethyl)-2,2-dimethyltetrahydrofuro[3,4-*d*][1,3]dioxol-4-yl)-3-(4-methoxyphenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one **80c**

The compound is obtained following the general procedure H from compound **69f** (124.5 mg, 0.49 mmol) for 20 h of reaction time.

White solid

Used as crude

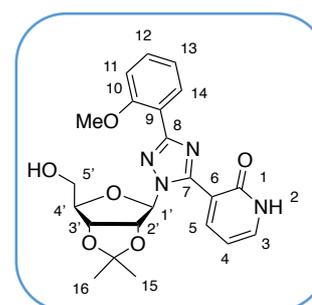


3-(1-((3*aR*,4*R*,6*R*,6*aR*)-6-(hydroxymethyl)-2,2-dimethyltetrahydrofuro[3,4-*d*][1,3]dioxol-4-yl)-3-(2-methoxyphenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one **80d**

The compound is obtained following the general procedure H from compound **69h** (357 mg, 1.4 mmol) for 3 h of reaction time.

White solid

Used as crude

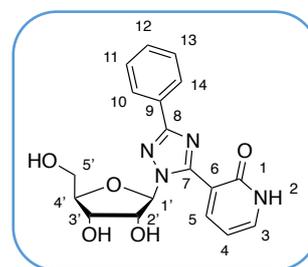


## General procedure I

Activated amberlite resin was added to a stirred solution of compound **80** in acetone/H<sub>2</sub>O. The reaction mixture was stirred at 40° C for 24 h. The mixture was filtered and washed with an aqueous solution of ammonia (10 %). The filtrate was evaporated under vacuum. The mixture was purified by silica gel chromatography (DCM/MeOH 5% to 15%) to afford the desired compound.

### 3-(1-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-3-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one **81a**

The compound is obtained following the general procedure I from crude compound **80a** (556 mg, 1.36 mmol) for 24 h of reaction time.



White solid,  $m_{\text{pure}} = 90$  mg

Yield: 14% (2 steps)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  8.04 – 7.92 (m, 2H, H<sub>10/14</sub>), 7.87 (dd,  $J = 7.1, 2.0$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.60 (dd,  $J = 6.5, 2.0$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.44 – 7.29 (m, 3H, H<sub>11/12/13</sub>), 6.48 (t,  $J = 6.8$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 5.72 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H, H<sub>1'</sub>), 4.59 – 4.43 (m, 2H, H<sub>2'/3'</sub>), 4.10 – 3.91 (m, 1H, H<sub>4'</sub>), 3.83 – 3.55 (m, 2H, H<sub>5'</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  161.6, 152.7, 145.1, 138.2, 130.1, 129.4, 128.3, 126.0, 118.4, 114.9, 106.5, 91.5, 85.4, 75.3, 70.9, 62.4.

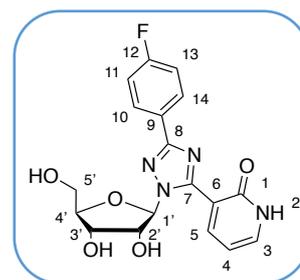
**HRMS** (ESI+) Calcd for C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>H 371.1350; found: 371.1352 [M+H]<sup>+</sup>

### 3-(1-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-3-(4-fluorophenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one **81b**

The compound is obtained following the general procedure I from compound **80b** (330 mg, 0.49 mmol) for 24 h of reaction time.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 140$  mg

Yield: 26% (2 steps)



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  8.10 (d,  $J$  = 8.4, 5.3, 2.5 Hz, 2H, H<sub>10/14</sub>), 7.98 (dd,  $J$  = 7.1, 2.3 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.72 (dd,  $J$  = 6.5, 2.2 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.36 – 7.17 (m, 2H, H<sub>11/13</sub>), 6.68 – 6.49 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 5.83 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H, H<sub>1'</sub>), 4.74 – 4.55 (m, 2H, H<sub>2'/3'</sub>), 4.11 (t,  $J$  = 5.6, 3.2 Hz, 1H, H<sub>4'</sub>), 3.92 – 3.64 (m, 3H, H<sub>5'</sub>).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  160.8, 152.8, 145.1, 138.2, 128.2, 126.6, 118.3, 115.1, 106.4, 91.4, 85.4, 75.2, 70.9, 62.4.

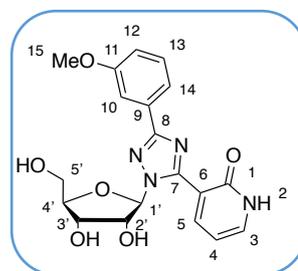
**HRMS** (ESI+) Calcd for C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>5</sub>H 389.1256; found: 389.1259 [M+H]<sup>+</sup>

3-(1-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-3-(2-methoxyphenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)pyridin-2(1*H*)-one **81c**

The compound is obtained following the general procedure I from crude compound **80d** (270 mg, 0.63 mmol) for 24 h of reaction time.

White solid,  $m_{\text{pure}}$  = 45 mg

Yield: 10% (2 steps)



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  7.87 (dd,  $J$  = 7.0, 2.1 Hz, 1H), 7.63 – 7.49 (m, 3H), 7.26 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 6.90 (dd,  $J$  = 8.3, 2.5 Hz, 1H), 6.48 (t,  $J$  = 6.7 Hz, 1H), 5.72 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 4.59 – 4.43 (m, 2H), 4.07 – 3.92 (m, 1H), 3.75 – 3.53 (m, 1H), 3.63 (dd,  $J$  = 12.1, 5.3 Hz, 1H), 3.21 (h,  $J$  = 1.3 Hz, 3H).

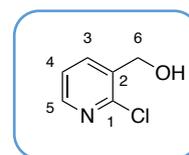
$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  160.0, 152.7, 145.1, 138.2, 131.1, 129.4, 118.3, 115.2, 111.2, 106.5, 91.5, 85.4, 75.3, 70.9, 62.4, 54.4.

**HRMS** (ESI+) Calcd for C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>Na 423.1275; found: 423.1275 [M+Na]<sup>+</sup>

## Chapitre 6

### (2-chloropyridin-3-yl)methanol **83**

CAS [42330-59-6]



$\text{NaBH}_4$  (3.2 g, 84.7 mmol) was added to a stirred solution of 2-chloropyridine-3-carbaldehyde (10 g, 70.6 mmol) in MeOH at 0° C. The reaction mixture was slowly warmed up at room temperature and the reaction was stirred for 4 h. The reaction was quenched with water (50 mL) +  $\text{NaHCO}_3$  (10 mL). The mixture was extracted with DCM (3 x 50 mL). The combined organic layers were washed with brine (30 mL), dried over  $\text{MgSO}_4$  and concentrated to afford the title compound in pure form.

Yellow oil,  $m_{\text{pure}} = 9$  g

Yield: 89%

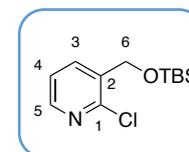
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.33 (d, 1H,  $J = 4.22$  Hz,  $\text{H}_5$ ), 7.90 (d, 1H,  $J = 7.34$  Hz,  $\text{H}_3$ ), 7.30 (dd, 1H,  $J = 7.34$ ,  $J = 4.77$  Hz,  $\text{H}_4$ ), 4.81 (s, 2H,  $\text{H}_6$ ), 2.01 (bs, 1H, OH) ppm

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  148.2 ( $\text{C}_1$ ), 147.0 ( $\text{C}_5$ ), 136.6 ( $\text{C}_3$ ), 135.6 ( $\text{C}_2$ ), 122.5 ( $\text{C}_4$ ), 60.2 ( $\text{C}_6$ ) ppm;

HRMS (ESI+) Calcd for  $\text{C}_6\text{H}_6\text{ClNOLi}$ : 150.0293; found: 150.0292  $[\text{M}+\text{Li}]^+$

### 3-[[*tert*-butyldimethylsilyl]oxy]methyl]-2-chloropyridine **84**

CAS [220270-71-3]



Imidazole (8.58 g, 126 mmol) and TBSCl (10.44 g, 69.3 mmol) were added to a stirred solution of compound **83** (9.0 g, 63 mmol) in DMF. The reaction mixture was stirred at room temperature for 20 h. Water was added, followed by a saturated aqueous solution of  $\text{NaHCO}_3$ . The mixture was extracted with  $\text{Et}_2\text{O}$  (3 x 100 mL). The combined organic layers were washed with LiCl (2 x 50 mL) and brine (50 mL). The combined organic layers were dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated under reduced pressure. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (DCM) to afford the title compound.

Colorless liquid,  $m_{\text{pure}} = 14$  g

Yield: 87%

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.29 (d, 1H,  $J = 4.03$  Hz,  $\text{H}_5$ ), 7.92 (d, 1H,  $J = 7.52$  Hz,  $\text{H}_3$ ), 7.28 (dd, 1H,  $J = 7.52$ ,  $J = 4.77$  Hz,  $\text{H}_4$ ), 4.76 (s, 2H,  $\text{H}_6$ ), 0.98 (s, 9H,  $\text{H}_{9,10,11}$ ) 0.15 (s, 6H,  $\text{H}_{7,8}$ ) ppm;

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  148.1 ( $\text{C}_1$ ), 147.4 ( $\text{C}_5$ ), 135.8 ( $\text{C}_3$ ), 135.5 ( $\text{C}_2$ ), 122.5, ( $\text{C}_4$ ), 61.2 ( $\text{C}_6$ ), 25.7 ( $\text{C}_{9,10,11}$ ), 18.2 ( $\text{C}_{12}$ ), -5.5 ( $\text{C}_{7,8}$ ) ppm

**HRMS** (ESI+): calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{ClNOSi}$ : 258.1075; found: 258.1067  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### General procedure J

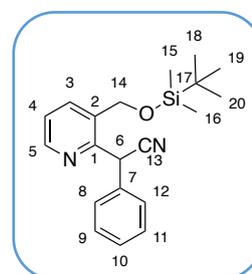
NaH (60% in oil, 17 mmol) was added portionwise to a solution of compound **84** (3.4 mmol) in THF (10 mL) at rt. The corresponding arylacetonitrile (4.12 mmol) was added to the mixture and the reaction mixture was stirred at  $70^\circ\text{C}$  for 15 h to 24 h. Water (20 mL) was added slowly to stop the reaction. EtOAc (20 mL) was added and the two layers separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (3 x 20 mL). The combined organic layers were washed with brine (20 mL), dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/Ether: 7/3 to 5/5) to afford the pure product.

### 2-(3-[[tert-butyl(dimethyl)silyloxy]methyl]pyridin-2-yl)-2-phenylacetonitrile **87a**

The compound is obtained following the general procedure J from phenylacetonitrile (876.5 mg, 3.4 mmol) for 15 h of reaction time.

Yellow oil,  $m_{\text{pure}} = 794$  mg

Yield: 69%



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.60 (dd, 1H, *J* = 4.6 Hz, *J* = 1.2 Hz, H<sub>5</sub>), 7.76 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz, H<sub>3</sub>), 7.42-7.28 (m, 6H, H<sub>4, 8, 9, 10, 11, 12</sub>), 5.66 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 4.68 (d, 1H, *J* = 13.7 Hz, H<sub>14a</sub>), 4.61 (d, 1H, *J* = 13.7 Hz, H<sub>14b</sub>), 0.91 (s, 9H, H<sub>18, 19, 20</sub>), 0.05 (s, 6H, H<sub>15, 16</sub>)

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 152.2 (C<sub>1</sub>), 148.5 (C<sub>5</sub>), 136.0 (C<sub>3</sub>), 134.2 (C<sub>2</sub>), 134.0 (C<sub>7</sub>), 129.0 (C<sub>8,12</sub>), 128.3 (C<sub>10</sub>), 127.8 (C<sub>9,11</sub>), 123.3 (C<sub>4</sub>), 118.6 (C<sub>13</sub>), 61.7 (C<sub>14</sub>), 42.3 (C<sub>6</sub>), 25.8 (C<sub>18,19,20</sub>), 18.2 (C<sub>17</sub>), -5.45 (C<sub>15,16</sub>)

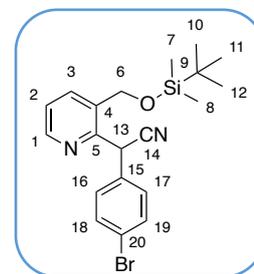
**HRMS** (ESI+) calcd for C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>NaOSi: 361.1707, found: 361.1694 [M+Na]<sup>+</sup>

## 2-(4-bromophenyl)-2-(3-[[tert-butyl(dimethylsilyl)oxy]methyl]pyridin-2-yl)acetonitrile 87b

The compound is obtained following the general procedure J from 4-bromophenylacetonitrile (490 mg, 2.53 mmol) for 15 h of reaction time.

Yellow oil, m<sub>pure</sub> = 500 mg

Yield: 63 %



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.57 (d, 1H, *J* = 4.6 Hz, *J* = 1.8 Hz, H<sub>1</sub>), 7.73 (d, 1H *J* = 7.5 Hz, H<sub>3</sub>), 7.49 (d, 2H, *J* = 7.5 Hz, H<sub>18,19</sub>), 7.29-7.27 (m, 3H, H<sub>16,17,2</sub>), 5.64 (s, 1H, H<sub>13</sub>), 4.68 (d, 1H, *J* = 13.4 Hz, H<sub>6a</sub>), 4.63 (d, 1H, *J* = 13.3 Hz, H<sub>6b</sub>), 0.90 (s, 9H, H<sub>10,11,12</sub>), 0.05 (s, 6H, H<sub>7,8</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 152.1 (C<sub>5</sub>), 148.8 (C<sub>1</sub>), 136.4 (C<sub>3</sub>), 134.0 (C<sub>20</sub>), 133.2 (C<sub>4</sub>), 132.1 (C<sub>16,17</sub>), 129.6 (C<sub>18,19</sub>), 123.5 (C<sub>2</sub>), 122.5 (C<sub>15</sub>), 118.3 (C<sub>14</sub>), 62.0 (C<sub>6</sub>), 41.4 (C<sub>13</sub>), 25.8 (C<sub>10,11,12</sub>), 18.28 (C<sub>9</sub>), -5.38 (C<sub>7,8</sub>) ppm;

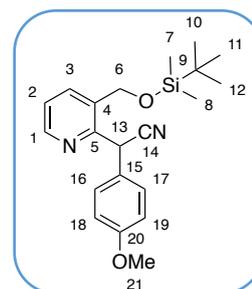
**HRMS** (ESI+): calcd for C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>NaOSi: 439.0811, found: 439.0813 [M+Na]<sup>+</sup>

2-(3-[[tert-butyl(dimethyl)silyloxy]methyl]pyridin-2-yl)-2-(4-methoxyphenyl)acetonitrile **87c**

The compound is obtained following the general procedure J from 4-methoxyphenylacetonitrile (283  $\mu$ L, 2.09 mmol) for 15 h of reaction time.

Yellow oil,  $m_{\text{pure}} = 520$  mg

Yield: 74 %



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 8.60$  (d, 1H,  $J = 6.3$  Hz,  $\text{H}_1$ ), 7.76 (d, 1H,  $J = 8.1$  Hz,  $\text{H}_3$ ), 7.30-7.27 (m, 3H,  $\text{H}_{2,16,17}$ ), 6.88 (d, 2H,  $J = 8.1$  Hz,  $\text{H}_{18,19}$ ), 5.6 (s, 1H,  $\text{H}_{13}$ ), 4.64 (d, 1H,  $J = 13.5$  Hz,  $\text{H}_{6a}$ ), 4.62 (d, 1H,  $J = 13.8$  Hz,  $\text{H}_{6b}$ ), 3.80 (s, 3H,  $\text{H}_{21}$ ), 0.92 (s, 9H,  $\text{H}_{10,11,12}$ ), 0.05 (s, 6H,  $\text{H}_{7,8}$ ) ppm;

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 159.7$  ( $\text{C}_{20}$ ), 152.6 ( $\text{C}_5$ ), 148.6 ( $\text{C}_1$ ), 136.2 ( $\text{C}_3$ ), 134.27 ( $\text{C}_4$ ), 129.2 ( $\text{C}_{16,17}$ ), 126.1 ( $\text{C}_{15}$ ), 123.4 ( $\text{C}_2$ ), 119.1 ( $\text{C}_{14}$ ), 114.6 ( $\text{C}_{18,19}$ ), 61.9 ( $\text{C}_6$ ), 55.5 ( $\text{C}_{21}$ ), 41.7 ( $\text{C}_{13}$ ), 25.9 ( $\text{C}_{10,11,12}$ ), 18.4 ( $\text{C}_9$ ), -5.1 ( $\text{C}_{7,8}$ ) ppm;

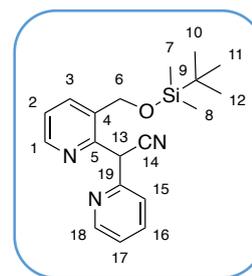
**HRMS** (ESI+): calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{NaO}_2\text{Si}$ : 391, 1812, found: 391, 1814 [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$

2-(3-[[tert-butyl(dimethyl)silyloxy]methyl]pyridin-2-yl)-2-(pyridine-2-yl)acetonitrile **87d**

The compound is obtained following the general procedure J from 2-pyridylacetonitrile (100 mg, 0.47 mmol) for 24 h of reaction time.

The residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/ $\text{Et}_2\text{O}$  7/3 to 5/5). Purification of the compound led to degradation. So, the crude was used directly in the next step.

Yellow oil (impure product, 56 % estimated yield).



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.47 (d, 1H,  $J = 5$  Hz,  $\text{H}_5$ ), 8.46 (d, 1H,  $J = 4$  Hz,  $\text{H}_{18}$ ), 7.72 (m, 1H,  $\text{H}_3$ ), 7.65 (m, 1H,  $\text{H}_{16}$ ), 7.52 (d, 1H,  $J = 8$  Hz,  $\text{H}_{15}$ ), 7.20 (m, 1H,  $\text{H}_{17}$ ), 7.15 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 5.69 (s, 1H,  $\text{H}_{13}$ ), 4.83 (d, 1H,  $J = 13$  Hz,  $\text{H}_{6a}$ ), 4.76 (d, 1H,  $J = 13$  Hz,  $\text{H}_{6b}$ ), 0.85 (s, 1H,  $\text{H}_{10,11,12}$ ), 0.02 (s, 3H,  $\text{H}_7$ ), 0.00 (s, 3H,  $\text{H}_8$ ) ppm;

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  154.5 ( $\text{C}_1$ ), 151.4 ( $\text{C}_{19}$ ), 149.5 ( $\text{C}_5$ ), 148.4 ( $\text{C}_{18}$ ), 137.3 ( $\text{C}_3$ ), 135.8 ( $\text{C}_{16}$ ), 135.3 ( $\text{C}_2$ ), 123.4 ( $\text{C}_{15}$ ), 123.0 ( $\text{C}_{17}$ ), 122.4 ( $\text{C}_4$ ), 118.2 ( $\text{C}_{14}$ ), 61.8 ( $\text{C}_6$ ), 44.9 ( $\text{C}_{13}$ ), 25.8 ( $\text{C}_{11,12,13}$ ), 18.3 ( $\text{C}_9$ ), -5.3 ( $\text{C}_{7,8}$ ) ppm;

HRMS (ESI+): calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{OSi}$ : 391, 1840, found: 391, 1842  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### (2-chloropyridin-3-yl)(phenyl)methanol 89

Phenylmagnesium bromide (2.4 mL, 7.1 mmol) was added portionwise to a stirred solution of 2-chloro-3-pyridincarboxaldehyde (1 g, 7.1 mmol) in dry  $\text{Et}_2\text{O}$  (10 mL) at  $0^\circ\text{C}$  for 2 h. The reaction was quenched with a saturated aqueous solution of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (10 mL), followed by a saturated aqueous solution of  $\text{NaHCO}_3$  (10 mL). The reaction mixture was extracted with  $\text{Et}_2\text{O}$  (2 x 20 mL). The combined organic layers were dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and evaporated under reduced pressure. The title compound was obtained in pure form without any further purification.

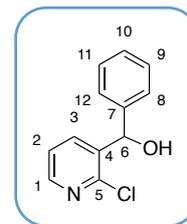
Orange solid,  $m_{\text{pure}} = 1.53\text{ g}$

Yield: 98%

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.18 (dd,  $J = 4.6\text{ Hz}$ ,  $J = 1.8\text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_1$ ), 7.89 (dd,  $J = 7.5\text{ Hz}$ ,  $J = 1.8\text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_3$ ), 7.20-7.15 (m, 6H,  $\text{H}_{2/8/9/10/11/12}$ ), 6.04 (s, 1H,  $\text{H}_6$ ), 2.66 (s, 1H, OH)

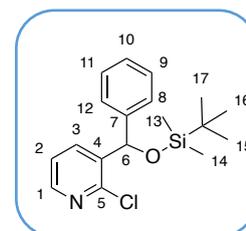
$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  149.4 ( $\text{C}_5$ ), 148.4 ( $\text{C}_1$ ), 141.3 ( $\text{C}_7$ ), 137.7 ( $\text{C}_4$ ), 136.9 ( $\text{C}_3$ ), 128.6 ( $\text{C}_{9/11}$ ), 128.1 ( $\text{C}_{10}$ ), 127.0 ( $\text{C}_{8/12}$ ), 122.8 ( $\text{C}_2$ ), 72.1 ( $\text{C}_6$ )

HRMS (ESI+): calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{ClNO}$ : 220.0529, found: 220.0522  $[\text{M}+\text{H}]^+$



### 3-(((*tert*-butyl(methyl)silyl)oxy)(phenyl)methyl)-2-chloropyridine 90

(2-Chloropyridin-3-yl)phenylmethanol (18.2 mmol, 1 eq), *tert*-Butyldimethylchlorosilane (20.2 mmol, 1.1 eq) and imidazole (36.4 mmol, 2 eq) were added to 20 mL of dry DMF. The reaction mixture was stirred at rt for 18 h.  $\text{Et}_2\text{O}$  (100 mL) were added and the reaction mixture was washed three times with water (3 x 100 mL) in a decanting funnel to remove DMF. The



combined aqueous layers were extracted with Et<sub>2</sub>O (100 mL) and the combined organic layers washed with an aqueous saturated solution of LiCl and brine. Finally, the organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated to afford the title compound. The residue was purified by silica gel chromatography (DCM 100%).

White solid, m<sub>pure</sub> = 4.8 g

Yield: 79%

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.30 (d, 1H, J<sub>1</sub> = 4.2 Hz, H<sub>5</sub>), 8.03 (d, 1H, J<sub>1</sub> = 7.7 Hz, J<sub>2</sub> = 1.6 Hz, H<sub>3</sub>), 7.40 (d, 1H, J<sub>1</sub> = 7.7 Hz, H<sub>4</sub>), 7.27 (m, 5H, H<sub>8-12</sub>), 6.14 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 0.91 (s, 9H, H<sub>15,16,17</sub>), 0.01 (d, 6H, J<sub>1</sub> = 6.4 Hz, H<sub>13,14</sub>)

<sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 148.5 (C<sub>1</sub>), 148.3 (C<sub>5</sub>), 142.7 (C<sub>2</sub>), 139.4 (C<sub>7</sub>), 137.2 (C<sub>3</sub>), 128.3 (C<sub>8,12</sub>), 127.5 (C<sub>10</sub>), 126.4 (C<sub>9,11</sub>), 122.9 (C<sub>4</sub>), 72.3 (C<sub>6</sub>), 25.7 (C<sub>15,16,17</sub>), 18.1 (C<sub>18</sub>), -4.9 (C<sub>13,14</sub>)

HRMS (ESI): calcd for C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>ClNOSi: 334.1388, found: 334.1389 [M+H]<sup>+</sup>

## 2-(3-[[tert-butyl(dimethyl)silyloxy](phenyl)methyl]pyridin-2-yl)-2-phenylacetonitrile **91**

The compound is obtained following the general procedure B from compound **90** (1g, 3.4 mmol) at 70° C for 12 h of reaction time.

The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc 9/1) and trituration with petroleum ether.

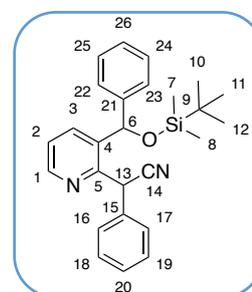
White solid

Yield: 30%

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.70 (d, 1H, J = 3.9 Hz, H<sub>1</sub>), 8.04 (d, 1H, J = 7.5 Hz, H<sub>3</sub>), 7.30 (m, 9H, H<sub>16</sub>, H<sub>17</sub>, H<sub>18</sub>, H<sub>19</sub>, H<sub>20</sub>, H<sub>24</sub>, H<sub>25</sub>, H<sub>26</sub>, H<sub>2</sub>), 7.03 (m, 2H, H<sub>22,23</sub>), 5.82 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.55 (s, 1H, H<sub>13</sub>), 0.94 (s, 9H, H<sub>10,11,12</sub>), 0.00 (s, 3H, H<sub>7,8</sub>), -0.09 (s, 3H, H<sub>7,8</sub>) ppm;

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 152.3 (C<sub>5</sub>), 148.8 (C<sub>1</sub>), 142.0 (C<sub>4</sub>), 136.5 (C<sub>3</sub>), 134.4 (C<sub>21</sub>), 128.8-128.8-127.9-126.5-123.0 (C<sub>16,17,18,19,20,22,23,24,25,26</sub>), 119.1 (C<sub>14</sub>), 74.1 (C<sub>6</sub>), 41.4 (C<sub>13</sub>), 25.8 (C<sub>10,11,12</sub>), -4.8 (C<sub>7,8</sub>), -5.0 (C<sub>7,8</sub>) ppm;

HRMS (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Si: 415.2200, found 415.2201 [M+H]<sup>+</sup>



## General procedure K

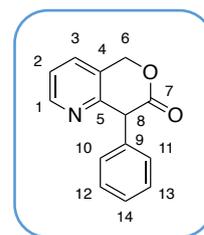
To a stirred solution of compound **87** (3.25 mmol) in 20 mL of toluene was added PTSA.H<sub>2</sub>O (19.5 mmol). The reaction mixture was vigorously stirred at 120° C for 4 h. The reaction mixture was cooled to room temperature and poured into a mixture of a saturated aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub> and EtOAc (1/1) (50 mL + 50 mL). Water was added and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc (50 mL). The combined organic layers were washed with water (50 mL), a saturated aqueous solution of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (50 mL) and brine (50 mL). Finally, the organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc 5/5) to afford the title compound.

### 8-phenyl-5H,7H,8H-pyrano[4,3-b]pyridin-7-one **88a**

The compound is obtained following the general procedure K from compound **87a** (800 mg, 2.36 mmol) for 4 h of reaction time.

Colorless oil  $m_{\text{pure}} = 430$  mg

Yield: 80%



**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.68 (d, 1H, J = 4.5 Hz, H<sub>5</sub>), 7.62 (d, 1H, J = 7.5 Hz, H<sub>3</sub>), 7.39-7.28 (m, 4H, H<sub>4,9,10,11</sub>), 7.19 (d, 2H, J = 6.7 Hz, H<sub>8,12</sub>), 5.32 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.29 (d, 1H, J = 14.4 Hz, H<sub>14a</sub>), 5.21 (d, 1H, J = 14.4 Hz, H<sub>14b</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  170.1 (C<sub>13</sub>), 153.5 (C<sub>1</sub>), 149.9 (C<sub>5</sub>), 133.2 (C<sub>2</sub>), 133.1 (C<sub>3</sub>), 129.08 (C<sub>8,12</sub>), 128.0 (C<sub>10</sub>), 127.5 (C<sub>9,11</sub>), 127.0 (C<sub>7</sub>), 122.7 (C<sub>4</sub>), 67.7 (C<sub>14</sub>), 54.3 (C<sub>6</sub>) ppm;

**IR**: 3060, 2364, 1744, 1539, 1442, 1242, 1039, 761 cm<sup>-1</sup>;

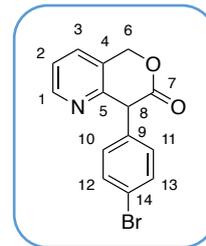
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NNaO<sub>2</sub>: 248.0677, found: 248.0682 [M+Na]<sup>+</sup>

#### 4-(4-bromophenyl)-3,4-dihydro-1H-2-benzopyran-3-one **88b**

The compound is obtained following the general procedure K from compound **87b** (160 mg, 0.4 mmol) for 4 h of reaction time.

Orange solid,  $m_{\text{pure}} = 60$  g

Yield: 49 %



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.49 (d, 1H,  $J = 4.1$  Hz,  $\text{H}_1$ ), 7.87 (d, 1H,  $J = 7.5$  Hz,  $\text{H}_3$ ), 7.56 (d, 2H,  $J = 8.7$  Hz,  $\text{H}_{10/11}$ ), 7.42 (dd, 1H,  $J_1 = 7.6$  Hz,  $J_2 = 4.9$  Hz,  $\text{H}_2$ ), 7.13 (d, 2H,  $J = 8.7$  Hz,  $\text{H}_{12/13}$ ), 5.52 (d, 1H,  $J = 14.6$  Hz,  $\text{H}_{6a}$ ), 5.42 (d, 1H,  $J = 14.3$  Hz,  $\text{H}_{6b}$ ), 5.41 (s, 1H,  $\text{H}_8$ ) ppm;

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 169.5$  ( $\text{C}_7$ ), 153.0 ( $\text{C}_5$ ), 150.4 ( $\text{C}_1$ ), 132.8 ( $\text{C}_3$ ), 132.6 ( $\text{C}_4$ ), 132.1 ( $\text{C}_{10/11}$ ), 129.5 ( $\text{C}_{12/13}$ ), 126.7 ( $\text{C}_9$ ), 122.8 ( $\text{C}_2$ ), 122.2 ( $\text{C}_{14}$ ), 67.7 ( $\text{C}_6$ ), 53.9 ( $\text{C}_8$ ) ppm;

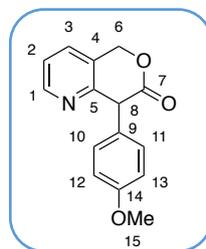
**HRMS** (ESI): calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{BrNO}_2$ : 303.9894, found: 303.9969  $[\text{M}+\text{H}]^+$

#### 8-(4-methoxyphenyl)-5H,7H,8H-pyrano[4,3-b]pyridin-7-one **88c**

The compound is obtained following the general procedure K from compound **87c** (520 mg, 1.4 mmol) for 4 h of reaction time.

Yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 128$  mg

Yield: 36 %



$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 8.65$  (dd, 1H,  $J = 4.9$  Hz,  $J = 1.7$  Hz,  $\text{H}_1$ ), 7.60 (dd, 1H,  $J = 8.1$ ,  $J = 1.2$  Hz,  $\text{H}_3$ ), 7.33 (dd, 1H,  $J = 8.4$  Hz,  $J = 1.6$  Hz,  $\text{H}_2$ ), 7.06 (d, 2H,  $J = 8.4$  Hz,  $\text{H}_{10,11}$ ), 6.86 (d, 2H,  $J = 8.2$  Hz,  $\text{H}_{12,13}$ ), 5.28 (d, 1H,  $J = 14.2$  Hz,  $\text{H}_{6a}$ ), 5.21 (s, 1H,  $\text{H}_8$ ), 5.18 (d, 1H,  $J = 14.2$  Hz,  $\text{H}_{6b}$ ), 3.77 (s, 3H,  $\text{H}_{15}$ ) ppm;

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 171.0 ( $\text{C}_7$ ), 159.7 ( $\text{C}_5$ ), 154.5 ( $\text{C}_{14}$ ), 150.7 ( $\text{C}_1$ ), 133.1 ( $\text{C}_3$ ), 129.2 ( $\text{C}_{10/11}$ ), 127.2 ( $\text{C}_9$ ), 125.7 ( $\text{C}_4$ ), 123.0 ( $\text{C}_2$ ), 114.9 ( $\text{C}_{12/13}$ ), 68.2 ( $\text{C}_6$ ), 55.7 ( $\text{C}_{15}$ ), 54.3 ( $\text{C}_8$ ) ppm;

**HRMS** (ESI): calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NNaO}_3$ : 278.0789, found: 278.0788  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

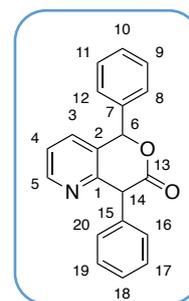
## 5,8-diphenyl-5H, 7H, 8H-pyrano[4,3-b]pyridin-7-one **92**

The compound is obtained following the general procedure K from compound **91** (200 mg, 0.48 mmol) at 120° C for 2 h of reaction time.

The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc: 7/3) and trituration with petroleum ether.

Yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 110$  mg

Yield: 76% Mixture of 2 inseparable diastereoisomers 3/1



**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) of the major diastereoisomer:  $\delta = 8.69$  (d, 1H,  $J = 4.8$  Hz, H<sub>1</sub>), 7.49-7.27 (m, 11H, H<sub>3, H8,9,10,11,12,16,17,18,19,20</sub>), 7.08 (d, 1H,  $J = 7.5$  Hz, H<sub>2</sub>), 6.23 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.50 (s, 1H, H<sub>14</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 170.1 (C<sub>13</sub>), 154.0 (C<sub>5</sub>), 150.3 (C<sub>1</sub>), 135.5 (C<sub>4</sub>), 134.0 (C<sub>3</sub>), 133.4 (C<sub>7</sub> or C<sub>15</sub>), 131.1 (C<sub>15</sub> or C<sub>7</sub>), 129.4-129.1-128.9-128.1-128.0-127.5 (C<sub>8,9,10,11,12, 6,17,18,19,20</sub>), 122.6 (C<sub>2</sub>), 79.9 (C<sub>4</sub>), 54.9 (C<sub>13</sub>) ppm;

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>2</sub>: 302.1176, found: 302.1176 [M+H]<sup>+</sup>

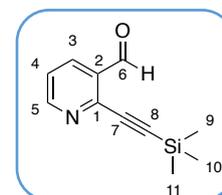
## 2-[2-(trimethylsilyl)ethynyl]pyridine-3-carbaldehyde **93**

CAS [222167-42-2]

PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (360 mg, 0.52 mmol, 2 mol%), TMSA (6 mL, 44 mmol), DABCO (5.9 g, 53 mmol), and CuI (49 mg, 0.26 mmol, 1 mol%) were added to a stirred solution of 2-bromo-3-pyridinecarboxaldehyde (5 g, 26 mmol) in dry THF at rt for 1 h. The solution was filtered on celite<sup>®</sup> and washed with DCM. The filtrate was concentrated and the resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc: 9/1 to 7/3) to afford the title compound.

Brown solid,  $m_{\text{pure}} = 4.4$  g

Yield: 83%



**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  10.57 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 8.79 (dd, 1H,  $J = 4.77$  Hz,  $J = 1.83$  Hz,

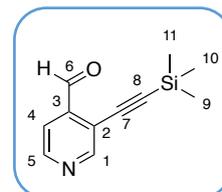
H<sub>5</sub>), 8.19 (dd, 1H,  $J = 7.89$  Hz,  $J = 1.83$  Hz, H<sub>3</sub>), 7.41 (dd, 1H,  $J = 7.89$  Hz,  $J = 4.77$  Hz, H<sub>4</sub>), 0.32 (s, 9H, H<sub>9,10,11</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  190.6 (C<sub>6</sub>), 154.5 (C<sub>5</sub>), 143.9 (C<sub>1</sub>), 134.7 (C<sub>3</sub>), 131.9 (C<sub>2</sub>), 124.3 (C<sub>4</sub>), 101.4 (C<sub>7/8</sub>), 100.0 (C<sub>7/8</sub>), -0.6 (C<sub>9,10,11</sub>) ppm

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>2</sub>Si: 204.0839, found: 204.0839 [M+H]<sup>+</sup>

### 3-((trimethylsilyl)ethynyl)isonicotinaldehyde **94**

CAS [222167-62-6]



PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (150 mg, 0.21 mmol, 2 mol%), TMSA (2.6 mL, 18 mmol), DABCO (2.4 g, 21 mmol), and CuI (20.5 mg, 0.10 mmol, 1 mol%) were added to a stirred solution of 2-bromo-3-pyridinecarboxaldehyde (2 g, 10.7 mmol) in dry THF (20 mL) at rt for 1 h.. The solution was filtered on celite® and washed with DCM. The filtrate was concentrated and the resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc: 9/1 to 7/3) to afford the title compound.

Brown solid,  $m_{\text{pure}} = 1.93$  g

Yield: 89%

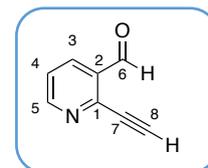
**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  10.53 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 8.89 (s, 1H, H<sub>1</sub>), 8.71 (d, 1H,  $J = 4.95$  Hz, H<sub>5</sub>), 7.67 (d, 1H,  $J = 4.95$  Hz, H<sub>4</sub>), 0.31 (s, 9H, H<sub>9,10,11</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  190.66 (C<sub>6</sub>), 154.77 (C<sub>5</sub>), 149.42 (C<sub>1</sub>), 140.77 (C<sub>3</sub>), 121.13 (C<sub>2</sub>), 118.77 (C<sub>4</sub>), 105.89 (C<sub>7</sub>), 96.85 (C<sub>8</sub>), -0.43 (C<sub>9,10,11</sub>) ppm;

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NNaO<sub>2</sub>Si: 258.0921, found: 258.0925 [M+CH<sub>3</sub>OH+Na]<sup>+</sup>

### 2-ethynylpyridine-3-carbaldehyde **95**

CAS [1211522-97-2]



K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4.48 g, 32.5 mmol) was added to a stirred solution of compound

**93** (4.4 g, 21.6 mmol) in MeOH. The reaction mixture was vigorously stirred at rt for 5 min.

Water (30 mL) was added and the mixture was extracted with DCM (3 x 50 mL). Organic

phase was dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated. The title compound was obtained in pure form without any further purification.

Brown solid, m<sub>pure</sub> = 2.76 g

Yield: 97%

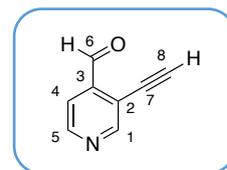
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.57 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 8.82 (dd, 1H, *J* = 4.84 Hz, *J* = 1.76 Hz, H<sub>5</sub>), 8.22 (dd, 1H, *J* = 7.92 Hz, *J* = 1.76 Hz, H<sub>3</sub>), 8.22 (dd, 1H, *J* = 7.70 Hz, *J* = 4.84 Hz, H<sub>4</sub>), 3.57 (s, 1H, H<sub>8</sub>) ppm

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 190.7 (C<sub>6</sub>), 154.5 (C<sub>5</sub>), 143.7 (C<sub>1</sub>), 134.9 (C<sub>3</sub>), 132.2 (C<sub>2</sub>), 124.4 (C<sub>4</sub>), 86.8 (C<sub>8</sub>), 79.3 (C<sub>7</sub>) ppm

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>NO: 132.0444, found: 132.0441 [M+H]<sup>+</sup>

### 3-ethynylisonicotinaldehyde **96**

CAS [1196153-32-8]



K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.97g, 14.24 mmol) was added to a stirred solution of compound **94** (1.93g, 9.49 mmol) in MeOH (22 mL). the reaction mixture was stirred at rt for 5 min. Water (15 mL) was added and mixture was extracted with DCM (3 x 50 mL). the combines organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated under reduced pressure. The title compound was obtained in pure form without any further purification.

Brown solid, m<sub>pure</sub> = 1.17 g

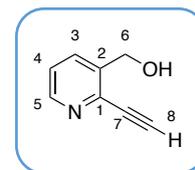
Yield: 94%

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.53 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 8.95 (s, 1H, H<sub>1</sub>), 8.78 (d, 1H, *J* = 5.14 Hz, H<sub>5</sub>), 7.72 (d, 1H, *J* = 5.14 Hz, H<sub>4</sub>), 3.60 (s, 1H, H<sub>8</sub>) ppm

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 190.2 (C<sub>6</sub>), 154.9 (C<sub>1</sub>), 149.9 (C<sub>5</sub>), 141.2 (C<sub>3</sub>), 119.8 (C<sub>2</sub>), 119.1 (C<sub>4</sub>), 87.0 (C<sub>8</sub>), 76.2 (C<sub>7</sub>) ppm

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>Na: 186.0525, found: 186.0521 [M+Na]<sup>+</sup>

### (2-ethynylpyridin-3-yl)methanol **97**



At 0° C, to a stirred solution of compound **95** (200 mg, 1.53 mmol) in a binary mixture THF/water (v/v 10/1) was added NaBH<sub>4</sub> (58 mg, 1.53 mmol). The reaction mixture was stirred for 7 min. Water (10 mL) was added and the mixture was extracted with DCM (3 x 20 mL). The organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub> and concentrated. The title compound was obtained in pure form without any further purification.

Brown solid,  $m_{\text{pure}} = 148.5$  mg

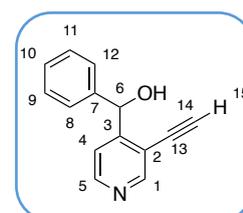
Yield: 73%

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  8.44 (d, 1H,  $J = 4.7$  Hz, H<sub>5</sub>), 7.88 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz, H<sub>3</sub>), 7.4 (dd, 1H,  $J = 7.8$  Hz,  $J = 4.77$  Hz, H<sub>4</sub>), 5.4 (t, 1H,  $J = 5.6$  Hz, OH), 4.63 (d, 2H,  $J = 5.5$  Hz, H<sub>6</sub>), 4.54 (s, 1H, H<sub>8</sub>) ppm;

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  148.0 (C<sub>5</sub>), 140.4 (C<sub>1</sub>), 139.0 (C<sub>2</sub>), 134.1 (C<sub>3</sub>), 123.7 (C<sub>4</sub>), 84.5 (C<sub>8</sub>), 80.6 (C<sub>7</sub>), 59.7 (C<sub>6</sub>) ppm;

HRMS (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>NO: 134.0600, found: 134.0599 [M+H]<sup>+</sup>

### 1-(3-phenylpyridin-4-yl)ethan-1-ol **98c**



At -78° C, to a stirred solution of compound **96** (314 mg, 2.39 mmol) in dry THF (15 mL) was added phenylmagnesium bromide (3 M in THF, 1.14 mL, 5.26 mmol). The reaction mixture was stirred and allowed to warm at room temperature for 1 h. A saturated aqueous solution of NH<sub>4</sub>Cl was added, followed by a saturated aqueous solution NaHCO<sub>3</sub>. EtOAc was added (20 mL) and the two layers decanted. The aqueous layer was extracted with EtOAc (2 x 20 mL). The combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/EtOAc: 7/3 to 5/5) to afford the title compound.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 310$  mg

Yield: 62%

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.66 (s, 1H,  $\text{H}_1$ ), 8.59 (d,  $J = 4$  Hz, 1H,  $\text{H}_5$ ), 7.74 (d,  $J = 4$  Hz, 1H,  $\text{H}_4$ ), 7.43 – 7.27 (m, 5H,  $\text{H}_{8-12}$ ), 6.24 (s, 1H,  $\text{H}_6$ ), 3.50 (s, 1H,  $\text{H}_{15}$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  155.3 ( $\text{C}_3$ ), 152.5 ( $\text{C}_1$ ), 148.8 ( $\text{C}_5$ ), 141.7 ( $\text{C}_7$ ), 128.4 ( $\text{C}_{9,11}$ ), 127.9 ( $\text{C}_{10}$ ), 126.7 ( $\text{C}_{8,12}$ ), 120.4 ( $\text{C}_4$ ), 117.0 ( $\text{C}_2$ ), 85.5 ( $\text{C}_{14}$ ), 78.5 ( $\text{C}_{13}$ ), 72.3 ( $\text{C}_6$ ).

**HRMS** (ESI+): calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{NO}$ : 210.0913, found: 210.0914 $[\text{M}+\text{H}]^+$

### General procedure L

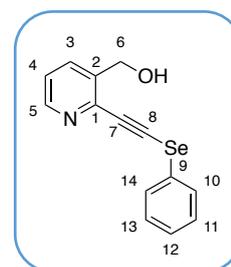
To a stirred solution of compound **97** or **98** (15 mmol) in 40 mL of DMF were added PhSeBr (15 mmol) and CuI (30 mmol). The reaction mixture was stirred at rt for 2 h.  $\text{Et}_2\text{O}$  (100 mL) was added and the mixture was washed with ammonia solution (20% wt.) (4 x 20 mL). The layers were decanted and the aqueous layer extracted with  $\text{Et}_2\text{O}$  (1 x 50 mL). Combined organic layers were washed with water, brine (1 x 50 mL) and then dried over  $\text{MgSO}_4$ . After evaporation, the resulting residue was purified by silica gel chromatography (DCM/Ethyl acetate 7/3 to 6/4) to afford the title compound.

### {2-[2-(phenylselanyl)ethynyl]pyridin-3-yl}methanol **99**

The compound is obtained following the general procedure L from compound **97** (2 g, 15 mmol) at rt for 2 h of reaction time.

Brown solid,  $m_{\text{pure}} = 3.2$  g

Yield: 74%



$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  8.46 (d, 1H,  $J = 4.5$  Hz,  $\text{H}_5$ ), 7.89 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz,  $\text{H}_3$ ), 7.73-7.67 (m, 2H,  $\text{H}_{10,14}$ ), 7.48-7.32 (m, 4H,  $\text{H}_{4,11,12,13}$ ), 5.46 (t, 1H,  $J = 5.5$  Hz, OH), 4.65 (d, 2H,  $J = 5.5$  Hz) ppm;

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  148.1 ( $\text{C}_5$ ), 139.6, 139.5, 134.3, 129.8, 129.1, 127.8 ( $\text{C}_9$ ), 127.5, 123.3, 100.4 ( $\text{C}_8$ ), 75.3 ( $\text{C}_7$ ), 59.9 ( $\text{C}_6$ ) ppm;

HRMS (ESI+): calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{NOSe}$ : 290.0074, found: 290.0079  $[\text{M}+\text{H}]^+$

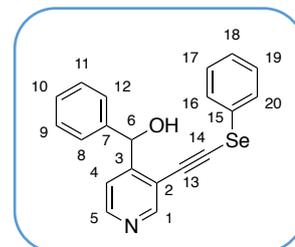
### 1-{3-[2-(phenylselanyl)phenyl]pyridin-4-yl}ethan-1-ol **100c**

The compound is obtained following the general procedure L from compound **98c** (691 mg, 3.3 mmol) for 20 h of reaction time.

The resulting residue was purified by silica gel chromatography (DCM/EtOAc 9/1 to 7/3) to afford the title compound.

Yellow oil,  $m_{\text{pure}} = 655$  mg

Yield: 55%



$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.63 (s, 1H,  $\text{H}_1$ ), 8.58 (d, 1H,  $J = 4$  Hz,  $\text{H}_5$ ), 7.68 (d, 1H,  $J = 4$  Hz,  $\text{H}_4$ ), 7.58 (m, 2H,  $\text{H}_{8,12}$ ), 7.40 – 7.22 (m, 8H,  $\text{H}_{9,10,11,16,17,18,19,20}$ ), 6.24 (d,  $J = 4$  Hz,  $\text{H}_6$ ).

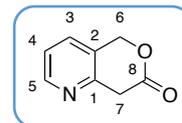
$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  155.2 ( $\text{C}_3$ ), 152.0 ( $\text{C}_1$ ), 149.3 ( $\text{C}_5$ ), 142.8 ( $\text{C}_7$ ), 129.8, 129.4, 128.1, 127.5, 127.3, 126.6, 120.4 ( $\text{C}_4$ ), 117.1 ( $\text{C}_2$ ), 97.5 ( $\text{C}_{14}$ ), 78.5 ( $\text{C}_{13}$ ), 71.4 ( $\text{C}_6$ ). ppm;

HRMS (ESI+): calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{NNaOSe}$ : 388.0212, found: 388.0204  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

### General procedure M

To a stirred solution of compound **99** or **100** (2.76 mmol) in 40 mL of toluene was added PTSA. $\text{H}_2\text{O}$  (11.04 mmol). The reaction mixture was stirred at 120° C for 4 h to 6 h. The reaction mixture was cooled to room temperature and basified with a saturated aqueous solution of  $\text{NaHCO}_3$ . EtOAc was added and the two layers decanted. The aqueous layer was extracted with EtOAc (2 x 50 mL). The combined organic layers were dried over  $\text{MgSO}_4$  and concentrated. The resulting residue was purified by silica gel chromatography to afford the title compound.

### 5H,7H,8H-pyrano[4,3-b]pyridin-7-one **86** ou **101**



The compound is obtained following the general procedure M from compound **99** (650 mg, 2.25 mmol) at 120° C for 4 h of reaction time. The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Ethyl acetate 100%) to afford the title compound.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 217$  mg

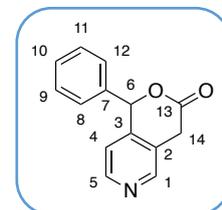
Yield: 65%

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.60 (d, 1H,  $J = 4.7$  Hz, H<sub>5</sub>), 7.69 (d, 1H,  $J = 7.5$  Hz, H<sub>3</sub>), 7.38 (dd, 1H,  $J = 7.5, J = 5.1$  Hz, H<sub>4</sub>), 5.39 (s, 2H, H<sub>8</sub>), 4.07 (s, 2H, H<sub>6</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  169.5 (C<sub>7</sub>), 151.0 (C<sub>1</sub>), 149.9 (C<sub>5</sub>), 132.3 (C<sub>3</sub>), 126.2 (C<sub>2</sub>), 122.3 (C<sub>4</sub>), 68.2 (C<sub>8</sub>), 38.9 (C<sub>6</sub>) ppm;

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>Li: 156.0632, found: 156.0629 [M+Li]<sup>+</sup>

### 1-phenyl-1H,3H,4H-pyrano[4,3-c]pyridin-3-one **102c**



The compound is obtained following the general procedure M from compound **100c** (630 mg, 1.7 mmol) at 120° C for 6 h of reaction time.

The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Cyclohexane/Et<sub>2</sub>O 1/9) to afford the title compound.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 141$  mg

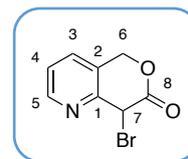
Yield: 37%

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.49 (m, 2H, H<sub>1,5</sub>), 7.35 (m, 3H, H<sub>4</sub>, H<sub>9,11</sub>), 7.23 – 7.19 (m, 2H, H<sub>8,12</sub>), 6.98 (m, 1H, H<sub>10</sub>), 6.33 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 3.72 (dd,  $J = 16$  Hz, 2H, H<sub>14a</sub>), 3.64 (dd,  $J = 16$  Hz, 2H, H<sub>14b</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  168.7 (C<sub>13</sub>), 148.6 (C<sub>1</sub>), 147.8 (C<sub>5</sub>), 143.4 (C<sub>3</sub>), 135.3 (C<sub>2</sub>), 129.5 (C<sub>10</sub>), 129.1 (C<sub>8,12</sub>), 127.3 (C<sub>9,11</sub>), 126.7 (C<sub>7</sub>), 120.3 (C<sub>4</sub>), 81.0 (C<sub>6</sub>), 33.2 (C<sub>14</sub>) ppm;

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>: 225,08; found: 226,08 [M+H]<sup>+</sup>

### 8-bromo-5H,7H,8H-pyrano[4,3-b]pyridin-7-one



To a stirred solution of compound 5H,7H,8H-pyrano[4,3-b]pyridin-7-one **101** (100 mg, 0.67 mmol) in DCM (10 mL) was added NBS (119 mg, 0.67 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 10 min. DCM was added and the resulting organic layer was washed twice with a saturated aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub>. The combined organic layers were dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated to afford the title compound in pure form.

Brown solid,  $m_{\text{pure}} = 90$  mg

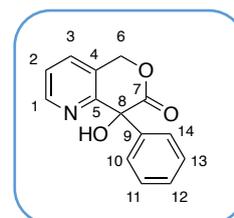
Yield: 59%

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.65 (d, 1H,  $J = 6$  Hz, H<sub>5</sub>), 7.65 (d, 1H,  $J = 9$  Hz, H<sub>3</sub>), 7.38 (dd, 1H,  $J = 9$  Hz,  $J = 6$  Hz, H<sub>4</sub>), 5.63 (d, 1H,  $J = 12$  Hz, H<sub>6a</sub>), 5.51 (s, 1H, H<sub>7</sub>), 5.30 (d, 1H,  $J = 12$  Hz, H<sub>6b</sub>) ppm;

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  167.4 (C<sub>8</sub>), 151.6 (C<sub>1</sub>), 151.3 (C<sub>5</sub>), 135.7 (C<sub>3</sub>), 130.6 (C<sub>2</sub>), 126.0 (C<sub>4</sub>), 69.4 (C<sub>6</sub>), 49.3 (C<sub>7</sub>) ppm;

HRMS (ESI<sup>+</sup>): calcd for C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>BrNNaO<sub>2</sub>: 249.9474, found: 249.9480 [M+Na]<sup>+</sup>

### 8-hydroxy-8-phenyl-5H,7H,8H-pyrano[4,3-b]pyridin-7-one **107**



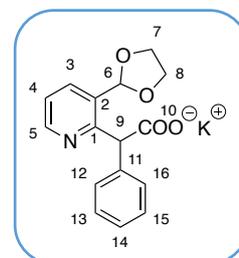
*t*BuOK (33  $\mu$ L, 0.266 mmol) was added to a stirred solution of compound **88a** (20 mg, 0.088 mmol) in 0.5 mL of DMSO-*d*<sub>6</sub>. O<sub>2</sub> was bubbled into the reaction mixture for 20 min. Water was added and the mixture was extracted with EtOAc (3 x 2 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and concentrated. The title compound was obtained in pure form without any further purification.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.75 (d,  $J = 4.4$  Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 7.62 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 7.42 (dd,  $J = 7.6, 4.9$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.36 – 7.26 (m, 3H, H<sub>11</sub> H<sub>12</sub> H<sub>13</sub>), 7.26 – 7.14 (m, 2H, H<sub>10</sub> H<sub>14</sub>), 5.07 (dd,  $J = 40.0, 5.6$  Hz, 2H, H<sub>6</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  171.4 (C<sub>7</sub>), 153.7 (C<sub>5</sub>), 149.7 (C<sub>1</sub>), 137.1 (C<sub>9</sub>), 133.1 (C<sub>3</sub>), 129.3 (C<sub>12</sub>), 129.1 (C<sub>10</sub> C<sub>14</sub>), 126.8 (C<sub>11</sub> C<sub>13</sub>), 126.2 (C<sub>4</sub>), 123.5 (C<sub>2</sub>), 77.2 (C<sub>8</sub>), 67.2 (C<sub>6</sub>).

### Potassium [3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridine-2-yl](phenyl acetate) **109**

To a stirred solution of compound 2-[3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridine-2-yl]-2-phenylacetonitrile **3a** (100 mg, 0.37 mmol) in a ternary solution of THF/MeOH/H<sub>2</sub>O was added KOH (56 mg, 1.1 mmol). The reaction mixture was refluxed at 90° C for 3 days. The mixture was concentrated under reduced pressure and the resulting solid was filtered with water. The filtrate was concentrated under reduced pressure to afford the title compound in pure form.



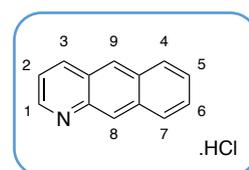
White solid,  $m_{\text{pur}} = 20$  mg

Yield: 16%

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Deuterium Oxide)  $\delta$  8.43 (dd,  $J = 5.4$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 7.95 (dd,  $J = 7.4$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.49 – 7.12 (m, 6H, H<sub>4</sub> H<sub>12</sub> H<sub>13</sub> H<sub>14</sub> H<sub>15</sub> H<sub>16</sub>), 6.02 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.50 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 4.24 – 3.88 (m, 4H, H<sub>7</sub> H<sub>8</sub>).

### Benzo [g] quinolinium **110**

5 ml of HCl 12 M was added to a stirred solution of compound **109** (20mg, 0.06mmol) in THF (2 mL). The mixture was stirred at 80° C



for 7 h. The mixture was concentrated under reduced pressure to afford the title compound.

White solid,  $m_{\text{pure}} = 10$  mg

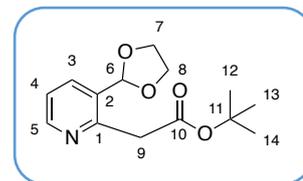
Yield: 83%

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.00 (dd,  $J = 3.9, 1.7$  Hz, 1H, H<sub>1</sub>), 8.71 (s, 1H, H<sub>8/9</sub>), 8.41 (s, 1H, H<sub>9/8</sub>), 8.33 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 8.14 – 8.00 (m, 2H), 7.56 – 7.51 (m, 2H), 7.38 (dd,  $J = 8.6, 3.9$  Hz, 1H, H<sub>2</sub>).

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  151.5, 136.4, 128.5, 128.1, 127.4, 126.7, 126.3, 126.1, 120.5.

### *Tert*-butyl [3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridine-2-yl] acetate **111**

At 0° C, to a stirred solution of compound 2-chloro-3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridine **2** (500 mg, 2.69 mmol) in dry toluene (5 mL) were added the *tert*-butylacetate (582  $\mu\text{L}$ , 4.04 mmol) and



and *t*-BuXPhosPdG1 (36.95 mg, 0.054 mmol, 2% mol). 5 min later LiHMDS (8.1 mL, 8.1 mmol) was slowly added. The reaction was quenched after 5 min with a saturated aqueous solution of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (10 mL) for 5 min and extracted with EtOAc (20 mL) and  $\text{NaHCO}_3$  (15 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated. The title compound was obtained in pure form without any further purification.

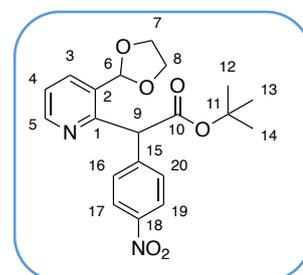
Orange/brown Oil

Yield: quantitative

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.52 (dd,  $J = 4.8, 1.8$  Hz, 1H,  $\text{H}_5$ ), 7.81 (dd,  $J = 7.8, 1.8$  Hz, 1H,  $\text{H}_3$ ), 7.22 – 7.10 (m, 1H,  $\text{H}_4$ ), 5.92 (s, 1H,  $\text{H}_6$ ), 4.14 – 3.93 (m, 4H,  $\text{H}_{7/8}$ ), 3.91 (s, 2H,  $\text{H}_9$ ), 1.41 (s, 9H,  $\text{H}_{12/13/14}$ ).

### *Tert*-butyl [3-(1,3-dioxolan-2-yl)pyridine-2-yl](4-nitrophenyl) acetate **112**

To a stirred solution of compound **111** (100 mg, 0.38 mmol) in dry THF (1 mL) were added NaH (76 mg, 1.9 mmol) and the *p*-nitrofluorobenzene (53.6 mg, 0.38mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 20 h. The mixture was



quenched with water and extracted with EtOAc (3 x 5 mL) and brine (5 mL). The combined organic layers were dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated under reduced pressure.

The resulting residue was purified by silica gel chromatography (Clyclohexane/EtOAc 85/15 to 8/2) to afford the title compound.

Pale yellow solid,  $m_{\text{pure}} = 30$  mg

Yield: 21%

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.60 (dd,  $J = 4.8, 1.8$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 8.16 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H, H<sub>17</sub> H<sub>19</sub>), 7.90 (dd,  $J = 7.8, 1.8$  Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 7.62 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H, H<sub>16</sub> H<sub>20</sub>), 7.26 (dd,  $J = 7.8, 4.8$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 5.96 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 5.67 (s, 1H, H<sub>9</sub>), 4.19 – 4.00 (m, 4H, H<sub>7</sub> H<sub>8</sub>), 1.43 (s, 9H, H<sub>12</sub> H<sub>13</sub> H<sub>14</sub>).



# Bibliographie



## Bibliographie

- 1 R. Milcent, F. Chau, *Chimie organique hétérocyclique (Structures fondamentales)*, EDP Sciences, **2012**.
- 2 Analyse des ventes de médicaments en France en 2013.
- 3 R. Dahm, *J. Dev. Biol.* **2005**, *278*, 274.
- 4 J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* **1953**, *171*, 737.
- 5 B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed, Garland Science, **2002**.
- 6 W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer-Verlag, New York, **1984**.
- 7 E. Chargaff, *Experientia* **1950**, *6*, 201.
- 8 R. Langridge, P. J. Gomas, *Science* **1963**, *141*, 694.
- 9 M. Sundaralingam, *Biopolymers* **1969**, *7*, 821.
- 10 P. Yakovchuk, E. Protozanova, M. D. Frank-Kamenetskii, *Nucleic Acids Res.* **2006**, *34*, 564.
- 11 J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemistry*, 5th ed, W H Freeman, **2002**.
- 12 C. O. Pabo, R. T. Sauer, *Annu. Rev. Biochem.* **1984**, *53*, 293.
- 13 G. G. Stokes, *Phil. Trans. R. Soc.* **1852**, *142*, 463.
- 14 B. Valeur, *Invitation à la fluorescence moléculaire*, De Boeck Supérieur, **2004**.
- 15 J. Perrin, *Trans. Faraday Soc.* **1922**, *17*, 546.
- 16 A. Jabłoński, *Z. Physik* **1935**, *94*, 38.
- 17 B. Valeur, M. N. Berberan-Santos, *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, John Wiley & Sons, **2013**.
- 18 O. Chemical Rubber Company (Cleveland Scaiano, Juan C., *CRC handbook of organic photochemistry 1*, CRC Press, Boca Raton, Fla., **1989**.
- 19 W. Sun, S. Guo, C. Hu, J. Fan, X. Peng, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 7768.
- 20 S. K. Panja, N. Dwivedi, S. Saha, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 105786.
- 21 L. Stryer, *Annu. Rev. Biochem.* **1978**, *47*, 819.
- 22 T. Förster, *Ann. Phys.* **1948**, *437*, 55.
- 23 J. F. Lovell, J. Chen, M. T. Jarvi, W.-G. Cao, A. D. Allen, Y. Liu, T. T. Tidwell, B. C. Wilson, G. Zheng, *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 3203.
- 24 B. Chen, Q. Su, W. Kong, Y. Wang, P. Shi, F. Wang, *J. Mater. Chem. B* **2018**, *6*, 2924.
- 25 L. Stryer, R. P. Haugland, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1967**, *58*, 719.
- 26 A. Weller, *Sci. Nat.* **1955**, *42*, 175.
- 27 J. Zhao, S. Ji, Y. Chen, H. Guo, P. Yang, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 8803.
- 28 A. C. Sedgwick, L. Wu, H.-H. Han, S. D. Bull, X.-P. He, T. D. James, J. L. Sessler, B. Z. Tang, H. Tian, J. Yoon, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 8842.
- 29 V. S. Patil, V. S. Padalkar, K. R. Phatangare, V. D. Gupta, P. G. Umape, N. Sekar, *J. Phys. Chem. A* **2012**, *116*, 536.
- 30 G.-F. Bian, Y. Guo, X.-J. Lv, C. Zhang, *J. Mol. Struct.* **2016**, *1111*, 1.
- 31 L. He, B. Dong, Y. Liu, W. Lin, *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 6449.
- 32 E. Rusinova, V. Tretyachenko-Ladokhina, O. E. Vele, D. F. Seneor, J. B. Alexander Ross, *Anal. Biochem.* **2002**, *308*, 18.
- 33 K. G. Casey, E. L. Quitevis, *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 6590.
- 34 J. Seo, S. Kim, S. Y. Park, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11154.
- 35 A. Diaspro, M. Robello, *J. Photochem. Photobiol. B* **2000**, *55*, 1.

- 36 N. Klonis, M. Rug, I. Harper, M. Wickham, A. Cowman, L. Tilley, *Eur. Biophys. J.* **2002**, *31*, 36.
- 37 J. R. Alcalá, E. Gratton, F. G. Prendergast, *Biophys. J.* **1987**, *51*, 597.
- 38 R. Hovius, P. Vallotton, T. Wohland, H. Vogel, *Trends Pharmacol. Sci.* **2000**, *21*, 266.
- 39 L. D. Lavis, R. T. Raines, *ACS Chem. Biol.* **2008**, *3*, 142.
- 40 L. D. Lavis, R. T. Raines, *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 855.
- 41 Y. Fu, N. S. Finney, *RSC Adv.* **2018**, *8*, 29051.
- 42 X. Zhang, Y. Shiraishi, T. Hirai, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 5455.
- 43 S. Bae, J. Tae, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 5389.
- 44 A. N. Kapanidis, S. Weiss, *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 10953.
- 45 J. Q. Umberger, V. K. LaMer, *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, *67*, 1099.
- 46 N. Klonis, W. H. Sawyer, *J. Fluoresc.* **1996**, *6*, 147.
- 47 N. Dorh, S. Zhu, K. B. Dhungana, R. Pati, F.-T. Luo, H. Liu, A. Tiwari, *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 18337.
- 48 X. Chen, S.-W. Nam, G.-H. Kim, N. Song, Y. Jeong, I. Shin, S. K. Kim, J. Kim, S. Park, J. Yoon, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 8953.
- 49 J. Yin, Y. Kwon, D. Kim, D. Lee, G. Kim, Y. Hu, J.-H. Ryu, J. Yoon, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 5351.
- 50 Y. Kubota, K. Kubota, S. Tani, *Nucleic Acids Symp. Ser.* **2000**, 53.
- 51 T. A. Larsen, D. S. Goodsell, D. Cascio, K. Grzeskowiak, R. E. Dickerson, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1989**, *7*, 477.
- 52 F. A. Tanius, J. M. Veal, H. Buczak, L. S. Ratmeyer, W. D. Wilson, *Biochemistry* **1992**, *31*, 3103.
- 53 M. R. Speicher, N. P. Carter, *Nat. Rev. Genet.* **2005**, *6*, 782.
- 54 D. Dziuba, V. Y. Postupalenko, M. Spadafora, A. S. Klymchenko, V. Guérineau, Y. Mély, R. Benhida, A. Burger, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 10209.
- 55 A. A. Martí, X. Li, S. Jockusch, Z. Li, B. Raveendra, S. Kalachikov, J. J. Russo, I. Morozova, S. V. Puthanveetil, J. Ju, N. J. Turro, *Nucleic Acids Res.* **2006**, *34*, 3161.
- 56 M. Hocek, *Acc. Chem. Res.* **2019**, *52*, 1730.
- 57 V. A. Erdmann, S. Jurga, J. Barciszewski, *RNA and DNA Diagnostics*, Springer, **2015**.
- 58 W. Xu, K. M. Chan, E. T. Kool, *Nat. Chem.* **2017**, *9*, 1043.
- 59 D. C. Ward, E. Reich, L. Stryer, *J. Biol. Chem.* **1969**, *244*, 1228.
- 60 L. C. Sowers, G. V. Fazakerley, R. Eritja, B. E. Kaplan, M. F. Goodman, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1986**, *83*, 5434.
- 61 S. M. Law, R. Eritja, M. F. Goodman, K. J. Breslauer, *Biochemistry* **1996**, *35*, 12329.
- 62 S. L. Driscoll, M. E. Hawkins, F. M. Balis, W. Pfeleiderer, W. R. Laws, *Biophys. J.* **1997**, *73*, 3277.
- 63 M. E. Hawkins, *Cell. Biochem. Biophys.* **2001**, *34*, 257.
- 64 F. Wojciechowski, R. H. E. Hudson, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12574.
- 65 A. I. Roca, S. F. Singleton, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15366.
- 66 M. E. Hawkins, F. M. Balis, *Nucleic Acids Res.* **2004**, *32*, e62.
- 67 J. E. Sanabia, L. S. Goldner, P.-A. Lacaze, M. E. Hawkins, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 15293.
- 68 K. E. Augustyn, K. Wojtuszewski, M. E. Hawkins, J. R. Knutson, I. Mukerji, *Biochemistry* **2006**, *45*, 5039.
- 69 K. Yang, S. Matsika, R. J. Stanley, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 10615.
- 70 L. M. Wilhelmsson, *Quart. Rev. Biophys.* **2010**, *43*, 159.

- 71 J. N. Wilson, E. T. Kool, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 4265.
- 72 A. Okamoto, K. Tainaka, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4972.
- 73 A. Okamoto, K. Tanaka, T. Fukuta, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9296.
- 74 A. Okamoto, K. Kanatani, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4820.
- 75 L. M. Wilhelmsson, P. Sandin, A. Holmén, B. Albinsson, P. Lincoln, B. Nordén, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 9094.
- 76 L. M. Wilhelmsson, A. Holmén, P. Lincoln, P. E. Nielsen, B. Nordén, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2434.
- 77 R. X.-F. Ren, N. C. Chaudhuri, P. L. Paris, Rumney, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7671.
- 78 T. J. Matray, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6191.
- 79 T. J. Matray, E. T. Kool, *Nature* **1999**, *399*, 704.
- 80 K. M. Guckian, B. A. Schweitzer, R. X.-F. Ren, C. J. Sheils, D. C. Tahmassebi, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2213.
- 81 E. T. Kool, *Annu. Rev. Biochem.* **2002**, *71*, 191.
- 82 S. G. Srivatsan, H. Weizman, Y. Tor, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 1334.
- 83 S. G. Srivatsan, N. J. Greco, Y. Tor, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6661.
- 84 D. Shin, R. W. Sinkeldam, Y. Tor, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 14912.
- 85 M. Mizuta, K. Seio, K. Miyata, M. Sekine, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5046.
- 86 R. S. Butler, A. K. Myers, P. Bellarmine, K. A. Abboud, R. K. Castellano, *J. Mater. Chem.* **2007**, *17*, 1863.
- 87 R. S. Butler, P. Cohn, P. Tenzel, K. A. Abboud, R. K. Castellano, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 623.
- 88 Y. Saito, R. H. E. Hudson, *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* **2018**, *36*, 48.
- 89 M. J. Davies, A. Shah, I. J. Bruce, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, *29*, 97.
- 90 R. I. Hogrefe, B. Midthune, A. Lebedev, *Isr. J. Chem.* **2013**, *53*, 326.
- 91 M. Hocek, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 9914.
- 92 M. Hollenstein, *Molecules* **2012**, *17*, 13569.
- 93 A. Hottin, A. Marx, *Acc. Chem. Res.* **2016**, *49*, 418.
- 94 S. G. Srivatsan, Y. Tor, *Nat. Protoc.* **2007**, *2*, 1547.
- 95 S. Kosuri, G. M. Church, *Nat. Methods.* **2014**, *11*, 499.
- 96 V. M. Ingram, *Nature* **1956**, *178*, 792.
- 97 A. Hamosh, T. M. King, B. J. Rosenstein, M. Corey, H. Levison, P. Durie, L. C. Tsui, I. McIntosh, M. Keston, D. J. Brock, *Am. J. Hum. Genet.* **1992**, *51*, 245.
- 98 A. B. Wolf, R. J. Caselli, E. M. Reiman, J. Valla, *Neurobiol. Aging.* **2013**, *34*, 1007.
- 99 B. Y. Michel, D. Dziuba, R. Benhida, A. P. Demchenko, A. Burger, *Front. Chem.* **2020**, *8*, 112.
- 100 G. T. Hwang, Y. J. Seo, B. H. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6528.
- 101 H. Yong Kim, T. Li, C. Jung, R. Fu, D.-Y. Cho, K. Soo Park, H. Gyu Park, *RSC Adv.* **2018**, *8*, 37391.
- 102 B. Juskowiak, *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *399*, 3157.
- 103 E. Katilius, Z. Katiliene, N. W. Woodbury, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 6484.
- 104 T. Li, R. Fu, H. G. Park, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3271.
- 105 C. F. H. Allen, *Chem. Rev.* **1950**, *47*, 275.
- 106 A. Reissert, *Chem. Ber.* **1893**, *26*, 1758.
- 107 W. Czuba, *Chem. Heterocycl. Compd.* **1979**, *15*, 1.
- 108 A. S. Noravayan, E. G. Paronikyan, S. A. Vartanyan, *Pharm. Chem. J.* **1985**, *19*, 439.

- 109 V. P. Litvinov, S. V. Roman, V. D. Dyachenko, *Russ. Chem. Rev.* **2000**, *69*, 201.
- 110 G. Y. Leshner, E. J. Froelich, M. D. Gruett, J. H. Bailey, R. P. Brundage, *J. Med. Pharm. Chem.* **1962**, *91*, 1063.
- 111 A. Madaan, R. Verma, V. Kumar, A. T. Singh, S. K. Jain, M. Jaggi, *Arch. Pharm.* **2015**, *348*, 837.
- 112 T. Devadoss, V. Sowmya, R. Bastati, *ChemistrySelect* **2021**, *6*, 3610.
- 113 Y. C. Shen, T. T. Lin, J. H. Sheu, C. Y. Duh, *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1264.
- 114 Y. Sumii, N. Kotoku, C. Han, K. Kamiya, A. Setiawan, C. Vilchèze, W. R. Jacobs, M. Arai, *Tetrahedron Lett.* **2020**, *61*, 151924.
- 115 J.-F. Wu, M.-M. Liu, S.-X. Huang, Y. Wang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 3251.
- 116 E. Kiselev, T. S. Dexheimer, Y. Pommier, M. Cushman, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 8716.
- 117 L. Chan, H. Jin, T. Stefanac, J.-F. Lavallée, G. Falardeau, W. Wang, J. Bédard, S. May, L. Yuen, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3023.
- 118 C. L. Cywin, B.-P. Zhao, D. W. McNeil, M. Hrapchak, A. S. Prokopowicz, D. R. Goldberg, T. M. Morwick, A. Gao, S. Jakes, M. Kashem, R. L. Magolda, R. M. Soll, M. R. Player, M. A. Bobko, J. Rinker, R. L. DesJarlais, M. P. Winters, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1415.
- 119 N. E. Austin, M. S. Hadley, J. D. Harling, F. P. Harrington, G. J. Macdonald, D. J. Mitchell, G. J. Riley, T. O. Stean, G. Stemp, S. C. Stratton, M. Thompson, N. Upton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1627.
- 120 P. Galatsis, K. Yamagata, J. A. Wendt, C. J. Connolly, J. W. Mickelson, J. B. J. Milbank, S. E. Bove, C. S. Knauer, R. M. Brooker, C. E. Augelli-Szafran, R. D. Schwarz, J. J. Kinsora, K. S. Kilgore, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6525.
- 121 L.-F. Zeng, Y. Wang, R. Kazemi, S. Xu, Z.-L. Xu, T. W. Sanchez, L.-M. Yang, B. Debnath, S. Odde, H. Xie, Y.-T. Zheng, J. Ding, N. Neamati, Y.-Q. Long, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9492.
- 122 H.-J. Li, W.-F. Fu, L. Li, X. Gan, W.-H. Mu, W.-Q. Chen, X.-M. Duan, H.-B. Song, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2924.
- 123 S.-W. Liu, C.-C. Lee, C.-F. Lin, J.-C. Huang, C.-T. Chen, J.-H. Lee, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 7800.
- 124 Y.-Y. Wu, Y. Chen, G.-Z. Gou, W.-H. Mu, X.-J. Lv, M.-L. Du, W.-F. Fu, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 5226.
- 125 C. Krämer, S. Leingang, O. Hübner, E. Kaifer, H. Wadepohl, H.-J. Himmel, *Dalton Trans.* **2016**, *45*, 16966.
- 126 J.-H. Liao, C.-T. Chen, H.-C. Chou, C.-C. Cheng, P.-T. Chou, J.-M. Fang, Z. Slanina, T. J. Chow, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3107.
- 127 E. P. Garvey, B. Johns, M. Gartland, S. Foster, W. Miller, R. Ferris, R. Hazen, M. Underwood, E. Boros, J. Thompson, J. Weatherhead, C. Koble, S. Allen, L. Schaller, R. Sherill, T. Yoshinaga, M. Kobayashi, K. Nakahara, T. Noshi, C. Wakasa, S. Miki, A. Saito, T. Fujiwara, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52*, 901.
- 128 Kobayashi, K. Nakahara, T. Seki, S. Miki, S. Kawachi, A. Suyama, C. W. Morimoto, M. Kodama, T. Yoshinaga, T. Fujiwara, *Antivir. Res.* **2008**, *80*, 213.
- 129 R. Dayam, L. Q. Al-Mawsawi, N. Neamati, *Drugs R. D.* **2007**, *8*, 155.
- 130 P. L. Ferrarini, C. Mori, G. Primofiore, L. Calzolari, *J. Heterocycl. Chem.* **1990**, *27*, 881.
- 131 M.-S. Wang, L.-S. Zhuo, F.-P. Yang, W.-J. Wang, W. Huang, G.-F. Yang, *Eur. J.*

- Med. Chem.* **2020**, *185*, 111803.
- 132 K. Passador, S. Thorimbert, C. Botuha, *Synthesis* **2019**, *51*, 384.
- 133 W. R. Pitt, D. M. Parry, B. G. Perry, C. R. Groom, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 2952.
- 134 M. Shamma, *Isoquinoline Alkaloids Research 1972–1977*, Springer Science & Business Media, **2012**.
- 135 K. W. Bentley, *Nat. Prod. Rep.* **2006**, *23*, 444.
- 136 B. Müjde, S. Özcan, M. Balci, *Phytochem. Lett.* **2011**, *4*, 407.
- 137 N. Micale, R. Ettari, T. Schirmeister, A. Evers, C. Gelhaus, M. Leippe, M. Zappalà, S. Grasso, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6505.
- 138 R. M. Kanojia, J. B. Press, O. W. Lever, L. Williams, J. J. McNally, A. J. Tobia, R. Falotico, J. B. Moore, *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1363.
- 139 R. M. Kanojia, O. W. Lever, J. B. Press, L. Williams, H. M. Werblood, E. C. Giardino, R. Falotico, A. J. Tobia, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 990.
- 140 N. K. Joshi, P. Arora, S. Pant, H. C. Joshi, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2014**, *13*, 929.
- 141 Y. Pan, K.-C. Lau, L. Poisson, G. A. Garcia, L. Nahon, M. Hochlaf, *J. Phys. Chem. A* **2013**, *117*, 8095.
- 142 E. Spinner, *J. Chem. Soc. B* **1971**, *3*, 296.
- 143 D. A. Evans, G. F. Smith, M. A. Wahid, *J. Chem. Soc., B* **1967**, 590.
- 144 P.-T. Chou, C.-Y. Wei, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 3305.
- 145 B. Xiao, Y. Li, X. Yu, J. Cheng, *J. Phys. Chem. A* **2015**, *119*, 11882.
- 146 G. E. Gomez Pinheiro, H. Ihmels, C. Dohmen, *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 3011.
- 147 J. Li, J. Gao, G. Li, W. Xiong, Q. Zhang, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 12760.
- 148 H. Junek, A. R. O. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1969**, *10*, 2439.
- 149 A. Straub, *Synth. Commun.* **2006**.
- 150 C. S. Giam, D. Ambrozich, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 265.
- 151 B. Singh, G. Y. Leshner, K. C. Pluncket, E. D. Pagani, D. C. Bode, R. G. Bentley, M. J. Connell, L. T. Hamel, P. J. Silver, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 4858.
- 152 M. Woźniak, H. C. van der Plas, M. Tomula, A. van Veldhuizen, *Recl. Trav. Chim.* **1983**, *102*, 359.
- 153 Y. Kobayashi, I. Kumadaki, H. Sato, *Chem. Pharm. Bull.* **1969**, *17*, 2614.
- 154 Y. Kobayashi, I. Kumadaki, H. Sato, *Chem. Pharm. Bull.* **1969**, *17*, 1045.
- 155 A. T. R. Williams, S. A. Winfield, J. N. Miller, *Analyst.* **1983**, *108*, 1067.
- 156 I. Novosjolova, S. D. Kennedy, E. Rozners, *ChemBioChem* **2017**, *18*, 2165.
- 157 H. Liu, J. Gao, L. Maynard, Y. D. Saito, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1102.
- 158 R. F. Heck, J. P. Nolley, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2320.
- 159 M. A. Cameron, S. B. Cush, R. P. Hammer, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 9065.
- 160 M. Minuth, C. Richert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 10874.
- 161 K. W. Wellington, S. A. Benner, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2006**, *25*, 1309.
- 162 H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004.
- 163 C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057.
- 164 R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, *2*, 565.
- 165 A. Štimac, J. Kobe, *Carbohydrate Res.* **1992**, *232*, 359.
- 166 B. Panda, T. K. Sarkar, *Synthesis* **2013**, *45*, 1227.
- 167 J.-L. Luche, A. L. Gemal, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1978**, 976.
- 168 G. Zemplén, A. Gerecs, I. Hadácsy, *Chem. Ber.* **1936**, *69*, 1827.
- 169 K. L. Seley, L. Zhang, A. Hagos, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3209.

- 170 S. Czernecki, C. Georgoulis, C. Provelenghiou, *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17*, 3535.  
171 S. Pitsch, P. A. Weiss, L. Jenny, A. Stutz, X. Wu, *Helv. Chim. Acta* **2001**, *84*, 3773.  
172 S. A. Scaringe, F. E. Wincott, M. H. Caruthers, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11820.  
173 S. A. Scaringe, *Methods* **2001**, *23*, 206.  
174 J. C. Morales, E. T. Kool, *Nat. Struct. Biol.* **1998**, *5*, 950.  
175 K. Burgess, D. Cook, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2047.  
176 T. Kent, T. D. Rusanov, T. M. Hoang, W. A. Velema, A. T. Krueger, W. C. Copeland, E. T. Kool, R. T. Pomerantz, *Nucleic Acids Res.* **2016**, *44*, 9381.  
177 L. Lercher, J. F. McGouran, B. M. Kessler, C. J. Schofield, B. G. Davis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 10553.  
178 L. Wicke, J. W. Engels, *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 627.  
179 A. Omumi, D. G. Beach, M. Baker, W. Gabryelski, R. A. Manderville, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 42.  
180 A. Krause, A. Hertl, F. Muttach, A. Jäschke, *Chemistry* **2014**, *20*, 16613.  
181 N. Inada, K. Nakamoto, T. Yokogawa, Y. Ueno, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *103*, 460.  
182 S. Zhang, J. C. Chaput, *Curr. Protoc. in Nucleic Acid Chem.* **2012**, *50*, 4.51.1.  
183 N. P. F. Barthes, K. Gavvala, D. Dziuba, D. Bonhomme, I. A. Karpenko, A. S. Dabert-Gay, D. Debayle, A. P. Demchenko, R. Benhida, B. Y. Michel, Y. Mély, A. Burger, *J. Mater. Chem. C* **2016**, *4*, 3010.  
184 F. R. Benson, W. L. Savell, *Chem. Rev.* **1950**, *46*, 1.  
185 K. T. Potts, *Chem. Rev.* **1961**, *61*, 87.  
186 L. T. Creagh, P. Truitt, *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 2956.  
187 X. Li, Q. Sun, Q. Lin, M. Lu, *Chem. Eng. J.* **2021**, *406*, 126817.  
188 L.-C. Wu, W.-C. Chung, C.-C. Wang, G.-H. Lee, S.-I. Lu, Y. Wang, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, *17*, 14177.  
189 S. Kumari, A. V. Carmona, A. K. Tiwari, P. C. Trippier, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 12290.  
190 I. Mohammed, I. R. Kummetha, G. Singh, N. Sharova, G. Lichinchi, J. Dang, M. Stevenson, T. M. Rana, *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 7677.  
191 E. Bonandi, M. S. Christodoulou, G. Fumagalli, D. Perdicchia, G. Rastelli, D. Passarella, *Drug Discov. Today* **2017**, *22*, 1572.  
192 N. S. Vatmurge, B. G. Hazra, V. S. Pore, F. Shirazi, P. S. Chavan, M. V. Deshpande, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2043.  
193 U. Battaglia, C. J. Moody, *J. Nat. Prod.* **2010**, *73*, 1938.  
194 Y. Kaku, A. Tsuruoka, H. Kakinuma, I. Tsukada, M. Yanagisawa, T. Naito, *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, *46*, 1125.  
195 Z. H. Chohan, S. H. Sumrra, M. H. Youssoufi, T. B. Hadda, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2739.  
196 L. Navidpour, H. Shafaroodi, K. Abdi, M. Amini, M. H. Ghahremani, A. R. Dehpour, A. Shafiee, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 2507.  
197 Q. Zhang, S. M. Keenan, Y. Peng, A. C. Nair, S. J. Yu, R. D. Howells, W. J. Welsh, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 4044.  
198 Y. A. Al-Soud, M. Heydel, R. W. Hartmann, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 6372.  
199 H. A. M. El-Sherief, B. G. M. Youssif, S. N. Abbas Bukhari, A. H. Abdelazeem, M. Abdel-Aziz, H. M. Abdel-Rahman, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *156*, 774.  
200 S. S. Bag, S. Talukdar, K. Matsumoto, R. Kundu, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 278.  
201 S. S. Bag, S. Talukdar, S. K. Das, *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.* **2014**, *58*, 1.32.1.  
202 S. Alaoui, M. Dufies, M. Driowya, L. Demange, K. Bougrin, G. Robert, P. Auberger,

- G. Pagès, R. Benhida, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 1989.
- 203 W. Sutcharitruk, U. Sirion, R. Saeeng, *Carbohydr. Res.* **2019**, *484*, 107780.
- 204 R. Ghoteimi, A. Braka, C. Rodriguez, E. Cros-Perrial, V. Tai Nguyen, J.-P. Uttaro, C. Mathé, L. Chaloin, C. Ménétrier-Caux, L. P. Jordheim, S. Peyrottes, *Bioorg. Chem.* **2021**, *107*, 104577.
- 205 Y. Xia, Y. Liu, J. Wan, M. Wang, P. Rocchi, F. Qu, J. L. Iovanna, L. Peng, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6083.
- 206 Y. Xia, F. Qu, L. Peng, *Mini. Rev. Med. Chem.* **2010**, *10*, 806.
- 207 R. Kaur, A. R. Dwivedi, B. Kumar, V. Kumar, *Anticancer Agents Med. Chem.* **2016**, *16*, 465.
- 208 Y. Zhang, X. Liu, Y. Lin, B. Lian, W. Lan, J. L. Iovanna, X. Liu, L. Peng, Y. Xia, *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 10014.
- 209 H. E. M. Tolan, M. A. A. Radwan, H. S. Khalaf, M. N. El-Bayaa, H. M. Awad, W. A. El-Sayed, *Russ. J. Gen. Chem.* **2020**, *90*, 1544.
- 210 J. T. Witkowski, R. K. Robins, R. W. Sidwell, L. N. Simon, *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 1150.
- 211 D. G. Streeter, J. T. Witkowski, G. P. Khare, R. W. Sidwell, R. J. Bauer, R. K. Robins, L. N. Simon, *PNAS* **1973**, *70*, 1174.
- 212 W. P. Hofmann, E. Herrmann, C. Sarrazin, S. Zeuzem, *Liver Int.* **2008**, *28*, 1332.
- 213 J. J. Feld, J. H. Hoofnagle, *Nature* **2005**, *436*, 967.
- 214 S. F. Schlosser, M. Schuler, C. P. Berg, K. Lauber, K. Schulze-Osthoff, F. W. Schmahl, S. Wesselborg, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 1912.
- 215 J. T. Witkowski, R. K. Robins, G. P. Khare, R. W. Sidwell, *J. Med. Chem.* **1973**, *16*, 935.
- 216 S. R. Naik, J. T. Witkowski, R. K. Robins, *J. Heterocycl. Chem.* **1974**, *11*, 57.
- 217 R. G. Gish, *J. Antimicrob. Chemother.* **2006**, *57*, 8.
- 218 S. C. Kumarapperuma, Y. Sun, M. Jeselnik, K. Chung, W. B. Parker, C. B. Jonsson, J. B. Arterburn, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3203.
- 219 D.-H. Chung, S. C. Kumarapperuma, Y. Sun, Q. Li, Y.-K. Chu, J. B. Arterburn, W. B. Parker, J. Smith, K. Spik, H. Ramanathan, C. S. Schmaljohn, C. B. Jonsson, *Antiviral Res.* **2008**, *79*, 19.
- 220 M. Olesiejuk, A. Kudelko, M. Świątkowski, *Materials* **2020**, *13*, 5627.
- 221 X. Meng, M. Chen, R. Bai, L. He, *Inorg. Chem.* **2020**, *59*, 9605.
- 222 A. Abdurahman, L. Wang, Z. Zhang, Y. Feng, Y. Zhao, M. Zhang, *Dyes and Pigm.* **2020**, *174*, 108050.
- 223 C.-S. Wu, S.-L. Lee, Y. Chen, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2011**, *49*, 3099.
- 224 M. Ajmal, U. Yunus, R. M. Graham, R. M. Leblanc, *ACS Omega* **2019**, *4*, 22280.
- 225 L. L. Falher, A. Mumtaz, A. N. Diogo, C. Botuha, S. Thorimbert, *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, *2017*, 827.
- 226 F. Slowinski, O. Ben Ayad, O. Ziyaret, C. Botuha, L. Le Falher, K. Aouane, S. Thorimbert, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 3494.
- 227 L. Le Falher, O. Ben Ayad, O. Ziyaret, C. Botuha, S. Thorimbert, F. Slowinski, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 3830.
- 228 H. C. Van der Plas, *Acc. Chem. Res.* **1978**, *11*, 462.
- 229 M. Małosza, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2855.
- 230 In *Advances in Heterocyclic Chemistry*, ed. by Henk C. van der Plas, Academic Press, **1999**, Vol. 74, pp. 9–86.
- 231 R. R. Schmidt, J. Michel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1980**, *19*, 731.

- 232 R. R. Schmidt, K.-H. Jung, in *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, John Wiley & Sons, Ltd, **2000**, pp. 5–59.
- 233 W. Koenigs, E. Knorr, *Chem. Ber.* **1901**, *34*, 957.
- 234 S. P. Douglas, D. M. Whitfield, J. J. Krepinsky, *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, 131.
- 235 B. Yu, H. Tao, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2405.
- 236 S. C. Ranade, A. V. Demchenko, *J. Carbohydr. Chem.* **2013**, *32*, 1.
- 237 S. David, *Chimie moléculaire et supramoléculaire des sucres - Introduction chimique aux glycosciences*, EDP Sciences, **2012**.
- 238 Y. Zeng, J. Ning, F. Kong, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3729.
- 239 A. V. Demchenko, in *Handbook of Chemical Glycosylation*, John Wiley & Sons, Ltd, **2008**, pp. 1–27.
- 240 B. Ernst, G. W. Hart, P. Sinay, *Carbohydrates in chemistry and biology*, Wiley Blackwell, **2008**.
- 241 D. Crich, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 1144.
- 242 I. R. Siddiqui, A. Singh, S. Shamim, V. Srivastava, P. K. Singh, S. Yadav, R. K. P. Singh, *Synthesis* **2010**, *2010*, 1613.
- 243 O. Todoulou, A. Papadaki-Valiraki, S. Ikeda, E. De Clercq, *Eur. J. Med. Chem.* **1994**, *29*, 611.
- 244 A. N. Prutkov, M. V. Chudinov, A. V. Matveev, L. E. Grebenkina, Y. V. Berezovskaya, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2019**, *38*, 550.
- 245 J. T. Witkowski, R. K. Robins, in *Chemistry and Biology of Nucleosides and Nucleotides*, ed. by Robert E. Harmon, Roland K. Robins, Leroy B. Townsend, Academic Press, **1978**, pp. 267–286.
- 246 M. V. Chudinov, A. V. Matveev, A. N. Prutkov, I. D. Konstantinova, I. V. Fateev, V. S. Prasolov, O. A. Smirnova, A. V. Ivanov, G. A. Galegov, P. G. Deryabin, *Mendeleev Commun.* **2016**, *26*, 214.
- 247 R. R. Schmidt, J. Karg, W. Guilliard, *Chem. Ber.* **1977**, *110*, 2433.
- 248 R. R. Schmidt, J. Karg, W. Guilliard, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1975**, *14*, 64.
- 249 J. Jampilek, *Molecules* **2019**, *24*, 3839.
- 250 C. M. Marson, in *Advances in Heterocyclic Chemistry*, ed. by Eric F. V. Scriven, Christopher A. Ramsden, Academic Press, **2017**, Vol. 121, pp. 13–33.
- 251 K. Watanabe, E. Taniguchi, *J. Pestic. Sci.* **1994**, *19*, 209.
- 252 J. H. Markgrar, S. J. Basta, *Synth. Commun.* **1972**, *2*, 139.
- 253 K. Shishido, E. Shitara, H. Komatsu, K. Hiroya, K. Fukumoto, T. Kametani, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3007.
- 254 E. Yoneda, T. Kaneko, S.-W. Zhang, S. Takahashi, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5061.
- 255 D. A. Bianchi, N. E. Blanco, N. Carrillo, T. S. Kaufman, *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 1923.
- 256 A. Rioz-Martínez, G. de Gonzalo, D. E. T. Pazmiño, M. W. Fraaije, V. Gotor, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 2526.
- 257 R. Akula, P. J. Guiry, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5472.
- 258 G. Albano, M. Morelli, L. A. Aronica, *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, *2017*, 3473.
- 259 Y.-Q. Zhang, X.-Q. Zhu, Y. Xu, H.-Z. Bu, J.-L. Wang, T.-Y. Zhai, J.-M. Zhou, L.-W. Ye, *Green Chem.* **2019**, *21*, 3023.
- 260 Y. Li, D.-X. Zhu, M.-H. Xu, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 11659.
- 261 M.-Y. Chang, S.-M. Chen, Y.-T. Hsiao, *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 11687.
- 262 H. H. Inhoffen, H. Poser, *Abhandlungen der Braunschweigischen Wissenschaftlichen Gesellschaft* **1957**, *9*, 1957.

- 263 J. Alm, H.-U. Jürgens, *J. Prakt. Chem.* **1991**, *333*, 177.
- 264 P. Roy, P. Mitra, B. K. Ghorai, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 1440.
- 265 Y. Sato, T. Iwashige, T. Miyadera, *Chem. Pharm. Bull.* **1960**, *8*, 427.
- 266 K. Yabu, S. Masumoto, M. Kanai, D. P. Curran, M. Shibasaki, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2923.
- 267 M.-L. Bennesar, T. Roca, E. Zulaica, M. Monerri, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 6785.
- 268 A. L. Braga, C. C. Silveira, A. Reckziegel, P. H. Menezes, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 8041.
- 269 M. Tiecco, L. Testaferri, A. Temperini, R. Terlizzi, L. Bagnoli, F. Marini, C. Santi, *Synlett* **2006**, 0587.
- 270 M. A. Letavic, J. M. Keith, K. S. Ly, A. J. Barbier, J. D. Boggs, S. J. Wilson, B. Lord, T. W. Lovenberg, N. I. Carruthers, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2566.
- 271 Ram, A. K. Saxena, P. C. Jain, G. K. Patnaik, *Indian J. Chem. sect B* **1984**, *23*, 1261.
- 272 L. D. Pennington, D. T. Moustakas, *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 3552.
- 273 C. Finger, *Synthesis* **1970**, *1970*, 541.
- 274 J. M. Holland, D. W. Jones, *J. Chem. Soc., C* **1970**, 530.
- 275 D. A. Bleasdale, D. W. Jones, G. Maier, H. P. Reisenauer, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1983**, 1095.
- 276 A. Beghennou, K. Passador, A. Passador, V. Corcé, S. Thorimbert, C. Botuha, *Eur. J. Org Chem.* **2020**, *2020*, 5880.
- 277 M. F. A. Adamo, R. M. Adlington, J. E. Baldwin, A. L. Day, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 841.
- 278 I. Yuh-ichiro, K. Hideki, F. Ken'ichi, O. Tatsuo, N. Koichi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2006**.
- 279 L. Nagarapu, S. Karnakanti, R. Bantu, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 5829.



# Annexes



# Table des illustrations

FIGURE 1 STRUCTURES DE LA MORPHINE ET DE LA CODEINE .....	18
FIGURE 2 EXEMPLES DE STRUCTURES DE PRINCIPES ACTIFS .....	18
FIGURE 4B STRUCTURE D'UN NUCLEOSIDE ET NUCLEOTIDE .....	19
FIGURE 4A STRUCTURE HELICOÏDALE DE L'ADN .....	19
FIGURE 5 STRUCTURES DES 4 BASES DE L'ADN .....	20
FIGURE 6 APPARIEMENT SPECIFIQUE DES BASES NUCLEIQUES.....	20
FIGURE 7 COMPARAISON ENTRE LA COMPOSITION DE L'ARN ET DE L'ADN.....	21
FIGURE 8 CONFORMATIONS C2'-ENDO ET C3'-ENDO.....	22
FIGURE 9 REPRESENTATION DU GRAND SILLON ET DU PETIT SILLON DE L'ADN .....	23
FIGURE 10 DIAGRAMME DE PERRIN-JABLONSKI .....	25
FIGURE 11 DEPLACEMENT DE STOKES .....	25
FIGURE 12 GAMME DU SPECTRE DE LA LUMIERE VISIBLE.....	26
FIGURE 13 REPRESENTATION DES MECANISMES DE PET ET PET INVERSE .....	30
FIGURE 14 RECOUVREMENT DU SPECTRE D'EMISSION DU DONNEUR ET DU SPECTRE D'ABSORPTION DE L'ACCEPTEUR .....	31
FIGURE 15 CONDITIONS DE DISTANCE ENTRE LES FLUOROPHORES POUR REALISER DU FRET .....	32
FIGURE 16 INFLUENCE DE LA DISTANCE PAR RAPPORT A $R_0$ SUR L'EMISSION DU RECEVEUR .....	32
FIGURE 17 REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU PHENOMENE D'ESIPT .....	33
FIGURE 18 EXEMPLES DES DIFFERENTES SONDAS ORGANIQUES FLUORESCENTES EXISTANTES.....	35
FIGURE 19 STRUCTURE DU DAPI (4',6-DIAMIDINO-2-PHENYLINDOLE) .....	36
FIGURE 20 PREMIERES NUCLEOBASES FLUORESCENTES DERIVEES DE L'ADENINE. ....	37
FIGURE 21 ANALOGUES FLUORESCENTS DE LA GUANINE (3-MI ET 6-MI) ET DE L'ADENINE (DMAP ET 6- MAP) .....	39
FIGURE 22 NUCLEOSIDES FLUORESCENTS BPP (A) <sup>MDA</sup> ET <sup>MDI</sup> (B) MIS AU POINT PAR L'EQUIPE DE SAITO .....	40
FIGURE 23 EXEMPLE D'APPARIEMENT DU NUCLEOSIDE FLUORESCENT TC AVEC UNE BASE GUANINE .....	40
FIGURE 24 NUCLEOSIDE ARTIFICIEL POLYCYCLIQUE DE TYPE PYRENE .....	41
FIGURE 25 EXEMPLES DE NUCLEOBASES ARTIFICIELLES FLUORESCENTES ANALOGUES DES BASES PURINES .....	43
FIGURE 26 EXEMPLES DE NUCLEOBASES ARTIFICIELLES FLUORESCENTES ANALOGUES DE BASES PYRIMIDINES.....	44
FIGURE 27 EXEMPLES DE NUCLEOBASES ARTIFICIELLES FLUORESCENTES NON CANONIQUES.....	44
FIGURE 28 STRUCTURE DE LA THIENO[3,4-D]-PYRIMIDINE ANALOGUE URACILE DEVELOPPE PAR L'EQUIPE DE TOR.....	45
FIGURE 29 NUCLEOSIDES D'ARN FLUORESCENTS DEVELOPPES PAR L'EQUIPE DE Y. TOR .....	46
FIGURE 30 STRUCTURE DE LA 10-(2-DEOXY- $\beta$ -D-RIBOFURANOSYL)PYRIMIDO[4',5':4,5]PYRIMIDO[1,6-A] INDOLE-6,9(7H)-DIONE), dC <sup>PPI</sup> .....	47
FIGURE 31 DIVERSIFICATION DE L'ANALOGUE PURINE MISE AU POINT PAR L'EQUIPE DE CASTELLANO ...	48
FIGURE 32 EXEMPLE DE DETECTION DE POLYMORPHISME D'UN SEUL NUCLEOTIDE GRACE AUX NUCLEOSIDES FLUORESCENTS .....	50
FIGURE 33 DESCRIPTION DE L'EPINGLE A CHEVEUX (HAIRPIN) UTILISEE DANS LA TECHNIQUE DU MOLECULAR BEACON .....	50
FIGURE 34 DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE DU MOLECULAR BEACON .....	51
FIGURE 35 EXEMPLE DE L'UTILISATION DE LA TECHNIQUE DU MOLECULAR BEACON AVEC UN NUCLEOSIDE FLUORESCENT .....	51
FIGURE 36 IDEE GENERALE DE LA CONCEPTION DE NUCLEOSIDES FLUORESCENTS A PARTIR D'UNE STRUCTURE NAPHTHYRIDINONE OU TRIAZOLE .....	55
FIGURE 37 LES DIFFERENTS ISOMERES DU CYCLE NAPHTHYRIDINE .....	59
FIGURE 38 EXEMPLES DE MOLECULES THERAPEUTIQUES PRESENTANT UN CYCLE 1,8-NAPHTHYRIDINE..	60

FIGURE 39 STRUCTURES DE L'AAPTAMINE ET DE L'ISOAAPTAMINE .....	60
FIGURE 40 EXEMPLES DE MOLECULES BIOACTIVES COMPRENANT UN SQUELETTE 1,6-NAPHTHYRIDINE .	60
FIGURE 41 CHANGEMENT DE PROPRIETE BIOLOGIQUE DE LA NAPHTHYRIDINE PROPOSEE PAR ZENG ET AL. EN FONCTION DU GROUPEMENT R <sup>2</sup> .....	61
FIGURE 42 EXEMPLES DE BICYCLES NAPHTHYRIDINONES .....	62
FIGURE 43 ÉQUILIBRE LACTAME-LACTIME DE CERTAINES NAPHTHYRIDINONES .....	62
FIGURE 44 MOLECULES ETUDIEES COMME ANTI-INTEGRASE DU VIH.....	62
FIGURE 45 EXEMPLES DE STRUCTURES 1,8-NAPHTHYRIDINONES D'INTERET BIOLOGIQUE .....	63
FIGURE 46 STRUCTURE D'UN DERIVE DE LA 1,6-NAPHTHYRIDIN-4-ONE PROPOSEE EN TANT QU'INHIBITEUR DE MET .....	63
FIGURE 47 STRUCTURE DE LA 1,6-NAPHTHYRIDIN-7-ONE ETUDIEE .....	63
FIGURE 48 STRUCTURE DE LA 3-HYDROXYISOQUINOLINONE.....	64
FIGURE 49 STRUCTURE DE LA 4-(PYRIDIN-2-YL)-ISOQUINOLIN-3-OL.....	65
FIGURE 50 DERIVES DIPHENYLISOQUINOLINONE, 2,6-NAPHTHYRIDIN-3-ONE ET 2,7-NAPHTHYRIDIN-3-ONE (DE GAUCHE A DROITE).....	65
FIGURE 51 STRUCTURE RX DE LA 8-PHENYL-1,6-NAPHTHYRIDIN-7-ONE .....	72
FIGURE 52 POINTS DE DIVERSIFICATION R <sup>1</sup> ET R <sup>2</sup> DE LA PLATEFORME NAPHTHYRIDINONE.....	73
FIGURE 53 SUBSTRATS ACETONITRILES N'AYANT PAS FONCTIONNE.....	75
FIGURE 54 EXEMPLIFICATION DE R <sup>1</sup> DES NAPHTHYRIDINONES.....	77
FIGURE 55 ESSAIS DU COUPLAGE PALLADIE DE STILLE SUR L'INTERMEDIAIRE NAPHTHYRIDINONE OUVERT .....	80
FIGURE 56 ENSEMBLE DES DERIVES NAPHTHYRIDINONES OBTENUS.....	83
FIGURE 57 ENSEMBLE DES MOLECULES ETUDIEES POUR LEUR PROPRIETES SPECTROSCOPIQUES .....	88
FIGURE 58 SPECTRES D'ABSORPTION DES NAPHTHYRIDINONES POUR UNE CONCENTRATION DE 10 <sup>-4</sup> M DANS LE PBS 1X.....	89
FIGURE 59 LIAISON INTRAMOLECULAIRE ENTRE L'ATOME D'AZOTE ET LE PROTON DE L'HYDROXYLE.....	89
FIGURE 60 SPECTRE D'EMISSION DE FLUORESCENCE DES NAPHTHYRIDINONES POUR UNE CONCENTRATION DE 10 <sup>-5</sup> M DANS LE PBS 1X.....	90
FIGURE 61 MOLECULE MODELE DE L'ETUDE .....	92
FIGURE 62 SPECTRES D'ABSORPTION DE <b>4A</b> EN FONCTION DU SOLVANT POUR UNE CONCENTRATION DE 10 <sup>-4</sup> M .....	92
FIGURE 63 SPECTRES D'EMISSION DE FLUORESCENCE DE <b>4A</b> EN FONCTION DU SOLVANT POUR UNE CONCENTRATION DE 10 <sup>-5</sup> M .....	93
FIGURE 64 SPECTRES D'EMISSION DE <b>4A</b> DANS LES SOLVANTS POLAIRES DMSO, ETOH ET MeOH .....	94
FIGURE 65 ÉQUILIBRE LACTAME/LACTIME .....	94
FIGURE 66 SPECTRE DE L'INTENSITE MAXIMUM DE FLUORESCENCE DE <b>4A</b> EN FONCTION DU PH.....	95
FIGURE 67 SPECTRES D'ABSORPTION AVEC AJOUTS PROGRESSIFS D'UNE SOLUTION D'HCL A <b>4A</b> .....	96
FIGURE 68 SPECTRES D'ABSORPTION AVEC AJOUTS PROGRESSIFS D'UNE SOLUTION DE NaOH A <b>4A</b> .....	97
FIGURE 69 SPECTRES D'ABSORPTION DES 3 ESPECES DE LA PHENYLNAPHTHYRIDINONE <b>4A</b> .....	98
FIGURE 70 REPRESENTATION DES 3 ESPECES IDENTIFIEES (A: FORME PROTONEE, B: FORME NEUTRE, C: FORME BASIQUE).....	98
FIGURE 71 LES NAPHTHYRIDINONES CHOISIES POUR LES CALCULS DE RENDEMENT QUANTIQUE .....	99
FIGURE 72 CYCLE CATALYTIQUE DU COUPLAGE DE HECK.....	113
FIGURE 73 CYCLE CATALYTIQUE DE LA REACTION DE CUAAC.....	119
FIGURE 74 STRUCTURES DES NUCLEOSIDES ET NAPHTHYRIDINONES ETUDIEES .....	133
FIGURE 75 SPECTRES D'ABSORPTION DES NUCLEOSIDES <b>62A</b> , <b>62B</b> ET DES NUCLEOBASES <b>4A</b> ET <b>4B</b> .....	133
FIGURE 76 SPECTRES D'EMISSION DE FLUORESCENCE DES NUCLEOSIDES <b>62A</b> , <b>62B</b> ET DES NUCLEOBASES <b>4A</b> ET <b>4B</b> .....	134
FIGURE 77 PROTECTION DU NUCLEOSIDE EN VUE DE SON INSERTION DANS UN OLIGONUCLEOTIDE ....	136
FIGURE 78 PROTECTIONS POSSIBLES DE LA POSITION 2' SUR MODELE ARN .....	137
FIGURE 79 CYCLE DE LA SYNTHESE SUPPORTEE SUR PHASE SOLIDE .....	137
FIGURE 80 CYCLE DE LA SYNTHESE SUPPORTEE SUR PHASE SOLIDE .....	138
FIGURE 81 TRANSFORMATION D'UN NUCLEOSIDE EN NUCLEOTIDE TRIPHOSPHATE.....	139

FIGURE 82 DERIVES DESOXYNUCLEOTIDES TRIPHOSPHATE ANALOGUES FLUORESCENTS DES BASES D'ADN .....	141
FIGURE 83 REACTION DE SUZUKI POST SYNTHETIQUE POUR L'INCORPORATION DE CYCLE AROMATIQUE SUR UN OLIGONUCLEOTIDE .....	142
FIGURE 84 COUPLAGE DE STILLE POUR LA POST-FONCTIONNALISATION DU DINUCLEOTIDE 5-I-UpG .	143
FIGURE 85 LES 2 GRANDES CATEGORIES DE TRIAZOLES .....	151
FIGURE 86 FORMES TAUTOMERES DES 1,2,3-TRIAZOLES ET DES 1,2,4-TRIAZOLES .....	151
FIGURE 87 STRUCTURE DE LA RIBAVIRINE .....	152
FIGURE 88 STRUCTURE DU 2-[5-(2-HYDROXYPHENYL)-1-[4-(TRIFLUOROMETHYL)PHENYL]-1,2,4-TRIAZOLE-3-YL]PHENOL, DETECTEUR DE $Zn^{2+}$ .....	153
FIGURE 89 STRUCTURE DE LA 3-(1,3-DIPHENYL-1 <i>H</i> -1,2,4-TRIAZOL-5-YL)PYRIDIN-2(1 <i>H</i> )-ONE .....	153
FIGURE 90 OBJECTIF DE SYNTHESE POUR LA FORMATION DES 3-(3-PHENYL-1 <i>H</i> -1,2,4-TRIAZOL-5-YL)PYRIDIN-2(1 <i>H</i> )-ONES NUCLEOSIDES.....	154
FIGURE 91 STRUCTURE DU SUCRE DE HOFFER.....	162
FIGURE 92 ENSEMBLE DES STRUCTURES DONT LES PROPRIETES SPECTRALES ONT ETE ETUDIEES .....	169
FIGURE 93 SPECTRES D'ABSORPTION DES DERIVES 1,2,4-TRIAZOLES A UNE CONCENTRATION DE $10^{-5}$ M DANS L'EAU .....	170
FIGURE 94 SPECTRES DE FLUORESCENCE DES TRIAZOLES SUBSTITUES EN <i>PARA</i> DU PHENYLE A UNE CONCENTRATION DE $10^{-5}$ M DANS L'EAU .....	171
FIGURE 95 COMPARAISON DES SPECTRES D'ABSORPTION DES COMPOSES TRIAZOLES <b>70A 70B</b> ET DES NUCLEOSIDES TRIAZOLES <b>81A 81B</b> .....	173
FIGURE 96 COMPARAISON DES SPECTRES DE FLUORESCENCE DES TRIAZOLES <b>70A 70B</b> ET DES NUCLEOSIDES TRIAZOLES <b>81A 81B</b> .....	174
FIGURE 97 ENSEMBLE DES TRIAZOLES OBTENUS .....	176
FIGURE 98 NUCLEOSIDES TRIAZOLES OBTENUS .....	177
FIGURE 99 LISTE DES 22 MOLECULES CORRESPONDANT AUX "RINGS OF THE FUTURE" .....	182
FIGURE 100 STRUCTURE DU BICYCLE ISOCHROMANONE (GAUCHE) ET DE LA PYRIDOLACTONE (DROITE) .....	183
FIGURE 101 EXEMPLES DE MOLECULES COMPRENANT DES ISOCHROMANONES .....	184
FIGURE 102 LES DIFFERENTES VOIES MISES AU POINT POUR OBTENIR LE BICYCLE PYRANOPYRIDINONE	186
FIGURE 103 MOLECULES SYNTHETISEES PAR LA METHODE A LORS DE LA THESE DE KEVIN PASSADOR..	188
FIGURE 104 MOLECULES OBTENUES PAR LA METHODE C .....	193
FIGURE 105 A) COMPOSES ANTI-HISTAMINIQUES COMMERCIAUX B) COMPOSES ANALOGUES D'ANTI-HISTAMINIQUES DE RAM ET AL .....	194
FIGURE 106 OXYDATION NATURELLE DU MOTIF PYRIDOLACTONE .....	196
FIGURE 107 ENSEMBLE DES DERIVES PYRIDOLACTONES REALISES .....	204
FIGURE 108 STRUCTURES SEMI-RIGIDES PROPOSEES EN TANT QU'ANTI-HISTAMINIQUES .....	205
SCHEMA 1 TENTATIVE DE SYNTHESE DE LA PYRANO-PYRIDIN-3-ONE.....	64
SCHEMA 2 EXEMPLE DE REACTION DE CONDENSATION ABOUTISSANT AU BICYCLE 1,6-NAPHTHYRIDINE	67
SCHEMA 3 EXEMPLE DE FORMATION DU BICYCLE 1,6-NAPHTHYRIDINE PAR CYCLISATION D'UN MOTIF PYRIDINE .....	68
SCHEMA 4 FORMATION DE 2 ISOMERES DE NAPHTHYRIDINE A PARTIR DE LA CYCLOPENTAPYRIDINE .....	68
SCHEMA 5 EXEMPLE DE SYNTHESE D'UN DERIVE 1,6-NAPHTHYRIDINONE .....	68
SCHEMA 6 EXEMPLES DE SYNTHESSES PERMETTANT L'OBTENTION DE LA 1,6-NAPHTHYRIDINONE A PARTIR DE DERIVES 1,6-NAPHTHYRIDINES .....	69
SCHEMA 7 SYNTHESE INITIALE DE LA PHENYLNAPHTHYRIDONE .....	70
SCHEMA 8 SYNTHESE OPTIMISEE DE LA 8-PHENYLNAPHTHYRIDINONE .....	71
SCHEMA 9 MECANISME DE CYCLISATION DE LA NAPHTHYRIDINONE .....	72
SCHEMA 10 SUBSTRATS ACETONITRILES PREALABLEMENT SYNTHETISES .....	74
SCHEMA 11 SYNTHESE GENERALE DES 8-ARYLNAPHTHYRIDINONES.....	74
SCHEMA 12 TENTATIVES D'ELONGATION DES STRUCTURES NAPHTHYRIDINONES PAR COUPLAGE DE SONOGASHIRA .....	76

SCHEMA 13	ESSAI DE COUPLAGE DE SONOGASHIRA SUR LA FORME OUVERTE .....	77
SCHEMA 14	INTRODUCTION ENVISAGEE DU GROUPEMENT R <sup>2</sup> .....	78
SCHEMA 15	SYNTHESE DE LA 4-BROMO-8-PHENYLNAPHTHYRIDINONE A PARTIR DE LA 2,3-DIBROMO-3-PYRIDINECARBOXALDEHYDE .....	78
SCHEMA 16	SYNTHESE DE LA 4-iodo-8-PHENYLNAPHTHYRIDINONE A PARTIR DE LA 2-CHLORO-4-iodo-3-PYRIDINECARBOXALDEHYDE .....	79
SCHEMA 17	ÉTAPE DE CYCLISATION DU COMPOSE 18.....	79
SCHEMA 18	ÉQUILIBRE PYRIDOL/PYRIDONE .....	80
SCHEMA 19	ESSAIS DE COUPLAGE DE SUZUKI .....	80
SCHEMA 20	COUPLAGE DE SUZUKI SUR LA 4-iodOPYRIDINE .....	81
SCHEMA 21	PROTECTION DES PYRIDINES SOUS FORME D'ACÉTAL.....	82
SCHEMA 22	REACTION DE S <sub>N</sub> AR SUR LES PYRIDINES PROTEGEES .....	82
SCHEMA 23	OBTENTION DES NAPHTHYRIDINONES SUBSTITUEES EN POSITION 4.....	83
SCHEMA 24	SYNTHESE DU MOTIF QUINOLINE EN NAPHTHYRIDONE .....	103
SCHEMA 25	RETROSYNTHESE ENVISAGEE POUR LA FORMATION DU NUCLEOSIDE PAR UN COUPLAGE DE HECK .....	111
SCHEMA 26	EXEMPLE DE COUPLAGE DE HECK ENTRE UN RIBAL ET UNE 5-iodOPYRIDINE .....	112
SCHEMA 27	EXEMPLE DE COUPLAGE DE HECK AVEC UN RIBAL ET UN COMPOSE AZOTE BICYCLIQUE .....	112
SCHEMA 28	PREMIER ESSAI DE LA SYNTHÈSE DU RIBAL.....	114
SCHEMA 29	CHANGEMENT D'APPROCHE POUR LA SYNTHÈSE DU RIBAL .....	115
SCHEMA 30	DEUXIEME ESSAI DE LA SYNTHÈSE DU RIBAL .....	115
SCHEMA 31	TROISIEME ESSAI DE LA SYNTHÈSE DU RIBAL.....	116
SCHEMA 32	ESSAIS DE COUPLAGE DE HECK SUR LE MOTIF 2,4-DIBROMO-3-PYRIDINECARBOXALDEHYDE .....	117
SCHEMA 33	TENTATIVES DE COUPLAGE DE HECK SUR LA 2-CHLORO-4-iodOPYRIDINE ET LA 4-iodOPYRIDINE .....	118
SCHEMA 34	RETROSYNTHESE POSSIBLE EN VUE D'UNE REACTION DE CHIMIE DE CLICK ENVISAGEE .....	120
SCHEMA 35	SYNTHESE DU SUCRE AZOTURE .....	120
SCHEMA 36	ESSAI DE CLICK SUR UNE REACTION MODELE.....	122
SCHEMA 37	ÉTAPE DE CUAAC SUR LA FORME OUVERTE .....	122
SCHEMA 38	ÉTAPE DE CYCLISATION.....	123
SCHEMA 39	NOUVELLE STRATEGIE ENVISAGEE DE COUPLAGE PAR CUAAC .....	124
SCHEMA 40	SYNTHESE ENVISAGEE POUR LA FORMATION DU NUCLEOSIDE NAPHTHYRIDINONE .....	124
SCHEMA 41	SYNTHESE DE LA PARTIE HETEROCYCLIQUE.....	125
SCHEMA 42	COUPLAGE DE SONOGASHIRA REGIOSELECTIF ENTREPRIS PAR PANDA ET AL .....	125
SCHEMA 43	ÉTAPE DE CUAAC ENTRE LES COMPOSES 44 ET 51.....	126
SCHEMA 44	REACTION DE S <sub>N</sub> AR SUR LE COMPOSE 47.....	127
SCHEMA 45	ÉTAPE DE DEPROTECTION DES GROUPEMENTS ACÉTYLES .....	127
SCHEMA 46	ÉTAPE DE S <sub>N</sub> AR AVEC LA MOLECULE 49 DEPROTEGEE .....	128
SCHEMA 47	PROTECTION DU RIBOSE AZOTURE SOUS FORME D'ETHERS BENZYLIQUES .....	129
SCHEMA 48	INSERTION DES GROUPEMENTS TBDMS SUR LE RIBOSE AZOTURE.....	129
SCHEMA 49	REACTION DE CHIMIE DE CLICK ENTRE 51 ET 59 .....	130
SCHEMA 50	ÉTAPE DE S <sub>N</sub> AR AVEC LE RIBOSE-TBDMS .....	130
SCHEMA 51	ÉTAPE FINALE DE CYCLISATION .....	131
SCHEMA 52	SCHEMA GENERAL DES NUCLEOSIDES NAPHTHYRIDINONES .....	132
SCHEMA 53	A) METHODE DE YOSHIKAWA B) METHODE DE LUDWIG-ECKSTEIN POUR LA SYNTHÈSE DE DNTP OU NTP.....	140
SCHEMA 54	ESSAI DE TRITYLATION DU NUCLEOSIDE.....	144
SCHEMA 55	ESSAI DE TRITYLATION EN PRESENCE DE DIPEA .....	145
SCHEMA 56	ESSAI DE TRITYLATION AVEC DE LA 2,6-LUTIDINE.....	145
SCHEMA 57	SYNTHESE DE TRITYLATION DE LA GUANOSINE.....	146
SCHEMA 58	1 <sup>ERE</sup> ÉTAPE DE SYNTHÈSE DES 1,2,4-TRIAZOLE-PYRIDIN-2-ONES.....	155
SCHEMA 59	2 <sup>EME</sup> ÉTAPE DE SYNTHÈSE DES 1,2,4-TRIAZOLE-PYRIDIN-2-ONES .....	155

SCHEMA 60 3EME ETAPE DE SYNTHÈSE DES 1,2,4-TRIAZOLE-PYRIDIN-2-ONES.....	156
SCHEMA 61 STRATEGIE DE SYNTHÈSE DES NUCLEOSIDES 1,2,4-TRIAZOLES .....	158
SCHEMA 62 MECANISME DE GLYCOSYLATION DU RIBOSE PERACETYLE AVEC ASSISTANCE DU GROUPEMENT EN C <sub>2</sub> .....	159
SCHEMA 63 ESSAI DE GLYCOSYLATION AVEC DU CHLORURE D'INDIUM.....	159
SCHEMA 64 ESSAI DE GLYCOSYLATION AVEC DE L'APTS .....	160
SCHEMA 65 ESSAI DE GLYCOSYLATION CATALYSEE PAR DU TMSOTf .....	160
SCHEMA 66 ESSAI DE GLYCOSYLATION A L'AIDE DU BNPP .....	161
SCHEMA 67 ESSAI DE FORMATION DU NUCLEOSIDE TRIAZOLE PAR SUBSTITUTION NUCLEOPHILE AVEC DU K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> .....	162
SCHEMA 68 SYNTHÈSE DU NUCLEOSIDE TRIAZOLE PAR SUBSTITUTION NUCLEOPHILE AVEC DU NaH ...	162
SCHEMA 69 ESSAI DE DISUBSTITUTION SUR LE MOTIF 1,2,4-TRIAZOLE-PYRIDIN-2-ONE .....	163
SCHEMA 70 SYNTHÈSE GÉNÉRALE DE L'OBTENTION DES NUCLEOSIDES PYRAZOLES DE SCHMIDT ET AL.	164
SCHEMA 71 STRATEGIE DE FORMATION DES NUCLEOSIDES TRIAZOLES VIA L'UTILISATION D'UN SUCRE HYDRAZINE.....	164
SCHEMA 72 PROTECTION DES POSITIONS 2 ET 3 DU RIBOSE SOUS FORME ISOPROPYLIDENE .....	165
SCHEMA 73 FORMATION DU RIBOSE HYDRAZINE A PARTIR DU RIBOSE PROTEGE .....	165
SCHEMA 74 FORMATION DU CYCLE 1,2,4-TRIAZOLE .....	166
SCHEMA 75 SYNTHÈSE DU MOTIF NUCLEOSIDIQUE 1,2,4-TRIAZOLE APRES DEPROTECTION .....	166
SCHEMA 76 SYNTHÈSE GÉNÉRALE DES NUCLEOSIDES 1,2,4-TRIAZOLE-PYRIDIN-2-ONES.....	167
SCHEMA 77 STRATEGIE D'OBTENTION DE LA PYRANOPYRIDINONE.....	183
SCHEMA 78 DEVELOPPEMENT DE SYNTHÈSE DE MOTIFS 3-ISOCHROMANONES PAR LI ET AL. ....	184
SCHEMA 79 DEVELOPPEMENT DE SYNTHÈSE DE MOTIFS 3-ISOCHROMANONES PAR CHANG ET AL .....	184
SCHEMA 80 DEVELOPPEMENT DE SYNTHÈSE D'UN BICYCLE PYRIDOLACTONE PAR YABU ET AL.....	185
SCHEMA 81 SYNTHÈSE D'UN MOTIF PYRIDOLACTONE PAR BENNASAR ET AL .....	185
SCHEMA 82 PARTIE COMMUNE DES SEQUENCES REACTIONNELLES DE LA METHODE A ET B.....	187
SCHEMA 83 SEQUENCE REACTIONNELLE DE LA METHODE A .....	187
SCHEMA 84 SEQUENCE REACTIONNELLE DE LA METHODE B .....	188
SCHEMA 85 SYNTHÈSE DES DERIVES PYRIDOLACTONES SUBSTITUES PAR DES ARYLES VIA LA METHODE B .....	190
SCHEMA 86 SYNTHÈSE DU DERIVE PYRIDOLACTONE DIPHENYLE PAR LA METHODE B.....	191
SCHEMA 87 SEQUENCE REACTIONNELLE DE LA METHODE C .....	192
SCHEMA 88 INSERTION DU GROUPEMENT R <sup>3</sup> SUR LA PYRIDOLACTONE .....	194
SCHEMA 89 EXEMPLES DE DISUBSTITUTION DE LA PYRIDOLACTONE .....	195
SCHEMA 90 STRATEGIE D'OBTENTION DE LA PYRANOPYRIDINONE.....	195
SCHEMA 91 ESSAIS DE TRANSFORMATION DE L'HYDROXYLE EN BON GROUPE PARTANT EN VUE DE L'OBTENTION DE LA PYRANOPYRIDINONE.....	197
SCHEMA 92 SYNTHÈSE ENVISAGEE POUR L'OBTENTION DU CYCLE PYRANOPYRIDINONE .....	198
SCHEMA 93 SEQUENCE REACTIONNELLE EMPLOYEE POUR LA SYNTHÈSE DE LA PYRANOPYRIDINONE....	199
SCHEMA 94 MECANISME PROPOSE DE LA FORMATION DE L'AZA-ANTHRACENE .....	200
SCHEMA 95 REACTION D'INSERTION DU GROUPEMENT <i>tert</i> -BUTYLACETATE SUR LA PYRIDINE <b>2</b> .....	201
SCHEMA 96 REACTION D'INSERTION DU GROUPEMENT <i>para</i> -NITROPHENYLE .....	201
SCHEMA 97 REACTION DE CYCLISATION.....	202
SCHEMA 98 ESSAIS DE CYCLISATION DU COMPOSE <b>111</b> .....	203
SCHEMA 99 REARRANGEMENT PAR OUVERTURE DE CYCLE DE LA 2-BENZOPYRAN-3-ONE .....	203
TABLEAU 1 ÉTUDE DE T <sub>m</sub> EN FONCTION DE LA NUCLEOBASE <b>X</b> DANS UNE SEQUENCE D'ADN DONNEE .	42
TABLEAU 2 CONDITIONS D'OPTIMISATION DE L'ETAPE DE SNAR .....	71
TABLEAU 3 RECAPITULATIF DES PROPRIETES SPECTROSCOPIQUES DES NAPHTHYRIDONES ETUDIEES POUR UNE CONCENTRATION DE 1.10 <sup>-4</sup> M POUR L'ABSORPTION ET 1.10 <sup>-5</sup> M POUR L'EMISSION DANS LE PBS .....	91
TABLEAU 4 SYNTHÈSE DE DONNEES SPECTROSCOPIQUES DES MOLECULES <b>4a</b> , <b>21</b> ET <b>26a</b> .....	101
TABLEAU 5 CALCULS D'IC <sub>50</sub> DES NAPHTHYRIDINONE .....	106

TABLEAU 6 ESSAIS DE CuAAC .....	121
TABLEAU 7 RENDEMENTS DES ANIONS SODES.....	155
TABLEAU 8 RENDEMENTS DES PYRIDO-OXAZINONES .....	156
TABLEAU 9 RENDEMENTS DES 1,2,4-TRIAZOLES .....	157
TABLEAU 10 RENDEMENTS DES DERIVES <b>81A-D</b> EN 2 ETAPES.....	167
TABLEAU 11 RECAPITULATIF DES VALEURS SPECTRALES DES 1,2,4-TRIAZOLE-PYRIDIN-2-ONES .....	172
TABLEAU 12 CONDITIONS TESTEES POUR L'OPTIMISATION DE L'ETAPE DE SNAR .....	189
TABLEAU 13 ESSAIS D'OXYDATION DE LA PHENYLPYRIDOLACTONE .....	197